

IMPLEMENTACIÓN DE LA TECNOLOGÍA SEMI-INDUSTRIAL PARA LA OBTENCIÓN DE BIOPLAGUICIDAS A PARTIR DEL ÁRBOL DEL NIM Y SU EVALUACIÓN

IMPLEMENTATION OF SEMI-INDUSTRIAL TECHNOLOGY FOR THE OBTAINING OF BIOPLAGUICIDES FROM THE NIM TREE AND ITS EVALUATION

Autores: MSc. Mayelin Cruz Hidalgo¹

Ing. Wilder Duran Reyes¹

MSc. Hilario Denis¹

Institución: ¹Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez

Correo electrónico: mayelinch@unica.cu

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en la Cooperativa de Producción Agropecuaria «Felipe Torres», en un organopónico de esa unidad de producción ubicada en el municipio «Ciro Redondo». En la mini industria de condimentos secos de la misma localidad se desarrolló y comprobó el flujo operacional del proceso de obtención del bioplaguicida a partir de las hojas y frutos (semillas) del árbol del Nim en estados sólidos y en extractos acuosos, los que fueron evaluados según los parámetros de calidad establecidos por la metodología cubana para tal fin. Los parámetros pH y CE en los extractos acuosos, así como la granulometría, humedad y densidad en el estado sólido se corresponden con lo planteado en los requisitos de calidad, que asegura la efectividad de los bioproductos elaborados por vía semiindustrial.

Palabras clave: Bioinsecticidas, Bioproductos, Derivados de Árbol del Nim.

ABSTRACT

This work was done in the CPA "Felipe Torres" in an organic garden that unit of production in the municipality «Ciro Redondo». In the mini-industry of dry seasonings in the same locality it was developed and tested the operational flow of the process of obtaining the biopesticide from the leaves and fruits (seeds) of neems in solid state and in aqueous extracts, which were evaluated according quality parameters established by the Cuban methodology for this purpose. The pH and EC parameters in aqueous extracts, as well as particle size, moisture and density in the solid state correspond to the points made in the

quality requirements that ensures the effectiveness of the bioproducts produced via semi-industrial.

Keywords: Bio-Insecticides, Bioproducts, Derived From Neem Tree.

INTRODUCCIÓN

La agricultura por su propia naturaleza es antiecológica y en parte con el uso y abuso de agroquímicos (incluidos los antibióticos) dirigidos contra plagas y enfermedades, se han originado profundas modificaciones biológicas. Esto se ha adjudicado a la toxicidad y/o amplio espectro de estos productos, lo que ha contribuido a una disminución de la biodiversidad y por tanto a una pobre regulación de las poblaciones macro y microbianas (Hernández, M 2013).

El interés creciente sobre la salud humana, que ha conllevado a fuertes restricciones sobre el uso de plaguicidas químicos, ha hecho necesario implementar estrategias más saludables, insertados en los sistemas de producción orgánica y sistemas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) donde el uso del control biológico, con los bioplaguicidas microbianos y de especies de plantas, viene a ofrecer una solución viable (Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, 2006).

En la literatura aparecen descritos alrededor de 866 diferentes plantas que funcionan como insecticidas, 150 que controlan nemátodos y muchas más que ayudan a combatir ácaros, babosas y ratas (Brechelt, 2004).

Dentro de estas especies, el árbol de NIM (familia de las Meliaceas) es probablemente la especie botánica más estudiada en la actualidad, por su alta eficiencia como repelente o plaguicida y bajo efecto residual; los principios activos se encuentran en todas sus partes. Para combatir muchas especies de plagas dañinas, para curar afecciones dérmicas y combatir parásitos en animales Hernández (2013).

Cuba depende fundamentalmente de su agricultura, por lo que la inserción del NIM en la agricultura tiene como objetivo el establecimiento de una agroindustria sostenible y su desarrollo en el área rural, ello implica un importante significado desde el punto de vista ecológico, debido a la influencia que ejercen sobre el clima y la captura de CO₂ atmosférico. Desde el punto de vista social, el desarrollo de una agroindustria a partir del árbol del Nim lleva implícita la generación de nuevas fuentes de trabajo y de insumos, que estarán disponibles para los agros productores en apoyo al programa nacional de producción de alimentos más sanos y al suministro de productos para uso doméstico en la población.

Tales atributos le confieren al Nim un alto reconocimiento como recurso natural, según refleja la abundante bibliografía especializada, esta especie botánica y sus bio productos pueden respaldar la estrategia agro productiva de seguridad alimentaria y la vinculada con la salud humana y animal, proporcionando, además, una mejora en los agro ecosistemas. (Univ. De Zulia, FAC. De Agronomía; 2003. Orozco y Rodríguez, 2007; Muñoz, 2010).

Se pudo constatar que la parte central de Cuba es la zona del país menos poblada por el árbol del Nim y dentro de ella se encuentra Ciego de Ávila, sin embargo los suelos Ferralíticos que en ella se encuentran favorecen el buen desarrollo de este árbol. (Hernández 2013).

Su empleo como bioplaguicida es insuficiente a nivel provincial, municipal y local. A nivel provincial es incipiente la investigación de sus propiedades insecticidas y curativas relacionadas con la obtención de productos derivados del árbol del Nim, donde la investigación responde a un Programa Nacional de Producción de alimentos sanos de creación reciente. A nivel municipal y en la base se hace más insuficiente su aprovechamiento (Hernández, 2013).

El organopónico principal de la CPA «Felipe Torres» cuenta con una población de árboles que lo rodea, con una distancia entre ellos de 4.5m, se plantaron con la finalidad de crear una barrera natural protectora contra insectos perjudiciales. Variados resultados de investigación demostraron que su uso es más efectivo cuando se aprovechan sus hojas y frutos (semillas), sobre todo estos últimos que contienen porcentos más elevados de las sustancias activas. A pesar que la población de la especie es escasa no se aprovecha debidamente, y no se utilizan otros medios biológicos que ya se elaboran en ese centro. Lo que demuestra que con respecto al Nim la dificultad es mayor porque no se materializa la producción artesanal o semiindustrial del bioplaguicida, ni siquiera a pequeña escala por parte de los productores y campesinos.

Las mayores afectaciones de la producción por incidencia de plagas y enfermedades se reportan fundamentalmente en los cultivo de pepino, habichuela (órgano ponía), maíz (huerto de autoconsumo) con la aparición de la Mosca blanca y pulgones (plagas), Mildius (enfermedad producida por hongos) en el primero y del Cogollero del Maíz en el segundo cultivo. Sin embargo esto puede ser controlado por el NIM y otros tipos de medios biológicos que ya son elaborados.

De lo anterior se revela resistencia al cambio de tecnología, alta incidencia de plagas y enfermedades en los cultivos y deterioro de algunos suelos en el área de producción, de

ahí que sea insuficiente la producción de alimentos ecológicos en el autoconsumo de esta CPA.

Se propone implementar la tecnología semi-industrial para la producción local de bioplaguicida a partir del árbol del NIM en el municipio Ciro Redondo. Como objetivos específicos se decide aplicar la tecnología semiindustrial para la producción de bioplaguicida a partir del árbol del NIM y evaluar los parámetros de calidad de los productos obtenidos según la metodología cubana.

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1 Ubicación del experimento.

El presente trabajo se realizó en la CPA “Felipe Torres” en un organopónico de esa unidad de producción en el municipio “Ciro Redondo”. En la mini industria de condimentos secos de la misma localidad se desarrolló y comprobó el flujo operacional del proceso de obtención del bioplaguicida a partir del Nim por vía artesanal descrito en el trabajo científico que antecedió a este, de Hernández et, al (2013) que incluyó las etapas correspondientes para su producción.

Descripción breve de las etapas del flujo operacional realizado en este trabajo durante la obtención del producto.

La recolección de las hojas se realizó con un trabajador durante la operación de poda asociada a la cosecha, recolectándose 22Kg en 4 horas de trabajo. Las hojas verdes fueron secadas a la sombra, regadas sobre la superficie del piso y removidas diariamente durante 30 días y luego secas embazadas en sacos y pesadas, obteniéndose una masa de 7.5Kg.

Las hojas secas son procesadas en la semi-industria por un trabajador en un tiempo de 8 minutos, obteniéndose un polvo de diámetro entre 1-2 mm, y una humedad inferior al 10 % según lo establece la metodología cubana sobre los parámetros de calidad citado por Estrada, O, J et al (2011). El Nim produce dos cosechas al año: la primera y más importante, de junio a agosto. La segunda, entre noviembre a enero que no siempre se da, pero que es preciso estar alerta para no perderla.

El autor escogió la segunda cosecha de la planta, realizando la recolección en el mes de noviembre comenzando la maduración de un 15 % de frutos amarillos en el racimo, ya que se utilizaría menos tiempo en la selección y separación de los frutos maduros de los pintones. Para la cosecha se realizó la poda de los árboles a la altura de tres metros

respecto al suelo, empleando dos trabajadores durante un tiempo de 16 horas, recolectándose 128 Kg. en tres árboles, promediando por árbol a 42.66 Kg. Lo cual concuerda con lo planteado por Estrada, O, J et al (2011).

Despulpe y secado El fruto maduro se separó del verde, dejando el verde a la sombra en fermentación durante siete días hasta que estuvo maduro y listo para despulpar. El despulpe se realizó con una lavadora, pero el trabajo resultó demasiado lento para atender el volumen de cosecha, concordando con lo que plantea COPINIM (Fernández, R, (2013).

Después del proceso que se desarrolló en la máquina, se separó en una malla la pulpa de las semillas, permitiendo recolectar las semillas despulpadas para ser lavada, cuidando mucho de que éstas queden bien limpias, sin rastro de pulpa. Las semillas despulpadas ya separada de la pulpa fueron puestas al sol durante dos horas para el pre-secado con el objetivo de que escurriera toda el agua. Posteriormente, puesta a secar en un lugar aireado pero a la sombra dependiendo de los grados de humedad de la semilla y del ambiente ya que la sustancia insecticida es sensible al calor son colocadas en bandejas de aluminio y removidas diariamente durante un periodo de 45 días para lograr un porcentaje de humedad inferior al 10% antes de ser embazada en sacos. (Univ. De Zulia, FAC. de Agronomía; 2003), Sanidad Vegetal C. A (2009). Estrada, Ortíz Jesús (2011). Fernández, R. (2013).

Al terminar el proceso de beneficio de los frutos, las semillas secas de Nim constituyen la materia prima para la obtención semi-industrial del bioplaguicida. Como procedimiento inicial se verifica que la semilla alcance valores entre 8-10 % de humedad a temperatura ambiente en tiempo de conservación prolongado, este periodo puede extenderse hasta 6 meses y el óptimo es de tres meses. Se pueden utilizar métodos simples de secados precisando que la temperatura no sobrepase los 50°C, la óptima es de 40°C con un tiempo de exposición de 24-36 horas. Valores por debajo o por encima limitan capacidad de molinación.

La operación de molienda se realizó empleando equipos eléctricos en dependencia de la disponibilidad local; el molino se regula para lograr un tamaño uniforme de partículas entre 1-2 mm con el propósito de obtener un buen proceso de extracción del principio activo cuando se prepare el bioinsecticida para usar como extracto acuoso, así lo señala Sanidad Vegetal, C.A (2009). Realizándose la molienda a 15.85Kg de semillas secas en un tiempo de 4 minutos. El producto elaborado se envasa en bolsas plásticas, no traslúcidas y en condiciones al vacío para evitar el desarrollo de hongos nocivos, con una capacidad de 0,5 k.o., puede almacenarse de uno a tres meses o más cuando se va a comercializar. Para la

molinación de las semillas también se tuvo en cuenta los parámetros del control de la calidad según metodología de Cuba. Estrada, O, J et al (2011).

1.2 Determinación y evaluación de los parámetros de calidad de los bioproductos obtenidos.

En la evaluación de la calidad de los productos elaborados se tuvo en cuenta los criterios de Vergel (2013) y la metodología cubana establecida para este bioproducto citada por Estrada, O, J. (2011).

Para lo cual se determinaron los parámetros de calidad a consideración de estos investigadores y aportes de este trabajo de investigación basados en el tiempo de interacción de las relaciones de sólido (hojas y semillas molinadas) y el solvente (agua). Todo esto es de gran importancia para la comercialización ya que el cliente se les debe describir las características del producto. Las relaciones planteadas en la metodología de control de calidad a razón de masa de hojas respecto a disolvente son de, 100g\300ml, 100g\400ml, 100g\500ml y 100g\1000ml. Para las semillas se incluye 100g\200 ml con las restantes. Estrada, O, J, et al (2011).

Para determinar la densidad se inicia vertiendo el formulado en una probeta de 100 ml, a la cual se le introduce el densímetro y se mide el valor alcanzado, también pesando un volumen del producto y aplicando a los datos la fórmula: $\rho = m/v$. Humedad: Para medir el índice de humedad de los productos en forma de polvo se pesan 2 gramos del material en un crisol de porcelana (tres réplicas), se ponen en la estufa a 105°C durante 4 horas. Se sacan con pinzas. Este método que plantea la metodología cubana se sustituyó empleando el equipo de laboratorio.

Granulometría: para medir el tamaño de la partícula del bioinsecticida en forma de polvo, se tomaron muestras de 0.5Kg con 6.21% de humedad. En el análisis granulométrico de semillas molinadas se utilizó un tapiz de 1 – 2mm con el objetivo de comprobar las dimensiones de las partículas como se plantea en la obtención del derivado Cuba Nim – T. El procedimiento para determinar el pH de los productos formulados se comienza utilizando 200 ml de agua que se neutralizan (pH= 7), de los cuales se depositan 100 ml, en una probeta con tapa esmerilada y se le adiciona 100g del producto. Se agita y después se coloca el electrodo en la solución, con lo que se obtienen los valores de pH directamente en el equipo.

La solución preparada se filtra y se obtiene el extracto acuoso. La conductividad eléctrica y el pH, así como el fósforo y potasio solubles en agua sirven de parámetros para medir su

valor fertilizante y su efecto en la reacción química del suelo o sustrato. El procedimiento para determinar la conductividad es similar a la del pH, se comienza utilizando 200 ml de agua que se neutralizan (pH= 7), de los cuales se depositan 100 ml, en una probeta con tapa esmerilada y se le adiciona 100g del producto. Se agita y después se coloca el electrodo en la solución, con lo que se obtienen los valores de conductividad directamente en el equipo.

Se realiza un análisis de la variabilidad entre las masas fresca y seca de las hojas para ello se tomaron muestras representativa (n= 25). Se diseñó el estudio a partir de tiempos de interacción: a la hora 0; al momento de obtener los filtrados, a la hora 12 y a la hora 24 con el objetivo de determinar la variación de los parámetros estudiados. El estudio estadístico que corroboró los parámetros de calidad estudiados se realizó con ayuda del paquete estadístico SPCS donde:

Se analizan los estadísticos descriptivos individuales del pH, CE a cada muestra de los extractos en hojas en los tiempos de interacción a las cero horas, 12 horas, y 24 horas. También a las hojas verdes y secas con el objetivo de conocer la variabilidad de sus masas frescas y secas. Se realiza una prueba t de Student para comparar medias, o sea un análisis de varianza para muestras relacionadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1 Evaluación de los parámetros de calidad de los productos obtenidos a partir de las hojas secas molinadas.

La variabilidad entre las hojas verdes y secas demostró que existe por cada Kg de hojas verdes un 35% de hojas secas. (Tabla 1).

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Típ.	Varianza
Hojas verdes	25	2.50	5.50	3.5200	.88600	.785
Hojas secas	25	.80	2.00	1.2000	.36286	.132
N válido (según lista)	25					

Tabla1: Análisis de la variabilidad de la masa entre las hojas verdes y secas con el empleo de los estadísticos descriptivos individuales de cada muestra.

Con respecto a los parámetros de calidad del producto (hojas molinadas) derivado del árbol del Nim, podemos afirmar después de un análisis cuantitativo que, la granulometría del producto a partir de las hojas secas molinadas es excelente, toda su masa se encuentra entre 1 y 2 mm con solo un 10 % de la última dimensión de acuerdo a lo que establecen los requisitos de calidad, citado por Estrada, O, J et al (2011). De igual forma la humedad se encuentra por debajo de límite exigido de 10 %. Siendo así el comportamiento del pH de los extractos acuosos en hojas en los tiempos de interacción a las cero horas, 12 horas, y 24 horas agrónomicamente aptos para la gran generalidad de cultivos. Los que se evalúan de soluciones ligeramente ácidas y neutras según DGSF (1982). Valores.

En la prueba T para muestras relacionadas de pH, al comparar las medias, se obtiene que en el par 1 la significación bilateral es 0.00 menor que alfa siendo la misma 0.05 por lo que se rechaza la hipótesis nula demostrándose que existen diferencias significativas entre las medias, y la vez que el pH disminuye con el tiempo.

En el par 2 se obtiene resultados similares o sea la significación es 0.029 menor que alfa existiendo diferencia entre los valores de pH y demostrándose que el mismo disminuye con el tiempo.

En el par 3 se demuestra que la diferencia entre las medias es aún mayor la significación es 0.00 menor que alfa por lo que se concluye que a medida que pasa el tiempo disminuye el pH.

Al respecto se puede afirmar que la aplicación de estos extractos dentro de las 24 horas no provoca efectos adversos en cuanto a la reacción de la solución nutritiva o del bioinsecticida de este extracto botánico en los rangos que desciende el pH.

2.2 Análisis del comportamiento de la conductividad eléctrica.

Se demuestra que a medida que desciende el pH aumenta la conductividad. En ello debe estar implicado el tipo de ión ya que no siempre que se produce el incremento de la CE de una solución lleva implícito un incremento del pH. Se conoce que el árbol del Nim es una planta considerada calcícola y la solubilización de los compuestos de calcio con ácidos orgánicos pudo influir en los cambios de la solución acuosa.

Seguidamente (tabla 6) se realiza el mismo análisis con la conductividad realizando una comparación en la hora cero, a las 12 horas y a las 24 horas. Prueba T para Muestras relacionadas de conductividad.

Prueba T de Studens para Muestras relacionadas de conductividad.

La significación bilateral es 0.001 a 0.011 menor que alfa siendo la misma 0.05 por lo que se rechaza la hipótesis nula existiendo diferencias significativas entre las medias o sea aumenta la conductividad a medida que aumenta el tiempo.

En el análisis de los estadísticos descriptivos individuales de la masa de los frutos podemos decir que el mayor contenido de pérdida en el fruto está en la pulpa no en la semilla.

Haciendo un análisis del aprovechamiento de los frutos maduros y secos el resultado que se obtiene es de 12.39% del fruto del árbol.

Los estadísticos descriptivos individuales de las Características dimensionales (mm) de las semillas secas del Nim expresan que las dimensiones de las semillas no están en correspondencia con lo planteado por Estrada. O. J. (2011) por ser medidas después de secadas.

Resumen de los parámetros de calidad del producto (semillas molinada) derivado del árbol del Nim.

Derivados	Humedad (%)	PH	Conduct. Eléct. (mv) a 25 °C.	Est Físico	Granulometría	Densidad (g/cm ³)
Semilla molinada	6.21			Sólido	60 de 1 mm 40 de 2 mm	0,52
Ext ac rel 1:2		6.22	49.4	acuoso		0.52
Ext ac rel 1:3		6.28	43.9	acuoso		0.52
Ext ac rel 1:4		6.30	41.1	acuoso		0.52
Ext ac rel 1:5		6.34	43.3	acuoso		0.52
Ext ac rel 1:10		6.36	41.6	acuoso		0.52

Tabla 2. Prueba T para Muestras relacionadas de PH

A continuación se muestran los análisis de los descriptivos para cada uno de los casos del pH.

De acuerdo a los resultados obtenidos y asumiendo un 95 de confianza, la significación bilateral es menor que alfa para el caso del pH entre 12 y 24 horas y entre 0 y 24 horas

por lo que se rechaza la hipótesis nula existiendo diferencias significativas entre las muestras

Este resultado revela que el pH disminuye a partir de las 12 h de preparado el producto en solución acuosa lo que se acidifica. Su aplicación debe realizarse dentro de las 24 h de preparada la solución.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	Varianza
Conduct. hora cero	5	41.10	49.40	43.8600	3.30651	10.933
Conduct a las 12 h	5	30.40	54.10	45.1200	9.58890	91.947
Conduct a las 24 h	5	46.10	61.30	55.1800	6.17956	38.187

Tabla 3: Análisis de los estadísticos descriptivos individuales de cada muestra de conductividad.

Posteriormente se realiza el mismo análisis con la conductividad realizando una comparación en la hora cero, a las 12 horas y a las 24 horas

Prueba de Studens para Muestras relacionadas de conductividad.

En este caso no se demuestra que las diferencias significativas en las primeras 12 horas solo a las 24 horas es que se ve diferencias entre las medias Debido a que la significación es de 0.007. Este resultado revela que la conductividad aumenta a partir de las 12 h de preparado el producto en solución acuosa para su aplicación.

CONCLUSIONES

La fundamentación conceptual y referencial de los procesos tecnológicos sostenibles y la tecnología para la producción semi-industrial de bioplaguicidas permitió precisar lo que representa la producción de los mismos con respecto al medio ambiente y la economía del país. Se demostró que las características de los productos obtenidos mediante la tecnología semi-industrial están en correspondencia con la calidad establecida para los mismos y puede ser de conocimiento a productores. Se comprobó que se producen cambios estadísticamente significativos en los extractos acuosos entre las 12 y 24 horas, en los parámetros pH y CE pero desde el punto de vista agronómico tiene un comportamiento normal.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- ACTAF PROYECTO FONADEF.: *El Nim, una alternativa ecológica. Lucha biológica. Sanidad vegetal*, Ciego de Ávila, 2009.
- AGRIS (FAO): «Un sistema integral de enseñanza, evaluación y transferencia de tecnologías para una agricultura sustentable», en *Agronomía Tropical*, 2013.
- ARIAS, D.; VÁZQUEZ, G.; ACOSTA, W.; MONTANEZ, L.; ALVAREZ, R. Y PÉREZ, V.: «Determinación del Azadiractina de los aceites esenciales del árbol de Neem (Azadirachta Indica)», en *Ingeniería UC*, vol. 16, No. 3, pp. 22-26, Carabobo, Venezuela, 2009.
- BRECHLT, A.: *El manejo Ecológico de Plagas y Enfermedades*, Red de Acción en Plaguicidas y sus alternativas para América Latina RAP-AL), pp. 20-27, 2004.
- ESPINOSA, R. Y MARTÍNEZ, J.: «Diagrama de equilibrio para la extracción con solvente de aceite e insecticida de semilla molida de Nim», en *NEXO*, vol.: 19, No. 01, 2006.
- FORTI, S.M.; DA SILVA, N.; NEVES, E.C.; ALVES, L.; PEIXOTO, D.O. Y DOS SANTOS, J.M.: «Ação de extrato e óleo de nim no controle de Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Canestrini, 1887) Acari: Ixodidae em laboratório», en *Rev Brasileira Parasitol, Vet*, 19(1), 44-8, 2010.
- GIGLIOTI, R.; FORIM, M.R.; OLIVEIRA, H.N.; CHAGAS, A.C.S.; FERREZINI, J. Y BRITO, L.G.: «In vitro acaricidal activity of NET (Azadirachta indica) seed extracts with know azadirachtin concentrations against Rhipicephalus microplus», en *Veterinaria Parasitología*, pp. 181-309, 15, 2011.
- INIFAT: *Proyecto Agroecológico: El Nim y sus bioinsecticidas, una alternativa agroecológica*, pp. 4-17, 1998.
- MIOTTO, A.: *Calcários calcíticos e dolomíticos e alterações nos atributos de solos e plantas sob sistema de plantio direto*, Santa Maria, UFSM, pp. 78, 2009.
- MUÑOZ, V.S.: *El aceite de neem Azadirachta indica A. Juss, y su relación con el control de ácidos en canola variedad Hyola 401*, ZOE Tecno-Campo, 2010. Disponible en http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/neem_canola.htm, Visitado el 18 de octubre de 2014.
- NAREDO, J.M.: *Sobre el origen, el uso y el contenido del término sostenible, Primer catálogo español de buenas prácticas*, Ministerio de Obras Públicas, Transportes y Medio Ambiente, Madrid, España, 1996.
- PARMER, B.S. Y SINGH, R. P.: *Nim in Agriculture, Indian Agriculture al Institute New Delhi*, pp. 85, 1993.

- PANKAJ, S.; LOKESHWAR, T.; MUKESH, B.; VISHNU, B.: «Review on neem (*Azadirachta indica*): Thousand problems one solution», *International Research Journal of Pharmacy*, vol.2, pp. 97-102, 2011.
- ROMERO, C. Y VARGAS, M.: «Extracción del aceite de la semilla de Nim (*Azadirachta indica*)», en *CIENCIA*, Vol. 13, No.4, pp. 4-9, Maracaibo, Venezuela, 2005.
- RUBIO, J.L.; DUBLÍN, R.: «Aceite de la semilla de Nim (*azadirachta indica* y del ajo (*Allium sativum*) en el tratamiento de heridas en bovino», en *ACPA*, No. 1, pp. 19-20, 2008. .
- SCHMUTTERER, H.: *Natural pesticide from the Nim tree and other Tropical Plants*, Proc. 2nd conf. Ranischholzhausen, pp.587, 1984.

ANEXO 1: Diagrama del flujo del proceso de la tecnología semi-industrial.

