

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

“Determinación de la presencia de *Azadirachta indica* A. Juss en hojas y frutos de Neem”

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniera Química

Presentado por:

Verónica Isabel Ibarra Silva

Joselyne Gabriela Pérez González

Tutor(a):

Lorena Quinchuela Carrera, M.Sc.

Cotutor(a):

Patricia Manzano Santana, PhD.

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2022

DEDICATORIA

El presente proyecto lo dedico a:

A mis padres, Ariosto Ibarra e Irene Silva Mora, quienes han sido parte de esta etapa. Por su sacrificio y enseñarme el significado de perseverancia y amor.

A mis hermanos: Daniela Ibarra Silva, Helen Ibarra Silva y Luis Ibarra Silva por confiar en mí y extenderme su mano en momentos difíciles. ¡Son muy especiales!

A mi novio y compañero, Nahin Mota Ronquillo, por su amor, dirección y apoyo en cada decisión que he tomado.

A mis amigos, María José Peñarrieta, Jonathan Narváez y Marisú Saldarriaga, por su cariño, colaboración y apoyo incondicional.

Verónica Isabel Ibarra Silva

DEDICATORIA

El presente proyecto se lo dedico:

A mis padres, José Pérez Segura y Mercedes González Fuentes, por su apoyo constante; gracias a su sacrificio y amor incondicional hoy puedo cumplir uno de mis objetivos más anhelados. Gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer a las adversidades porque Dios nunca me deja sola.

A mi hermana Pamela y mis sobrinos Bruno y Andrés, por su cariño, consejos y palabras de aliento durante todo este proceso.

A mi eterno compañero de aventuras Kevin Martínez Cali, gracias por estar a mi lado en todo momento, tu amor y respaldo me ayudó a concluir esta meta.

Joselyne Gabriela Pérez González

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a Dios, quien me ha permitido obtener este logro. Por su guía e infinito amor.

A mi familia y amigos quienes me han brindado su apoyo incondicional para continuar en cada etapa de mi vida.

A mis profesoras tutoras y a mi compañera por su contribución en este proyecto de investigación.

Verónica Isabel Ibarra Silva

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar un enorme agradecimiento a Dios por ser mi guía, cuidarme y brindarme sabiduría para no darme por vencida.

A todos mis amigos y futuros colegas que me acompañaron en esta etapa, brindándome su tiempo, amistad y apoyo en cada paso de mi formación.

A mi tutora Msc. Lorena Quinchuela por su paciencia y constancia durante el desarrollo de este proyecto.

A mi compañera de tesis Verónica Ibarra por su dedicación en sacar adelante este proyecto.

Joselyne Gabriela Pérez González

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; Verónica Isabel Ibarra Silva y Joselyne Gabriela Pérez González 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”



Verónica Ibarra Silva



Joselyne Pérez González

EVALUADORES

.....
Nadia Flores Manrique, MSc.

PROFESORA DE LA MATERIA

.....
Lorena Quinchuela Carrera, M.Sc.

PROFESORA TUTOR

.....
Patricia Manzano Santana, PhD.

PROFESORA COTUTOR

RESUMEN

La aplicación indiscriminada de agroquímicos en comunidades agrícolas a través del tiempo ha repercutido de manera adversa en el ecosistema. Este proyecto se trabajó en colaboración con la comunidad de Paipayales, en busca del aprovechamiento de las propiedades insecticidas del componente activo *Azadirachta indica* A. Juss presente en los extractos acuosos obtenidos de las hojas del árbol de Neem. Los objetivos de esta investigación son detectar la presencia de Azadiractina en las hojas de Neem mediante un análisis instrumental cualitativo por espectrofotometría UV-Vis y analizar las curvas de secado empleando un prototipo de secador casero para la definición del tiempo de secado.

La investigación se desarrolló en las siguientes etapas experimentales: 1) Tratamiento de la materia prima, 2) Extracción Sólido-Líquido, 3) Caracterización UV-Vis y 4) Tratamiento estadístico de los datos. El tratamiento de las hojas consistió en la recolección, limpieza, secado y molienda. La extracción de Azadiractina utilizando como solvente agua y etanol al 96% v/v se realizó mediante maceración y se utilizaron relaciones de polvo de hojas de Neem/solvente de 20g/200mL, 35g/200mL y 50g/200mL. Se determinaron los espectros para cada relación para longitudes de onda entre 190 y 600 nm a través de un espectrofotómetro UV-Vis. Los resultados se analizaron en el software estadístico IBM SPSS®, mediante un análisis de varianza ANOVA se obtuvo la diferencia significativa entre las diferentes relaciones masa/solvente con un intervalo de confianza del 95%.

Palabras Clave: Azadiractina, Neem, Extracción, Espectrofotometría UV-Vis

ABSTRACT

The indiscriminate application of agrochemicals in agricultural communities over time has adversely affected the ecosystem. This project was carried out in collaboration with the community of Paipayales, in search of the use of the insecticidal properties of the active component Azadirachta indica A. Juss present in the aqueous extracts obtained from the leaves of the Neem tree. The objectives of this research are to detect the presence of Azadirachtin in Neem leaves through a qualitative instrumental analysis by UV-Vis spectrophotometry and to analyze the drying curves using a prototype of a homemade dryer to define the drying time.

The research was developed in the following experimental stages: 1) Raw material treatment, 2) Solid-Liquid Extraction, 3) UV-Vis characterization and 4) Statistical data treatment. The treatment of the leaves consisted of the collection, cleaning, drying and grinding. Azadirachtin extraction using water and 96% v/v ethanol as solvent was performed by maceration and Neem leaf powder/solvent ratios of 20g/200mL, 35g/200mL and 50g/200mL were used. Spectra for each ratio were determined for wavelengths between 190 and 600 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The results were analyzed in the statistical software IBM SPSS®, by means of an ANOVA analysis of variance, the significant difference between the different mass/solvent ratios was obtained with a confidence interval of 95%.

Keywords: Azadirachtin, Neem, Extraction, UV-Vis Spectrophotometry

ÍNDICE GENERAL

EVALUADORES.....	7
RESUMEN.....	I
<i>ABSTRACT</i>	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
ABREVIATURAS.....	V
SIMBOLOGÍA.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
1. Introducción.....	1
1.1 Descripción del problema.....	1
1.2 Justificación del problema.....	2
1.3 Objetivos.....	3
1.3.1 Objetivo General.....	3
1.3.2 Objetivos Específicos.....	3
1.4 Marco teórico.....	4
1.4.1 Generalidades del Neem.....	4
1.4.2 Azadiractina.....	5
1.4.3 Proceso de extracción de la Azadiractina.....	6
1.4.4 Caracterización de la Azadiractina.....	8
1.4.5 Técnicas estadísticas para la determinación de diferencias significativas en las variables del proceso.....	9
CAPÍTULO 2.....	12
2. Metodología.....	12
2.1 Materiales, equipos y reactivos.....	12

2.1.1	Materiales	12
2.1.2	Equipos.....	12
2.1.3	Reactivos	13
2.2	Diagrama de flujo del proceso de obtención de Azadiractina.....	13
2.3	Etapas experimentales	13
2.3.1	Pretratamiento de las hojas de Neem.....	13
2.3.2	Extracción sólido-líquido de la Azadiractina de las hojas del árbol de Neem	19
CAPÍTULO 3.....		24
3.	Resultados Y ANÁLISIS	24
3.1	Secado	24
3.1.1	Humedad de las muestras	24
3.1.2	Curvas de humedad.....	24
3.2	Análisis granulométrico	26
3.3	Caracterización de Azadiractina.....	29
3.4	Análisis estadístico	32
3.5	Análisis económico.....	36
CAPÍTULO 4.....		38
4.	Conclusiones Y Recomendaciones	38
4.1	Conclusiones.....	38
4.2	Recomendaciones.....	39
BIBLIOGRAFÍA.....		40
APÉNDICES		45

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
FCNM	Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas
INEC	Instituto Nacional de Estadística y Censos
MIP	Manejo Integral de Plagas
MIV	Manejo Integrado de Vectores
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
ONU	Organización de las Naciones Unidas
UV-Vis	Ultravioleta Visible
IBM SPSS®	Statistical Package for Social Sciences
ANOVA	Analysis of variance
ASTM	American Society for Testing and Materials
VAN	Valor Actual Neto
TIR	Tasa Interna de Retorno

SIMBOLOGÍA

°C	Grados Celsius
m	Metro
cm	Centímetro
mm	Milímetro
µm	Micrómetro
nm	Nanómetro
g	Gramo
mg	Miligramo
pH	Potencial de Hidrógeno
L	Litro
ml	Mililitro
µl	Microlitro
% v/v	Porcentaje volumen a volumen
D ₈₀	Diámetro característico del tamiz por el cual pasa el 80% de muestra.

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1.1 Estructura química Azadiractina (Fernandes et al., 2019).....	6
Ilustración 1.2 Curvas de secado (McCabe et al., 2007)	7
Ilustración 1.3 Espectros UV - vis de los estándares de Azadiractina y Salanina (Agrawal, 2005)	9
Ilustración 2.1 Recolección de hojas de Neem.....	14
Ilustración 2.2 Limpieza de las hojas de Neem.	14
Ilustración 2.3 Secado y almacenamiento de las hojas de Neem.....	15
Ilustración 2.4 Especificaciones de diseño del prototipo de secador solar.	16
Ilustración 2.5 Pesado de hojas y prototipo de secador solar.....	17
Ilustración 2.6 Molienda de hojas de Neem.....	18
Ilustración 2.7 Hojas de Neem en polvo y su contenedor.....	18
Ilustración 2.8 Pesado de muestra inicial y proceso de tamización.....	19
Ilustración 2.9 Maceración de la muestra.	20
Ilustración 2.10 Filtración de Azadiractina.	21
Ilustración 2.11 Caracterización de la Azadiractina.	22
Ilustración 3.1 Curva de humedad de ensayo 1,2 y 3.....	25
Ilustración 3.2 Prueba de hipótesis de igualdad de medias con una confianza del 95%.	27
Ilustración 3.3 Prueba de hipótesis de igualdad de medias con una confianza del 95%	27
Ilustración 3.4 Curvas granulométricas de los ensayos 1 y 2.	29
Ilustración 3.5 Espectros de las 18 unidades experimentales	30
Ilustración 3.6 Prueba de hipótesis para extractos acuosos (20 g/ml, 35 g/ml, 50 g/ml)	32
Ilustración 3.7 Prueba de hipótesis para extractos alcohólicos (20 g/ml, 35 g/ml, 50 g/ml)	33
Ilustración 3.8 Prueba de hipótesis para extractos alcohólicos (20 g/ml, 35 g/ml).....	33
Ilustración 3.9 Prueba de hipótesis para extractos alcohólicos (20 g/ml, 35 g/ml).....	34
Ilustración 3.10 Prueba para extractos acuosos y alcohólicos (20 g/ml, 35 g/ml, 50 g/ml)	34
Ilustración 3.11 Prueba para extractos acuosos y alcohólicos (20 g/ml)	35

Ilustración 3.12 Prueba para extractos acuosos y alcohólicos (35 g/ml)	35
Ilustración 3.13 Prueba para extractos acuosos y alcohólicos (50 g/ml)	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Clasificación Taxonómica del Neem (Biswas et al., 2018)	4
Tabla 1.2 Características del árbol de Neem (Parrotta & Chaturvedi, 1994).....	5
Tabla 2.1 Coordenadas de los árboles de Neem.	13
Tabla 2.2 Características y dimensiones del prototipo de secador solar.	15
Tabla 2.3 Peso total (bandejas y hojas) empleadas en el secador.....	17
Tabla 2.4 Diseño ANOVA factorial.	20
Tabla 3.1 Porcentaje de humedad final	26
Tabla 3.2 Diámetros de partícula de cada muestra.	28
Tabla 3.3 Detalle de inversión inicial	36

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción del problema

El uso de plaguicidas sintéticos tiene su origen en el siglo XIX buscando contrarrestar el efecto negativo de las plagas sobre el rendimiento de cultivos agrícolas (Antonio & Campos, 2018). En la actualidad, son muy variadas las estructuras químicas a las que pertenecen los diferentes plaguicidas sintéticos, existen más de 1500 principios activos, que, en diferentes concentraciones, generan más de 50 000 productos registrados en el mundo como plaguicidas. (Lepori et al., 2013)

En Ecuador el consumo de plaguicidas sintéticos se ha incrementado desde el año 2000, la aplicación indiscriminada de estos plaguicidas a través del tiempo ha repercutido de manera adversa en el ecosistema. Según Ramírez & Lacasaña, 2001 el 47% del plaguicida aplicado en el cultivo se dispersa en el ambiente (atmósfera, suelo o agua) produciendo efectos contaminantes al ecosistema. Los plaguicidas no alteran únicamente el balance de la naturaleza, además su uso excesivo en las actividades diarias de los agricultores plantea riesgos severos a la salud ocupacional de los operarios y la seguridad alimentaria de los consumidores.

En este proyecto se trabajará en colaboración con la comunidad de Paipayales, la cual está ubicada en el cantón Santa Lucía, provincia del Guayas. Entre sus principales fuentes de ingreso está el sembrío de arroz (*Oryza Sativa L.*); las características climatológicas del cantón se encuentran en un rango de temperatura de 25 °C a 35°C, puesto que, al ser un clima húmedo las plagas prosperan rápidamente y dañan los sembríos (Delgado-Plaza & Peralta-Jaramillo, 2020). Dentro de la comunidad existe la Asociación de Agricultores Arroceros “Dios con nosotros” en la cual los habitantes debaten problemas existentes en el sector. Ante la amenaza de las plagas en los cultivos de arroz, los agricultores han optado por el uso de pesticidas, como medida de prevención. Se identificó que siete de diez agricultores combinan agroquímicos con al menos un insumo orgánico y no emplean equipo de protección al aplicar químicos (Delgado-Plaza & Peralta-Jaramillo, 2020)

Entre las plagas que mayor afectación provocan al cultivo de arroz se encuentran Cigarrata del arroz (*Tagosodes orizicolus* Muir.) conocida comúnmente como Sogata, en el año 2015 se produjeron afectaciones generadas por el ataque de la Sogata en Santa Lucía y otras zonas arroceras de las provincias de Guayas y Los Ríos, donde causó reducciones en la producción hasta en un 50%. Así también, el Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) causa daños considerables en el cogollo de plantaciones jóvenes de arroz. Por otro lado, otros patógenos provocan enfermedades en el arroz como Quemazón o brusone, Pudrición de la vaina, Tizón de la vaina, Manchado de grano, entre otros. (Pérez et al., 2018)

1.2 Justificación del problema

De acuerdo con el INEC, en Ecuador existen 81.248,36 hectáreas que emplean 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. Por lo tanto, menos del 20% de agroindustrias implementan en sus cultivos un sistema MIP (Manejo Integral de Plagas) y MIV (Manejo Integrado de Vectores). (INEC, 2014)

El aprovechamiento de la Azadiractina como insecticida en Ecuador, representa una alternativa factible y económica para el MIP (Manejo Integral de Plagas) y MIV (Manejo integrado de vectores) en comunidades rurales de bajo nivel tecnológico como Paipayales. Actualmente, las especies vegetales y sus componentes fitoquímicos se consideran de alta importancia, ya que, nos permiten la formulación de nuevos productos. La Azadiractina es un compuesto activo del árbol de Neem que tiene efectos en las plagas: interrumpe el crecimiento, bloquea la síntesis y liberación de hormonas provocando una muda incompleta en los insectos, interfiere en la fertilidad e inhibición de alimentación en los insectos. Además, este compuesto activo no es tóxico para ninguna especie animal y es biodegradable. (Benavides et al., 2001)

Nuestra propuesta aborda la comparación y análisis de las variables influyentes en el proceso de extracción de Azadiractina y su caracterización cualitativa del extracto de las hojas y frutos del Neem, para la determinación de la parte vegetal con mayor

concentración de Azadiractina. Por esto, esta investigación puede extenderse hacia la producción de un biopesticida que al ser un producto amigable con el ambiente tendría un gran impacto comercial beneficiando a agricultores, microempresas rurales o para el desarrollo de otras industrias como farmacéutica, cosmética o textil.

Es así como se busca tratar de reemplazar parcialmente el uso de agroquímicos dañinos para la salud y medio ambiente generando un consumo de alimentos saludables y evitando que los usuarios adquieran enfermedades ocupacionales a largo plazo. Apuntando hacia lo que plantean los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) que nombra la ONU que son: 2) Poner fin al hambre, conseguir la seguridad alimentaria y una mejor nutrición y promover la agricultura sostenible. 12) Garantizar las pautas de consumo y producción sostenible.(ONU, 2017)

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Analizar estadísticamente diferentes condiciones de operación en la extracción acuosa de azadiractina para la definición de una metodología replicable en recintos agrícolas.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Interpretar las curvas de secado del fruto y de las hojas de Neem utilizando un prototipo de secador casero, para la definición del tiempo de secado.
- Caracterizar cualitativamente el extracto de las hojas y de los frutos del Neem, mediante espectrofotometría UV-VIS.
- Determinar las diferencias significativas entre los efectos de las variables de operación del proceso de extracción acuosa, mediante el software estadístico IBM SPSS®.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Generalidades del Neem

El término Neem proviene del sánscrito *Nimba* que significa curador de todas las enfermedades. Este árbol es conocido popularmente como Nim, Neem, Margosa, Paraíso, Caoba Criolla y Caoba Haitiana (Orozco-Sánchez & Rodríguez-Monroy, 2017). Su nombre científico es *Azadirachta indica* A. Juss, y presenta como sinónimos *Melia Azadirachta* L. o *Melia Indica* (A. Juss) Bradis; pertenece a la familia *Meliaceae* según (Biswas et al., 2018) como se observa en la Tabla 1.1

Tabla 1.1 Clasificación Taxonómica del Neem (Biswas et al., 2018)

Orden	Suborden	Familia	Subfamilia	Tribu	Género	Especie
Rutales	Rutinae	Meliaceae	Melioideae	Melieae	Azadirachta	A. Indica

El Neem es un árbol originario de la India donde se ha cultivado desde hace más de 2000 años, y se ha distribuido geográficamente por Asia, África, el Caribe y América del Sur. (Orozco-Sánchez & Rodríguez-Monroy, 2017) El Neem crece en distintas condiciones climáticas; puede resistir temperaturas de 0 °C a 49 °C, por lo que tolera sequías en períodos de 6 a 9 meses. Sin embargo, crece de manera óptima en zonas semiáridas y secas con precipitaciones pluviales de 200 a 1200mm y con temperatura que va de 20 °C a 27 °C. (María & Restrepo, 2020)

En Ecuador, en el recinto Paipayales que pertenece al cantón Santa Lucía provincia del Guayas, posee características climatológicas tales que permite el cultivo y crecimiento del árbol de Neem. El cantón posee un rango de temperatura de 25 °C a 35 °C con precipitaciones que oscilan entre 1000 y 1400mm. (Delgado-Plaza & Peralta-Jaramillo, 2020)

El Neem es un árbol de crecimiento rápido, robusto, de hoja perenne, siempre verde y frondoso. Sus características se describen en la Tabla 1.2

Tabla 1.2 Características del árbol de Neem (Parrotta & Chaturvedi, 1994)

Especificaciones	Características
Altura	30 [m]
Hojas	Anchas, pH 8.2
Tronco	2.5 [m] de circunferencia
Fruto	Liso, elipsoidal, 2 [cm] largo
Flores	Pequeñas blancas y bisexuales
Semillas	Oleaginosas, 1.4 [cm] largo
Tiempo de vida	200 años

Las hojas objeto de estudio se encuentran agrupadas en la extremidad de las ramas del árbol compuestas por 9 a 7 folíolos alargados con bordes dentados; son pecioladas de forma aserradas y miden alrededor de 7 a 10cm de largo, y 3 a 4cm de ancho. Cuando las hojas son retoños (hoja joven) poseen un color rojo cobrizo, al madurar cambian de coloración a verde brillante. (Jennifer Mordue & Nisbet, 2020)

El árbol de Neem posee alrededor de 30 metabolitos insecticidas; entre ellos, el más importante y que le da la propiedad insecticida es la sustancia identificada como Azadiractina. (Majano I, 2017) La actividad insecticida de la Azadiractina afecta de manera significativa el comportamiento, crecimiento, desarrollo y fisiología de las plagas. Los efectos del Neem son combinados, su grado de acción depende de la especie de plaga y del estado de desarrollo. (Benavides et al., 2001)

1.4.2 Azadiractina

1.4.2.1 Estructura química de la Azadiractina

La azadiractina es una clase de limonoide con fórmula química $C_{34}H_{44}O_{18}$ y peso molecular de 720,71 g/mol. Este compuesto es complejo debido a que posee varios grupos funcionales tales como: cuatro ésteres, un epóxido, un hemiacetal, dos grupos hidroxilo y enlaces de hidrógeno intramoleculares. La azadiractina es un compuesto polar, posee alta solubilidad en solventes polares orgánicos y una solubilidad parcial en agua. Esta sustancia presenta inestabilidad ante condiciones básicas, ácidas y posee fotosensibilidad. (Fernandes et al., 2019)

1.4.3.1 Pretratamiento de las hojas de Neem

La extracción de Azadiractina requiere de un pretratamiento que inicia con la recolección de hojas del árbol de Neem y el lavado de estas con agua destilada (Hossain et al., 2013). Después de esto, se secan las hojas a temperatura ambiente por un determinado número de días hasta tener un peso constante. Por otro lado, existen tres etapas en el secado. En base a la ilustración 1.2, inicialmente la velocidad de secado posee pendiente positiva, luego la velocidad de secado se vuelve decreciente y lineal hasta obtener una menor cantidad de humedad en un tiempo determinado. (McCabe et al., 2007)

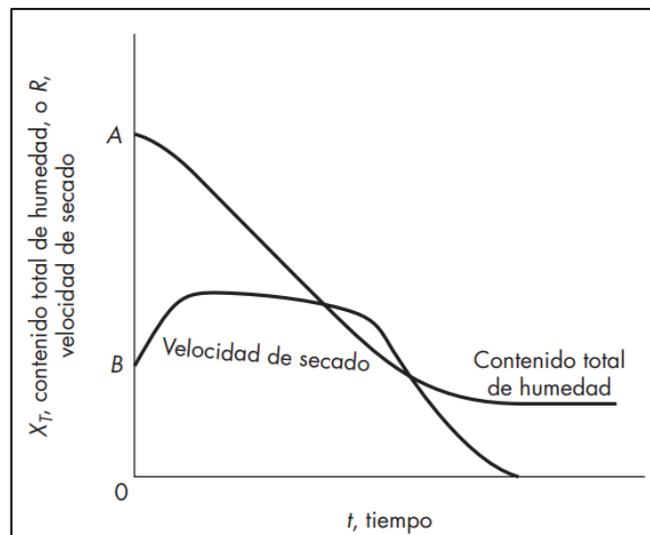


Ilustración 1.2 Curvas de secado (McCabe et al., 2007)

Las hojas son molidas empleando un instrumento mecánico o eléctrico que facilite la obtención de un tamaño de partícula inferior a $700 \mu\text{m}$, el polvo es almacenado en un recipiente hermético. (Subramanian et al., 2019a)

1.4.3.2 Técnicas de extracción

Para la extracción de Azadiractina existen diversas técnicas, entre las más utilizadas para extractos acuosos están: extracción soxhlet, maceración y fermentación.

- **Extracción Soxhlet**

La extracción soxhlet requiere de la selección de solventes adecuados basándose en propiedades fisicoquímicas como la estabilidad térmica y la polaridad. Esta extracción es de reflujo continuo y se usa para análisis alimentarios, biológicos, farmacéuticos, etc. (Yue et al., 2018)

- **Maceración**

La maceración es un método convencional empleado para la extracción de compuestos bioactivos. Esta metodología consiste en el contacto entre un compuesto sólido de carácter biológico (polvo) con un solvente orgánico (hexano), alcohólico (etanol, metanol) o agua por un período de tiempo. Uno de los solventes más utilizados es el agua debido a sus propiedades químicas como polaridad, así como la facilidad de adquisición de este.

La eficiencia del método depende de los parámetros de operación, la naturaleza y la estructura química del compuesto bioactivo. En base a estudios preliminares de la influencia de variables como: tiempo de maceración, tamaño de partícula y frecuencia de agitación, se encontró que esta última variable afecta de forma significativa a la eficiencia del método. (Duarte-Trujillo et al., 2020)

- **Fermentación**

La fermentación es un proceso empleado para transformar la materia prima y elaborar alimentos o medicina natural. Esta técnica se da por la acción de microorganismos en sólidos biológicos, aprovechando su actividad metabólica para obtener un producto. (Parzanese, 2019)

1.4.4 Caracterización de la Azadiractina

Entre las técnicas de caracterización para la determinación de contenido de Azadiractina se encuentran, cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) (Giraldo et al., 2015), cromatografía de capa fina (TLC) (Vega-Jarquín, 2018), cromatografía de fluido supercrítico (Escalante et al., 2019), cromatografía de gases (Flores Ramirez, 2016), espectrofotometría UV-visible (Perez & Macias, 2021).

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica empleada para la caracterización cualitativa y cuantitativa de una sustancia. Usada debido a su rapidez, sencillez y aplicabilidad a una gran cantidad de componentes activos y sus derivados. (Sala et al., 2016) El análisis se basa en la cuantificación de la luz absorbida por las moléculas al promocionar el electrón de un estado basal a un estado excitado. La Azadiractina presenta una máxima absorción a valores bajos de longitud de onda (≤ 220 nm) debido a su cromóforo de carbonilo α , β insaturado.(Arias, 2020)

La ilustración 1.3 muestra el espectro de absorción estándar (diluidos en metanol) de azadiractina y salanina respectivamente. A una longitud de onda de 215 nm se observa un máximo absoluto de absorbancia correspondiente a la molécula de Azadiractina. (Agrawal, 2005)(Baidal & Baque, 2021)

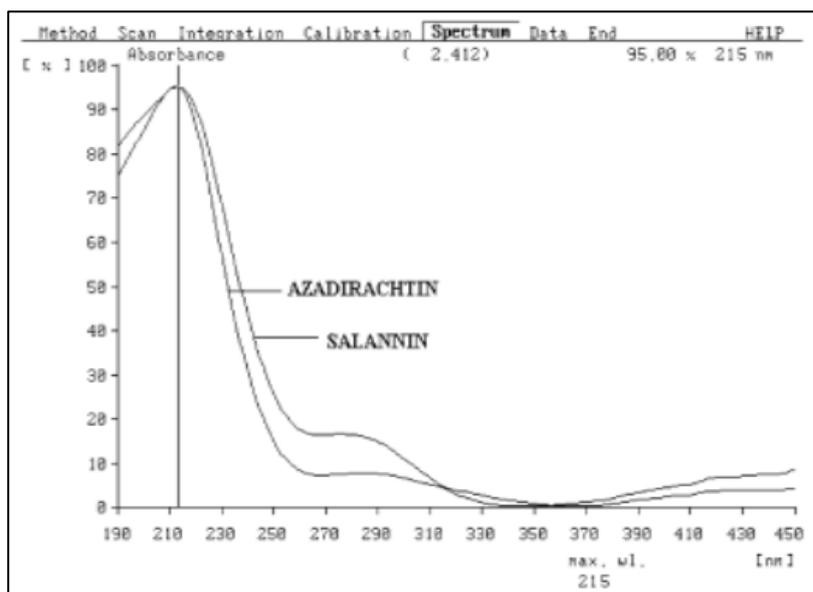


Ilustración 1.3 Espectros UV - vis de los estándares de Azadiractina y Salanina (Agrawal, 2005)

1.4.5 Técnicas estadísticas para la determinación de diferencias significativas en las variables del proceso.

Existen diversas técnicas estadísticas para el tratamiento de datos experimentales entre las más utilizadas para evaluar asociación entre variables están: Prueba de

Normalidad, Prueba Anova F, Kruskal-Wallis y Prueba de hipótesis de Tukey.

1.4.5.1 Prueba de normalidad.

La distribución normal, tanto en el caso univariante como en el multivariante, es la más importante de las distribuciones. (Ferreira, 2011), (Evans et al., 2010) Atribuyen esta importancia al teorema del límite central, que muestra que la distribución normal es la forma límite de otras distribuciones. La mayoría de los análisis de datos se realizan utilizando métodos inferenciales, que se basan en el supuesto de normalidad. De esta forma, la evaluación de la normalidad se vuelve necesaria para la calidad de la inferencia.

Se han propuesto muchas pruebas y procedimientos para verificar la normalidad univariante y multivariante. Según (Angelo CIRILLO & Furtado FERREIRA, 2003), las pruebas de normalidad multivariante son extensiones del caso univariante. De esta forma, las más utilizadas son, Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov. (Shapiro & Wilk, 1965)

1.4.5.2 Prueba Anova F (análisis de varianzas) y prueba de Kruskal-Wallis

La F de Anova es una prueba paramétrica utilizada para comparar medias y verificar si existe alguna diferencia entre las medias poblacionales, es decir, bajo la hipótesis nula de media y varianza estadísticamente iguales en cada grupo. Un valor alto de F indica que al menos una de las medias analizadas es diferente a las demás. El valor p indica la probabilidad de que las medias de la serie sean iguales. Sin embargo (Siegel et al., 2010) señala que la prueba F no indica qué medias son diferentes de las demás. Para efectos de este trabajo, el p-valor se evaluará de acuerdo con un nivel de significancia del 5%.

La prueba de Kruskal-Wallis, es una prueba no paramétrica, que se basa en un ranking de observaciones para verificar si dos o más muestras pertenecen a la misma población, verificando la hipótesis nula de que las k muestras provienen de la misma población o de poblaciones idénticas con la misma mediana. El

estadístico de prueba tiene una distribución de 2 con $k-1$ grados de libertad, es decir, el valor p indica la posibilidad de que la serie sea igual. (McClave, 2014)

1.4.5.3 Prueba de hipótesis de Tukey

El método propuesto por (Tukey, 2014) utiliza un algoritmo basado en la obtención de un único valor a calcular y su aplicación se restringe al resultado del análisis de varianza (ANOVA) que detectará la existencia o no de una diferencia entre las medias de los tratamientos probados por F .

Según (Montgomery, 2003), el algoritmo de proceso para realizar la prueba de Tukey es inflexible y requiere la mayor diferencia posible entre las medias observadas en el contraste. La determinación del valor de Tukey D se utiliza para todas las comparaciones de pares de medias dentro de los contrastes ya que el valor de D Tukey limita el análisis entre pares de medias.

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

2.1 Materiales, equipos y reactivos

2.1.1 Materiales

- Bolsas plásticas, marca ziploc.
- Botellas color ámbar
- Probeta de 200 ml
- Papel filtro
- Kitasato
- Embudo buchner
- Celdas de cuarzo de 4 cm
- Micropipetas, marca Thermo Fisher Scientific (100-1000 μ l)

2.1.2 Equipos

- Bomba de vacío
- Licuadora, marca Osterizer
- Procesador de alimentos, marca
- Estufa, marca memmert
- Balanza analítica, con capacidad de 150 g y precisión de 0.1 mg, marca Sartorius
- Equipo para análisis granulométrico con tamices, marca Ele International.
 - Tamiz N° 18, abertura 1000 μ m.
 - Tamiz N° 25, abertura 710 μ m
 - Tamiz N° 35, abertura 500 μ m.
 - Tamiz N° 230, abertura 63 μ m

Tamiz N° 400, abertura 38 μm

- Espectrofotómetro UV-Vis, marca Thermo Fisher Scientific, modelo Genesys 10S
- Secador solar

2.1.3 Reactivos

- Etanol al 96% v/v

2.2 Diagrama de flujo del proceso de obtención de Azadiractina

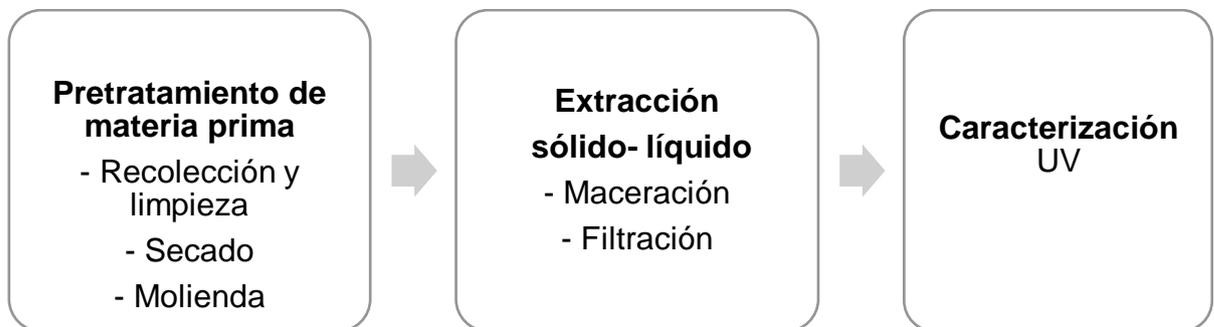


Diagrama 2.1 Etapas experimentales del proceso.

2.3 Etapas experimentales

2.3.1 Pretratamiento de las hojas de Neem

2.3.1.1 Recolección y limpieza

Las hojas de Neem fueron recolectadas de cuatro árboles diferentes en el sector de Paipayales y un árbol del sector de Monte Oscuro. Los árboles se encontraban a diferentes distancias y presentaban una antigüedad distinta entre ellos.

Tabla 2.1 Coordenadas de los árboles de Neem.

Árboles de Neem	1	2	3	4	5
Coordenadas UTM	714947.95 9806284.69	614931.03 9806367.99	615012.55 9806462.72	614890.46 9806683.12	606148.69 9807959.28

Se recolectó las hojas con sus ramas y se colocó en bolsas de plástico, las cuales fueron enumeradas para diferenciarlas. Posterior a esto, se realizó el lavado de las hojas con agua de grifo y agua destilada para la remoción de impurezas.

A continuación, se secaron las hojas con papel absorbente y se procedió a desprender las hojas de las ramas para almacenarlas en fundas ziploc previo a las etapas posteriores. (Hossain et al., 2013)



Ilustración 2.1 Recolección de hojas de Neem.



Ilustración 2.2 Limpieza de las hojas de Neem.



Ilustración 2.3 Secado y almacenamiento de las hojas de Neem.

2.3.1.2 Secado

El proceso de secado se realizó en dos ensayos, siendo el primer ensayo del día 04 al 12 de julio, el segundo ensayo del día 25 de julio al 4 de agosto, y el tercer ensayo del día 16 de agosto al 25 de agosto del año 2022. El proceso de secado de los ensayos se llevó a cabo con una humedad relativa de 67% y máxima de 70%, y temperatura promedio mínima de 26 °C y máxima de 30 °C.

Para el secado se utilizó un prototipo de secador solar, las especificaciones se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 2.2 Características y dimensiones del prototipo de secador solar.

Descripción	Material	Dimensiones
Estructura	Madera	147 cm x 64 cm
Cobertura	Polietileno transparente	84 cm x 64 cm
Bandejas	Madera, lienzo	57x31x4 cm Distancia entre bandeja 25 cm

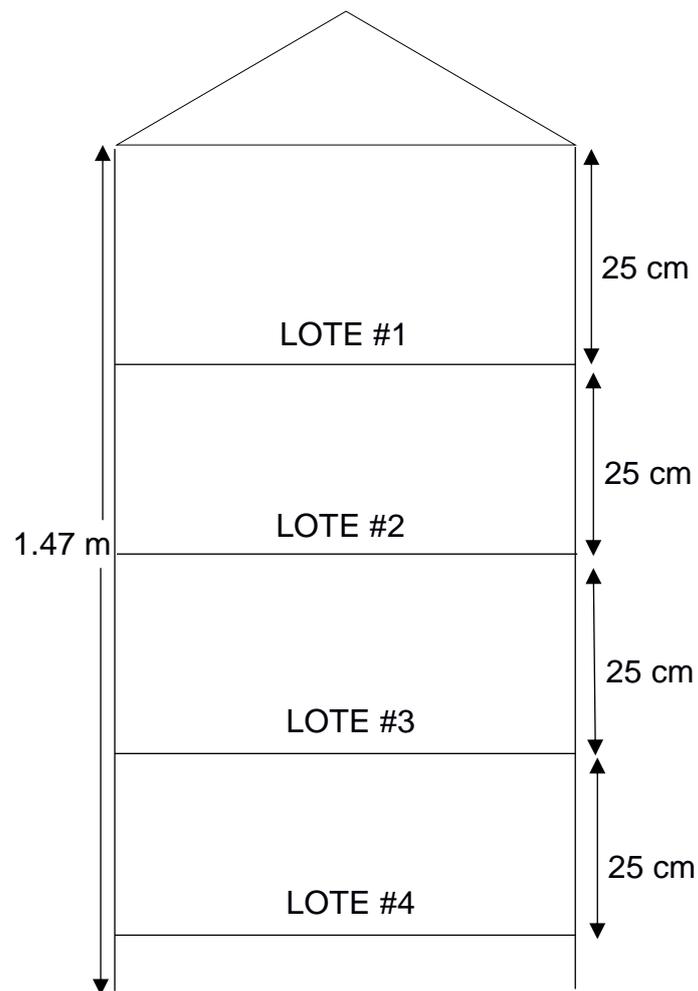


Ilustración 2.4 Especificaciones de diseño del prototipo de secador solar.

El prototipo se ubicó en un área específica despejada donde recibió la luz solar. Luego, se colocaron las hojas de forma homogénea cubriendo toda el área de las bandejas. Al prototipo de secador solar se le realizó un corte diagonal a un costado con la finalidad de apilar las bandejas en forma de estante, y permitir el ingreso del flujo de aire al prototipo para evitar el crecimiento de hongos o bacterias en las hojas de Neem.



Ilustración 2.5 Pesado de hojas y prototipo de secador solar.

2.3.1.2.1 Humedad de las hojas

Inicialmente se identificó las bandejas enumerándolas secuencialmente del lote #1 al lote #4 y se registró el peso inicial de las mismas, presentados en la siguiente tabla.

Tabla 2.3 Peso total (bandejas y hojas) empleadas en el secador.

	Ensayo #1	Ensayo #2	Ensayo #3
Lote #1	1190g	1305g	1270g
Lote #2	1372g	1509g	1414g
Lote #3	356g	441g	388g
Lote #4	279g	459g	421g

En la primera etapa del proceso de secado se controló la variación del contenido de agua eliminada con una frecuencia de 30 minutos por 6 horas consecutivas. Luego se realizó el seguimiento diariamente verificando la reducción del peso de las hojas de Neem, con el objetivo de obtener las curvas de humedad. El proceso de secado para los tres ensayos tuvo un periodo de 09 días, hasta que el peso de los lotes se mantuvo constantes.

2.3.1.3 Molienda

En la ilustración 2.6 se evidencia el proceso de trituración de las hojas de Neem, utilizando una licuadora y un procesador de alimentos. Tratamiento que se realizó para los cuatro lotes de los tres ensayos.



Ilustración 2.6 Molienda de hojas de Neem.

En la ilustración 2.7 se muestra las hojas de Neem almacenadas en un contenedor cubierto con papel aluminio para evitar el traspase de la luz.



Ilustración 2.7 Hojas de Neem en polvo y su contenedor.

2.3.1.3.1 Determinación del diámetro característico

Se realizó un análisis granulométrico de las hojas de Neem, por tamizado en el laboratorio de Aguas de Espol, siguiendo las especificaciones de la norma U.S.A. estándar para tamices de prueba ASTM E-11. Se utilizó el equipo tamizador durante 10 minutos para agitar 256,4 g de muestra correspondiente al primer ensayo; luego se agitó 340,4 g de muestra del segundo ensayo con el fin de conocer la masa de las partículas que quedan retenidas en cada nivel del tamizador. Los tamices que se

utilizaron fueron los siguientes N°18, N°25, N°35, N°230 y N°400 con aberturas de 1 mm, 710 μm , 500 μm , 63 μm , y 38 μm respectivamente. 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.



Ilustración 2.8 Pesado de muestra inicial y proceso de tamización.

2.3.2 Extracción sólido-líquido de la Azadiractina de las hojas del árbol de Neem

2.3.2.1 Maceración

Después del proceso de secado y molienda de la muestra, se realizó la maceración en la cual se efectuó dos experimentos, en el primero se utilizó como solvente agua y en el segundo etanol al 96% v/v. Se empleó las relaciones masa/solvente de 20 g/200 ml, 35 g/200 ml y 50 g/200 ml para cada caso, se triplicó cada relación para comparar posteriormente los resultados.(Tulashie et al., 2021) . La muestra en polvo fue pesada y colocada en frascos color ámbar debido a que la azadiractina se caracteriza por ser fotosensible, posterior a esto se agregó el agua (primer experimento) y en el otro caso se agregó etanol (segundo experimento). Las muestras se dejaron macerando por un período de 3 días y se agitó los frascos por 5 minutos haciendo pausas hasta completar una hora cada mañana, de forma que la muestra se homogenice.



Ilustración 2.9 Maceración de la muestra.

2.3.2.1.1 Diseño experimental de la investigación

Para la identificación de la presencia de Azadiractina se propuso un diseño factorial (ANOVA), fijando la variable independiente con un tratamiento representado por las concentraciones masa/solvente de la maceración, y con dos tipos de extractos: acuosos y alcohólicos. Se comparó la absorbancia con respecto a las variables independientes para cada longitud de onda, dando un total de 410 pruebas de ANOVA.

Tabla 2.4 Diseño ANOVA factorial.

	Descripción
Variable dependiente	Absorbancia de azadiractina
Variable independiente	Tratamiento: relación de concentración: 20 g/ml, 35 g/ml, 50 g/ml.
	Bloque: extractos acuosos, extractos alcohólicos.

2.3.2.2 Filtración

Continuando con el proceso de extracción, se filtró la muestra de los frascos haciendo uso de una bomba al vacío. Para esta etapa, se colocó el papel filtro en el embudo, se agregó la muestra por partes y se filtró para obtener la parte líquida que posee el principio activo. El extracto obtenido se almacenó en frascos de ámbar identificados con la relación masa/solvente correspondiente.

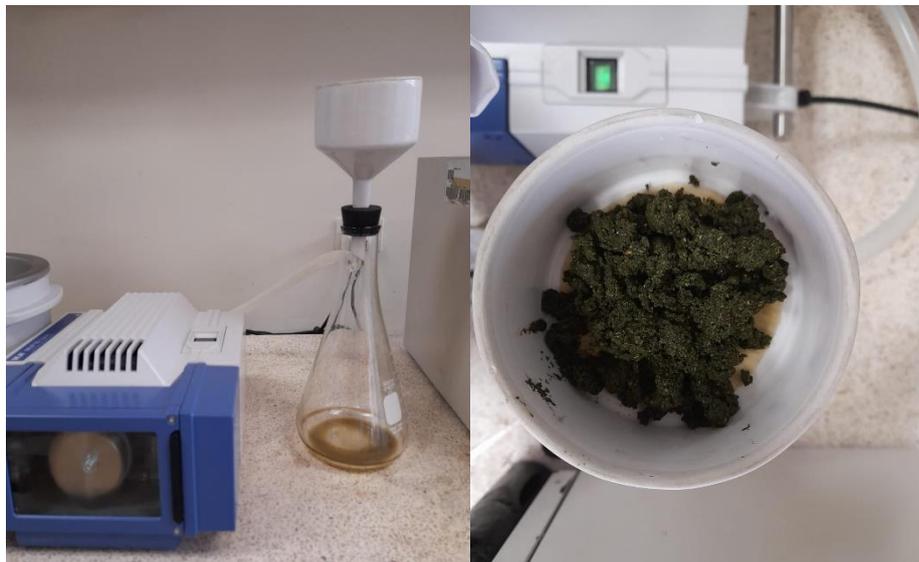


Ilustración 2.10 Filtración de Azadiractina.

2.3.2.3 Caracterización

Como fase final de la experimentación se caracterizó los extractos acuosos y alcohólicos obtenidos. Para esto, se hizo uso de un espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific modelo GENESYS 10 S con un rango espectral de 190 nm a 600 nm. Inicialmente se efectuó la prueba con la línea base, es decir con solvente agua para los extractos acuosos y etanol al 96% para los extractos alcohólicos. Luego, se obtuvieron los espectros de todos los extractos tal como se detalla en el diagrama 2.2.

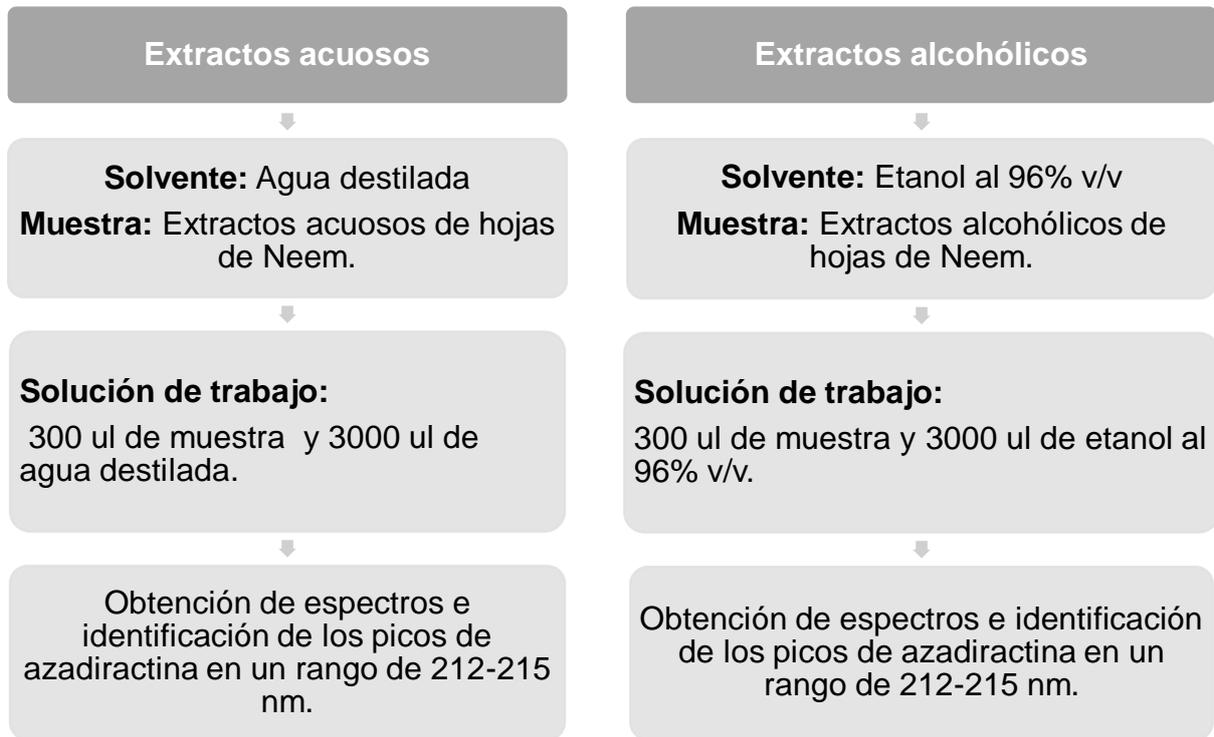


Diagrama 2.2 Caracterización de extractos acuosos y alcohólicos.



Ilustración 2.11 Caracterización de la Azadiractina.

2.4 Tratamiento estadístico

Se aplicó un análisis estadístico mediante ANOVA y comparativa múltiples de pares de TUKEY a los datos obtenidos de concentración de Azadiractina en hojas y frutos de Neem usando el software IBM SPSS®. Antes de realizar el análisis estadístico se comprobó que los datos cumplan los siguientes supuestos:

- Los datos siguen una distribución normal
- Homocedasticidad, los datos poseen igual varianza

Se estableció como hipótesis nula (H_0) y como hipótesis alterna (H_1), las técnicas de ANOVA y TUKEY nos permitió la aceptación o rechazo de la hipótesis nula lo que permitió concluir cuales son las diferencias significativas entre los efectos de las variables de operación del proceso de extracción acuosa y alcohólica. Tanto para el análisis ANOVA y la comparativa TUKEY se utilizó una significancia del 95%.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Secado

3.1.1 Humedad de las muestras

En el Apéndice B se muestran los datos de humedad del lote #1 al lote #4 obtenidos del seguimiento diario a las hojas de Neem para los tres ensayos. El proceso de secado para los ensayos tuvo un periodo de nueve días, hasta que el peso de los lotes se mantuvo constantes.

3.1.2 Curvas de humedad

Se observa en la ilustración 3.1 las curvas de secado que describe el comportamiento de la humedad en función del tiempo del lote #1 al lote #4 de los tres ensayos realizados. En la primera etapa del proceso es donde ocurre el calentamiento de la muestra, se controló la variación del contenido de agua eliminada con una frecuencia de 30 minutos por 6 horas consecutivas. En la segunda etapa se produce el secado a velocidad constante, se elimina la humedad libre y se moviliza la humedad ligada hacia la superficie de las hojas de Neem. Para el ensayo 1 la segunda etapa empieza desde el día 1 y termina en el día 4; así mismo para el ensayo 2 esta etapa empieza desde el día 1 y termina en el día 8; y para el ensayo 3 la segunda etapa empieza desde el día 1 y termina en el día 7.

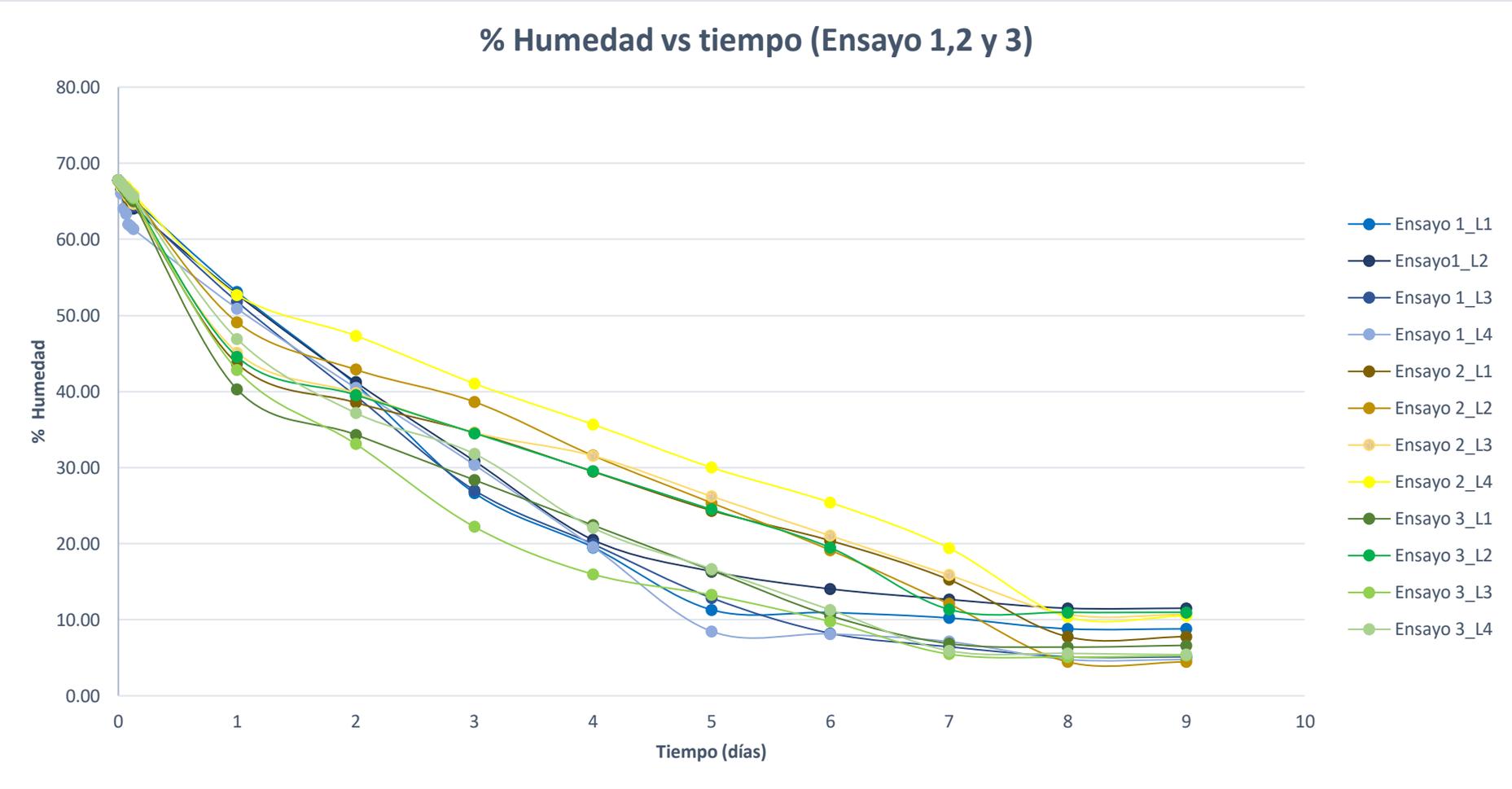


Ilustración 3.1 Curva de humedad de ensayo 1,2 y 3

La última etapa es la de velocidad decreciente, en donde se elimina la humedad ligada dando fin al proceso de secado. Los porcentajes de humedad final para cada lote de los tres ensayos realizados se muestran en la tabla 3.1

Tabla 3.1 Porcentaje de humedad final de hojas de Neem

	Ensayo 1		Ensayo 2		Ensayo 3	
Tiempo	Lote	%Humedad	Lote	%Humedad	Lote	%Humedad
9 días	1	8.81	1	7.78	1	6.64
	2	11.52	2	4.46	2	10.98
	3	5.13	3	10.71	3	5.29
	4	4.78	4	10.53	4	5.41

De acuerdo (Carrera Romero L.G., 2019) el porcentaje de humedad para un proceso de secado es de 8% al 14%, como se puede observar en la tabla 3.1 los porcentajes se encuentran dentro de especificación, lo que indica que el proceso de secado transcurrió en un periodo de 9 días, asegurando poder avanzar a las siguientes etapas de la metodología y así poder evitar posibles apariciones de hongos sobrepasando este periodo. Al tener menor cantidad de humedad en las hojas de Neem se benefician procesos posteriores, como la molienda.

Mediante un análisis estadístico se evaluaron las variables de humedad y posición de los lotes en el prototipo de secador solar a fin de obtener si existe diferencia significativa entre las curvas de humedad de los cuatro lotes para los tres ensayos, ver Ilustración 3.1. A partir de un análisis ANOVA con un intervalo de confianza del 95%, se estableció como hipótesis nula (H_0) la igualdad de media para la humedad respecto a los tres ensayos de secado. Se observa en la Ilustración 3.2 aquellos “valores p” que son mayor a la significancia del 0.05 (puntos por arriba de la línea discontinua roja) no se rechaza la hipótesis nula (H_0), por tanto, sus medias de humedad en cada tiempo de las muestras de cada secado son estadísticamente iguales. Lo que me indica que no existe diferencia significativa entre las curvas.

3.2 Análisis granulométrico

Con los datos obtenidos de la tamización de las muestras 1 y 2 se determinó el tamaño de partícula al pasar el 80% de cada muestra. Para esto, se empleó el software Excel con el cual se obtuvo los porcentajes retenidos y acumulados para cada tamaño de tamiz empleado. En la tabla 3.2 se muestra los resultados obtenidos del diámetro de partícula en mm al pasar el 80% de cada muestra.

Tabla 3.2 Diámetros de partícula de cada muestra.

Número de muestra	Diámetro de partícula D_{80} (mm)
1	0.50
2	0.53

En la ilustración 3.4 se corrobora que pasa el 80% de la muestra para diámetros menores a 1 mm, pero mayores a 0.5 mm, es decir el tamiz N° 35. En base a literatura, se tiene que los diámetros obtenidos se encuentran dentro del rango de 0.425 mm y 0.710 mm.(Subramanian et al., 2019). El diámetro de partícula es fundamental en el proceso de extracción de Azadiractina debido a que en base a dicho valor se obtendrá un mayor o menor porcentaje de principio activo. En este caso, el tamaño de partícula se encontraba dentro del rango para la realización de los procesos de maceración y filtración, de forma que se disolvió parcialmente en agua y etanol. La etapa previa de secado influyó en el proceso de molienda debido a que una mayor humedad no permite la reducción adecuada del diámetro de partícula de hojas de Neem, lo cual afecta a las etapas posteriores de maceración, filtración y caracterización de Azadiractina.

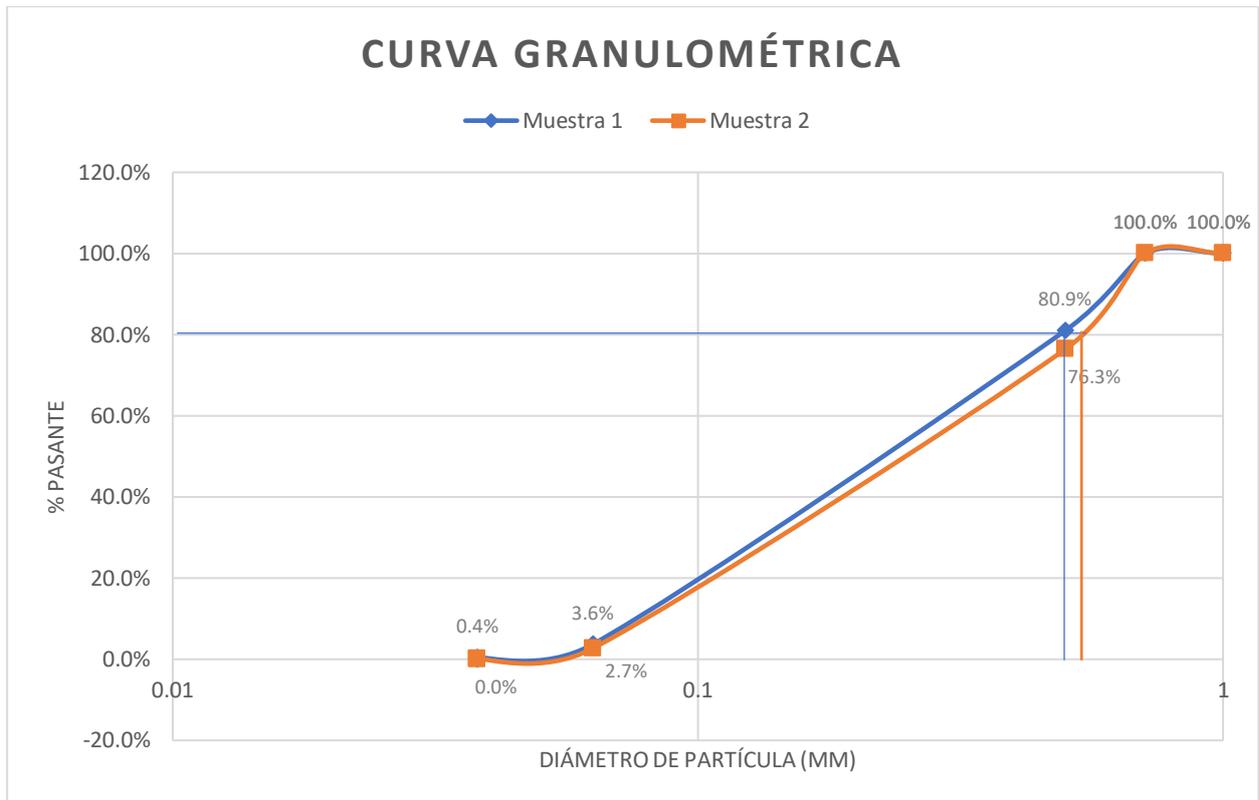


Ilustración 3.4 Curvas granulométricas de los ensayos 1 y 2.

3.3 Caracterización de Azadiractina

Para este proyecto se empleó 18 unidades experimentales divididas en extracto acuoso y extractos alcohólicos. Se realizó barridos espectrales por espectrofotometría UV-Vis.

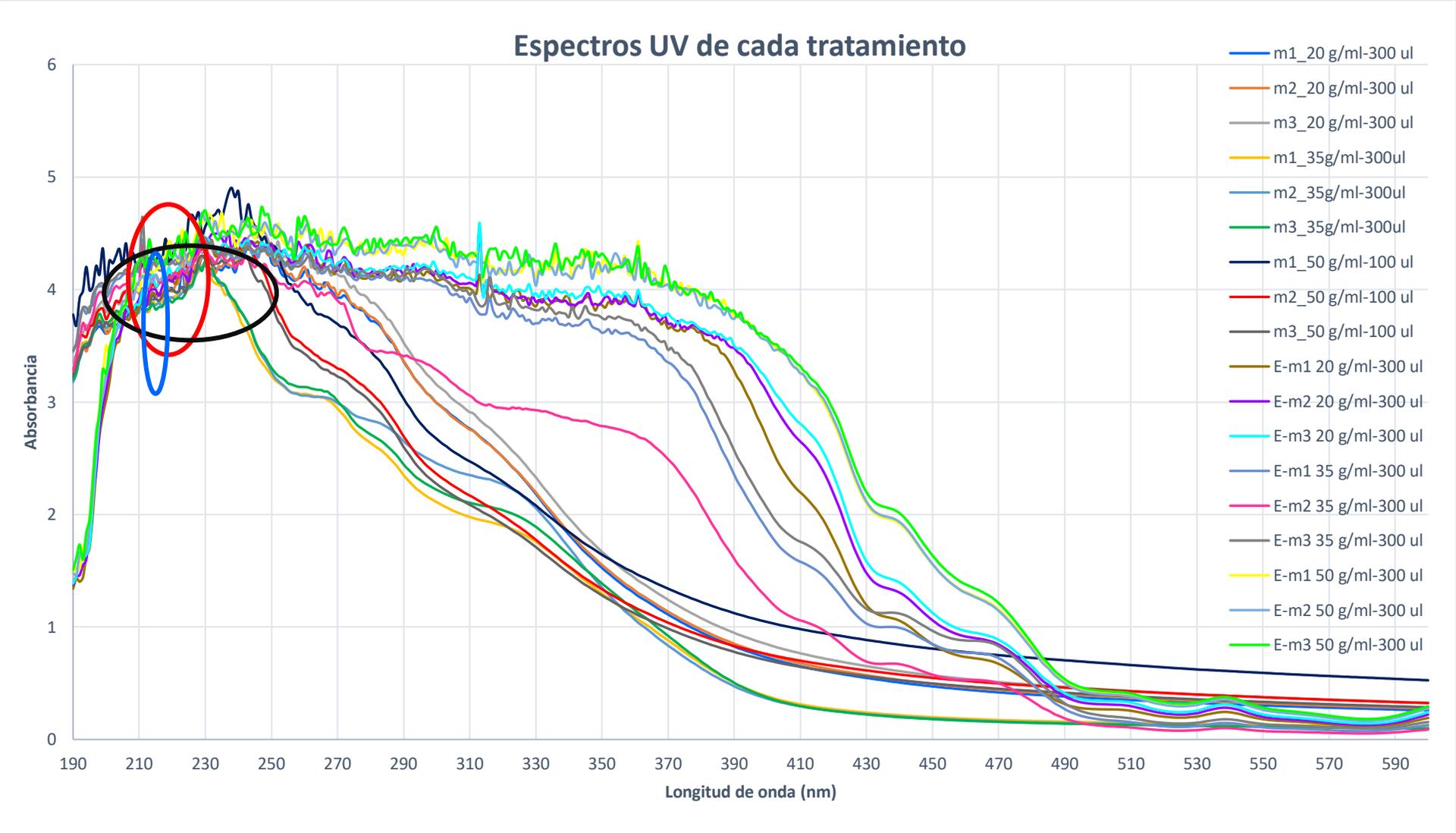


Ilustración 3.5 Espectros de las 18 unidades experimentales

En la ilustración 3.5 se observa los espectros para los tratamientos realizados con agua y etanol a diferentes concentraciones tal como se mencionó en la sección de diseño experimental del capítulo 2. En la gráfica se visualiza que a una concentración de 20 g/ml los extractos acuosos y alcohólicos presentan una tendencia similar en el rango de 200 a 230 nm, los espectros se solapan en dicha área y presenta picos de 212 a 215 nm lo cual indica la presencia de azadiractina (ver círculo rojo). En el caso de la concentración de 35 g/ml, los espectros de cada caso (acuoso y alcohólico) presentan una absorbancia máxima a una longitud de onda entre 200 y 215 nm lo cual muestra que existe componente activo. Por otro lado, para la concentración de 50 g/ml los espectros para los dos tipos de extractos (acuoso y alcohólico) se comportan de forma similar hasta una longitud de onda 250 nm (ver círculo color negro).

Los espectros en todos los tratamientos presentan semejanzas y picos en el rango de interés lo cual indica que podría existir el compuesto orgánico. Sin embargo, en todos los tratamientos para el caso de los extractos que se usó como solvente etanol al 96% se identificó picos adicionales en el rango de 230 a 380 nm, los cuales corresponderían a los compuestos de metabolismo primario (lípidos y ceras), compuestos fenólicos (antraquinonas), compuestos del metabolismo secundario (alcaloides y flavonoides), limonoides (nimbolidas, salanina, nimbinas, melantriol), los mismos que poseen propiedades terapéuticas y biológicas tales como: antioxidantes, antiinflamatorias, antivirales y antimicrobianas (espectros de neem, caracterizaciones) fitoquímicas (Chaudhary et al., 2017).

Al comparar los espectros se evidenció que la azadiractina y los demás componentes activos del Neem son parcialmente solubles en agua. Por otro lado, al emplear etanol como solvente se obtiene un extracto concentrado con los demás constituyentes puesto que los limonoides son altamente solubles en alcoholes. En base a estudios, se ha demostrado que los extractos alcohólicos poseen un rendimiento del 50% más concentrado que en el caso de emplear agua como solvente (Chaudhary et al., 2017).

3.4 Análisis estadístico

Se realizó 31 pruebas de hipótesis en cada longitud de onda, para probar si las medias de poblaciones de las absorbancias en agua en cada muestra de 20g/ml, 35g/ml, y 50g/ml son todas iguales, o caso contrario existe al menos una que sea diferente.

Se evidencia en la ilustración derecha 3.6 que el 100% de las comparaciones en cada longitud de onda da como resultado que las medias de absorbancia son iguales en todo el rango de 190mm a 220mm, es decir que al utilizar cualquiera de las tres concentraciones de extracto acuoso se obtendrá una absorbancia similar.

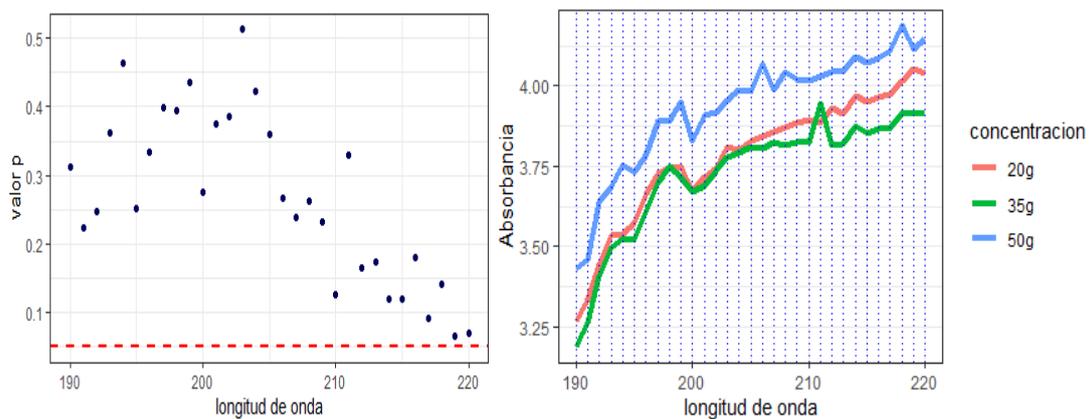


Ilustración 3.6 Prueba de hipótesis para extractos acuosos (20 g/ml, 35 g/ml, 50 g/ml)

Por otro lado, se probó si las medias de poblaciones de las absorbancias en etanol en cada muestra de 20g/ml 35g/ml, y 50g/ml son todas iguales, o caso contrario existe al menos una que sea diferente. Se observa en la ilustración 3.7 que solo en 3 longitudes de onda las medias de absorbancias son iguales en las longitudes de onda de 213mm, 214mm, y 217mm (ver líneas verticales azules de la ilustración). Es decir, que emplear un extracto alcohólico a diferentes concentraciones si presenta diferencias significativas.

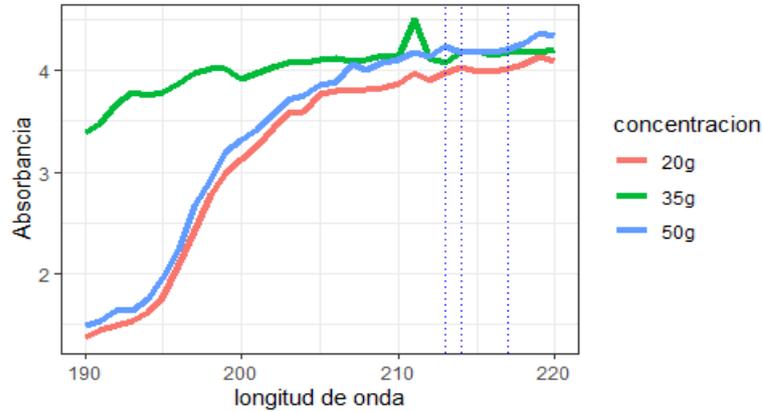


Ilustración 3.7 Prueba de hipótesis para extractos alcohólicos (20 g/ml, 35 g/ml, 50 g/ml)

También se comparó si las medias de poblaciones de las absorbancias en etanol de las muestras de 20g/ml y 35g/ml son todas iguales, o si existe al menos una que sea diferente. Se evidencia que solo en 6 longitudes de onda las medias de absorbancias son iguales para 213mm, 214mm, 217mm, 218mm, 219mm, 220mm (ver ilustración 3.8, líneas azules verticales). En este caso, al usar los extractos alcohólicos en alguna de las dos concentraciones se obtendrá resultados similares dentro del rango de interés de 212nm- 215nm.

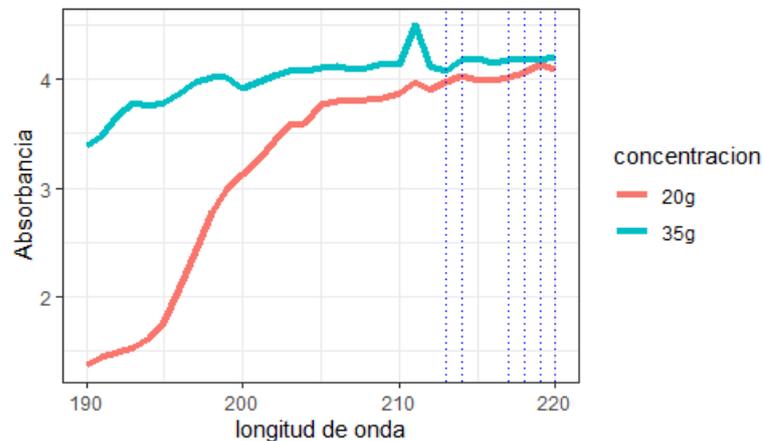


Ilustración 3.8 Prueba de hipótesis para extractos alcohólicos (20 g/ml, 35 g/ml)

Así mismo se probó si las medias de poblaciones de las absorbancias de etanol en cada muestra de 20g/ml y 50g/ml son todas iguales, o si existe al menos una que sea diferente. Se visualiza en la ilustración 3.9 (líneas azules) que solo en 12 longitudes de onda, las medias de absorbancias son iguales para los intervalos: [191-194]mm, 196mm, [199-

201]mm, 203mm, 205mm, y [213-214] mm. Basándose en los resultados, al utilizar un extracto alcohólico a una concentración de 20 g/ml o 50 g/ml se obtendrá una tendencia similar en el rango de interés.

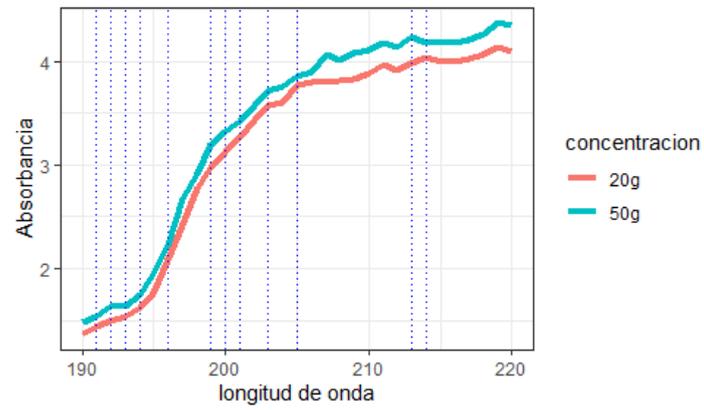


Ilustración 3.9 Prueba de hipótesis para extractos alcohólicos (20 g/ml, 35 g/ml)

También se comparó los tratamientos realizados con alcohol y agua para probar si las medias de poblaciones de las absorbancias en agua y etanol en las concentraciones de 20g/ml, 35 g/ml y 50 g/ml son todas iguales. En base a la ilustración 3.10 se evidencia que solo en la longitud de onda de 206mm, las medias de absorbancias son iguales. Es decir, existe diferencia significativa entre los dos tratamientos.

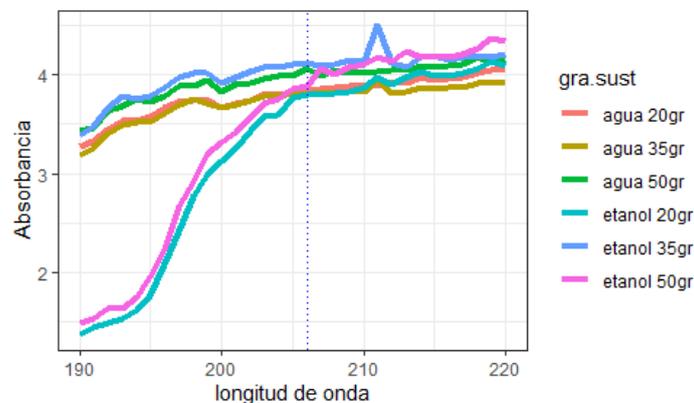


Ilustración 3.10 Prueba para extractos acuosos y alcohólicos (20 g/ml, 35 g/ml, 50 g/ml)

Por otro lado, se realizó una comparación entre las muestras individuales de agua y etanol probando si las medias de las absorbancias en agua y etanol a las concentraciones de 20g/ml, 35 g/ml y 50 g/ml son iguales o al menos una de ellas es diferente. Para una concentración de 20 g/ml se observa que en el intervalo de longitud de onda entre [205-220]mm, las medias de absorbancias son iguales (ver ilustración 3.11). Se realizó la prueba con una concentración de 35 g/ml donde se visualiza que en ninguna longitud de onda las medias son iguales (ilustración 3.12). Al probar si las medias son iguales para agua y etanol a una concentración de 50 g/ml se evidencia que el intervalo de longitud de onda entre [201-220]mm, las medias de absorbancias son iguales (ver ilustración 3.13). Es decir, a esa concentración se podría realizar el tratamiento en agua o etanol.

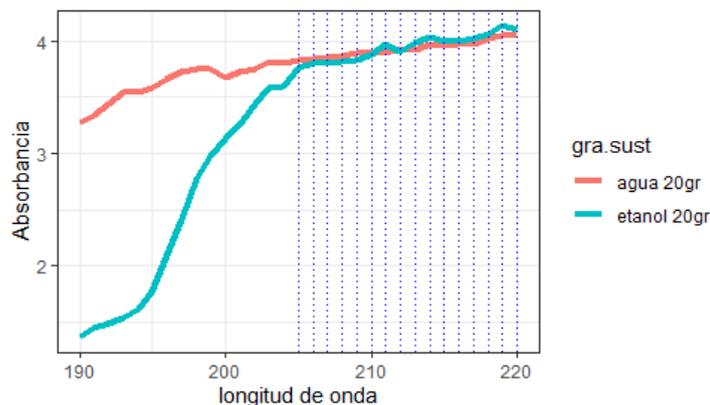


Ilustración 3.11 Prueba para extractos acuosos y alcohólicos (20 g/ml)

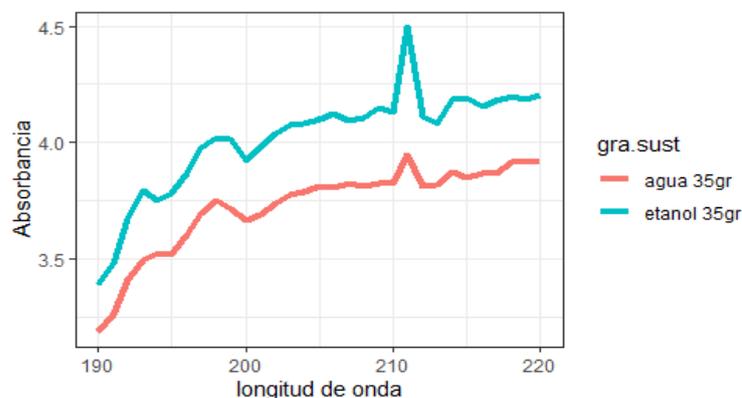


Ilustración 3.12 Prueba para extractos acuosos y alcohólicos (35 g/ml)

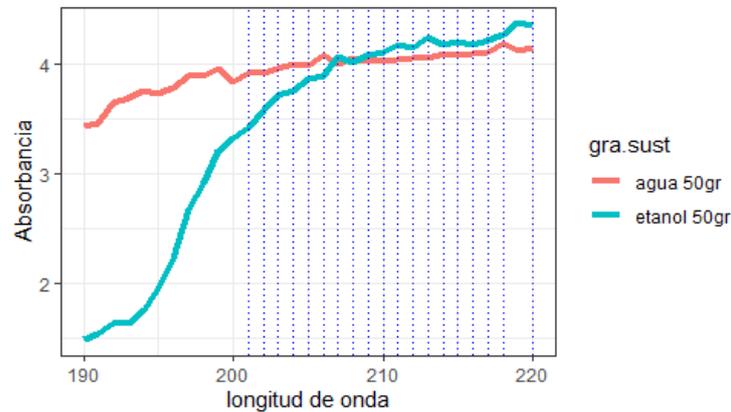


Ilustración 3.13 Prueba para extractos acuosos y alcohólicos (50 g/ml)

3.5 Análisis económico

Para la obtención de Azadiractina a partir del árbol de Neem se requiere una inversión inicial de \$270.31, este valor considerando el pretratamiento y extracción del principio activo. Los materiales y equipos se utilizarán nuevamente en cada lote de extracto producido, y la materia prima se encontraría en la comunidad de Paipayales. En la tabla 3.3 se detalla la inversión inicial.

Tabla 3.3 Detalle de inversión inicial

Parámetro	Valor
Equipos (ver apéndice C.1)	\$152.24
Materia prima	\$19.87
Materiales (ver apéndice C.1)	\$98.20
Total	\$270.31

Considerando estos datos se realizó un flujo de caja con proyección a 5 años considerando los ingresos y egresos (ver Apéndice C.2). Se obtuvo un VAN de \$468. 68 y un TIR del 57% con una tasa de descuento del 8.68%, la inversión se recupera al segundo año por lo que el proyecto es viable económicamente.

El extracto de Neem a nivel nacional se encuentra a la venta con un precio variable en un rango de \$30-\$50, también se puede adquirir polvo de hojas de Neem en un valor de \$36. A nivel internacional, el precio del extracto acuoso posee un valor de \$9.98/fl onz

por lo que mediante este proyecto se garantiza una producción segura, sostenible y de bajo costo para los agricultores.

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 en las comunidades agrícolas, se ejecutó el proceso de tratamiento de las hojas de Neem con su componente activo Azadiractina. Luego de poder culminar todas las etapas que requería el proyecto podemos concluir que:

- Se realizó la caracterización de los tratamientos de extractos acuosos y alcohólicos empleando espectrofotometría UV-Vis con lo cual se identificó picos en el rango de 212 a 215 nm, demostrando la posible presencia de principio activo (Azadiractina) en los dos extractos.
- A partir del análisis estadístico se comparó las concentraciones de 20 g/ml, 35 g/ml y 50 g/ml de extractos acuosos y extractos alcohólicos, con lo cual se obtuvo tendencias similares de absorbancias en las tres concentraciones para el caso del extracto acuoso, por lo que la relación de 20 g/ml es adecuada para la extracción de azadiractina debido a que se emplea menor cantidad de hojas de Neem. En el caso de los frutos de Neem la relación de 30 g/ml es apropiada debido a que presenta picos en el rango de interés de longitud de onda de 212-215nm.
- Se utilizó un prototipo de secador solar para la etapa de secado, con el cual se registró los pesos de las hojas de Neem y se determinó que el tiempo de secado para dicha parte vegetal del árbol fue de 9 días para los diferentes ensayos debido a que el peso de la muestra se mantuvo constante a partir del noveno día. Teniendo en cuenta la literatura (Perez Henry, 2021) menciona que el tiempo de secado para los frutos de Neem fue de 17 días, en comparación con las hojas toma más tiempo el proceso de secado de los frutos.

4.2 Recomendaciones

- Con este proyecto se evidenció que existen varios componentes tales como: limonoides, lípidos, flavonoides en las hojas del árbol de Neem por lo que se recomienda determinar de forma cuantitativa la concentración de principio activo de interés (azadiractina) que poseen dichas hojas considerando todas las etapas del pretratamiento y extracción de azadiractina.
- Se recomienda realizar la etapa de tamización previo a la maceración de forma que se haga uso de un solo diámetro de partícula de 0.5 mm para obtener un extracto homogéneo.
- En la etapa de pretratamiento de la materia prima es fundamental una limpieza con agua destilada para evitar interferencias de otro tipo de partículas al momento de realizar la maceración con el solvente.
- Es necesario realizar un estudio en el que se compare la concentración de principio activo (azadiractina) en los extractos de hojas y de frutos de Neem previo a la elaboración de un biopesticida.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrawal, H. , K. N. , P. A. R. , & M. K. R. (2005). *Standardization of crude extract of neem seed kernels (Azadirachta indica A. Juss) and commercial neem based formulations using HPTLC and extended length packed-columns SFC method. Chromatographia, 62(3-4), 183-195. Doi: 10.1365/s10337-005-0588-6* (Issue 17).
- Angelo CIRILLO, M., & Furtado ferreira, d. (2003). *Extensão do teste para normalidade univariado baseado no coeficiente de correlação quantil-quantil para o caso multivariado* (Issue 3).
- Antonio, M., & Campos, R. (2018). *The Pesticides Use in Agriculture and Their Environmental Disorder*.
- Arias, K. (2020). La espectrofotometría uv-vis como una herramienta para el desarrollo de las habilidades metacognitivas, un estudio enfocado en la actividad antioxidante. *Toward a media history of Documents*.
- Baidal, G., & Baque, Á. (2021). *Análisis de las diferentes técnicas de extracción de azadiractina y su enfoque como componente activo en biopesticidas agrícolas*.
- Benavides-o., e., hernández-m., g., romero-n., a., castro-a., h., & rodríguez-b., j. L. (2001). Evaluación preliminar de extractos del neem (azadirachta indica), como alternativa para el control de la garrapata del ganado Boophilus microplus (Acari: Ixodida). *Revista Colombiana de Entomología, 27(1), 1–8. <https://doi.org/10.25100/socolen.v27i1.9656>*
- Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R. K., & Bandyopadhyay, U. (2018). Biological activities and medicinal properties of neem (Azadirachta indica). in *current science* (vol. 82, issue 11).
- 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*.
- Chaudhary, S., Kanwar, R. K., Sehgal, A., Cahill, D. M., Barrow, C. J., Sehgal, R., & Kanwar, J. R. (2017). Progress on Azadirachta indica based biopesticides in

- replacing synthetic toxic pesticides. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 8). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00610>
- Delgado-Plaza, E., & Peralta-Jaramillo, J. (2020). Lifting of Habitat conditions within the framework of sustainable communities in the Paipayales, Canton Santa Lucia. *Proceedings of the LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education and Technology*. <https://doi.org/10.18687/LACCEI2020.1.1.583>
- Duarte-Trujillo, A. S., Jiménez-Forero, J. A., Pineda-Insuasti, J., González-Trujillo, C. A., & García-Juárez, M. (2020). Extraction of bioactive substances from *pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) by dynamic maceration. *Acta Biologica Colombiana*, 25(1), 61–74. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.72409>
- Escalante, M. A. A., Gardea Béjar, A. A., Vélez De La Rocha, R., García Estrada, R. S., Fasio, A. C., Cháidez Quiroz, C., & Partida López, J. I. (2019). *azadirachtin a content in neem seeds (azadirachta indica a. juss) collected in sinaloa, méxico*. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61027402>
- Evans, M. J., Rosenthal, J. S., & Freeman, W. H. (2010). *Probability and Statistics The Science of Uncertainty Second Edition*.
- Fernandes, S. R., Barreiros, L., Oliveira, R. F., Cruz, A., Prudêncio, C., Oliveira, A. I., Pinho, C., Santos, N., & Morgado, J. (2019). Chemistry, bioactivities, extraction and analysis of azadirachtin: State-of-the-art. In *Fitoterapia* (Vol. 134, pp. 141–150). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.02.006>
- Ferreira, D. F. (2011). *Sisvar: a computer statistical analysis system review sisvar: a computer statistical analysis system sisvar: um sistema computacional de análise estatística* (Vol. 35, Issue 6). www.dex.ufla.br/~danielff.
- Flores Ramirez, N. (2016). *Evaluación de la Aplicación del Extracto de Azadirachta Indica A. Juss en la inhibición de microorganismos*.
- Giraldo, F., Cataño, C., Morales, G., Lopez, C., & Galeano, E. (2015). *Determinacion de Azadirachtina por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia. HPLC en Semillas de Arbol de Neem (A. Indica) Cultivadas en Colombia*.
- Hossain, M. A., Al-Toubi, W. A. S., Weli, A. M., Al-Riyami, Q. A., & Al-Sabahi, J. N. (2013a). Identification and characterization of chemical compounds in different crude extracts from leaves of Omani neem. *Journal of Taibah University for Science*, 7(4), 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2013.05.003>

- Hossain, M. A., Al-Toubi, W. A. S., Weli, A. M., Al-Riyami, Q. A., & Al-Sabahi, J. N. (2013b). Identification and characterization of chemical compounds in different crude extracts from leaves of Omani neem. *Journal of Taibah University for Science*, 7(4), 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2013.05.003>
- INEC. (2014). Uso y Manejo de Agroquímicos en la Agricultura. *Ecuador: INEC*.
- Jennifer Mordue, A., & Nisbet, A. J. (2020). Azadirachtin from the Neem Tree *Azadirachta indica*: its Action Against Insects. In *An. Soc. Entomol. Brasil* (Vol. 29, Issue 4).
- Lepori, E. C. V., Bovi Mitre, G., Nassetta, M., & Filloy, J. (2013). *Situación actual de la contaminación por plaguicidas en argentina*.
- Majano I. (2017). *Evaluación del efecto de dos concentraciones del extracto etanólico de semilla de Neem (Azadirachta indica A. Juss) en el control de garrapatas en bovinos*.
- María, A., & Restrepo, V. (2020). *Análisis del neem (azadirachta indica), como planta invasora en el departamento del tolima analysis of neem (azadirachta indica), as an invasive plant in the department of tolima*.
- Mccabe, W. L., Smith, J. C., & Harriott Peter. (2007). *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química*.
- Mcclave, J. T. , B. P. G. , S. T. , & S. T. (2014). *Statistics for business and economics. Boston: Pearson*.
- Montgomery, D. C. , & R. G. C. (2003). *Estatística aplicada e probabilidade para engenharia*.
- ONU. (2017). *La Agenda y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe*. [Www.cepal.org/es/suscripciones](http://www.cepal.org/es/suscripciones)
- Orozco-Sánchez, F., & Rodríguez-Monroy, M. (2017). *cell suspension culture of azadirachta indica for production of a bioinsecticide* (vol. 6, issue 3).
- Parrotta, J. A., & Chaturvedi, A. N. (1994). *Azadirachta indica A. Juss. Margosa, neem Meliaceae Familia de la caoba*.
- Parzanese, L. M. (2019). *Tecnologías para la industria de alimentos fermentación en sustrato sólido: aprovechamiento de subproductos de la agroindustria ficha n° 27*.
- Pérez, H., Irán, I., & Delgado, R. (2018). *Cultivos tropicales de importancia económica en Ecuador (arroz, yuca, caña de azúcar y maíz)*.

- Perez, H., & Macias, A. (2021). *Cuantificación de Azadiractina presente en extractos acuosos de Neem*.
- Ramírez, J. A., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. In *Arch Prev Riesgos Labor* (Vol. 4, Issue 2).
- Sala, G., MasPOCH, S, Iturriaga, H, Blancot, M., & Cerda, V. (2016). Simultaneous multiwavelength spectrophotometric quantitation of active components in analgesic formulations. Comparative study of three calculation methods*. In *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* (Vol. 6, Issue 8).
- Senthil-Nathan, S., Choi, M. Y., Paik, C. H., Seo, H. Y., & Kalaivani, K. (2009). Toxicity and physiological effects of neem pesticides applied to rice on the Nilaparvata lugens Stål, the brown planthopper. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(6), 1707–1713. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.04.024>
- Shapiro, S. S., & Wilk, ; M B. (1965). An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). In *Biometrika* (Vol. 52).
- Siegel, S., York, N., & London, T. (2010). *Non'Parametric Statistics for the behavioral sciences mcgraw-hill book company, inc*.
- Subramanian, S., Salleh, A. S., Bachmann, R. T., & Hossain, M. S. (2019a). Simultaneous extraction and separation of oil and azadirachtin from seeds and leaves of Azadirachta indica using binary solvent extraction. *Natural Product Sciences*, 25(2), 150–156. <https://doi.org/10.20307/nps.2019.25.2.150>
- Subramanian, S., Salleh, A. S., Bachmann, R. T., & Hossain, M. S. (2019b). Simultaneous extraction and separation of oil and azadirachtin from seeds and leaves of Azadirachta indica using binary solvent extraction. *Natural Product Sciences*, 25(2), 150–156. <https://doi.org/10.20307/nps.2019.25.2.150>
- Tukey, J. W. (2014). *Comparing Individual Means in the Analysis of Variance* (Vol. 5, Issue 2).
- Tulashie, S. K., Adjei, F., Abraham, J., & Addo, E. (2021). Potential of neem extracts as natural insecticide against fall armyworm (Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 4. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2021.100130>
- Vega-Jarquín, C. (2018). *Identification of bioactives metabolites of Neem (Azadirachta indica Adr. Juss.)*.

Yue, Y., Qiu, Deng, A., Yuan, Y., Huang, L. Q., & Lai, C. J. S. (2018). Discoursing on Soxhlet extraction of ginseng using association analysis and scanning electron microscopy. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 8(5), 312–317. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2018.08.003>

APÉNDICES

APÉNDICE A

Ecuación para determinar el porcentaje de humedad de la muestra

$$\%H = (m_d - m_s) * \frac{100}{m_o}$$

$\%H$ = *Porcentaje de humedad*

m_d = *masa de la muestra por día en gramos*

m_s = *masa de la muestra seca en gramos*

m_o = *masa de la muestra inicial en gramos*

Ecuaciones empleadas en granulometría

$$\%R_i = \frac{P_{ri}}{P_T}$$

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

$$\%Pasante = \frac{\%Ra}{\%Ra_f}$$

$\%R_i$ = *Porcentaje retenido en el tamíz i.*

P_{ri} = *Peso retenido en el tamiz i*

P_T = *Peso total de muestra*

$\%Ra$ = *Porcentaje retenido acumulado*

$\%Pasante$ = *Porcentaje que pasa de muestra*

$\%Ra_f$ = *Porcentaje retenido acumulado final*

APÉNDICE B

Humedad de los lotes

Apéndice B.1 Datos de humedad de los lotes #1 al #4 del primer ensayo

Tiempo (días)	Lote #1 (g)	%Humedad	Lote #2 (g)	%Humedad	Lote #3 (g)	%Humedad	Lote #4 (g)	%Humedad
0.00	140	67.74	217	67.74	226	67.74	148.5	67.74
0.021	138.5	66.67	215	66.82	225	67.30	146	66.06
0.042	138	66.31	214	66.36	223.5	66.63	143	64.04
0.062	137.5	65.95	213	65.90	222	65.97	142	63.36
0.083	137	65.60	211	64.98	220.5	65.31	140	62.02
0.104	136.5	65.24	210	64.51	219.5	64.86	139.5	61.68
0.125	136.5	65.24	209	64.05	218.5	64.42	139	61.34
1	119.5	53.10	184.5	52.76	190	51.81	123.5	50.90
2	102.5	40.95	159.5	41.24	162	39.42	108	40.47
3	82.5	26.67	137	30.87	134	27.03	93	30.37
4	72.5	19.53	114.5	20.50	118	19.95	77	19.59
5	61	11.31	105.5	16.36	102	12.87	60.5	8.48
6	60.5	10.95	100.5	14.05	91.5	8.23	60	8.14
7	59.5	10.24	97.5	12.67	87.5	6.46	58.5	7.13
8	57.5	8.81	95	11.52	84.5	5.13	55	4.78
9	57.5	8.81	95	11.52	84.5	5.13	55	4.78

Apéndice B.2 Datos de humedad de los lotes #1 al #4 del segundo ensayo

Tiempo (días)	Lote #1 (g)	%Humedad	Lote #2 (g)	%Humedad	Lote #3 (g)	%Humedad	Lote #4 (g)	%Humedad
0.00	253.5	67.74	354	67.74	309.5	67.74	326	67.74
0.021	252.5	67.35	353	67.46	307	66.93	325	67.43
0.042	251.5	66.95	351	66.89	306.5	66.77	324	67.13
0.062	249.5	66.16	350	66.61	305	66.29	323.5	66.97
0.083	247.5	65.37	349	66.33	303	65.64	322	66.51
0.104	246.5	64.98	348.5	66.19	302	65.32	321	66.21
0.125	246.5	64.98	347	65.76	300	64.67	320	65.90
1	192.5	43.68	288	49.10	239.5	45.12	277	52.71
2	179.5	38.55	266	42.88	223	39.79	259.5	47.34
3	169.5	34.60	251	38.64	207	34.62	239	41.05
4	156.5	29.48	226	31.58	197.5	31.55	221.5	35.68
5	143.5	24.35	204	25.37	181	26.22	203	30.01
6	133.5	20.40	182	19.15	165	21.05	188	25.41
7	120.5	15.27	157	12.09	149	15.88	168.5	19.43
8	101.5	7.78	130	4.46	133	10.71	139	10.38
9	101.5	7.78	130	4.46	133	10.71	139.5	10.53

Apéndice B.3 Datos de humedad de los lotes #1 al #4 del tercer ensayo

Tiempo (días)	Lote #1 (g)	%Humedad	Lote #2 (g)	%Humedad	Lote #3 (g)	%Humedad	Lote #4 (g)	%Humedad
0.00	218.5	67.74	259	67.74	257	67.74	288	67.74
0.021	217.5	67.28	258	67.35	256	67.35	287	67.39
0.042	216.5	66.82	257	66.97	255	66.96	286	67.05
0.062	215.5	66.37	256	66.58	254	66.57	285	66.70
0.083	214.5	65.91	255	66.20	253	66.18	284	66.35
0.104	213.5	65.45	254	65.81	252	65.79	283	66.00
0.125	212.5	64.99	253	65.42	251	65.41	282	65.66
1	158.5	40.28	199	44.57	193	42.84	228	46.91
2	145.5	34.33	186	39.55	168	33.11	200	37.18
3	132.5	28.38	173	34.54	140	22.21	184.5	31.80
4	119.5	22.43	160	29.52	124	15.99	156.5	22.08
5	106.5	16.48	147	24.50	117	13.27	141	16.70
6	93.5	10.53	134	19.48	108	9.76	125.5	11.32
7	85.5	6.87	113	11.37	97	5.48	110	5.93
8	84.5	6.41	112	10.98	96	5.09	109	5.59
9	85	6.64	112	10.98	96.5	5.29	108.5	5.41

Apéndice B.4 Datos y resultados de granulometría

N° de tamiz	Diámetro (mm)	Peso retenido 1 (g)	Peso retenido 2 (g)	%Retenido 1	%Retenido 2	%Retenido acumulado 1	%Retenido acumulado 2	%Pasa 1	%Pasa 2
18	1	0	0	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	100.0%	100.0%
25	0.71	0	0	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	100.0%	100.0%
35	0.5	48.6	80.3	19.1%	23.7%	19.1%	23.7%	80.9%	76.3%
230	0.063	197.1	250.2	77.3%	73.7%	96.4%	97.3%	3.6%	2.7%
400	0.038	8.2	8.7	3.2%	2.6%	99.6%	99.9%	0.4%	0.1%
Base	0.038	1.1	0.3	0.4%	0.1%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
Total		255	339.5	100%	100.0%				

Barrido de longitudes de onda en un rango de 210 a 250 nm para los extractos acuosos y alcohólicos

Apéndice B.5 Valores de absorbancia de los espectros de extractos acuosos.

Longitud de onda (nm)	Extractos acuosos								
	E1: 20 g/200ml			E2: 35 g/200ml			E3: 50 g/200ml		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
210	3.838	3.884	3.961	3.838	3.796	3.845	4.177	3.996	3.874
211	3.824	3.868	3.963	3.94	3.975	3.927	4.22	4.006	3.871
212	3.852	3.903	4.043	3.808	3.81	3.825	4.255	3.997	3.876
213	3.875	3.876	3.993	3.804	3.83	3.83	4.276	3.99	3.871
214	3.9	3.973	4.033	3.891	3.859	3.877	4.277	4.048	3.944
215	3.92	3.926	4.012	3.87	3.863	3.822	4.266	4.027	3.918
216	3.898	3.954	4.049	3.88	3.88	3.844	4.298	4.06	3.9
217	3.92	3.93	4.073	3.9	3.854	3.848	4.274	4.104	3.944
218	3.953	4.04	4.054	3.923	3.927	3.899	4.451	4.129	3.98
219	4.006	4.015	4.134	3.903	3.929	3.909	4.245	4.117	3.987
220	4.012	3.982	4.128	3.929	3.929	3.885	4.295	4.143	4
221	3.976	4.037	4.114	3.942	3.913	3.914	4.402	4.098	3.977
222	3.974	4.07	4.126	3.955	3.942	3.924	4.416	4.139	3.985
223	4.192	4.318	4.514	3.974	3.97	3.922	4.494	4.171	4.024
224	3.987	4.038	4.085	4.004	4.002	3.965	4.346	4.162	3.975
225	4.106	4.053	4.252	4.003	4.011	4.031	4.633	4.278	4.124
226	4.138	4.121	4.253	4.055	4.03	4.043	4.664	4.25	4.166
227	4.178	4.212	4.254	4.12	4.117	4.136	4.621	4.307	4.154
228	4.208	4.23	4.371	4.164	4.188	4.204	4.684	4.389	4.274
229	4.291	4.291	4.327	4.215	4.201	4.166	4.493	4.356	4.301

230	4.293	4.278	4.344	4.223	4.209	4.258	4.559	4.406	4.273
231	4.274	4.251	4.396	4.161	4.197	4.193	4.62	4.37	4.304
232	4.223	4.239	4.354	4.088	4.132	4.183	4.648	4.37	4.216
233	4.188	4.147	4.299	4.054	4.11	4.115	4.669	4.355	4.229
234	4.182	4.204	4.315	4.044	4.09	4.064	4.708	4.365	4.232
235	4.172	4.203	4.266	4.014	4.038	4.059	4.644	4.366	4.256
236	4.211	4.236	4.279	3.953	4.03	4.036	4.745	4.41	4.235
237	4.194	4.225	4.328	3.958	3.953	3.972	4.856	4.36	4.259
238	4.208	4.205	4.312	3.904	3.918	3.927	4.904	4.334	4.281
239	4.153	4.231	4.317	3.845	3.898	3.889	4.822	4.386	4.234
240	4.245	4.263	4.322	3.78	3.821	3.841	4.873	4.335	4.246
241	4.335	4.279	4.418	3.697	3.798	3.792	4.618	4.41	4.263
242	4.325	4.386	4.388	3.661	3.744	3.748	4.61	4.421	4.298
243	4.404	4.354	4.462	3.608	3.692	3.696	4.758	4.395	4.27
244	4.339	4.359	4.488	3.538	3.63	3.635	4.627	4.334	4.18
245	4.27	4.277	4.461	3.463	3.539	3.551	4.564	4.29	4.116
246	4.371	4.322	4.471	3.401	3.474	3.485	4.539	4.237	4.072
247	4.421	4.375	4.527	3.354	3.418	3.437	4.439	4.192	4.076
248	4.395	4.353	4.506	3.317	3.375	3.404	4.468	4.135	4.017
249	4.377	4.305	4.44	3.277	3.328	3.352	4.386	4.057	3.968
250	4.245	4.3	4.364	3.234	3.272	3.304	4.394	3.963	3.877
251	4.213	4.224	4.307	3.197	3.219	3.267	4.381	3.885	3.798
252	4.216	4.236	4.427	3.174	3.189	3.235	4.334	3.806	3.72
253	4.142	4.198	4.281	3.153	3.162	3.217	4.211	3.76	3.681
254	4.114	4.177	4.297	3.13	3.139	3.197	4.141	3.697	3.623
255	4.123	4.137	4.277	3.104	3.108	3.167	4.06	3.639	3.567
256	4.093	4.138	4.262	3.089	3.084	3.157	4.042	3.59	3.512

Apéndice B.6 Valores de absorbancia de los espectros de extractos acuosos.

Longitud de onda (nm)	Extractos alcohólicos								
	E1: 20 g/200ml			E2: 35 g/200ml			E3: 50 g/200ml		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
210	3.844	3.916	3.866	4.16	4.053	4.185	3.993	4.077	4.254
211	3.91	3.998	3.998	4.445	4.39	4.647	4.13	4.121	4.276
212	3.885	3.849	3.98	4.175	4.015	4.152	4.135	4.078	4.2
213	3.921	3.975	4.04	4.109	4.006	4.134	4.156	4.109	4.445
214	3.971	4	4.141	4.231	4.083	4.235	4.153	4.066	4.307
215	3.957	3.997	4.032	4.246	4.123	4.213	4.173	4.133	4.264
216	3.968	3.945	4.063	4.221	4.067	4.171	4.203	4.083	4.236
217	3.96	4.025	4.068	4.291	4.066	4.177	4.272	4.103	4.246
218	4.009	4.094	4.074	4.245	4.103	4.241	4.307	4.255	4.225
219	4.107	4.086	4.196	4.225	4.106	4.221	4.43	4.316	4.349
220	4.089	4.072	4.124	4.237	4.12	4.251	4.383	4.364	4.283
221	4.052	4.119	4.16	4.264	4.152	4.222	4.308	4.314	4.36
222	4.154	4.108	4.198	4.227	4.112	4.26	4.26	4.278	4.473
223	4.144	4.152	4.186	4.285	4.182	4.33	4.533	4.404	4.306
224	4.184	4.122	4.181	4.267	4.147	4.262	4.276	4.303	4.511
225	4.143	4.072	4.181	4.271	4.204	4.323	4.263	4.213	4.387
226	4.215	4.222	4.338	4.34	4.209	4.312	4.37	4.297	4.3
227	4.271	4.286	4.369	4.373	4.284	4.367	4.474	4.407	4.411
228	4.374	4.423	4.397	4.436	4.318	4.425	4.593	4.526	4.511
229	4.367	4.408	4.47	4.427	4.446	4.479	4.592	4.682	4.656
230	4.365	4.409	4.463	4.46	4.407	4.449	4.62	4.614	4.703
231	4.426	4.449	4.442	4.407	4.313	4.411	4.67	4.631	4.592
232	4.437	4.494	4.38	4.421	4.277	4.416	4.638	4.522	4.528

233	4.3	4.495	4.37	4.35	4.235	4.336	4.55	4.608	4.472
234	4.3	4.498	4.316	4.37	4.284	4.309	4.553	4.494	4.441
235	4.341	4.456	4.388	4.353	4.311	4.336	4.682	4.473	4.516
236	4.332	4.415	4.406	4.329	4.263	4.303	4.496	4.472	4.506
237	4.34	4.519	4.372	4.321	4.253	4.366	4.498	4.504	4.491
238	4.295	4.344	4.358	4.288	4.265	4.364	4.565	4.517	4.564
239	4.274	4.432	4.379	4.277	4.191	4.359	4.389	4.496	4.544
240	4.331	4.416	4.42	4.29	4.237	4.353	4.426	4.486	4.467
241	4.346	4.407	4.383	4.286	4.228	4.313	4.567	4.606	4.527
242	4.421	4.455	4.425	4.348	4.289	4.364	4.592	4.6	4.577
243	4.358	4.431	4.434	4.415	4.266	4.381	4.559	4.557	4.637
244	4.425	4.426	4.322	4.328	4.235	4.361	4.615	4.56	4.498
245	4.409	4.385	4.334	4.335	4.198	4.336	4.452	4.558	4.496
246	4.423	4.387	4.343	4.284	4.231	4.375	4.557	4.52	4.531
247	4.346	4.377	4.417	4.384	4.206	4.337	4.486	4.547	4.733
248	4.395	4.374	4.394	4.339	4.226	4.363	4.558	4.596	4.661
249	4.374	4.367	4.392	4.374	4.173	4.313	4.559	4.543	4.668
250	4.411	4.4	4.298	4.331	4.12	4.313	4.515	4.482	4.529

APÉNDICE C

Detalle del análisis económico

Apéndice C.1 Inversión inicial detallada.

	Cantidad	Valor	Total
Materia prima			
Hojas de Neem	1	\$2.00	\$2.00
Etanol al 96%	1	\$9.87	\$9.87
Agua destilada	4	\$2.00	\$8.00
Materiales			
Licuada	1	\$49.00	\$49.00
Balanza	1	\$20.00	\$20.00
Recipiente	1	\$1.00	\$1.00
Botellas color ámbar	18	\$1.00	\$18.00
Papel filtro	1	\$1.20	\$1.20
Papel absorbente	9	\$1.00	\$9.00
Equipo			
Prototipo de secador solar			
Clavos	1	\$1.24	\$1.24
Madera	1	\$11.00	\$11.00
Plástico	1	\$10.00	\$10.00
Malla fina	1	\$5.00	\$5.00
Bomba de vacío	1	\$125.00	\$125.00
		Total	\$270.31

Apéndice C.2 Flujo de caja proyectado a 5 años.

Inversión inicial	\$270.31	Tasa de descuento	9%	
Período (años)	Ingresos	Egresos	Flujo Neto	Valor actual
0			-\$270.31	-\$ 270.31
1	\$260	\$117	\$143	\$ 131.58
2	\$299.00	\$135	\$164	\$ 139.23
3	\$343.85	\$155	\$189	\$ 147.33
4	\$395.43	\$178	\$217	\$ 155.89
5	\$454.74	\$205	\$250	\$ 164.96
Valor presente de flujos actuales				\$ 738.99
Valor presente Neto (VPN)				\$ 468.68
Tasa Interna de Retorno (TIR)				57%
Rentabilidad Beneficio/Costo			\$2.73	2.73386669

