

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y
AGROINDUSTRIA**

**IMPREGNACIÓN DE ACEITE DE NEEM (*AZADIRACHTA INDICA*)
EN SOPORTE TEXTIL PARA COMBATIR LA MOSCA DE LA
FRUTA *ANASTREPHA STRIATA***

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

CAMILO RIGOBERTO ESTRELLA RIVADENEIRA
camiloestrellarivadeneira@gmail.com

DIRECTORA: ING. JENNY CUMANDÁ RUALES NÁJERA, PhD.
jenny.ruales@epn.edu.ec

Quito, Febrero 2017

© Escuela Politécnica Nacional (2017)
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Camilo Rigoberto Estrella Rivadeneira, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Camilo Rigoberto Estrella Rivadeneira

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Camilo Rigoberto Estrella Rivadeneira, bajo mi supervisión.

Ing. Jenny Cumandá Ruales Nájera, Ph. D.

DIRECTOR DE PROYECTO

AGRADECIMIENTO

A todos los soñadores y soñadoras que ponen un grano de arena todos los días para que nuestra vida y sociedad sean cada vez más justas y hermosas.

DEDICATORIA

A todos los buscadores de diamantes que se esfuerzan cada instante de su vida por conquistar sus sueños; muchos se desmotivan cuando están cerca de encontrar los diamantes, otros se desesperan y toman la decisión de abandonar la misión, sin darse cuenta que están muy cerca de encontrar las minas de diamantes añoradas.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	vii
INTRODUCCIÓN	viii
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1. El aceite de Neem	1
1.1.1. El árbol de Neem	1
1.1.2. Beneficios del Neem	3
1.1.3. Propiedades físicas del aceite de Neem	5
1.1.4. Azadiractina	5
1.1.5. Origen y biosíntesis de la azadiractina	7
1.1.6. Modo de acción de la azadiractina	7
1.2. Biocontrol de insectos	8
1.2.1. Mosca de la fruta	9
1.2.2. Control de la mosca de la fruta en la guayaba	11
1.2.3. Manejo integrado de la mosca de la fruta	12
1.2.4. Películas para el control de insectos	14
1.2.5. Efecto de los extractos de Neem sobre el género <i>Anastrepha</i>	15
2. PARTE EXPERIMENTAL	16
2.1. Evaluar la concentración de azadiractina en el aceite de Neem	17
2.2.1. Obtención de la materia prima	17
2.2.2. Caracterización del aceite de Neem	17
2.2. Evaluar la impregnación del aceite de Neem en un soporte textil	19
2.3. Estudiar la función repelente del soporte textil sobre la mosca de la fruta <i>Anastrepha striata</i>	22
2.4. Evaluar la estabilidad de la azadiractina en el soporte textil	24
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
3.1. Evaluación de la concentración de azadiractina en el aceite de Neem	26
3.1.1. Caracterización del aceite de Neem	26
3.1.2. Concentración de azadiractina en el aceite de Neem	28
3.2. Evaluación de la impregnación del aceite de neem en un soporte textil	32
3.2.1. Concentración de azadiractina en el soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem	33

3.2.2. Concentración de azadiractina en el soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem	34
3.3. Estudio de la función repelente del soporte textil sobre la mosca de la fruta <i>Anastrepha striata</i>	36
3.4. Evaluación de la estabilidad de la azadiractina en el soporte textil	44
3.4.1. Concentración de azadiractina en el soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 8 días	44
3.4.2. Concentración de azadiractina en el soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 15 días	45
3.4.3. Concentración de azadiractina en el soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a los 8 días	46
3.4.4. Concentración de azadiractina en el soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a los 15 días	48
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
4.1. Conclusiones	55
4.2. Recomendaciones	56
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
ANEXOS	62

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1.1. Clasificación taxonómica del Neem	1
Tabla 2.1. Especificaciones cromatográficas del HPLC utilizado para la cuantificación de azadiractina	18
Tabla 2.2. Proceso para la preparación de las muestras	20
Tabla 3.1. Concentración de azadiractina en el aceite de Neem	30
Tabla 3.2. Concentración de azadiractina en los soportes textiles a los 0 días	33
Tabla 3.3. Número de larvas presentes en las guayabas	39
Tabla 3.4. Condiciones del diseño experimental	40
Tabla 3.5. Análisis de varianza del conteo de larvas	40
Tabla 3.6. Concentración de aceite de Neem con respecto al número de larvas, discriminando el factor tiempo	42
Tabla 3.7. Número de larvas en el tiempo	43
Tabla 3.8. Concentración de azadiractina en los soportes textiles a los 8 y 15 días	50
Tabla 3.9. Condiciones del diseño experimental	50
Tabla 3.10. Análisis de varianza para la estabilidad del soporte textil	50
Tabla 3.11. Porcentaje de aceite de Neem sobre la concentración de azadiractina	52
Tabla 3.12. Concentración de azadiractina con respecto al tiempo	53
Tabla 3.13. Reducción de la azadiractina con respecto al tiempo	53
Tabla AI.1. Caracterización de las semillas de Neem	53
Tabla AV.1. Determinación de las condiciones de irradiación para 300 Gy	53

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
Figura 1.1.	El árbol de Neem. a) Frutos de Neem maduros; b) Árbol de Neem de 8 años de edad; c) Flor de Neem en etapa previa a cargar fruto	2
Figura 1.2.	Azadiractina A	6
Figura 1.3.	Principales especies de mosca de la fruta	11
Figura 3.1.	Semillas de Neem secas, después del proceso de despulpado y secado	25
Figura 3.2.	Extracción del aceite de Neem. a) Prensa hidráulica con estructura de hierro; b) Elevador hidráulico de carga con capacidad de 32 t; c) Cilindro metálico agujereado mostrando la salida de aceite producto de la presión; d) Estructura del cilindro metálico en el soporte; e) Aceite y semillas de Neem. f) Almacenamiento de aceite	27
Figura 3.3.	Cromatograma del estándar de azadiractina	28
Figura 3.4.	Barrido del estándar. a) Espectro de luz del estándar de azadiractina y ubicación del pico máximo; b) Lectura de la máxima longitud de onda	29
Figura 3.5.	Cromatograma del aceite puro de Neem	31
Figura 3.6.	Preparación y secado de soportes textiles. a) Soportes textiles impregnados con cada una de las soluciones, al 3 y 5 % de aceite de Neem; b) Secado de soportes textiles	32
Figura 3.7.	Cromatograma del soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a 0 días	34
Figura 3.8.	Cromatograma del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a 0 días.	35
Figura 3.9.	Cultivo de moscas a partir de larvas presentes en guayabas. a) Cultivo de mosca <i>de la fruta</i> ; b) Guayaba con presencia de larvas	37
Figura 3.10.	Irradiación de guayabas en fuente de Cobalto-60. a) Ubicación de los frutos dentro de la cámara de irradiación; b) Fuente de cobalto-60 durante la irradiación	38
Figura 3.11.	Caseta de experimentación para mosca <i>Anastrepha striata</i> , con soporte textil	38
Figura 3.12.	Contaje de larvas de mosca <i>Anastrepha striata</i> . en guayabas tratadas con soporte textil impregnado con 3 % aceite de Neem a los 15 días	39

Figura 3.13.	Efecto de la concentración de aceite de Neem en los soportes textiles sobre el número de larvas de mosca presentes en los frutos	41
Figura 3.14.	Concentración de aceite de Neem vs. número de larvas de mosca	42
Figura 3.15.	Medias de tiempo vs. número de larvas	43
Figura 3.16.	Cromatograma del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 8 días	44
Figura 3.17.	Cromatograma del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 15 días	46
Figura 3.18.	Cromatograma del soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a los 8 días	47
Figura 3.19.	Cromatograma del soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a los 15 días.	49
Figura 3.20.	Estabilidad de la azadiractina en los soportes textiles	51
Figura 3.21.	Concentración de azadiractina con respecto al porcentaje de aceite de Neem	52
Figura 3.22.	Degradación de la azadiractina en el tiempo	54
Figura AIII.1.	Planta para la producción de soportes textiles	65
Figura AIV.1.	Determinación de la taxonomía de la mosca	66
Figura AVI.1.	Especificaciones de fabricación del cromatógrafo	68

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I Datos individuales de las mediciones de las semillas	63
ANEXO II Ejemplo de cálculo para determinar la concentración de azadiractina	64
ANEXO III Propuesta gráfica de una planta para la producción de soportes textiles	65
ANEXO IV Condiciones para determinar la dosis de irradiación	66
ANEXO V Condiciones para determinar la dosis de irradiación	67
ANEXO V Ficha técnica del cromatógrafo Dionex Ultimate 3 000	68

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo la impregnación de soportes textiles con aceite de Neem (aceite con principio activo repelente) en dos concentraciones, 3 % y 5 %. Se experimentó el efecto repelente de los mismos, contra la mosca de la fruta *Anastrepha striata*, a los 8 y 15 días, utilizando frutos de guayaba para probar la oviposición de la mosca.

Mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) se determinó la concentración del principio activo del aceite de Neem, la azadiractina, en los soportes textiles y en el aceite de Neem. El aceite fue extraído por compresión de semilla seca de Neem al 18 % de humedad, proveniente de Portoviejo, Provincia de Manabí. La concentración de azadiractina fue de 6 165 ppm.

La concentración de azadiractina en los soportes textiles, a los 0 días, fue de 173 ppm y 154 ppm en los soportes textiles impregnados con 5 % y 3 % de aceite de Neem, respectivamente.

Se utilizaron casetas para pruebas con moscas de la fruta y en cada caseta se colocaron 10 guayabas y 15 moscas de la fruta. Se realizó el estudio con 3 casetas: soporte textil al 3 % de aceite de Neem, soporte textil 5 % de aceite de Neem y un testigo al 0 % del aceite.

El efecto repelente a los 8 y 15 días fue probado cortando las guayabas por la zona ecuatorial y contabilizando las larvas presentes. Se observó que en la caseta con el soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem se obtuvo el resultado más prometedor con 2 larvas, mientras que con el testigo se tuvieron 10 larvas de mosca de la fruta.

La cromatografía de los soportes textiles a los 8 y 15 días de exposición en las casetas de la mosca dieron como resultado una degradación del principio activo, la azadiractina, en 58,30 % a los 8 días y 75,54 % a los 15 días en el soporte textil con 5 % de impregnación de aceite de Neem. A pesar de la degradación observada, se obtuvo acción insecticida contra la mosca de la fruta estudiada.

INTRODUCCIÓN

El aceite del árbol del Neem, el cual está disponible en Ecuador en la Provincia de Manabí con aproximadamente 70 000 árboles, contiene el principio activo llamado azadiractina, que sirve como insecticida natural. Además posee otras aplicaciones, tales como: reforestación, combustible, forraje, medicina, fertilizante y pesticida (Orozco y Rodríguez, 2007).

El aceite de Neem, contiene el principio activo llamado azadiractina, un bioinsecticida capaz de controlar varias plagas fitófagas en cultivos de ciclo corto y extensivos (Mordue y Nisbet, 2000).

En el Ecuador y en los países latinoamericanos, los cultivos frutícolas son atacados por diversas plagas, entre ellas la mosca de la fruta, que afecta principalmente a la guayaba, siendo la mosca del género *Anastrepha striata*, la que domina con un 80 % sobre los otros grupos de mosca de la fruta. Debido al ataque de esta plaga a los frutos, su acceso a los mercados internacionales es restringido (Valencia, Bautista y López, 2004; Vilatuña, Sandoval y Tigrero, 2010).

Cincuenta y seis especies vegetales se han determinado como hospederos de moscas de la fruta, repartidas en 23 familias botánicas, con 6 especies cada una: naranja (*Citrus sinensis*), mandarinas (*Citrus reticulata*), café (*Coffe canephora*), guayaba (*Psidium guajava*), chirimoya (*Annona cherimola*), almendro (*Terminalia catappa*), mango (*Mangifera indica*), guaba (*Inga edulis*), etc. (Tigrero, 2009).

En un estudio realizado por Valencia et al. (2004) se determinó que tanto los extractos acuosos de Neem al 3 % y al 5 % y aceite de Neem al 4.5 % poseen un efecto repelente contra la oviposición de mosca de la fruta a los 8 días desde su aplicación.

Mediante el desarrollo de un soporte textil a base de almidón y glicerol como plastificante, impregnado con aceite de Neem a dos concentraciones (3 y 5 %), a las que fueron expuestas las moscas de la fruta *Anastrepha striata*, para probar el

efecto repelente del aceite de Neem, sobre este insecto, para determinar la estabilidad de la fruta y aportar al manejo integrado y control de la mosca. A los 8 y 15 días se verificó la presencia de larvas de mosca en guayabas expuestas, al cumplirse el plazo propuesto. Adicionalmente se cuantificó mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) el principio activo, la azadiractina, en el aceite de Neem y en los soportes textiles para verificar la impregnación del principio activo y la estabilidad durante el periodo de estudio (0, 8 y 15 días) (Giraldo et al., 2002; Sánchez et al., 2012).

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. EL ACEITE DE NEEM

El aceite extraído del árbol de Neem, ya sea de las hojas, semillas o de la corteza; es de gran interés para la producción de insecticidas naturales, por su contenido de azadiractina, uno de los 300 metabolitos secundarios que produce el árbol de Neem (Arias et al., 2009, p. 22-23; Giraldo et al., 2002, p. 60; Romero y Vargas, 2005, p. 465).

1.1.1. EL ÁRBOL DE NEEM

El cultivo del árbol de Neem (*Azadirachta indica*), perteneciente a la familia meliaceae, como se observa en la Tabla 1.1, es originario de la India y se ha distribuido a lo largo de las regiones tropicales y subtropicales de Asia, África, el Caribe y América del sur (Angulo et al., 2004, p. 305; Burballa, Sarusúa y Avilla, 1995, p. 425; Orozco y Rodríguez, 2007, p. 252).

Tabla 1.1. Clasificación taxonómica del Neem.

Orden	Rutales
Suborden	Rutinae
Familia	Meliaceae
Subfamilia	Melioideae
Tribu	Melieae
Género	<i>Azadirachta</i>
Especie	<i>A. indica</i>

(Biswas et al., 2002, p. 1 336)

Azadirachta indica es conocida en la India y sus alrededores hace más de 2 000 años, por ser una de las plantas medicinales más versátiles con amplio espectro de actividad biológica. (Biswas et al., 2002, p. 1 336; Orozco y

Rodríguez, 2007, p. 252). El árbol de Neem tiene propiedades únicas, tanto para combatir a los insectos, como para mejorar la salud humana (Mordue y Nisbet, 2000, p. 616).

El Neem, ilustrado en la Figura 1.1, es un árbol perenne que puede alcanzar hasta 30 m de altura; la corteza es de color café rojizo y presenta fisuras verticales. El sistema radicular llega hasta 5 m de profundidad y es pivotante. Las hojas son de color verde brillante, ubicadas de forma alterna, y son paripinadas. Las flores brotan en racimos axilares, son pequeñas, blancas y fragantes. Los frutos son drupas elipsoidales de textura lisa, inicialmente son verdes y de color amarillo cuando maduran, contienen una pulpa semidulce que envuelve a la semilla. La semilla es oleaginosa y está recubierta por una cáscara dura (Mordue y Nisbet, 2000, p. 616; Vizcarra, 1996, pp. 14-15).

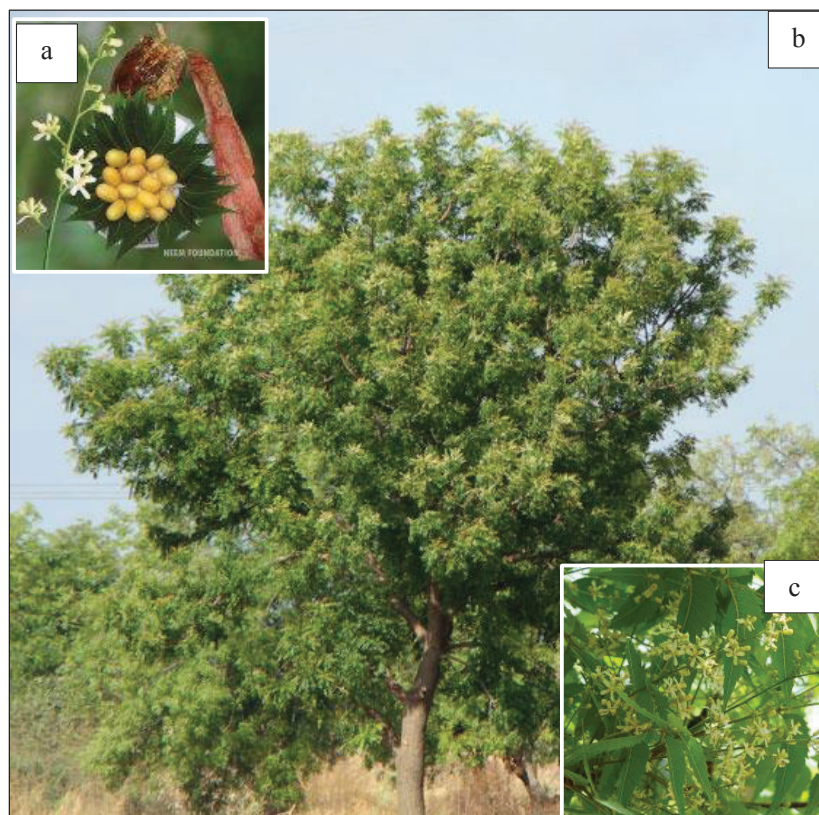


Figura 1.1. El árbol de Neem. a) Frutos de Neem maduros; b) Árbol de Neem de 8 años de edad; c) Flor de Neem en etapa previa a cargar fruto
(Neem Foundation, 2015, p. 1)

El árbol de Neem se desarrolla en varios tipos de condiciones climáticas. Resiste a rangos de temperaturas de 0 a 49 °C, pero la temperatura óptima va de 20 °C a 27 °C. Se desarrolla en zonas semiáridas y secas con precipitaciones pluviales de 200 a 1 200 mm, es tolerante a las sequías en períodos de 6 a 9 meses. Crece en suelos pobres y degradados, ya que la profundidad de sus raíces le favorecen en la extracción de nutrientes y humedad (Orozco y Rodríguez, 2007, p. 252; Valarezo, Cañarte y Navarrete, 2008, p. 4).

El Neem produce una gran cantidad de metabolitos, dentro de los cuales están la azadiractina, el meliantriol, la salannim, el nimbidinim y el nimbin. El meliantriol, el nimbin y la salannim inhiben la alimentación de dípteros, el nimbidinim inhibe el crecimiento de hongos y es tóxico para algunos nematodos. El principal componente es la azadiractina, un compuesto responsable del control de insectos plaga (Valarezo et al., 2008, p. 8).

1.1.2. BENEFICIOS DEL NEEM

Los beneficios del Neem son reconocidos hace muchos siglos, principalmente en Asia. Se utiliza como insecticida, antifúngico y anticonceptivo en la medicina alternativa. Los principios activos del árbol se encuentran en la corteza, ramas, hojas, raíces, semillas y tronco. El aceite extraído de las semillas es conocido por sus usos como antibacteriano, antifúngico, antifertilidad, inmunoestimulante, antipirético y acaricida (INECC, 2014, p. 3; Preedy, 2016, p. 593).

El ingrediente activo del Neem, la azadiractina extraída de las semillas, es un producto ambientalmente prometedor, debido a su facilidad para degradarse y por su baja toxicidad en mamíferos. Este complejo limonoide es el responsable de la toxicidad causada en los insectos. Es importante para el control del insecto portador de la malaria. La azadiractina por sí sola muestra alta toxicidad en larvas de insectos *Spodoptera littoralis*, *S. gregaria* y *Oncopeltus fasciatus* Dallas (chinche) (Adán et al., 1998, p. 1009; Biswas et al., 2002, p. 1 338; Mordue y Nisbet, 2000, p. 617).

El mahmoodin extraído del aceite de la semilla del Neem posee acción bactericida contra 18 cepas de patógenos humanos. Los taninos extraídos de la corteza poseen ácido gálico, el cual inhibe la generación de quimioluminiscencia de neutrófilos activados por polimorfonucleares humanos (PMN), para inhibir la oxidación de los PMN durante procesos de inflamación (Biswas et al., 2002, p. 1 337).

Los margolones, margolones diterpenoides e isomargolones extraídos de la corteza del tallo de Neem actúan como bactericidas contra las especies de *Klebsiella*, *Staphilococcus* y *Serratia*. Los compuestos azufrados como el trisulfuro cíclico y el tetrasulfuro, obtenidos por arrastre de vapor a partir de las hojas frescas y maduras del Neem, son antifúngicos contra el *Trichophyton mentagrophytes*, causante de lesiones epiteliales (Biswas et al., 2002, p. 1 337).

Los polisacáridos extraídos de la corteza del Neem se utilizan para inhibir la inflamación inducida por los edemas de carragenina. Existen polisacáridos solubles en agua, que son extraídos de corteza del árbol y poseen un efecto antitumoral mediante la regresión total de los tumores; esta acción se mostró en ratones sometidos a una dosis diaria de 50 ppm durante 4 días a partir de las 24 h de inoculado un sarcoma (Biswas et al., 2002, p. 1 338).

En el extracto acuoso de la corteza de Neem se encuentran dos polisacáridos que actúan como anti complementos. En el aceite de las semillas se detectan ciertos ingredientes activos que poseen actividad antiulcerosa causada por lesiones gástricas (Biswas et al., 2002, p. 1 338).

Los insecticidas comerciales de Neem se elaboran con preparados de extractos de semillas, con el fin de aprovechar la azadiractina como ingrediente activo. Los productos formulados con este principio varían en su bioeficacia, en su vida media y en la calidad de su formulación. Algunas formulaciones poseen triterpenoides relacionados y otros compuestos del Neem, como nimbin y salanina (Adán et al., 1998, pp. 1 009-1 010; Biswas et al., 2002, p. 1 338; Mordue y Nisbet, 2000, p. 617).

Los efectos de la azadiractina sobre las principales plagas del ganado son significativos, por lo tanto el uso de formulaciones a base de azadiractina puede considerarse compatible con los programas de control de plagas del ganado (Ruiu, Satta y Floris, 2008, p. 66).

En el campo alimenticio, el aceite de semillas de Neem, que posee propiedades antimicrobianas y antioxidantes, tiene potencial como preservante para evitar el deterioro microbiano de productos perecederos (Preedy, 2016, p. 593).

1.1.3. PROPIEDADES FÍSICAS DEL ACEITE DE NEEM

El aceite de Neem se extrae de las semillas, de preferencia semimaduras. El rendimiento de aceite durante la extracción depende la calidad de la semilla. Este aceite posee mayor actividad antibacteriana que la tetraciclina, ampicilina y ciprofloxacina (Preedy, 2016, pp. 594-597).

Entre sus propiedades físico químicas, la gravedad específica del aceite de Neem a 30 °C es 0,920; el índice de refracción a 40 °C es de 1,503; su índice de saponificación es de 1,86 mg de KOH / g y su índice de yodo es de 64,55 mg de I₂ / 100 g (Chaudhari, 2013, p. 1 781).

Mediante cromatografía de gases se ha determinado que el aceite de Neem está compuesto principalmente por cinco ácidos grasos. Los ácidos grasos saturados son el palmítico (12 %), esteárico (30 %) y araquídico (3 %), mientras que los ácidos grasos insaturados son el oleico (50 %) y linoleico (5 %) (Chaudhari, 2013, pp. 1 781–1 782).

1.1.4. AZADIRACTINA

La azadiractina es un tetranorterpenoide, cuya fórmula molecular es C₃₅H₄₄O₁₆. Su estructura se muestra en la Figura 1.2. Su principio activo contiene grupos funcionales reactivos estrechamente relacionados que lo hacen altamente

oxidante. La azadiractina proveniente del Neem posee nueve isómeros con propiedades insecticidas; la azadiractina A es el principal componente de las semillas, mientras que los ocho restantes se encuentran en menor cantidad. Este ingrediente activo, obtenido mediante extracción química, se estudia con el fin de obtener estructuras más sencillas y mantener la actividad insecticida del complejo (Bajwa y Ahmad, 2012, p. 117; Orozco y Rodríguez, 2007, p. 252; Regnault, Bernard y Vincent, 2010, p. 12).

La azadiractina del árbol de Neem posee una actividad insecticida contra diversos insectos durante sus etapas de desarrollo. Está presente en todas las partes del árbol; en las semillas se encuentra en mayor concentración (Angulo et al., 2004, p. 306; Bajwa y Ahmad, 2012, p. 117).

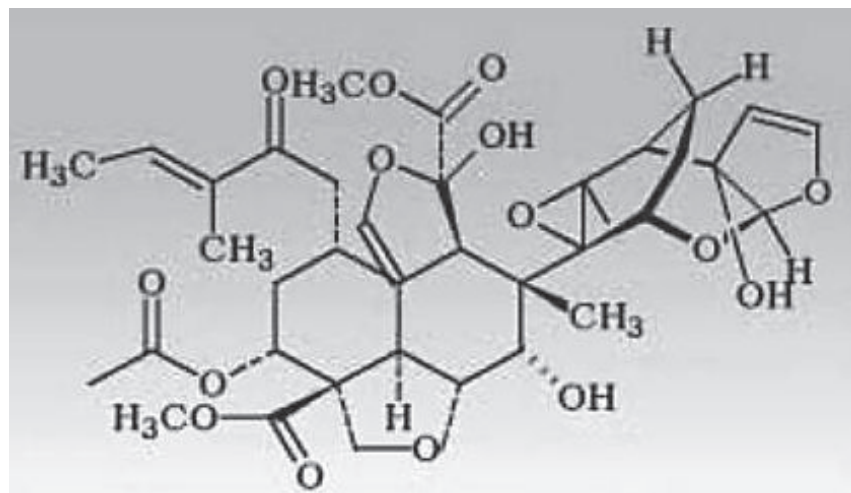


Figura 1.2. Azadiractina A
(Satdive, Fulzele, y Eapen, 2006, p. 196)

La concentración de azadiractina en las semillas varía dependiendo de las zonas agroclimáticas donde se desarrolla el árbol, de la genética, de las condiciones ambientales productivas (temperatura, humedad relativa y precipitación) y de los procesos de extracción y determinación del ingrediente activo. En un estudio realizado en diferentes regiones de África y Asia se encontraron variaciones dentro del rango de 1 000 ppm a 6 000 ppm (Angulo et al., 2004, p. 306; Orozco y Rodríguez, 2007, p. 252).

1.1.5. ORIGEN Y BIOSÍNTESIS DE LA AZADIRACTINA

La azadiractina, proveniente de las semillas, fue aislada por David Morgan (Butterworth y Morgan 1968, citado por Mordue y Nisbet, 2000), mientras que su estructura se determinó pocos días después (p. 616). Posee alta actividad insecticida, sobre todo cuando proviene de semillas maduras (Burballa et al., 1995, p. 427).

La ruta bioquímica que sigue la azadiractina para su biosíntesis inicia con un precursor de esteroides (tirucallol, azadirona o azadiradiona) y la apertura de un anillo en forma de "C" (egnimbin o salaninna). Luego procede por dos niveles con estructuras complejas y forma un anillo furano que termina en azadiractina. Este metabolito es biosintetizado únicamente por el Neem (*Azadirachta indica*) (Biswas et al., 2002, pp. 3 344-3 345; Mordue y Blackwell, 1993, p. 918; Mordue y Nisbet, 2000, p. 617).

La azadiractina es termolábil y fotosensible, por lo que requiere ser almacenada bajo condiciones especiales. En un estudio realizado por Prakash et al. (2002), citado por Orozco y Rodríguez (2007), reportan que la concentración de azadiractina en las semillas de Neem, almacenadas a una temperatura de 27 °C con exposición directa a la luz durante cuatro meses, se reduce en 32 %. Además es sensible al ataque de ciertos hongos (pp. 253 y 255).

1.1.6. MODO DE ACCIÓN DE LA AZADIRACTINA

En general, el modo de acción de la azadiractina sobre los insectos depende de la especie a tratar y de la formulación utilizada. Actúa como antiapetitivo, inhibidor de la reproducción, repelente, inhibidor del proceso de metamorfosis e inhibidor del crecimiento y del vigor (Biswas et al., 2002, pp. 1 336-1 337; Orozco y Rodríguez, 2007, p. 252).

La principal forma de acción de la azadiractina es como antiapetitivo en los

insectos, con lo cual regula su crecimiento. Este efecto se logra cuando el ingrediente activo actúa sobre las células mitóticas, bloquea su ciclo biológico, afecta la producción de la ecdisoma y la hormona juvenil y causa una auto-programación del organismo que disminuye su apetito, evita el desarrollo y causa su desnutrición o muerte. Este compuesto también actúa sobre ciertos hongos, virus y protozoos. Las hormonas antes mencionadas son esenciales para la metamorfosis y la maduración de los huevos (Bajwa y Ahmad, 2012, p. 117; Orozco y Rodríguez, 2007, p. 253).

La azadiractina es una molécula muy reactiva con las moléculas del citoplasma y núcleo. Actúa en la reproducción mediante la inhibición del desarrollo sexual de ciertos insectos, posee un efecto larvicida y actúa en la inhibición de la replicación de algunos virus. Adicionalmente, es modificadora de las actividades de los genes y proteínas (Bajwa y Ahmad, 2012, p. 117).

1.2. BIOCONTROL DE INSECTOS

El biocontrol es una técnica actualmente utilizada para el control de plagas, debido a sus ventajas ambientales. Consiste en utilizar organismos vivos para reducir la población de plagas o su perjuicio. El Neem, como un biocontrolador de origen vegetal, es utilizado como barrera en cultivos frutícolas sin afectar la población de abejas polinizadoras (Jacas, Caballero y Ávila, 2005, p. 16; López, 2005, p. 41).

Aproximadamente, la azadiractina afecta a 200 especies de insectos. No afecta a mamíferos ni especies mayores que se alimentan de ellos. Los insectos utilizados para la polinización tampoco se ven afectados. Según González (2006) la aplicación de aceite de Neem al 1, 2, 4 y 50 %, no causa la muerte del ácaro varroa ni de abejas en el periodo de 48 horas. Existen estudios que determinan la sensibilidad a este aceite del minador de la hoja de cítricos *Phyllocnistis citrella* (Cañarte et al., 2002, p. 10; p. 745; p. 754; Mordue y Nisbet, 2000, p. 617).

Los plaguicidas de origen vegetal están en creciente auge por las nuevas prácticas de cultivos sostenibles y para disminuir los riesgos ambientales y en la salud, provocados por los plaguicidas sintéticos (Jadeja, Maheshwari y Naik, 2011, p. 253).

Mediante la extracción por solventes a altas presiones se obtienen ingredientes activos de gran importancia, los cuales provienen de vegetales. La obtención de aceite de Neem se ha empezado a realizar a gran escala debido a su alta demanda. Es importante mencionar que el uso de esta técnica de altas presiones con solventes utiliza una menor cantidad de solventes durante el proceso (Jadeja et al., 2011, p. 253).

1.2.1. MOSCA DE LA FRUTA

La mosca de la fruta es una plaga que perjudica los cultivos en muchos países Latinoamericanos debido a su capacidad para causar daño en frutas y hortalizas y restringir el acceso de las mismas, a los mercados internacionales (Valencia, Bautista y López, 2004, p. 57).

El Ecuador es un país de gran potencial frutícola, donde se cultivan frutas nativas y exóticas que son hospederos de la mosca de la fruta. Existen 23 familias de frutas sensibles al ataque de esta plaga, entre ellas se encuentran la naranja (*Citrus sinensis*), la mandarina (*Citrus reticulata*), el café (*Coffe canephora*), la guayaba (*Psidium guajava*), la chirimoya (*Annona cherimola*), el almendro (*Terminalia catappa*), el mango (*Mangifera indica*), la guaba (*Inga edulis*). Las frutas atraviesan por un periodo de cuarentena, previa su exportación, para asegurar su integridad (Tigrero, 2009, pp. 113-114; Vilatuña, Sandoval y Tigrero, 2010, p. 1).

En Ecuador se han determinado como moscas de la fruta a 36 especies del género *Anastrepha*, una especie del género *Toxotrypana* y otra del género *Ceratitidis*. Estas plagas atacan los cultivos cuando no se aplican las técnicas y

conocimientos para el control de plagas, como cebos tóxicos, control biológico o control cultural del cultivo (Tigrero, 2009, pp. 113-114; Vilatuña et al., 2010, p. 1).

La mosca de la fruta causa daños en la pulpa de las frutas, disminuye su valor comercial, restringiendo el ingreso a los mercados internacionales, facilita el ataque causado por patógenos y disminuye su producción. Esto, a su vez provoca incrementos de costos de producción por las medidas de control aplicadas y el desarrollo de investigaciones y pone barreras durante la comercialización (Vilatuña et al., 2010, p. 1).

La metamorfosis de la mosca de la fruta atraviesa por las siguientes etapas: huevo, larva, pupa y adulto. Su ciclo inicia con la postura de los huevos bajo la cáscara de la fruta por parte de las hembras adultas. Después de un periodo de incubación de 2 a 4 días, los huevos eclosionan y dan lugar a una larva. Ésta larva se alimenta de la pulpa del fruto y rompe las barreras de protección propias del fruto, permitiendo el ataque bacteriano y fúngico. Entre los 15 y 18 días que dura su periodo larvario, mientras que el fruto pierde su calidad y cae. Antes de pasar a su etapa puparia, la larva se introduce en la superficie del suelo, donde permanece hasta que se transforma en una mosca débil porque su piel aún es débil. La mosca fortalece su metabolismo mediante una alimentación basada en frutas deterioradas, pulgones o secreciones de troncos. El periodo de vida de una mosca adulta dura aproximadamente de 2 a 4 meses. La mosca hembra es capaz de poner hasta 400 huevos durante todo su periodo de mosca adulta (CESAVEM, 2015, p. 2).

En su estado adulto, las moscas poseen las siguientes características morfológicas: cuerpo de color amarillento, anaranjado y sus variaciones con manchas color café o negro; cabeza semiesférica con ojos grandes; posee tres secciones bien definidas en el tórax, con manchas en el abdomen y tórax y alas transparentes con manchas características de su especie. En la Figura 1.3 se pueden apreciar las características de la mosca adulta, que es la causante del ataque a especies como mango, guayaba, zapote, entre otras (Vilatuña et al., 2010, pp. 2-13).

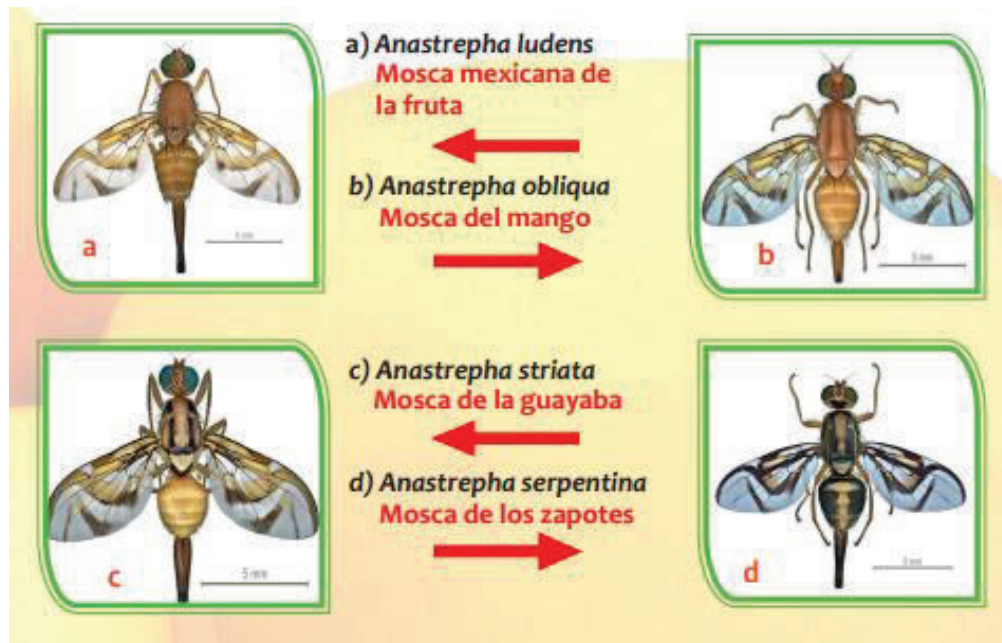


Figura 1.3. Principales especies de mosca de la fruta (CESAVEM, 2015, p. 3)

1.2.2. CONTROL DE LA MOSCA DE LA FRUTA EN LA GUAYABA

La guayaba (*Psidium guajava*) es una fruta muy cotizada en Europa y Estados Unidos de Norte América. La exportación de guayaba entre el 2007 hasta el primer semestre del 2012 correspondió a 2 970 toneladas. El 90 % de las guayabas son atacadas por la mosca de la fruta (Insuasty et al., 2007, p. 9; PROECUADOR, 2012, p. 7; Vilatuña et al., 2010, p. 1).

El control de la mosca de la fruta, en pocos casos, se ha realizado mediante el uso de insecticidas aplicados en las moscas adultas. Esta técnica en algunos casos podría provocar un desequilibrio y la incidencia de otras plagas (Salles y Rech, 1999, p. 225).

El uso de sustancias de origen vegetal para el control de plagas se está estudiando ampliamente. La azadiractina proveniente del Neem, es el ingrediente

activo más importante debido a su efecto para reducir la postura y el desarrollo de larvas de la mosca de la fruta (Landez, 2000, p. 7).

1.2.3. MANEJO INTEGRADO DE LA MOSCA DE LA FRUTA

El control integrado de la mosca de la fruta abarca todas las acciones referentes al monitoreo de la plaga mediante la ubicación de trampas y el muestreo de los frutos. Esto permite determinar oportunamente los sitios adecuados para aplicar las técnicas correctas, de forma secuencial y mejor dirigidas en tiempo y espacio para controlar las plagas. El manejo integrado de esta plaga permite el control de enfermedades, insectos malezas y otras plagas efectivamente con relación a costos, medio ambiente y salud (CESAVEM, 2015, p. 2; Landez, 2000, p.7).

El manejo integrado de la mosca de la fruta incluye:

- **Trampeo**

El trampeo es un proceso de mucha importancia dentro de un adecuado programa de manejo integrado contra la mosca de la fruta, porque permite identificar la presencia o ausencia de moscas en etapas adultas y la distribución de la plaga en campo. Además permite determinar la densidad de la población. Esta información es indispensable para el diseño y orientación de las estrategias de control. Las trampas deben ubicarse una por cada 5 hectáreas. Las McPhail® y las Multiture® son las más utilizadas, a las que se les coloca atrayentes basados en proteínas hidrolizadas (CESAVEM, 2015, p. 5).

- **Muestreo de frutos**

El muestreo es un proceso que permite seleccionar las muestras representativas para en ellas determinar la concentración de plagas en el cultivo, cuantificar los

daños provocados por la mosca en los frutos y dirigir el control mecánico de frutos. Para ello se deben seleccionar los frutos que cuelgan del árbol y aquellos que se encuentran en el suelo, que presenten síntomas de infestación como: perforaciones, manchas circulares amarillas, puntos necróticos y frutos con madurez prematura (CESAVEM, 2015, p. 6).

- **Control mecánico**

El control mecánico es una técnica que se basa en la recolección y eliminación de frutos en los sitios donde el muestreo indica la presencia de huevos, larvas o pupas de la plaga. Una vez recolectados, los frutos se deberán enterrar en una fosa con una profundidad mínima de 50 cm de profundidad, a la cual se le aplica una capa de cal, seguido por una capa de tierra hasta llenarla completamente. Este proceso permite la reducción de la población de la mosca hasta en un 60 % (CESAVEM, 2015, p. 6; Landez, 2000, p. 9).

- **Control químico**

El control químico es una técnica empleada para reducir la población de moscas de la fruta en estado adulto. Para ello se utilizan cebos selectivos que se aplican por aspersion en las hojas desde la parte media hasta la parte alta de la copa del árbol con un tamaño de gota de 3 a 6 mm. Estos cebos selectivos atraen únicamente a especies de la mosca de la fruta (CESAVEM, 2015, p. 7; Landez, 2000, p. 9).

- **Control cultural**

Las labores culturales son actividades que incluyen el reposo de los terrenos de cultivo durante determinadas épocas y el rastreo. Así se logra eliminar los gusanos y pupas de la mosca de la fruta que se encuentren en el suelo y quedan

expuestos a las condiciones ambientales y a sus enemigos naturales (CESAVEM, 2015, p. 7).

1.2.4. PELÍCULAS PARA EL CONTROL DE INSECTOS

Las películas biodegradables, de polímeros no tradicionales y de bajo costo son una alternativa para reducir el impacto ambiental. Las investigaciones se basan en almidones a los que se les puede mejorar sus propiedades mecánicas y de barrera con el uso de sustancias que le aportan propiedades plastificantes (Sánchez, García y Pinzón, 2012, p. 426).

En un estudio realizado por Sánchez et al. (2012), para caracterizar las películas elaboradas con almidón de yuca, se determinó que al incrementar el contenido de glicerol como plastificante, la película incrementó sus propiedades de barrera al vapor de agua y su tensión a la ruptura, mientras que el quitosano, utilizado como recubrimiento, disminuyó la deformación mecánica. La mejor formulación encontrada estuvo compuesta por 4 % almidón, 1,5 % glicerol y 1 % quitosano (pp. 426-428).

Según Growri et al. (2010), citado por Ibrahim, Eid, y El-Zairy (2011), el diseño y fabricación de textiles impregnados para proveer características especiales se ha incrementado en la actualidad. Las propiedades que se buscan obtener con la impregnación son; textiles con efectos antimicrobianos, repelentes de insectos, protección contra los rayos UV, facilidad de limpieza, anti radiación al tiempo que se tienen en cuenta factores como la comodidad, moda, el medio ambiente y los costos (p. 1 313).

Para la provisión de las diferentes propiedades funcionales en los textiles se utilizan diversos aditivos. El mejoramiento de estas propiedades depende del tipo de sustrato, la estructura química y la funcionalidad del aditivo, el método de impregnación y la durabilidad contra el medio externo (Ibrahim et al., 2011, p. 1 313).

En el estudio que se llevó a cabo para mejorar la barrera antibacteriana de impresiones de reactivos celulósicos a través de la adición de un complejo bioactivo llamado MCT- β CD en las formulaciones de impresión y tratamiento de las impresiones obtenidas con aceite de Neem realizado por Ibrahim et al. (2011), se encontró la existencia de una mejor actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus*, independientemente. El análisis de la actividad antibacteriana de las impresiones de reactivos celulósicos se realizó después de 15 ciclos de lavado doméstico de las impresiones celulósicas (pp. 1 314-1 318).

1.2.5. EFECTO DE LOS EXTRACTOS DE NEEM SOBRE EL GÉNERO *ANASTREPHA*

Anteriormente, se ha demostrado el efecto insecticida que posee la azadiractina proveniente de las semillas de Neem sobre el género *Anastrepha*. Este grupo de individuos abarca a la mayor parte de moscas de la fruta, las cuales son causantes de pérdidas en cultivos de diversos países (Salles, 1995, citado por Salles y Rech, 1999, p. 225).

La azadiractina en la mosca de la fruta actúa reduciendo la postura de huevos, afecta el desarrollo de pupas y larvas causando mal formaciones y muerte; en insectos adultos, atrofia sus alas (Salles y Rech, 1999, p. 225).

La torta de Neem reduce el número de huevos durante la postura de las hembras, este efecto se produce solamente en moscas que se encuentren en época de oviposición. El número de larvas que completaron su etapa y el número de pupas formadas se reduce significativamente aplicando torta de Neem (Salles y Rech, 1999, p. 226).

El Neem en formulación líquida reduce la oviposición de forma menos significativa. De igual manera, pero en menor cantidad, las larvas completan su ciclo larvario. Por el contrario, durante la etapa de pupa, esta formulación presenta deformaciones significativas (Salles y Rech, 1999, p. 226).

2. PARTE EXPERIMENTAL

A lo largo de este estudio se utilizaron los siguientes materiales, equipos y reactivos.

- **Materiales**

- Tela de algodón, tejido plano, 100 % algodón
- Pipetas de 5 mL
- Balones de vidrio de 25 mL
- Jaulas de experimentación (80 x 50 x 50) cm
- Malla de polietileno de alta densidad con tamaño de poro 1,39 × 1,39 mm
- Hilos de 15 cm, 100 % algodón con diámetro 1 mm.
- Arena

- **Equipos**

- Balanza Analítica Kern, 220 g, 0,000001 g, modelo ABT 220 – 5DM
- Prensa de estructura metálica acoplada a una gata hidráulica de 30 t
- Molino de discos marca Corona
- Termómetro termopar registrador de datos EXTECH instruments, modelo EA15
- Baño ultrasónico con termostato Branson, 8510
- Rotavapor con controlador de presión Buechi, R-215
- Plancha de agitación magnética Corning, PC-620D
- HPLC de ultra resolución Dionex, modelo Ultimate 3 000

- **Reactivos**

- Estándar de azadiractina (Chemservice, USA), 95,8 % de pureza
- Agua tipo A
- Acetonitrilo grado HPLC
- Almidón de yuca
- Glicerol
- Solución acuosa de azúcar común y proteína hidrolizada de soya (75 g : 25 g) en 100 mL de agua

2.1. EVALUAR LA CONCENTRACIÓN DE AZADIRACTINA EN EL ACEITE DE NEEM

La presente investigación se inició con la recolección de la materia prima, en la ciudad de Portoviejo de la provincia de Manabí.

2.2.1. OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Las semillas se recolectaron de forma manual con un estado de madurez completa. El material recolectado fue despulpado de forma manual, mediante la remoción de la epidermis, para obtener la semilla limpia.

Las semillas limpias se secaron durante 3 días al sol (12 a 15 h) y 15 días bajo sombra sobre una superficie para evitar el contacto directo con el suelo, bajo las condiciones ambientales de la ciudad de Portoviejo. Frecuentemente el material se volteó para facilitar el secado. Se realizó una caracterización de las semillas para determinar el peso y tamaño (transversal y longitudinal), con 40 repeticiones, mediante el método empleado por Romero y Vargas (2005) (p. 465).

Cuando las semillas se secaron, fueron pesadas en una balanza y se procedió a triturarlas en un molino de discos. Con el material triturado se realizó la extracción por presión manual de 30 t/cm² para obtener el aceite de Neem en la prensa (Osuna, 2005, pp. 10-13).

2.2.2. CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE DE NEEM

Una vez obtenido el aceite, se cuantificó el rendimiento con respecto a la cantidad de materia prima utilizada y la concentración de azadiractina.

La concentración de azadiractina en la fracción de aceite de Neem, se determinó mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) aplicando el método

descrito por Giraldo et al. (2002). Este procedimiento involucra el uso de una columna Waters Spherisorb 4,6 x 150 mm (5 µm). La columna se colocó en el horno a una temperatura de 30 °C. Se utilizó un detector de arreglo de diodos UV visible a una longitud de onda de 214 nm. La fase móvil requerida estuvo compuesta por agua: acetonitrilo (70:30). Se inyectaron 10 µL de estándar azadiractina Chemservice utilizado para la determinación de la concentración de ingrediente activo, se identificó la curva de absorbancia de azadiractina con una longitud de onda cercana a 214 nm. En la tabla 2.1, se detallan las especificaciones técnicas del HPLC utilizado para la cuantificación de azadiractina (pp. 60–61).

Tabla 2.1. Especificaciones cromatográficas del HPLC utilizado para la cuantificación de azadiractina

EQUIPO	ESPECIFICACIONES
Equipo	Cromatógrafo Dionex de ultra resolución, modelo Ultimate 3 000 y fabricación Alemana.
Detector	Marca Dionex con arreglo de fotodiodos.
Bomba	Marca Dionex Dualternaria (dos bombas ternarias en un mismo módulo)
Columna	Waters Spherisorb de sílica de 5 µm y 120 Å y tamaño 4,6 x 150 mm, con horno.
Muestreador	Automuestreador Dionex termoestabilizado.
Volumen de inyección	10 µL de estándar y 2 µL de muestra
Fase móvil	Acetonitrilo (ACN) (70 : 30)

Inicialmente se realizó una curva de calibración del estándar con concentraciones de 100 ppm, 70 ppm, 35 ppm, 17,5 ppm y 8,75 ppm para realizar la regresión lineal que permitió encontrar la ecuación de la recta y verificar su linealidad mediante el valor R^2 . Una vez construida la curva de azadiractina, se encontraron el tiempo de retención y el área bajo la curva. Para la determinación de la concentración de azadiractina se utilizó la Ecuación 3.1.

$$[Am]=\frac{[Ast]*\text{Área muestra}}{\text{Área estándar}} \quad [3.1]$$

Donde,

[Am]: Concentración de azadiractina en la muestra (ppm)

[Ast]: Concentración de azadiractina en el estándar (ppm)

Área muestra: Área bajo la curva de la muestra con dilución 10 μ L (mAU*min)

Área estándar: Área bajo la curva del estándar con dilución 10 μ L (mAU*min)

2.2. EVALUAR LA IMPREGNACIÓN DEL ACEITE DE NEEM EN UN SOPORTE TEXTIL

Durante la impregnación del aceite de Neem al soporte textil (tela de algodón), se prepararon dispersiones de almidón al 4 % con glicerol como plastificante al 1,5 %. A estas soluciones se les adicionó (0, 3 y 5 %) aceite de Neem.

Para preparar las soluciones para impregnar los soportes textiles se utilizaron 25 mL de agua por cada 1 g de almidón de yuca. Esta mezcla se disolvió con agitación constante a 70 °C hasta disolver completamente. Se deja enfriar hasta 40 °C manteniéndola con agitación. Luego se adicionan la cantidad requerida de aceite de Neem (3 % ó 5 %). Dejar reposar durante 10 minutos.

Para la impregnación del aceite de Neem, los soportes textiles se sumergieron en cada una de las soluciones por 10 s y luego se secaron entre 18 °C y 20 °C, durante 9 h consecutivas (Sánchez et al., 2012, p. 427). Las dimensiones de los soportes textiles para las concentraciones indicadas y para el testigo, fueron de 5 cm de ancho por 10 cm de largo.

Para evaluar la cantidad de azadiractina impregnada, se tomaron 8 soportes textiles impregnados con cada una de las dos concentraciones (aceite de Neem al 3 y al 5 %) y se cuantificó con la metodología de cromatografía líquida de alta eficacia de Giraldo et al. (2002), descrita anteriormente. En la Tabla 2.2 se detalla el proceso de extracción de la azadiractina del soporte textil y del aceite (pp. 60-61).

Tabla 2.2. Proceso para la preparación de las muestras






N°	Proceso	Descripción gráfica
1	Cortado del área impregnada de los soportes textiles.	
2	Purificación del aceite de Neem por centrifugado durante 10 min a 5 000 rpm.	
3	Pesaje de la muestra dentro de un balón de 100 mL.	
4	Disolución de las muestras con 60 mL de éter de petróleo con agitación durante 12 h.	
5	Lavado de la solución con 20 mL de metanol con 3 repeticiones cada 4 h.	

Tabla 2.2. Proceso para la preparación de las muestras (continuación...)




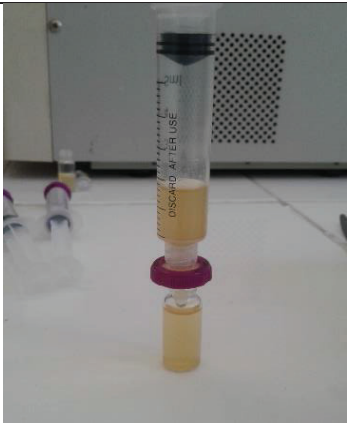

N°	Proceso	Descripción gráfica
6	Evaporación del solvente en el rotavapor al vacío a 50 °C.	 <p>A photograph showing a rotary evaporator (rotavapor) setup in a laboratory. The main unit is white with a digital display showing '176'. A glass flask is attached to the side arm, and a condenser is positioned above it. To the right, there is a white heating bath and a large black bottle with a blue label.</p>
7	Adición de 10 mL de metanol, 10 mL de agua tipo 2, 1 mL de solución al 5 % de NaCl y 60 mL de éter de petróleo. Lavado para obtener la parte acuosa.	 <p>A photograph of a white funnel with a red stopcock, containing a yellow liquid. The funnel has 'M2' handwritten on it in black marker.</p>
8	Separación de la parte acuosa con diclorometano y evaporación en el rotavapor al vacío a 40 °C.	 <p>A photograph showing a rotary evaporator (rotavapor) setup in a laboratory, similar to the one in row 6. The main unit is white with a digital display showing '176'. A glass flask is attached to the side arm, and a condenser is positioned above it. To the right, there is a white heating bath and a large black bottle with a blue label.</p>
9	Adición de 2 mL de metanol al residuo de la evaporación. Disolución, filtración y llenado en los viales.	 <p>A photograph of a small glass vial with a purple cap, containing a yellow liquid. The vial is placed on a white surface. In the background, there is a white wall with a grid pattern and a black bottle with a blue label.</p>

Tabla 2.2. Proceso para la preparación de las muestras (continuación...)

N°	Proceso	Descripción gráfica
10	Las muestras de M1: aceite, M2: soporte textil con 5 % a t=0; M3: soporte textil con 3 % a t=0; M4: soporte textil con 5 % a t=8 días; M5: soporte textil con 3 % a t=8 días; M6: soporte textil con 5 % a t=15 días; M7: soporte textil con 3 % a t=15 días para la determinación de azadiractina	

2.3. ESTUDIAR LA FUNCIÓN REPELENTE DEL SOPORTE TEXTIL SOBRE LA MOSCA DE LA FRUTA *ANASTREPHA STRIATA*

Para evaluar la función repelente del soporte textil se aplicó el método descrito por Valencia et al. (2004), en el cual se utilizaron tres jaulas (de 80 x 50 x 50 cm), cubiertas con mallas plásticas semitransparentes (p. 58). El experimento se llevó a cabo bajo condiciones ambientales (20 °C de temperatura y 70 % de humedad relativa).

En el interior de cada jaula se colocaron tubos metálicos como soportes para 10 frutos de guayaba, que fueron dispuestos en forma de decágono, es decir, en cada punta del decágono ubicó un fruto. Las guayabas se sujetaron con un hilo sin impregnación de 15 cm de largo (Valencia et al., 2004, p. 58).

En el punto medio del decágono, formado por los frutos de cada jaula, se situaron los soportes textiles impregnados con el 0, 3 y 5 % de aceite de Neem. Los soportes fueron suspendidos con un hilo sin impregnación de 10 cm de largo (Valencia et al., 2004, p. 58).

Los frutos de guayaba que se utilizaron en la experimentación fueron irradiados previamente con el método de Justo y Hernández (2009), a 300 Gy, para garantizar que los mismos sean inocuos y estén libres de larvas y pupas. El proceso de irradiación se llevó a cabo en el Departamento de Ciencias Nucleares de la Escuela Politécnica Nacional, mediante el uso de la Fuente de Cobalto-60 (p. 57).

En cada una de las jaulas se liberaron 15 moscas de la fruta *Anastrepha striata*, las mismas que se alimentaron de una solución acuosa de tres partes de azúcar común y una parte de proteína hidrolizada de soya, que se colocaron en un extremo de cada jaula. Se aplicó un diseño completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento; cada fruto se consideró como una repetición (Valencia et al., 2004, p. 58).

Para obtener las moscas se colocaron 20 frutas maduras seccionadas por el área ecuatorial en recipientes, las larvas que abandonaron las frutas se depositaron en un frasco con arena humedecida, el mismo que se cubrió con una malla fina asegurada con una liga. Dentro de 10 a 15 días los adultos emergieron (periódicamente se humedeció la arena). Luego se recolectaron las moscas adultas; se escogieron 45 moscas para las jaulas de experimentación y las restantes se introdujeron en alcohol al 70 % (Insuasty et al., 2007, p. 15). Posteriormente se realizó un estudio entomológico en el Instituto de Ciencias Biológicas Laboratorio de Genética Evolutiva de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador para determinar la taxonomía de las moscas.

Se determinó el número de larvas presentes en el corte de cada fruta para cada tratamiento. Las mediciones se realizaron a los 8 y 15 días con guayabas tratadas con soportes textiles impregnados al 0, 3 y 5 % de aceite de Neem. En cada medición se reemplazaron las guayabas, obteniéndose 10 repeticiones. Se utilizó un diseño multifactorial con 2 factores (A: Concentración de aceite en el soporte textil, 0, 5 y 3%) y (B: Tiempo, 8 y 15 días) y 2 repeticiones (Valencia et al., 2004, p. 58).

2.4. EVALUAR LA ESTABILIDAD DE LA AZADIRACTINA EN EL SOPORTE TEXTIL

La estabilidad se determinó al cuantificar la cantidad de azadiractina impregnada en los soportes textiles a los 8 días y 15 días (almacenados bajo condiciones ambientales a 20 °C de temperatura y 70 % de humedad relativa). Para esto, se tomó un área determinada del soporte textil (8 soportes) impregnado con concentraciones 3 y 5 % de aceite de Neem. Mediante HPLC se determinó la concentración de azadiractina presente en cada uno de los soportes (Giraldo et al., 2002, pp. 60-61).

Con los datos resultantes de la cuantificación de azadiractina por cromatografía, se realizó un diseño multifactorial con 2 factores (A: Concentración de azadiractina presente en los soportes textiles, 3 y 5 %) y (B: Tiempo de almacenamiento, 0, 8 y 15 días) con 2 repeticiones. Se evaluó la degradación de la azadiractina para cada uno de los soportes textiles impregnados con aceite de Neem mediante la evaluación de la pérdida de azadiractina durante el transcurso del tiempo (Valencia et al., 2004, p. 58).

Con ayuda de los programas Excel y Statgraphics se realizó el análisis estadístico y discusión de los resultados.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación se utilizaron semillas de Neem recolectadas en la ciudad de Portoviejo de la Provincia de Manabí. En la Figura 3.1 se muestran las semillas de Neem. Con fines de estandarización del estudio, las semillas fueron cosechadas en su estado de madurez verde-amarillo (Osuna, 2005, p. 10; Romero y Vargas, 2005, p. 465).

Mediante un muestreo completamente al azar, se obtuvieron las características físicas de las semillas frescas. El peso promedio de las semillas fue de $0,55 \pm 0,04$ g. Los promedios de los tamaños longitudinal y transversal de las mismas semillas fueron $1,70 \pm 0,11$ cm y $0,79 \pm 0,08$ cm, respectivamente. Los datos individuales de las mediciones de las semillas ($n = 40$) se muestran en el Anexo I.

De acuerdo con lo expresado en bibliografía, por Romero y Vargas (2005), quienes indican que las semillas poseen un peso de $0,21 \pm 0,05$ g, un tamaño longitudinal de $1,3 \pm 0,2$ cm y un tamaño transversal de $0,63 \pm 0,07$ cm.

El peso de las semillas de Neem utilizadas para la extracción de aceite fue altamente superior al valor reportado en bibliografía. De igual manera, el tamaño longitudinal y transversal de las semillas usadas fueron superiores en 0,4 cm y 0,2 cm, respectivamente (p. 467).



Figura 3.1. Semillas de Neem secas, después del proceso de despulpado y secado

3.1. EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZADIRACTINA EN EL ACEITE DE NEEM

Este estudio se debe a la necesidad de buscar alternativas para el control plagas en cultivos sin causar efectos negativos sobre el ambiente y la salud de los seres humanos. Como respuesta a esta necesidad, se han implementado métodos de manejo integrado con sustancias vegetales y medidas de tipo cultural que constituyen una opción prometedora para el control de la mosca de la fruta. En ese sentido, el aceite de Neem se podría considerar como una alternativa para combatir la mosca de la fruta que afecta al cultivo de frutales en el Ecuador (Bajwa y Ahmad, 2012, p. 116; Valencia et al., 2004, p. 57).

3.1.1. CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE DE NEEM

La extracción del aceite de Neem se realizó a partir de las semillas y el rendimiento obtenido fue del 12 % (w/w) mediante el proceso de prensado. En la Figura 3.2 se muestra gráficamente la extracción del aceite de Neem a partir de las semillas.

En el estudio realizado por Riofrío (2007), el rendimiento obtenido mediante el proceso de prensado en frío fue del 20 %. Dicho rendimiento es superior en 8 % en comparación con el obtenido en este estudio (p. 19).

En la investigación realizada por Jadeja et al. (2011), reportaron que el promedio de los rendimientos obtenidos durante la extracción de aceite de Neem mediante el proceso de solventes presurizados fue de 7,75 %, utilizando presiones entre 50 y 200 bar. Este rendimiento fue inferior al obtenido mediante el proceso de prensado realizado en el presente estudio y en el de Riofrío (2007). La diferencia registrada en los valores del rendimiento de aceite, indica que la extracción mediante prensado en frío provee los mejores rendimientos con respecto a la cantidad de aceite obtenido a partir de las semilla de Neem (p. 255).

La densidad del aceite de Neem obtenida en esta investigación fue de 0,95 g/mL. Mientras que la densidad obtenida por Chaudhari (2013), fue de 0,92 g/mL (p. 1 781).

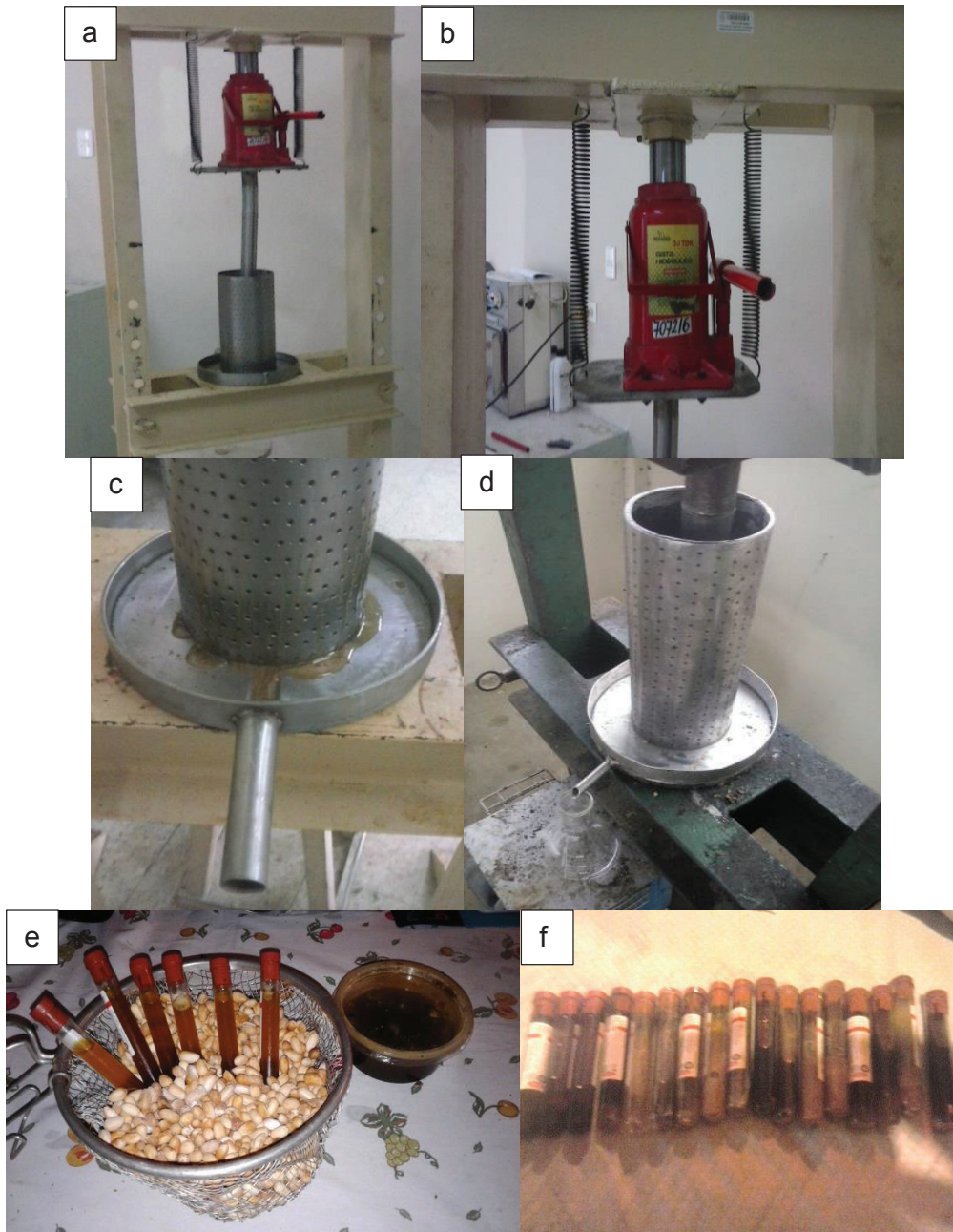


Figura 3.2. Extracción del aceite de Neem. a) Prensa hidráulica con estructura de hierro; b) Elevador hidráulico de carga con capacidad de 32 t; c) Cilindro metálico agujereado mostrando la salida de aceite producto de la presión; d) Estructura del cilindro metálico en el soporte; e) Aceite y semillas de Neem; f) Almacenamiento del aceite

3.1.2. CONCENTRACIÓN DE AZADIRACTINA EN EL ACEITE DE NEEM

La preparación de la muestra para determinar la concentración de azadiractina en el aceite y los soportes textiles se realizó con el fin de separar el extracto graso y evaporar el extracto acuoso, para obtener la cantidad de azadiractina.

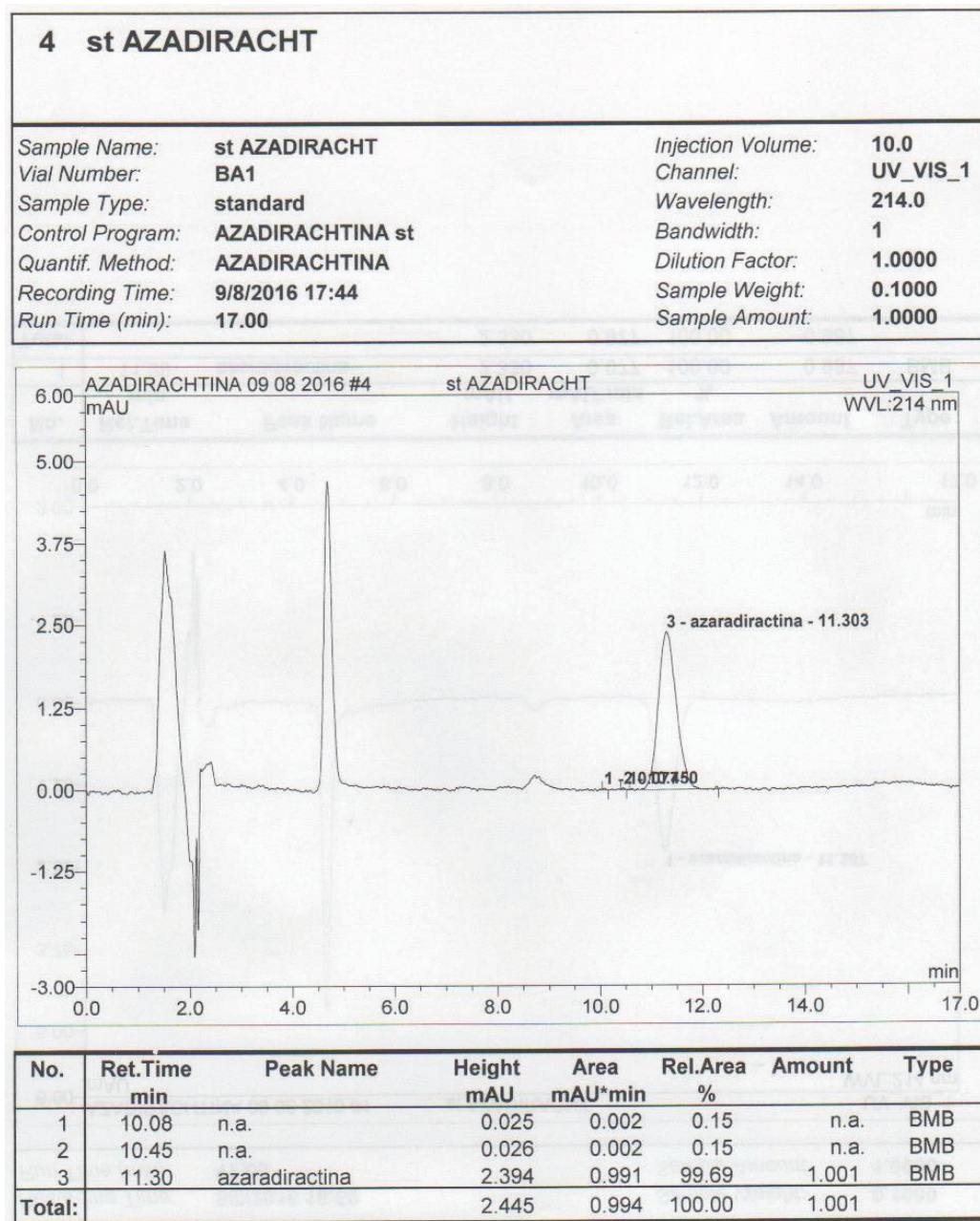


Figura 3.3. Cromatograma del estándar de azadiractina

Para determinar la concentración de azadiractina se utilizó un estándar con una concentración de 100 ppm. En la Figura 3.3, se puede apreciar el cromatograma del estándar, con los datos de relevancia, que permitieron determinar la concentración de azadiractina en las muestras de aceite. El tiempo desde la inyección hasta la detección del pico máximo fue de 11,30 min (tiempo de retención). El área promedio bajo la curva fue de $0,99 \pm 0,003$ mAU*min después de 5 inyecciones de estándar y la longitud de onda en el punto máximo de la curva fue de 214 nm. En la Figura 3.4, se muestran el barrido que se realizó con el estándar para determinar la máxima longitud de onda.

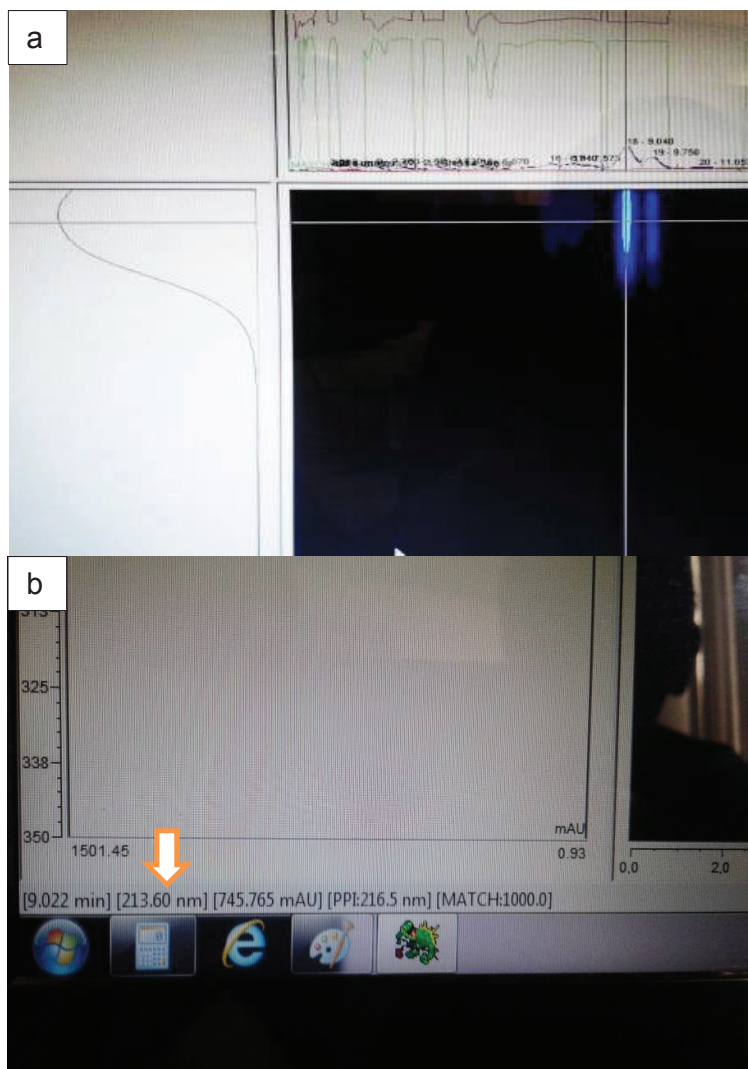


Figura 3.4. Barrido del estándar. a) Espectro de luz del estándar de azadiractina y ubicación del pico máximo; b) Lectura de la máxima longitud de onda

Después de realizar la curva de calibración del estándar, se obtuvieron como resultados de la regresión lineal la ecuación de la recta y el valor R^2 . El valor de la pendiente de la recta fue de 101,01 ppm / mAU*min y el valor $R^2=0,9993$. Con esto se verifica la linealidad de la curva del estándar.

En el cromatograma del aceite se puede apreciar que el tiempo de retención de la azadiractina (10,97 s) posee un valor cercano al tiempo de retención del estándar (11,3 s). Según Razmilic (1993), esta diferencia, relativamente menor, se debe a la variación del área de los picos y a las variaciones de temperatura, presión y caudal a las que son sometidas las muestras dentro del equipo. Además, la longitud de onda en los dos casos coincide en 214 nm. Con estas dos coincidencias, se pudo determinar el área bajo la curva y a su vez la concentración de azadiractina presente en el aceite de Neem (Giraldo et al., 2002, pp. 60-62).

En la Tabla 3.1 se muestran los resultados del análisis cromatográfico del aceite puro de Neem.

Tabla 3.1. Concentración de azadiractina en el aceite de Neem

Muestra	Concentración (ppm)	Media (ppm)
Aceite puro (R1)	6 165,00	6 165,11 ± 0,11
Aceite puro (R2)	6 165,22	

$X \pm \sigma$ (n = 2)

La cantidad de azadiractina determinada, con dos repeticiones, en el aceite de semillas de Neem, obtenido mediante el procesos de prensado, fue de 6 165,11 ± 0,11 ppm; este resultado está en concordancia con los valores reportados por Orozco y Rodríguez (2007), quienes determinaron que la concentración de aceite de Neem está entre 1 000 ppm y 6 000 pmm y depende de la geografía y la genética del cultivo (p. 252). En la Figura 3.5 se puede observar el cromatograma del aceite de Neem, mientras que en el Anexo II se muestran el ejemplo de cálculo para la determinación de la concentración de

azadiractina en el aceite puro de Neem, a partir de los valores de las áreas obtenidas del cromatograma del aceite.

Según Arias et al. (2009), en su estudio para la determinación de azadiractina presente en los aceites esenciales del árbol del Neem, la concentración de ingrediente activo en la semilla de Neem, mediante los métodos de extracción por solventes, hidrodestilación y fluido supercrítico fue de 2 416 ppm, 152 ppm y 5,68 ppm, respectivamente (p. 24).

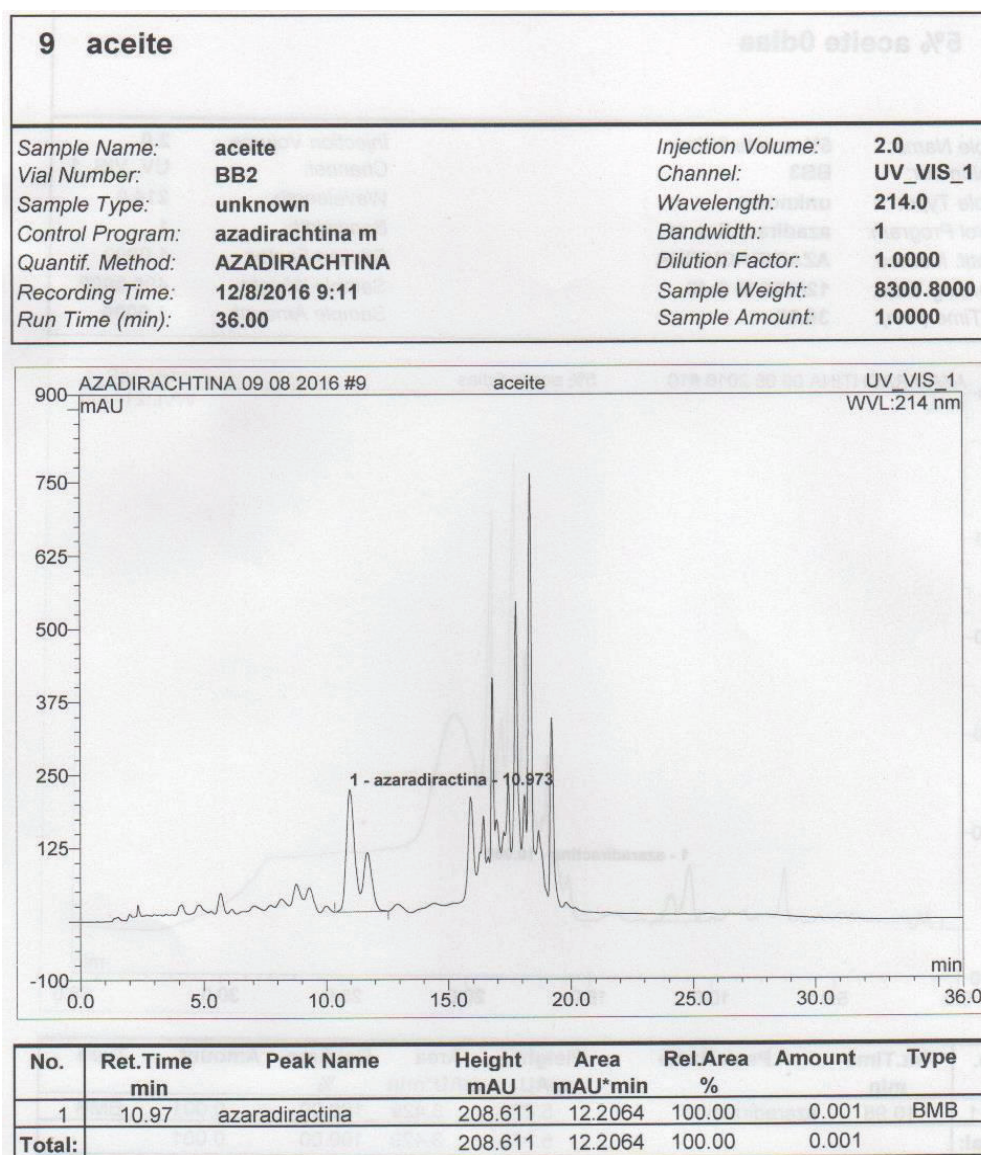


Figura 3.5. Cromatograma del aceite puro de Neem

En un estudio reportado por Angulo et al. (2004) para determinar el contenido de azadiractina en semillas de Neem, se determinó que las concentraciones de ingrediente activo (Azadiractina) en el norte y centro de Sinaloa fueron en promedio 2 463 ppm y 2 233 ppm, respectivamente (p. 309), las cuales fueron inferiores a las encontradas en este estudio. Estas diferencias confirman que la concentración de azadiractina en el aceite proveniente de las semillas de Neem depende de las zonas agroclimática donde se desarrolla el árbol, de la genética de las condiciones ambientales y de los procesos de extracción del aceite. En base a esto, se pudo verificar que el aceite proveniente de los árboles de Neem, cultivados en la ciudad de Portoviejo, posee altos contenidos de ingrediente activo (azadiractina).

3.2. EVALUACIÓN DE LA IMPREGNACIÓN DEL ACEITE DE NEEM EN UN SOPORTE TEXTIL

Una vez impregnados los corbatines con cada una de las soluciones e estudio, se secaron durante el tiempo establecido y se evaluaron los objetivos propuestos. En la Figura 3.6 se muestran los soportes textiles preparados y el proceso de secado. En el Anexo III se muestra una propuesta gráfica de una planta para la producción de soportes textiles de aceite de Neem, conforme a los procesos realizados en este estudio.

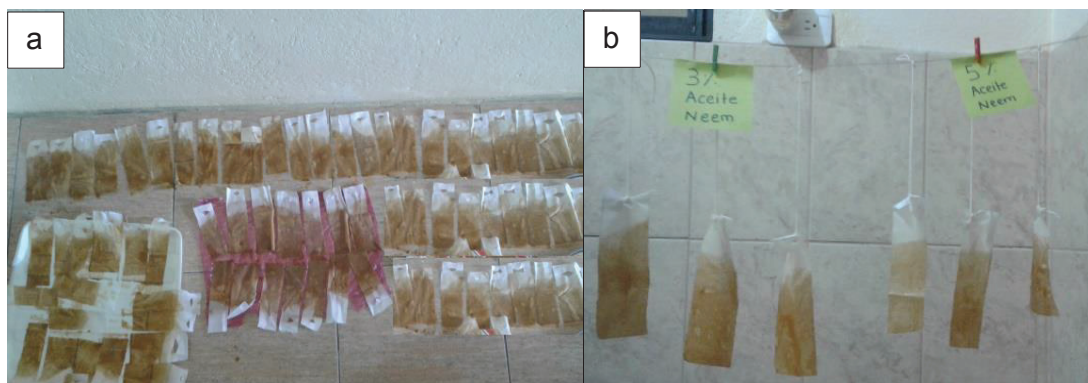


Figura 3.6. Preparación y secado de soportes textiles. a) Soportes textiles impregnados con cada una de las soluciones al 3 y 5 % de aceite de Neem; b) Secado de soportes textiles

Para la evaluación de la impregnación del aceite de Neem en los soportes textiles a los 0 días, se utilizó el método para obtener el extracto acuoso usado durante el estudio del aceite puro de Neem. Se determinó la concentración de azadiractina presente en los soportes textiles al 3 y 5 % de Neem, inmediatamente después de la impregnación y secado (Giraldo, 2002, pp. 60-62).

En la Tabla 3.2 se muestran los resultados de los análisis cromatográficos para la concentración de azadiractina en los soportes textiles impregnados con 3 y 5 % de aceite de Neem a los 0 días.

Tabla 3.2. Concentración de azadiractina en los soportes textiles a los 0 días

Muestra	Concentración (ppm)
Soporte textil al 3 % (R1)	154,82 ± 0,2
Soporte textil al 5 % (R1)	173,48 ± 0,09

$X \pm \sigma$ (n = 2)

3.2.1. CONCENTRACIÓN DE AZADIRACTINA EN EL SOPORTE TEXTIL IMPREGNADO CON 3 % DE ACEITE DE NEEM

El área bajo la curva del pico de azadiractina fue de 0,3052 mAU * min. Con esto se determinó que la concentración de azadiractina presente en el soporte textil impregnado con aceite de Neem al 3 %, fue de 154,82 ± 0,2 ppm. En la Figura 3.7 se observa el cromatograma y los datos del soporte textil a los 0 días.

El pico de azadiractina del soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem, comparado con la del pico de aceite puro poseen la misma forma, pero el tamaño es mayor en el aceite puro. En los cromatogramas, el eje Y, representa la absorbancia (cantidad de luz que es absorbida por la muestra); este hecho muestra gráficamente que la concentración es mayor en el aceite puro con respecto al soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem.

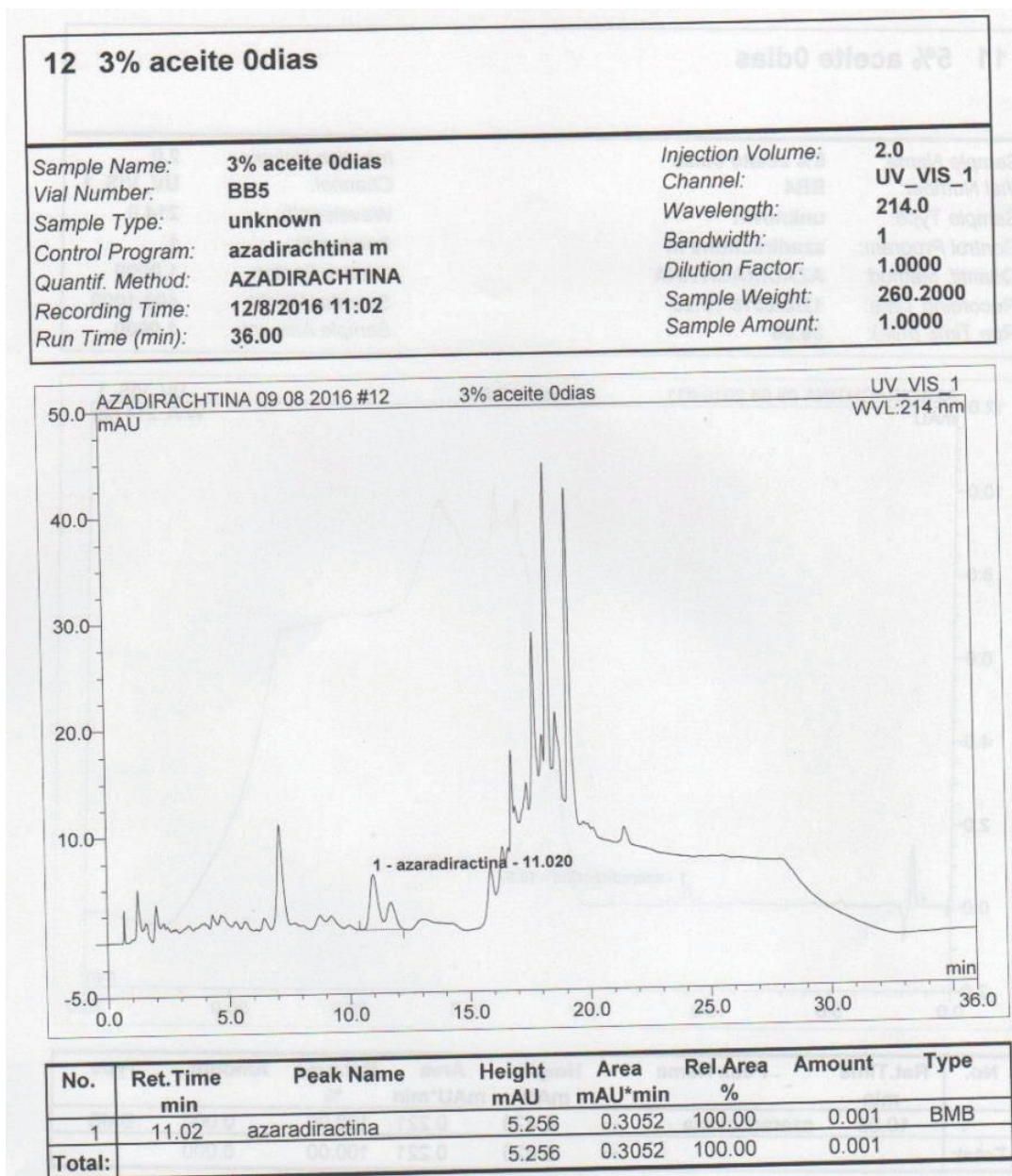


Figura 3.7. Cromatograma del soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a 0 días

3.2.2. CONCENTRACIÓN DE AZADIRACTINA EN EL SOPORTE TEXTIL IMPREGNADO CON 5 % DE ACEITE DE NEEM

El área bajo la curva del pico de azadiractina fue de 0,3429 mAU * min. Con esto se determinó que la concentración de azadiractina presente en el soporte textil,

impregnado con aceite de Neem al 5%, fue de $173,48 \pm 0,09$ ppm. En la Figura 3.8 se observa el cromatograma del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 0 días.

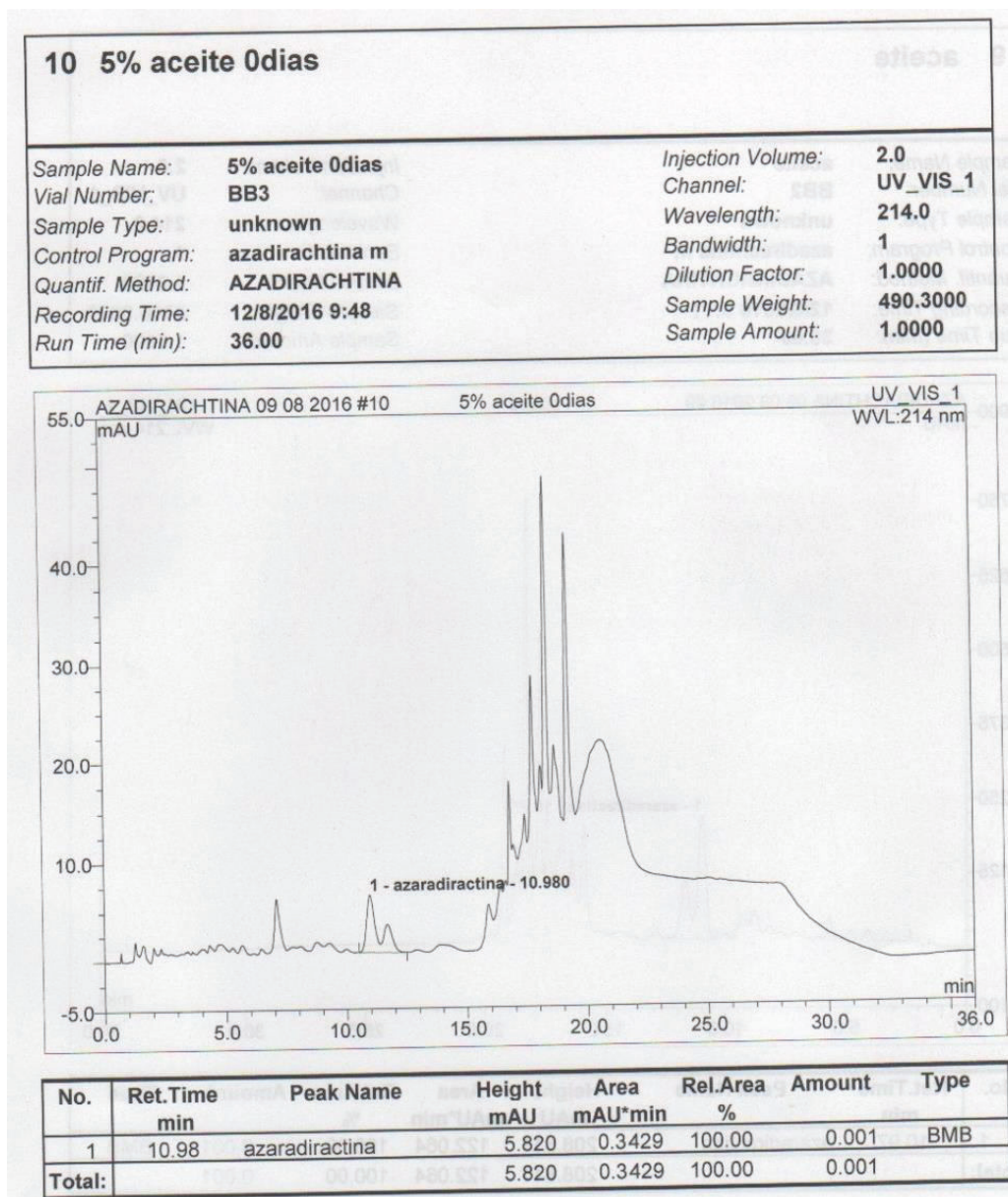


Figura 3.8. Cromatograma del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a 0 días

El pico de azadiractina del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem, comparado con los picos de aceite puro y del soporte textil impregnado con 3 %

aceite de Neem poseen la misma forma, pero el tamaño es mayor en el aceite puro y similar al del soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem. En el eje Y, que representa la absorbancia; este hecho muestra gráficamente que la concentración es mayor en el aceite puro con respecto al soporte textil impregnado con 3 y 5 % de aceite de Neem.

De igual manera, con los valores de altura del pico (absorbancia), se puede apreciar que el soporte textil impregnado con 5 % aceite de Neem (5,82 mAU), contiene mayor concentración de azadiractina, con respecto al soporte textil impregnado con 3 % de aceite (5,256 mAU) y menor concentración de azadiractina, comparado con el aceite de Neem puro (208,611 mAU).

Los valores de concentración de azadiractina presente en los soportes textiles demuestran que el ingrediente activo si se impregnó.

3.3. ESTUDIO DE LA FUNCIÓN REPELENTE DEL SOPORTE TEXTIL SOBRE LA MOSCA DE LA FRUTA *ANASTREPHA STRIATA*

La función repelente se demostró mediante la existencia de un efecto sobre la oviposición de *Anastrepha striata* con la presencia de los soportes textiles impregnados con aceite de Neem.

Las moscas fueron obtenidas a partir de las larvas provenientes de guayaba nacional. Se realizó un cultivo durante 8 días bajo condiciones ambientales (18 °C a 20 °C). En la Figura 3.9 se muestra el cultivo de la moscas a partir de las larvas.

Una vez obtenidas las moscas, éstas fueron enviadas al Laboratorio de Taxonomía de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE). De una muestra compuesta por 45 individuos, se obtuvieron 22 machos y 23 hembras, de

las cuales todas pertenecieron al género *Anastrepha*, subgénero *striata* y especie *Anastrepha striata*. En el Anexo IV se muestra el certificado emitido por el profesional responsable.

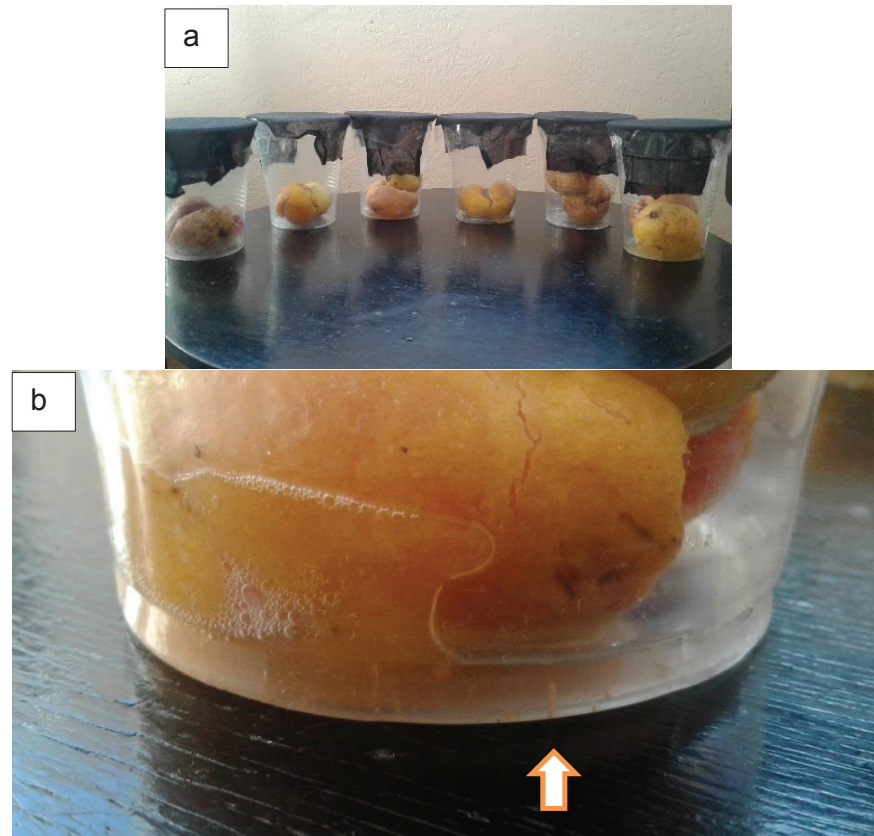


Figura 3.9. Cultivo de moscas a partir de larvas presentes en guayabas. a) Cultivo de mosca de la fruta; b) Guayaba con presencia de larvas

Previo al inicio de este estudio, las guayabas utilizadas para el estudio fueron irradiadas con una dosis de 300 Gy, el proceso de irradiación duró 1,92 h, a una distancia de 0,3 m. En la Figura 3.10 se muestra la irradiación de las guayabas, mientras que en el Anexo V se encuentran las condiciones para obtener la dosis de irradiación requerida.

En el estudio realizado por Reyes et al. (2013), sobre los efectos en la calidad química de las guayabas irradiadas con dosis de 150, 200 y 300 Gy, determinaron que la dosis de 300 Gy puede ser utilizada como tratamiento para garantizar la inocuidad de los productos (p. 96).

De acuerdo con Justo y Hernández (2009), la irradiación de guayabas es utilizada como un método cuarentenario en contra de la mosca de la fruta, sin dejar residuos no deseables. A 150 y 300 Gy las larvas presentes en las guayabas no fueron afectadas por el insecto (p. 55).

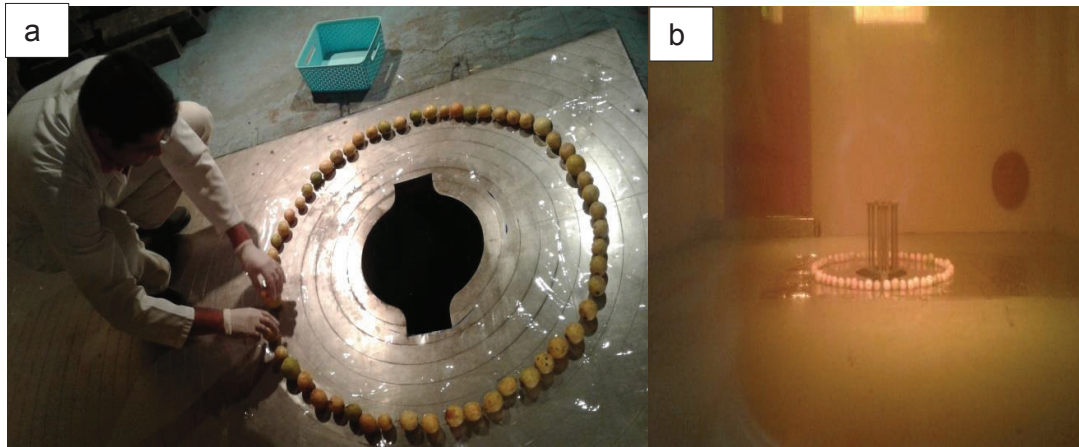


Figura 3.10. Irradiación de guayabas en fuente de Cobalto-60. a) Ubicación de los frutos dentro de la cámara de irradiación; b) Fuente de Cobalto-60 durante la irradiación

La evaluación del efecto de oviposición de la mosca de la fruta se llevó a cabo en jaulas de experimentación, cuyo diseño se muestra en la Figura 3.11.



Figura 3.11. Caseta de experimentación para mosca *Anastrepha striata* con soporte textil

El conteo de las larvas se realizó en 10 frutos a los 8 y 15 días de forma manual, mediante el corte y contaje directo. En la Figura 3.12 se muestra el conteo de larvas en los frutos de guayaba.



Figura 3.12. Contaje de larvas de mosca *Anastrepha striata* en guayabas tratadas con soporte textil impregnado con 3 % aceite de Neem a los 15 días

Las medias de los datos obtenidos durante el contaje de larvas se presentan en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Número de larvas presentes en las guayabas

Concentración	Tiempo	Número de larvas
Soportes con 0 % Aceite de Neem	8 días	8,1 ± 0,83
	15 días	10,7 ± 1,68
Soportes con 3 % Aceite de Neem	8 días	1,8 ± 0,60
	15 días	5,0 ± 1,00
Soportes con 5 % Aceite de Neem	8 días	0,7 ± 0,64
	15 días	1,5 ± 0,81

$X \pm \sigma$ (n = 10)

Para el análisis del diseño experimental se utilizaron las condiciones detalladas en la Tabla 3.4. Los datos de contaje de larvas presentes en las guayabas,

requeridos por este estudio, provienen de las observaciones realizadas a cada una de las frutas a los 8 y 15 días.

Tabla 3.4. Condiciones del diseño experimental

Parámetro	Característica
Clase de diseño	Multifactorial
Número de corridas	60
Factores	Concentración de aceite de Neem (0, 3 y 5 %) Tiempo (8 y 15 días)
Repeticiones	10
Variable de Respuesta	Número de larvas presentes en el corte de la fruta

El análisis de varianza (ANOVA) se presenta en la Tabla 3.5. Se observa la existencia de un efecto estadísticamente significativo del factor A (concentración de aceite de Neem) y del factor B (tiempo) sobre la variable número de larvas, con un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 3.5. Análisis de varianza del conteo de larvas

Fuente	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:CONCENTRACIÓN DE ACEITE NEEM	2	367,27	335,01	0,0000**
B:TIEMPO	1	72,60	66,22	0,0000**
RESIDUOS	54	1,10		

**= Diferencias significativas.

La media global del número de larvas presentes en la guayaba fue de $4,63 \pm 3,83$ larvas. Los resultados obtenidos para la evaluación de la función repelente de los soportes textiles impregnados con aceite de Neem al 5 % fueron; $0,7 \pm 0,64$ larvas a los 8 días de exposición de la guayaba a la mosca de la fruta y de $1,5 \pm 0,81$ larvas a los 15 días. Paralelamente, con los soportes textiles impregnados con 3 % aceite de Neem se registraron $1,8 \pm 0,6$ larvas a los 8 días y 5 ± 1 larvas a los 15 días. Comparando con el testigo con el que se obtuvieron como resultados $8,1 \pm 0,83$ larvas a los 8 días y $10,7 \pm 1,68$ larvas a los 15 días se demuestra que el soporte textil impregnado con aceite de Neem combate la

mosca de la fruta *Anastrepha striata*. Los mejores resultados se obtuvieron con los soportes impregnados con 5 % aceite de Neem.

Con respecto al factor tiempo, el mayor número de larvas presentes en la fruta se obtuvo a los 15 días, con una media (entre los 0, 3 y 5 %) de $5,73 \pm 3,79$ larvas, contrario a los 8 días, donde el número de larvas presentes en las guayabas fue menor, con un promedio de $3,53 \pm 3,26$. En la Figura 3.13 se muestra el efecto de la concentración de aceite de Neem en los soportes textiles sobre el número de larvas encontradas.

Según datos bibliográficos, una mosca de la fruta hembra puede incubar hasta 400 huevos durante todo su periodo de vida, que corresponde un promedio de 3 meses, con periodos de oviposición de 10 a 12 días durante sus 2 meses de etapa adulta; es decir, aproximadamente 67 huevos por postura (CESAVEM, 2015, p. 2).

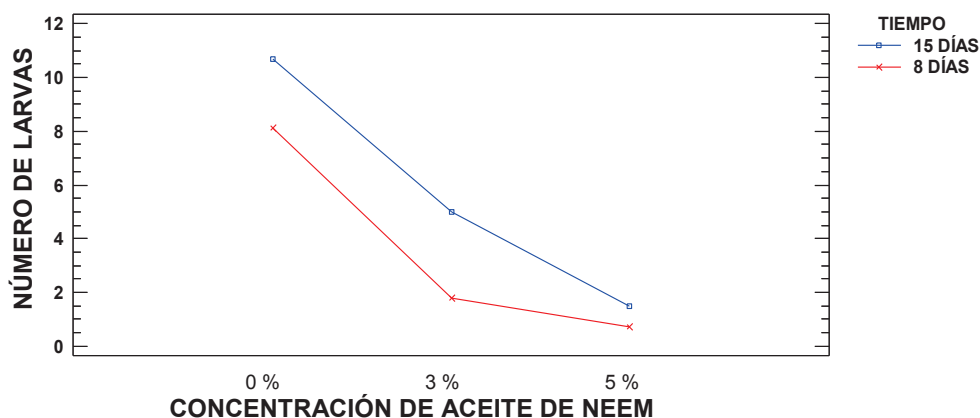


Figura 3.13. Efecto de la concentración de aceite de Neem en los soportes textiles sobre el número de larvas de mosca presentes en los frutos

El número de larvas registradas en las guayabas es inferior al promedio calculado desde la bibliografía, lo cual prueba la eficacia sobre la oviposición por la presencia de los soportes textiles impregnados con aceite de Neem.

En un estudio realizado por Valencia et al. (2004) se demostró la existencia de un efecto de repelencia con extractos acuosos en dos concentraciones (3 y 5 % de

Neem) sobre la oviposición de la mosca de la fruta (*Anastrepha ludens*) en naranjas (p. 4).

Debido a la existencia de efectos significativos en los dos factores, concentración de aceite de Neem y tiempo, se aplicó la prueba de Tukey con un 95 % de confianza, con el fin de encontrar las diferencias entre las medias.

En la Tabla 3.6 se puede apreciar que para el factor concentración de aceite de Neem, con respecto al número de larvas presentes en los frutos, discriminando el factor tiempo, se encontraron 3 grupos homogéneos, marcados con superíndices. En la Figura 3.14 se presenta el gráfico de medias con los grupos previamente mencionados, manteniendo el factor tiempo constante.

Tabla 3.6. Concentración de aceite de Neem con respecto al número de larvas, discriminando el factor tiempo

CONCENTRACIÓN DE ACEITE NEEM	Media (Número de larvas)
5 % (a los 8 y 15 días)	1,1 ± 0,4 ^a
3 % (a los 8 y 15 días)	3,4 ± 1,6 ^b
0 % (a los 8 y 15 días)	9,4 ± 1,3 ^c

$X \pm \sigma$ (n = 10)

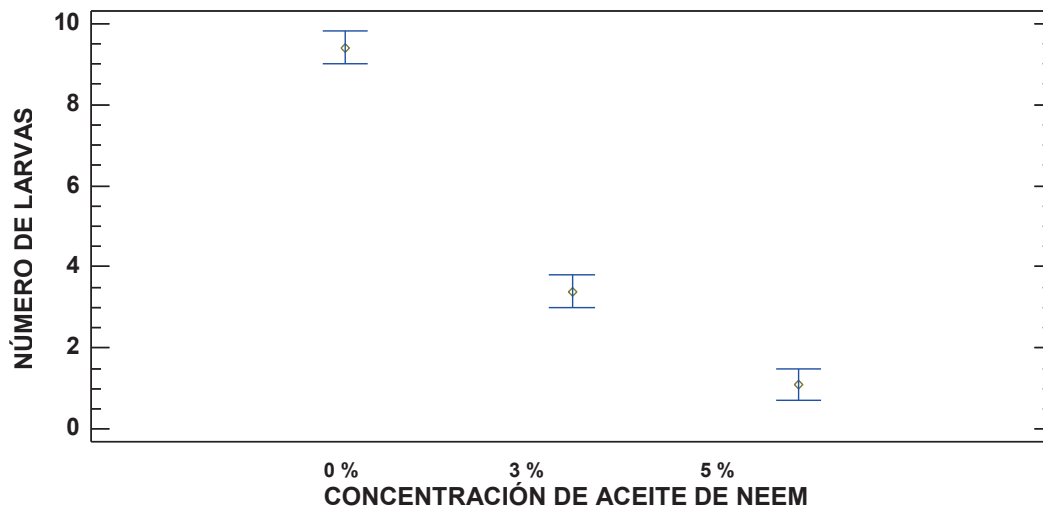


Figura 3.14. Concentración de aceite de Neem vs. número de larvas de mosca

En la Tabla 3.7 se puede apreciar que para el factor concentración de aceite de Neem se encontraron 2 grupos homogéneos, marcados con superíndices.

Tabla 3.7. Número de larvas en el tiempo

TIEMPO	Media (Número de larvas)
8 DÍAS (a 0, 3 y 5 % aceite de Neem)	$3,53 \pm 3,26^a$
15 DÍAS (a 0, 3 y 5 % aceite de Neem)	$5,73 \pm 3,79^b$

$X \pm \sigma$ (n = 10)

Medias y 95.0% de Tukey HSD

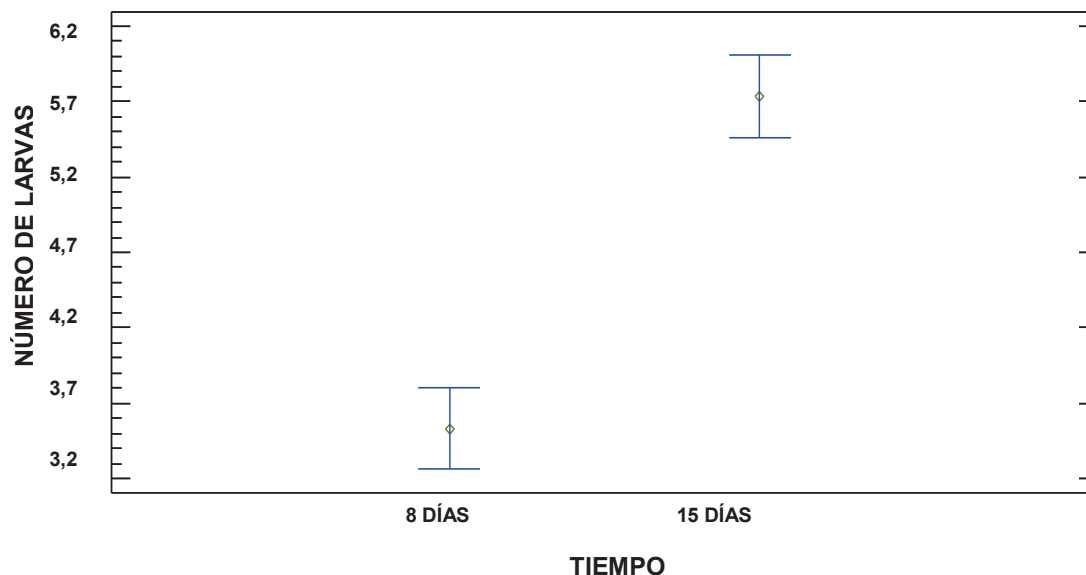


Figura 3.15. Medias de tiempo vs. número de larvas

En la Figura 3.15 se muestra el gráfico de medias con los grupos previamente mencionados, manteniendo la concentración de aceite de Neem constante. Además, se puede observar que el número de larvas incrementa con el tiempo, lo cual se explica en el estudio de estabilidad de la azadiractina.

La desviación estándar de las medias de conteo de larvas es alta, comparada con la media, lo cual se debe a la variación de los valores de conteo cuando se discrimina la concentración de aceite de Neem.

3.4. EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LA AZADIRACTINA EN EL SOPORTE TEXTIL

La evaluación de la estabilidad del soporte textil se realizó a los 8 y 15 días con los soportes impregnados con 5 % y 3 % de aceite de Neem.

3.4.1. CONCENTRACIÓN DE AZADIRACTINA EN EL SOPORTE TEXTIL IMPREGNADO CON 5 % DE ACEITE DE NEEM A LOS 8 DÍAS

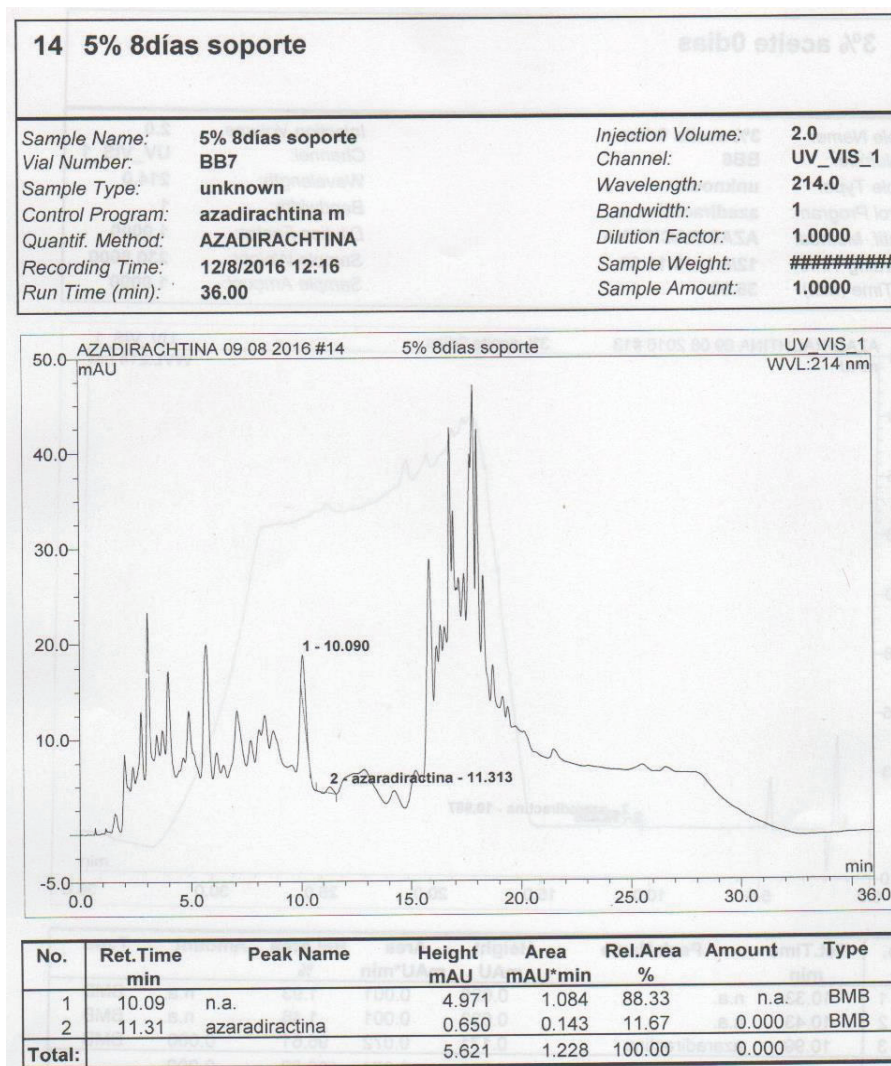


Figura 3.16. Cromatograma del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 8 días

El área bajo la curva del pico de azadiractina fue de 0,143 mAU * min. Con esto se determinó que la concentración de azadiractina presente en el soporte textil impregnado con aceite de Neem al 5 % a los 8 días fue de $72,34 \pm 0,31$ ppm, como se muestra el en la Figura 3.16.

El pico de azadiractina del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 8 días, comparado con la del pico de aceite puro no posee la misma forma, debido a la diferencia en su composición. El tamaño del pico de azadiractina es menor comparado con el del aceite puro, debido a que su concentración de aceite es del 5 %. En los cromatogramas, el eje de absorbancia (cantidad de luz que es absorbida por la muestra) muestra que la concentración de azadiractina es menor en el soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 8 días con respecto el mismo soporte a los 0 días.

3.4.2. CONCENTRACIÓN DE AZADIRACTINA EN EL SOPORTE TEXTIL IMPREGNADO CON 5 % DE ACEITE DE NEEM A LOS 15 DÍAS

El área bajo la curva del pico de azadiractina fue de 0,084 mAU * min. Con esto se determinó que la concentración de azadiractina presente en el soporte textil impregnado con aceite de Neem al 5 % a los 15 días fue de $42,44 \pm 0,1$ ppm, como se muestra el en la Figura 3.17.

El pico de azadiractina del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 15 días, comparado con la del pico de aceite puro no posee la misma forma, debido a la diferencia en su composición. El tamaño del pico de azadiractina es menor comparado con el del aceite puro, debido a que su concentración de aceite es del 5 %. En los cromatogramas, el eje de absorbancia (cantidad de luz que es absorbida por la muestra) muestra que la concentración de azadiractina es menor en el soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 15 días comparado con los mismos soportes textiles impregnados con 5 %, tanto a los 0 días, como a los 8 días; esto podría deberse a la disminución de la estabilidad del ingrediente activo dentro del soporte textil.

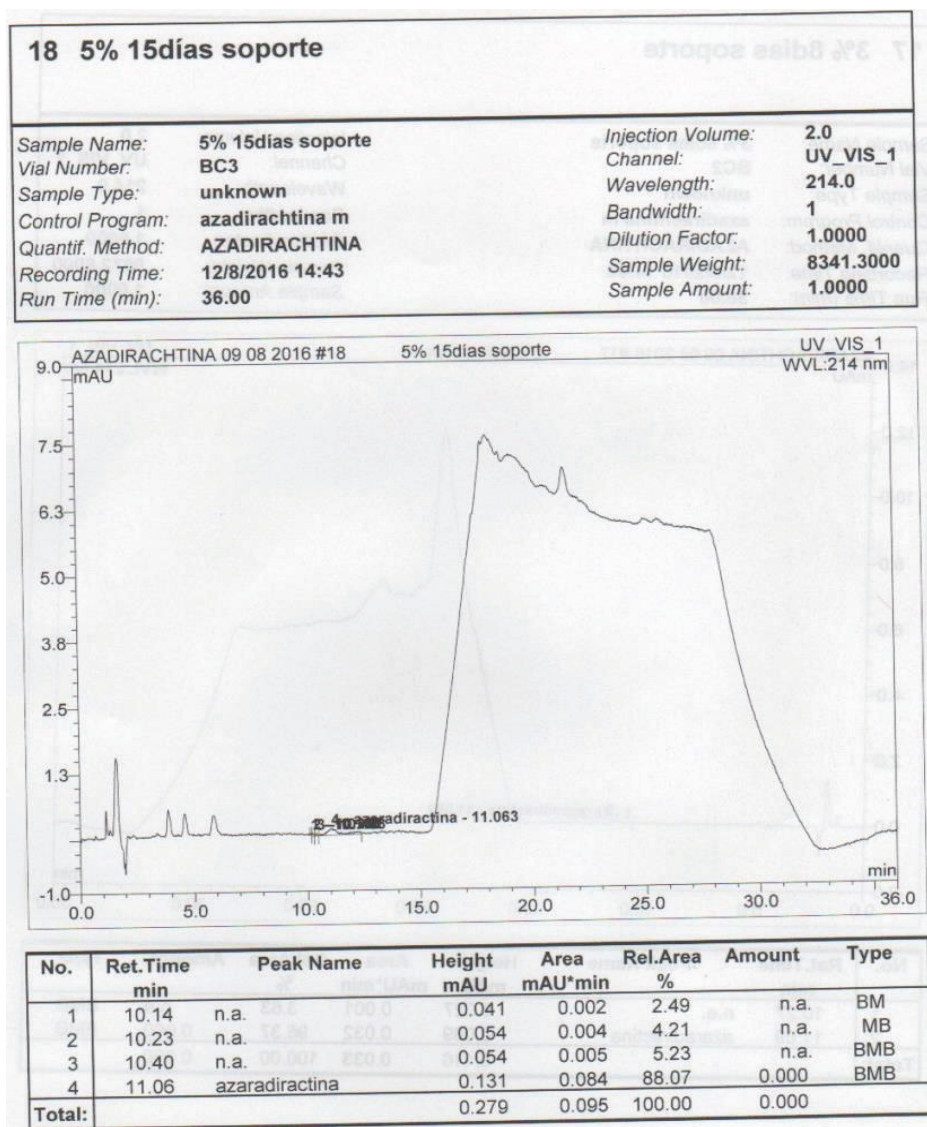


Figura 3.17. Cromatograma del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los 15 días

3.4.3. CONCENTRACIÓN DE AZADIRACTINA EN EL SOPORTE TEXTIL IMPREGNADO CON 3 % DE ACEITE DE NEEM A LOS 8 DÍAS

El área bajo la curva del pico de azadiractina fue de 0,032 mAU * min. Con esto se determinó que la concentración de azadiractina presente en el soporte textil impregnado con aceite de Neem al 3 % a los 8 días fue de $16,30 \pm 0,28$ ppm, como se muestra en la Figura 3.18.

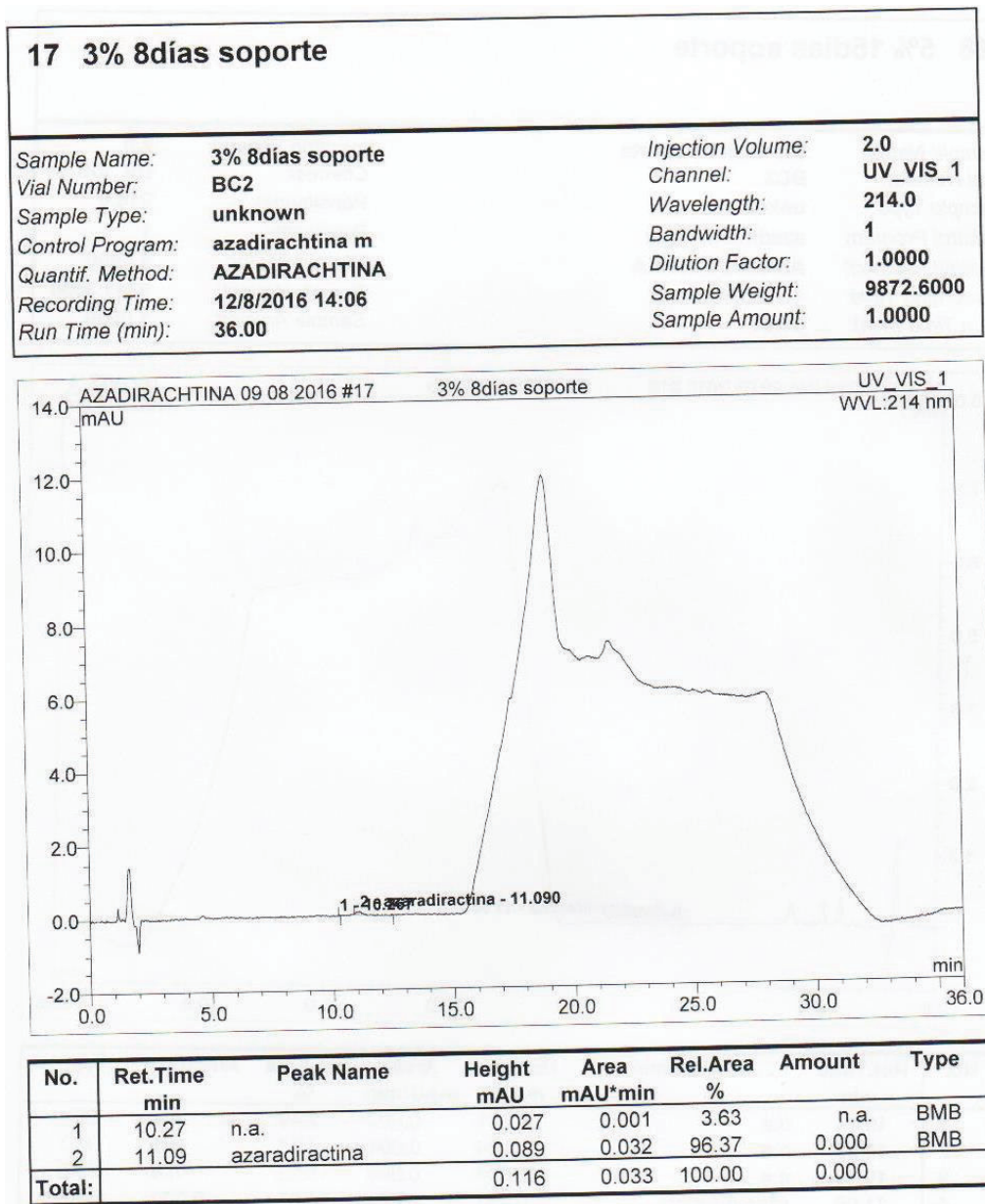


Figura 3.18. Cromatograma del soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a los 8 días

El pico de azadiractina del soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a los 8 días, comparado con la del pico de aceite puro no posee la misma forma, debido a la diferencia en su composición. El tamaño del pico de azadiractina es menor comparado con el del aceite puro, debido a que su concentración de aceite es del 3 %, de igual manera, es menor al pico del soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem a los mismos 8 días. En los cromatogramas, el eje de

absorbancia (cantidad de luz que es absorbida por la muestra) muestra que la concentración de azadiractina es menor en el soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a los 8 días con respecto el mismo soporte a los 0 días.

3.4.4. CONCENTRACIÓN DE AZADIRACTINA EN EL SOPORTE TEXTIL IMPREGNADO CON 3 % DE ACEITE DE NEEM A LOS 15 DÍAS

El área bajo la curva del pico de azadiractina fue de 0,002 mAU * min. Con esto se determinó que la concentración de azadiractina presente en el soporte textil impregnado con aceite de Neem al 3 % a los 15 días fue de $0,84 \pm 0,02$ ppm, como se muestra el en la Figura 3.19.

El pico de azadiractina del soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a los 15 días, comparado con la del pico de aceite puro no posee la misma forma, debido a la diferencia en su composición. El tamaño del pico de azadiractina es menor comparado con el del aceite puro, debido a que su concentración de aceite es del 5 %. En los cromatogramas, el eje de absorbancia (cantidad de luz que es absorbida por la muestra) muestra que la concentración de azadiractina es menor en el soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a los 15 días comparado con los mismos soportes textiles impregnados con 3 %, tanto a los 0 días, como a los 8 días; esto podría deberse a la disminución de la estabilidad del ingrediente activo dentro del soporte textil.

Los valores detectados por el cromatógrafo son bien bajos, pero el error de detección del equipo por perturbaciones es de ± 8 μ AU. En el Anexo VI se puede apreciar la ficha técnica con las especificaciones del equipo.

Debido a la disminución de la concentración de ingrediente activo (azadiractia) presente en los soportes textiles con respecto al tiempo, se realizó un estudio de estabilidad de azadiractina, el cual se detalla a continuación.

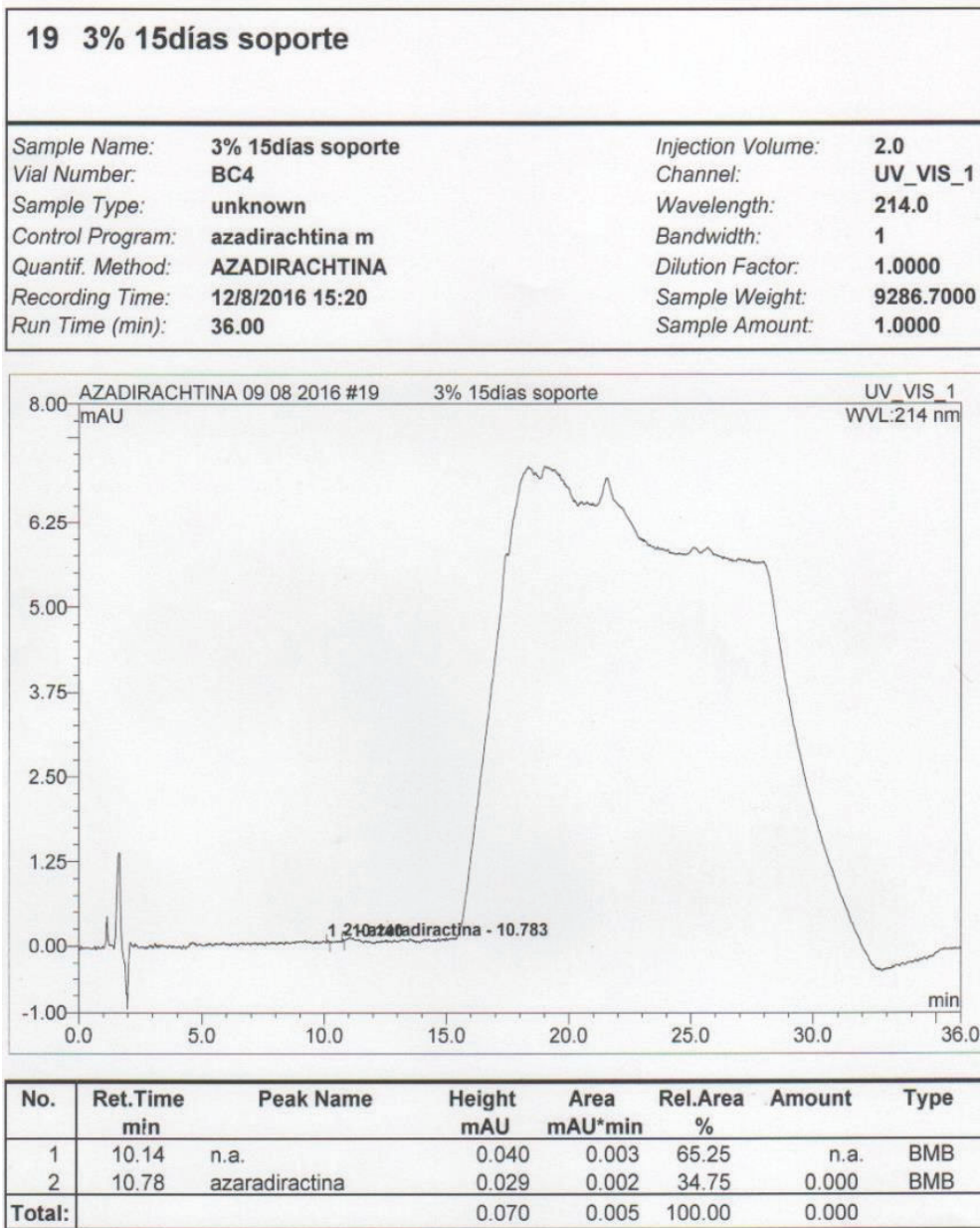


Figura 3.19. Cromatograma del soporte textil impregnado con 3 % de aceite de Neem a los 15 días.

En la Tabla 3.8 se presentan los resultados de concentración de azadiractina obtenidos mediante HPLC para los soportes textiles impregnados con 3 % y 5 % de aceite de Neem a los 8 y 15 días.

Para el análisis del diseño experimental se utilizaron las condiciones detalladas en la Tabla 3.9.

Tabla 3.8. Concentración de azadiractina en los soportes textiles a los 8 y 15 días

Muestra	Concentración (ppm)	Media (ppm)
Soporte al 5 % a 8 días (R1)	72,03	72,34 ± 0,31
Soporte al 5 % a 8 días (R2)	72,65	
Soporte al 5 % a 15 días (R1)	42,53	42,44 ± 0,1
Soporte al 5 % a 15 días (R2)	42,34	
Soporte al 3 % a 8 días (R1)	16,02	16,30 ± 0,28
Soporte al 3 % a 8 días (R2)	16,57	
Soporte al 3 % a 15 días (R1)	0,82	0,84 ± 0,02
Soporte al 3 % a 15 días (R2)	0,86	

$X \pm \sigma$ (n = 2)

Tabla 3.9. Condiciones del diseño experimental

Parámetro	Característica
Clase de diseño	Multifactorial
Número de corridas	12 (n = 2)
Factores	Concentración de aceite de Neem (3 % y 5 %) Tiempo (0 días, 8 días y 15 días)
Respuestas	Concentración de azadiractina

Los datos utilizados en este análisis provienen de los análisis cromatográficos. Los resultados referentes a la concentración de azadiractina se describen a continuación.

El análisis de varianza (ANOVA) que se presenta en la Tabla 3.10, indica que existieron efectos estadísticamente significativos del factor A (porcentaje de aceite de Neem) y del factor B (tiempo) sobre la variable concentración de azadiractina, con un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 3.10. Análisis de varianza para la estabilidad del soporte textil

Fuente	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P
A:% ACEITE DE NEEM	1	4500,81	0,0000**
B:TIEMPO	2	23322,3	0,0000**
RESIDUOS	6	0	

**= Diferencias significativas.

Mediante el uso del programa Statgraphics, se determinó que la media global de la concentración de azadiractina presente en todos los soportes textiles fue de 76,70 ppm. Con respecto al factor porcentaje de aceite de Neem, la mayor cantidad azadiractina se presentó en los soportes textiles impregnados con aceite de Neem al 5 % con una media de 95,67 ppm (entre los 0, 8 y 15 días). Por el contrario, la menor cantidad azadiractina se presentó en los soportes textiles impregnados con aceite de Neem al 3 % con una media de 56,93 ppm (entre los 0, 8 y 15 días) para verificar la presencia de ingrediente activo en los soportes textiles.

Con respecto al factor tiempo, la mayor concentración de azadiractina se determinó a los 0 días, con una media de 163,50 ppm (entre los soportes textiles impregnados con 3 y 5 % de aceite de Neem), mientras que la menor concentración de azadiractina se presentó a los 15 días, con un promedio de 21,4 ppm (entre los soportes textiles impregnados con 3 y 5 % de aceite de Neem). El aceite de Neem es fotovolátil, además es sensible a la hidrólisis en agua a temperaturas superiores a los 37 °C y pH superior a 8 (Regnault et al., 2010, p. 12).

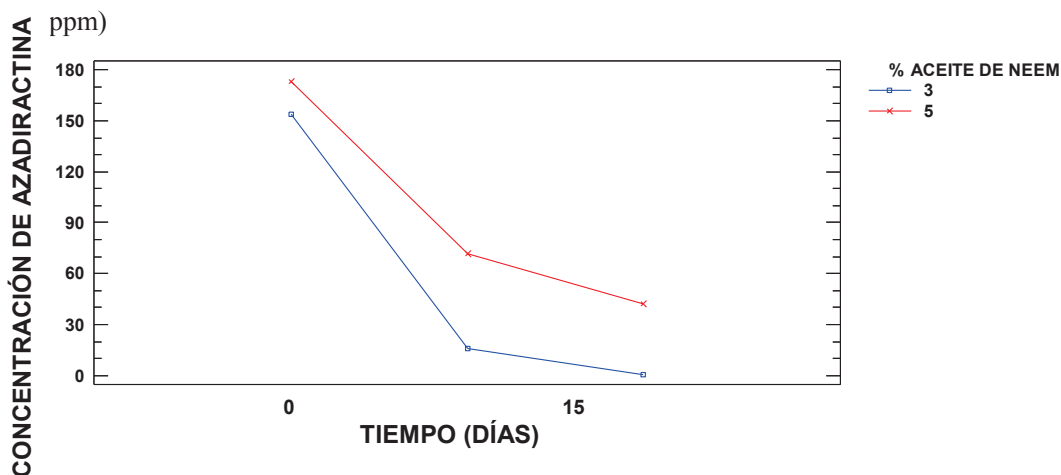


Figura 3.20. Estabilidad de la azadiractina en los soportes textiles.

En la Figura 3.20 se muestra la reducción de la azadiractina presente los soportes textiles con respecto al tiempo, así mismo se puede observar que la curva del soporte textil impregnado son 5 % de aceite de Neem está sobre la del soporte textil impregnado con 3 %, esto se debe a que la concentración de azadiractina es

mayor en el soporte textil impregnado con 5 % de aceite de Neem. Además, se puede observar la tendencia de la disminución de la concentración de azadiractina con respecto al tiempo, en los dos soportes textiles.

Debido a la existencia de diferencias significativas en los factores de porcentaje de aceite de Neem y tiempo se aplicó la prueba de Tukey con un 95 % de confianza.

La prueba de Tukey al 5 %, sobre el porcentaje de aceite de Neem presente en los soportes textiles con la variable concentración de azadiractina se detalla en la Tabla 3.11; en este caso se presentan los valores las medias con el error estándar, debido a que esta desviación fue mayor con respecto a las medias, por el efecto de la variabilidad de los datos. Con respecto al porcentaje de aceite de Neem, se encontraron 2 grupos homogéneos que se muestran en la tabla con superíndices. En la Figura 3.21 se muestra el gráfico de medias con los grupos previamente mencionados.

Tabla 3.11. Porcentaje de aceite de Neem sobre la concentración de azadiractina

% ACEITE DE NEEM	Media (ppm de azadiractina)
3% (a los 0, 8 y 15 días)	$56,93 \pm 3,34678E-7^a$
5% (a los 0, 8 y 15 días)	$95,67 \pm 3,34678E-7^b$

X ± Error estándar de las medias (n = 2)

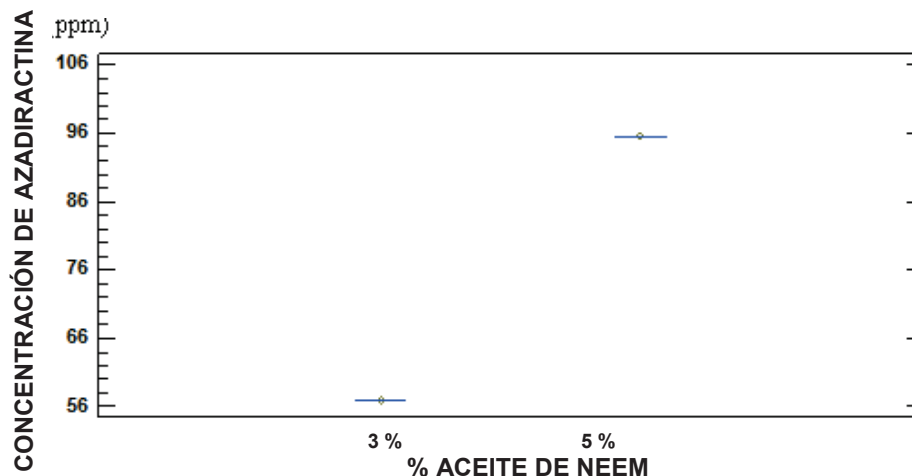


Figura 3.21. Concentración de azadiractina con respecto al porcentaje de aceite de Neem

La prueba de Tukey al 5 %, sobre el factor tiempo con la variable concentración de azadiractina presente en los soportes textiles, mediante la discriminación del porcentaje de aceite de Neem en los soportes textiles, se muestra en la Tabla 3.12. Se puede apreciar que para el factor tiempo se encontraron 3 grupos homogéneos que se muestran en con superíndices.

Tabla 3.12. Concentración de azadiractina con respecto al tiempo

TIEMPO	Media (ppm)
15 días (Entre 3 y 5 % aceite)	21,4 ± 4,09895E-7 ^a
8 días (Entre 3 y 5 % aceite)	44,0 ± 4,09895E-7 ^b
0 días (Entre 3 y 5 % aceite)	163,5 ± 4,09895E-7 ^c

X ± Error estándar de las medias (n = 2)

La concentración de azadiractina presente en los soportes textiles disminuye con el transcurso del tiempo debido a la inestabilidad del compuesto. De igual manera, se observa que la concentración de azadiractina fue proporcional al porcentaje de aceite de Neem presente en el soporte textil. Esto nos indicó que, conforme con la disminución del ingrediente activo (azadiractina) en el tiempo, el efecto sobre la oviposición de las moscas de la fruta también disminuyó, dando como resultado un incremento en el número de larvas con el transcurso de los días.

En la Tabla 3.13 se presentan los datos de reducción de la azadiractina para cada uno de los soportes textiles (3 y 5 % de aceite de Neem) a los 0, 8 y 15 días.

Tabla 3.13. Reducción de la azadiractina con respecto al tiempo

Muestra	Tiempo	Concentración (ppm)	Concentración residual (%)	Degradación (%)
Soporte textil al 5 % de aceite de Neem	0 días	173,48 ± 0,09	100,00	0,00
	8 días	72,34 ± 0,31	41,70	58,30
	15 días	42,44 ± 0,10	24,46	75,54
Soporte textil al 3 % de aceite de Neem	0 días	154,82 ± 0,20	100,00	0,00
	8 días	16,30 ± 0,28	10,53	89,47
	15 días	0,84 ± 0,02	0,52	99,48

La degradación de la azadiractina presente en los soportes textiles impregnados al 3 % de aceite de Neem fue mayor; a los 15 días la concentración se tuvo una pérdida superior al 99 %. Por otro lado, la degradación presentada por los soportes textiles impregnados con 5 % de aceite de Neem en el mismo periodo de tiempo fue menor, aunque también se presentó un porcentaje de pérdida considerable, sobre el 75 %.

En la Figura 3.22 se muestran las curvas de degradación de la azadiractina. La estabilidad de la azadiractina estuvo en función del valor exponencial de las ecuaciones de las curvas. Por lo tanto, los soportes textiles impregnados con aceite de Neem al 3 %, cuyo valor exponencial es 0,349, se degradan a mayor velocidad con respecto a los impregnados con aceite de Neem al 5 %, que poseen un valor exponencial es 0,094. Desde el día 0, hasta el días 15 la azadiractina disminuyó considerablemente, principalmente en los soportes textiles impregnados con 3 % de aceite de Neem. Se puede apreciar que cuando la concentración de aceite de Neem fue mayor, la estabilidad del ingrediente activo (azadiractina) es mayor.

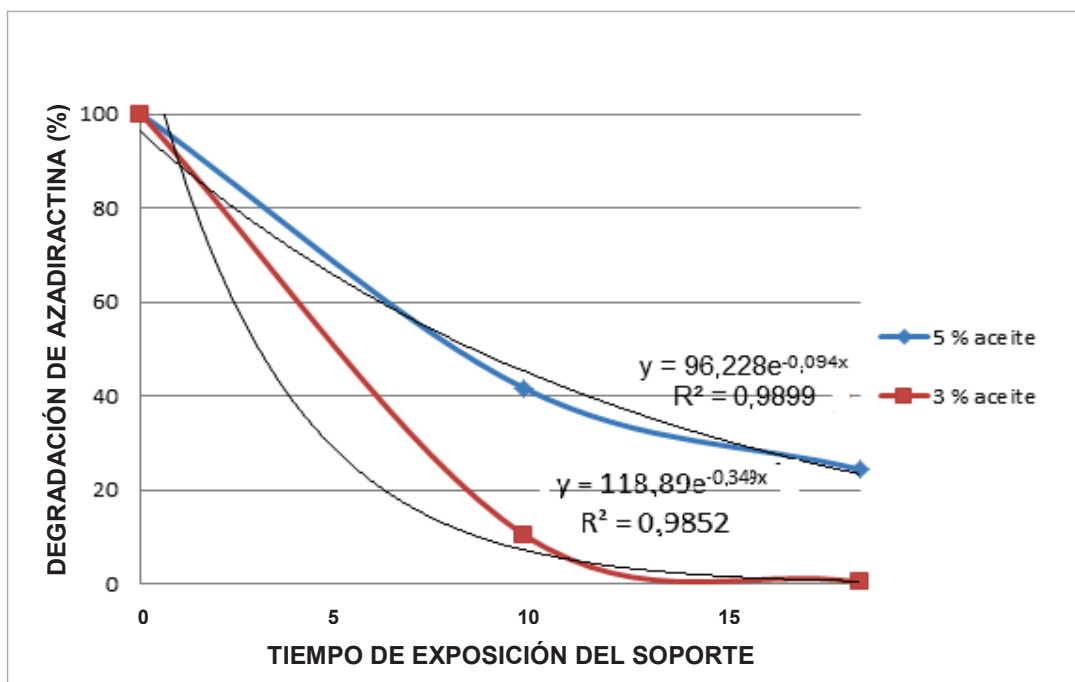


Figura 3.22. Degradación de la azadiractina en el tiempo

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

1. Al analizar la concentración de azadiractina presente en el aceite de Neem, se obtuvo como resultado una concentración $6\ 165,11 \pm 0,11$ ppm de azadiractina, lo que indica que el aceite de Neem, proveniente de la ciudad de Portoviejo, posee un alto contenido de ingrediente activo comparado con proveniente de Centro América y México que bordea los 2 000 ppm de concentración.
2. La impregnación de aceite de Neem en los soportes textiles con almidón de yuca y glicerol a los 0 días produjo resultados de $173,48 \pm 0,09$ ppm de azadiractina al 5 % de aceite de Neem y $154,82 \pm 0,2$ ppm de azadiractina al 3 % de aceite de Neem, lo que indica que los soportes textiles si se impregnaron.
3. Al evaluar la función repelente de los soportes textiles, mediante el uso de guayabas infestadas por larvas de mosca de la fruta *Anastrepha striata*, se determinó que los soportes textiles poseen un efecto de repelencia sobre la mosca de la fruta *Anastrepha striata*.
4. Del estudio de estabilidad del principio activo (azadiractina) en el tiempo se concluyó que la menor degradación se registró en los soportes textiles impregnados al 5 % de aceite de Neem, lo cual indica que la azadiractina es más estable a mayor concentración.
5. El principio activo remanente en los soportes textiles impregnados al 5 % con aceite de Neem afectó a la mosca *Anastrepha striata* y ayudó a proteger la calidad de la fruta durante los 15 días.

4.2. RECOMENDACIONES

- 1.** Se recomienda una futura investigación que continúe a la presente, para estudiar los soportes textiles de aceite de Neem mediante ensayos pilotos en campo en cultivos de exportación ecuatorianos como son: cacao, plátano, maracuyá, guanábana, flores y mango; como una alternativa ecológica que sustituya el uso de pesticidas.

- 2.** Se recomienda realizar un estudio para determinar la concentración de azadiractina óptima para causar el efecto de repelencia de la mosca de la fruta sobre los cultivos y el tiempo de vida útil de los soportes textiles.

- 3.** Se recomienda el estudio del uso de soportes textiles impregnados de aceite de Neem para combatir la mosca de la fruta en el cultivo de guayaba en Ecuador.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adán, A. Soria, J. Del Estal, P. Sánchez-Burnete, C. Viñuela, E. (1998). Acción Diferencial de Dos Formulaciones de Azadiractina Sobre los Estados de Desarrollo de *Ceratitis Capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Revista Bol. San. Veg. Plagas*, 24(1), 1009-1018.
2. Angulo, M. Gardea, A. Vélez de la Rocha, R. García, R. Carrillo, A. Cháidez, C. y Partida, J. (2004). Contenido de Azadiractina en Semillas de Nim (*Azadirachta indica* A. JUSS) Colectadas en Sinaloa, México. *Fitotecnia*, 27(4), 305-311.
3. Arias, D. Vázquez, G. Acosta, W. Montañez, L. Álvarez, R. y Pérez, V. (2009). Determinación del Azadiractina de los Aceites Esenciales del Árbol del Neem. *Revista Ingeniería UC*, 16(3), 22-26.
4. Bajwa, A. y Ahmad, A. (2012). Potential Applications of Neem Based Products as Biopesticides. *The Health*, 3(4), 116-120.
5. Biswas, K. Chattopadhyay, I. Banerjee, R. y Bandyopadhyay, U. (2002). Biological Activities and Medicinal Properties of Neem (*Azadirachta indica*). *Current Science*, 82(11), 1 336-1 345.
6. Burballa, A. Sarasúa, M. y Avila, J. (1995). Alimentación, Mortalidad y Desarrollo de *Cydia pomonella* (L.) y de *Cacoecimorpha pronubana* (Hübner) Sobre Dieta con Extracto de Neem Incorporado. *Boletín de Sanidad Vegetal – Plagas*, (21), 425-435.
7. Cañarte, E. Bautista, N. Vera, J. y Arredondo, H. (2002). *Compatibilidad del Nim *Azadirachta indica* A. Juss en el Manejo Natural del Minador de la Hoja de Cítricos *Philocnistis citrella* Stainton en Manabí, Ecuador*. Portoviejo, Ecuador. INIAP. Recuperado de

http://www.iniap.gob.ec/nsite/index.php?option=com_sobipro&sid=54&task=list.alpha.c&site=5&Itemid=0 (Julio, 2015)

8. CESAVEM. (2015). *Manejo Integrado de la Mosca de la Fruta*. (1era ed.). México DF, México: SAGARPA.
9. Chaudhari, A. Abhijeet, A. Rajput, S. Kulkarni, R. Gite, V. (2013). Synthesis, Characterization and Application of Azadirachta indica Juss (Neem Oil) Fatty Amides (AIJFA) Based Polyurethanes Coatings: A Renewable Novel Approach. *Progress in Organic Coatings*, 76(2913), 1779-1785.
10. Giraldo, F. Cataño, C. Morales, G. López, C. y Galeano, E. (2002). Determinación de Azadiractina por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) en Semillas de Árbol de Neem (*A. Indica*) Cultivadas en Colombia. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 9(1), 59-63.
11. González, R. Otero, G. Villanueva, A. Pérez, J. y Soto, M. (2006). Toxicidad y Repelencia de *Azadirachta indica* Contra *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Agrociencia*. 40(6), 741-751.
12. Ibrahim, N. Eid, B. y El-Zairy, E. (2011). Antibacterial Functionalization of Reactive-cellulosic Prints Via Inclusion of Bioactive Neem Oil/_CD complex. *Carbohydrate Polymers*. 86 (1), 1 313-1 319.
13. INECC. (2014). *Extracto de Aceite de Neem*. Recuperado de http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/extracto_de_aceite_de_neem.pdf. (Julio 2016)
14. Insuasty, O. Cuadros, J. Monroy, R. y Bautista, J. (2007). *Manejo Integrado de Moscas de la Fruta de la Guayaba (CORPOICA)*. Bogotá, Colombia: Produmedios.

15. Jacas, J. Caballero, P. Ávila, J. (2005). *El Control Biológico de Plagas y Enfermedades. La Sostenibilidad de la Agricultura Mediterránea*. Castellón, España: Publicacions de la Universitat Jaume I.
16. Jadeja, G. Maheshwari, R. y Naik, S. (2011). Extraction of Natural Insecticide Azadirachtin From Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Seed Kernels Using Pressurized Hot Solvent. *J. of Supercritical Fluids*, 56(1), 253-258.
17. Justo, M. y Hernández, A. (2009). Irradiación Gamma como Tratamiento Cuarentenario en Frutos de Guayaba y los Cambios en su Calidad. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 1(1), 55-61.
18. Landez, E. (2000). *Cómo Hacer Insecticidas Agrícolas Utilizando Plantas de la Huerta*. (1ra. ed.). Quito, Ecuador: Desde el Surco.
19. López, M. y Estrada, J. (2005), Los Bioinsecticidas de Nim en el Control de Plagas de Insectos en Cultivos Económicos. *FCA UNCuyo*. 37(2), 41-49.
20. Mordue, A. y Blackwell, A. (1993). Azadirachtin: an Update. *Journal of Insect Physiology*, 39(11), 903-924.
21. Mordue, A. y Nisbet, A. (2000). Azadirachtin from the Neem Tree *Azadirachta indica*: its Action Against Insects. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29(4), 615-632.
22. Neem Foundation. (2015). *About Neem*. Recuperado de <http://www.neemfoundation.org/> (Junio, 2015).
23. Orozco, F. y Rodríguez, M. (2007). Cultivos de Células en Suspensión de *Azadirachta indica* para la Producción de un Bioinsecticida. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(3), 251-258.

32. Ruiu, L. Satta, A. y Floris, I. (2008). Effects of an Azadirachtin-based Formulation on the Non-target Muscoid Fly Parasitoid *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Biological Control*, 47 (1), 66-70.
33. Salles, L. y Rech, N. (1999). Efeito de Extratos de Nim (*Azadiracta indica*) e Cinamomo (*Melia azedarach*) Sobre *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). *Brasil de Agrociência*. 5 (3), 225-227.
34. Sánchez, T. García, O. y Pinzón, M. (2012). Elaboración y Caracterización de Películas de Almidón de Yuca (*Manihot Esculenta*) Variedad Ica Cultivada en el Departamento de Quindío. *Vitae*, 18(1), 426-429.
35. Satdive, R. Fulzele, D. y Eapen, S. (2006). Production of Biopesticide Azadirachtin by Hairy Root Cultures of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss). *Barc Newsletter*, 273, 195-206.
36. Tigrero, J. (2009). Lista Anotada de Hospederos de Moscas de la Fruta Presentes en Ecuador. *Serie Zoológica*, 8(4-5), 107-116.
37. Valarezo, O. Cañarte, E. y Navarrete, B. (2008). *El Nim: Insecticida Botánico para el Manejo de Plagas Agrícolas*. (Boletín 336). Manabí, Ecuador: INIAP.
38. Valencia, A. Bautista, N. y López, J. (2004). Uso de Extractos Acuosa de Neem, *Azadirachta indica* A. Juss, en la Oviposición de la Mosca Mexicana de la Fruta *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae) en Naranja Valencia. *Fitosanidad*, 8(4), 57-59.
39. Vilatuña, J. Sandoval, D. Tigrero, J. (2010). Manejo y Control de Moscas de la Fruta. Quito, Ecuador: Agrocalidad.
40. Vizcarra, J. (1996). *El Neem Azadirachta indica. Especie Forestal para el Trópico Seco*. Manabí, Ecuador: Gráficas Hidalgo.

ANEXOS

ANEXO I

DATOS INDIVIDUALES DE LAS MEDICIONES DE LAS SEMILLAS

Tabla AI.1. Caracterización de las semillas de Neem

Nº SEMILLA	PESO	LARGO	ANCHO	Nº SEMILLA	PESO	LARGO	ANCHO
1	0,50	1,75	0,85	21	0,59	1,60	0,73
2	0,60	1,80	0,90	22	0,54	1,81	0,90
3	0,52	1,68	0,68	23	0,54	1,72	0,58
4	0,58	1,65	0,85	24	0,58	1,65	0,69
5	0,56	1,81	0,68	25	0,51	1,68	0,84
6	0,54	1,90	0,73	26	0,55	1,59	0,85
7	0,57	1,68	0,89	27	0,59	1,59	0,89
8	0,53	1,75	0,84	28	0,52	1,67	0,90
9	0,56	1,60	0,74	29	0,56	1,50	0,68
10	0,60	1,72	0,68	30	0,55	1,73	0,73
11	0,50	1,80	0,69	31	0,58	1,65	0,90
12	0,54	1,49	0,73	32	0,52	1,73	0,90
13	0,56	1,65	0,74	33	0,51	1,80	0,85
14	0,55	1,81	0,85	34	0,59	1,59	0,58
15	0,54	1,91	0,68	35	0,50	1,60	0,69
16	0,50	1,80	0,69	36	0,60	1,75	0,90
17	0,56	1,91	1,00	37	0,52	1,81	0,89
18	0,51	1,75	0,89	38	0,58	1,67	1,00
19	0,55	1,49	0,90	39	0,45	1,60	0,68
20	0,60	1,72	0,68	40	0,65	1,59	0,73
RESULTADOS				PROMEDIO	0,55	1,70	0,79
				DESV. EST.	0,038	0,107	0,109

ANEXO II

EJEMPLO DE CÁLCULO PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN DE AZADIRACTINA

Ejemplo de cálculo para la determinación de la concentración de azadiractina en el aceite puro de Neem a partir de los valores de las áreas de los picos, obtenidos de los cromatogramas del aceite de del estándar.

1) Determinación de área del pico del aceite para 1 μL

$$\text{Área aceite} = 12,2064 \text{ mAU} * \text{min en } 2 \mu\text{L} = 61,032 * \text{min en } 1 \mu\text{L}$$

2) Determinación de la concentración de azadiractina aplicando la fórmula de cálculo

$$[\text{Am}] = \frac{[\text{Ast}] * \text{Área muestra}}{\text{Área estándar}}$$

Donde,

[Am]: Concentración de azadiractina en la muestra (ppm)

[Ast]: Concentración de azadiractina en el estándar (ppm)

Área muestra: Área bajo la curva de la muestra con dilución 10 μL (mAU*min)

Área estándar: Área bajo la curva del estándar con dilución 10 μL (mAU*min)

$$[\text{Aceite}] = \frac{[\text{Ast}] * \text{Area aceite}}{\text{Area estándar}}$$

$$[\text{Aceite}] = \frac{(100 * 61,032)}{0,99} = 6\ 164,85 \text{ ppm} \approx 6\ 165 \text{ ppm}$$

ANEXO III

**PROPUESTA GRÁFICA DE UNA PLANTA PARA LA PRODUCCIÓN
DE SOPORTES TEXTILES**

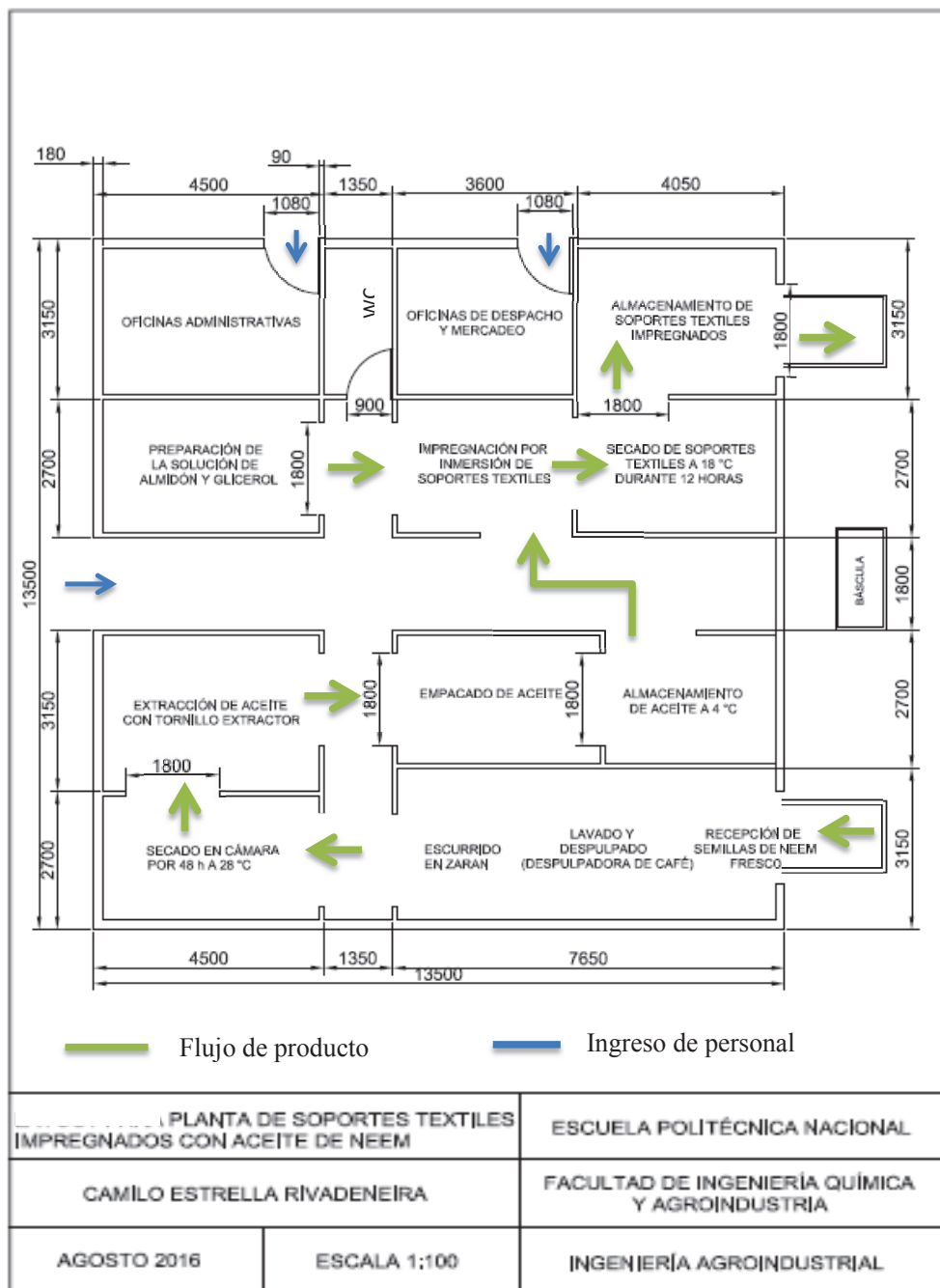


Figura AIII.1. Planta para la producción de soportes textiles.

ANEXO IV

CERTIFICADO TAXONÓMICO DE LAS MOSCAS DE LA FRUTA



Quito, 10 de agosto de 2016

Pontificia Universidad Católica del Ecuador
Laboratorio de Genética Evolutiva

A quien interese,

Mediante la presente certifico que se analizaron 45 individuos (dípteros) que fueron clasificados en dos morfotipos:

Morfotipo 1: 22 ♀ y 23 ♂

Además, se realizaron microdisecciones de la genitalia externa e interna de cada macho y se determinó la presencia de una especie del Género *Anastrepha*

Género	Subgénero	Especie
Anastrepha	<i>Striata</i>	<i>Anastrepha Striata</i>

Realizado por:

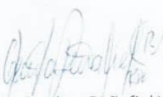

Ana Danitza Peñafiel V.
Técnico de Laboratorio

Figura AIV.1. Determinación de la taxonomía de la mosca.

ANEXO V

CONDICIONES PARA DETERMINAR LA DOSIS DE IRRADIACIÓN

Tabla AV.1. Determinación de las condiciones de irradiación para 300 Gy.

Dosis de irradiación		300 Gy			
Distancia	Altura	Promedio	Tasa dosis	Tiempo	
Centro de fuente	Cm	Gy / h	Gy / h	h	
20 cm	0	1224,20	312,70	0,96	
	20	1245,28	318,09	0,94	
	40	865,38	221,05	1,36	
	60	157,05	40,11	7,48	
	80	76,60	19,57	15,33	
	100	42,67	10,90	27,52	
			601,86	153,74	1,95
30 cm	0	613,24	156,64	1,92	
	20	577,44	147,50	2,03	
	40	304,99	77,91	3,85	
	60	153,44	39,20	7,65	
	80	82,67	21,12	14,21	
	100	46,76	11,94	25,12	
			296,42	75,72	3,96

ANEXO VI

**FICHA TÉCNICA DEL CROMATÓGRAFO DIONEX
ULTIMATE 3 000**

UltiMate 3000 Quaternary Analytical LC System

Wide range of solvent options

Precise gradient profiles

Easy method development



PUMP	
Recommended Pump	LPG-3400SD
Flow Range (Settable Range)	0.2–10 mL/min (0.001–10 mL/min)
Flow Accuracy	±0.1%
Flow Precision	<0.05% RSD or <0.01 min SD at 1 mL/min, whichever is greater
Pressure Range	2–62 MPa (290–9,000 psi)
No. of Eluent Lines	4
Gradient delay volume	690 µL
Solvent degassing	Built-in, 4 channels
AUTOSAMPLER	
Recommended Autosampler	WPS-3000(T)SL Analytical
Injection Volume Range (recommended)	0.01–100 µL (1–100 µL) Optional: 0.2–25 µL, 1.5–250 µL, 1.5–500 µL
Injection Volume Accuracy	±0.5% at 50 and 90 µL
Injection Volume Precision	<0.25% RSD at 5 µL (typically <0.15% RSD), caffeine in water
Linearity	Corr. coeff. >0.9999, RSD <0.5% at 5–90 µL, caffeine in water
Carryover	<0.004% for caffeine with external wash at 75 bar

Figura AVI.1. Especificaciones de fabricación del cromatograma

Sample Thermostatting	4–45 °C, at least 22 °C below ambient (thermostatted sampler version)
COLUMN COMPARTMENT	
Recommended Column Compartment	TCC-3000SD
No. of Switching Valves	Optional, up to 2
Recommended Eluent Preheater Volume	7 µL (0.01"i.d.)
Temperature Range	5 °C to 80 °C (max. 18 °C below ambient)
Temperature Accuracy	±0.5 °C
Temperature Stability/Precision	±0.1 °C
Heat-Up/Cool-Down Time	Typically: 15 min from 20 °C to 50 °C/ 15 min from 50 °C to 20 °C
DETECTOR	
Recommended Detector	DAD-3000
Detector Type	Diode Array
Number of Channels	8 plus 3D field
Wavelength Range	190–800 nm
Max. Data Collection Rate	100 Hz
Recommended Flow Cell	Analytical, 13 µL, 10 mm path
Noise	<±8 µAU at 254 nm (wide slit)
Drift	<1 mAU/h

Figura AVI.1. Especificaciones de fabricación del cromatograma (continuación...)