

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
ALTOANDINA DE TARMA**

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**Evaluación de la capacidad antioxidante y composición de metabolitos
bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de *Schinus
molle L.* con CO₂ supercrítico**

Tesis

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial

Autores:

Bach. Joselin Paucarchuco Soto

Bach. German Padilla Pacahuala

Asesores:

Dr. Larry Oscar Chañi Paucar (Asesor)

Dr. Walter Javier Cuadrado Campó (Co-asesor)

Línea de investigación:

Optimización de procesos de extracción de biomoléculas usando tecnologías
emergentes y limpias

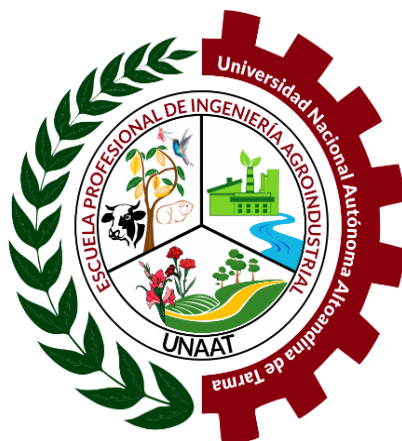
TARMA – PERÚ

2024

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
ALTOANDINA DE TARMA**

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**Evaluación de la capacidad antioxidante y composición de metabolitos
bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de *Schinus
molle L.* con CO₂ supercrítico**

Tesis

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial

Autores:

Bach. Joselin Paucarchuco Soto

Bach. German Padilla Pacahuala

Asesores:

Dr. Larry Oscar Chañi Paucar (Asesor)

Dr. Walter Javier Cuadrado Campó (Co-asesor)

Línea de investigación:

Optimización de procesos de extracción de biomoléculas usando tecnologías
emergentes y limpias

TARMA – PERÚ

2024

PÁGINA DEL JURADO EVALUADOR
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA ALTOANDINA DE
TARMA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

Evaluación de la capacidad antioxidante y composición de metabolitos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de *Schinus molle L.* con CO₂ supercrítico

Sustentada y Aprobada ante los miembros del jurado evaluador:

Dr. Rafael Julián Malpartida Yapias

PRESIDENTE

Mg. Jimmy Pablo Echevarría Victorio

SECRETARIO

Mg. Elmer Robert Torres Gutiérrez

VOCAL

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 001-EPIA-FI-2024

En la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma Huancuro N° 2092, Acobamba, a los 30 días del mes de diciembre del año 2024, siendo las 11:00 horas, en el Auditorio "Dantón Hidalgo Valverde" de la UNAAT, se reunieron los miembros del Jurado Evaluador, designados con Resolución de Coordinación de Facultad N° 021-2024-UNAAT/FI de fecha 28 de octubre de 2024.

Miembros del Jurado Evaluador:

Presidente : Dr. Rafael Julián Malpartida Yapias
Secretario : Mg. Jimmy Pablo Echevarría Victorio
Vocal : Mg. Elmer Robert Torres Gutiérrez

Con la finalidad de llevar a cabo el acto académico de sustentación de tesis: "Evaluación de la Capacidad Antioxidante y Composición de Metabolitos Bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de Schinus molle L. con CO₂ supercrítico", para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, aprobado mediante Resolución de Coordinación de Facultad N° 029-2024-UNAAT/FI, de fecha 26 de diciembre de 2024, donde se programa lugar, fecha y hora para el mencionado acto.

Sustentante(s):

Bach. Joselin Paucarchuco Soto
Bach. German Padilla Pacahuala
Asesor: Dr. Larry Oscar Chañi Paucar
Coasesor: Dr. Walter Javier Cuadrado Campó

Concluida la exposición y absueltas las preguntas, los miembros del Jurado Evaluador procedieron con la deliberación asignando la calificación siguiente:

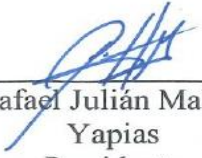
Escala valorativa:


Excelente Bueno Regular Deficiente

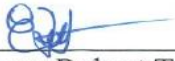
Resultado final.

Aprobado Desaprobado Por: Por Unanimidad

Para constancia se expide la presente Acta, en la ciudad de Tarma a los 30 días del mes de diciembre 2024


Dr. Rafael Julián Malpartida
Yapias
Presidente


Mg. Jimmy Pablo
Echevarría Victorio
Secretario


Mg. Elmer Robert Torres
Gutiérrez
Vocal

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi querida madre Doris Lucia Soto Rojas, por su amor incondicional y su apoyo constante en cada paso de mi vida profesional. Tu sabiduría y fortaleza me han inspirado a ser la persona que soy hoy.

A mi hermana Nathaly Lucia Paucarchuco Soto, por ser mi compañera de sueños y aventuras. Tu aliento y confianza me han motivado a alcanzar mis metas.

Gracias por ser mi mayor apoyo y por siempre creer en mí.

PAUCARCHUCO SOTO, JOSELIN

A mi querida madre, Flor de María Pacahuala Álvarez:

Por su apoyo incondicional, paciencia y sacrificio que me han impulsado a alcanzar este logro, cada paso en este camino ha estado iluminado por tu amor y dedicación. Gracias por ser mi guía y mi inspiración constante.

PADILLA PACAHUALA, GERMAN

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer a Dios por brindarnos salud, sabiduría y fortaleza en los momentos desafiantes de la vida académica.

- Agradecemos a la Unidad de Innovación y Transferencia Tecnológica de la UNAAT, por financiar la ejecución del presente trabajo de tesis el cual se encuentra enmarcado en el proyecto “Valorización de especies vegetales aromáticas comercializadas en la ciudad de Tarma para la obtención de compuestos volátiles usando tecnología de fluidos supercríticos” con contrato de financiamiento N°01-2023-UNAAT. Asimismo, agradecer al “Grupo de investigación en Ingeniería de Alimentos y Agroindustria” por todo el apoyo brindado.
- También agradecemos a nuestra Alma Mater, la Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma y a la Facultad de Ingeniería por acogernos en sus aulas durante nuestra formación profesional.
- A todos los docentes de la carrera profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNAAT quienes nos brindaron sus conocimientos hacia nuestras personas.
- A nuestro Asesor el Dr. Larry Oscar Chañi Paucar, por su guía experta y su compromiso inquebrantable a lo largo de este proceso. Su conocimiento científico y aliento han sido fundamentales para llevar a cabo esta investigación.
- A nuestro Co-Asesor el Dr. Walter Javier Cuadrado Campó, por su invaluable guía, apoyo y confianza a lo largo de este proceso. Su conocimiento científico y dedicación han sido fundamentales para el desarrollo de este trabajo.
- Agradecemos a nuestros colegas y compañeros de la Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma, quienes han contribuido con sus valiosas opiniones y apoyo constante, creando un ambiente de colaboración que ha enriquecido nuestra experiencia académica.
- Finalmente agradecemos a nuestros familiares y amigos, quienes nos han brindado su apoyo y comprensión en cada etapa de este viaje. Su apoyo emocional ha sido un pilar fundamental para nosotros.

GRACIAS A TODOS

ÍNDICE DE CONTENIDO

PRESENTACIÓN.....	1
RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
I. INTRODUCCIÓN.....	4
1.1. Determinación del problema.....	5
1.2. Formulación del problema	6
1.2.1. Problema general.....	6
1.2.2. Problemas específicos	6
1.3. Hipótesis	7
1.3.1. Hipotesis general	7
1.3.2. Hipótesis específicas	7
1.4. Objetivos.....	7
1.4.1. Objetivo general	7
1.4.2. Objetivos específicos.....	7
1.5. Consideraciones éticas	8
II. MARCO TEÓRICO.....	9
2.1. Antecedentes de estudio.....	9
2.1.1. Antecedentes internacionales	9
2.1.2. Antecedentes nacionales	12
2.2. Marco teórico	14
2.2.1. Schinus molle	14
2.2.2. Descripción botánica	14
2.2.3. Aceite esencial de S. molle	15
2.2.4. Usos del S. molle.....	15
2.2.4. Hidrodestilación	16
2.2.5. Tecnología de los solventes verdes	17
2.2.5. Extracción con fluidos supercríticos	18
2.2.6. Curvas de extracción con fluidos supercríticos.....	19
2.2.7. Capacidad antioxidante	20
2.2.8. Cromatografía de gases	21
2.3. Definición de términos.....	22

III. MARCO METODOLÓGICO	23
3.1. Tipo y nivel de investigación	23
3.2. Variables	23
3.3. Operacionalización de variables	24
3.4. Población, muestra y muestreo	26
3.5. Diseño experimental	27
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	28
3.6.1. Acondicionamiento y secado de las hojas de S. molle.....	29
3.6.2. Proceso de extracción supercrítica	31
3.6.3. Análisis de colorimetría	35
3.6.4. Análisis de capacidad antioxidante	36
3.6.5. Análisis de cromatografía de gases	37
3.7. Métodos de análisis de datos.....	39
IV. RESULTADOS.....	40
4.1. Identificación botánica de la especie S. molle	40
4.2. Análisis de granulometría de las hojas de S. molle molidas.....	40
4.3. Análisis de color de las hojas de S. molle y el extracto aromático.....	41
4.4. Efecto de la presión y temperatura sobre el rendimiento de los extractos aromáticos de S. molle obtenidos por SFE	43
4.5. Cinética de extracción.....	49
4.6. Capacidad antioxidante.....	51
4.7. Composición del extracto aromático obtenido de las hojas de S. molle por SFE	51
V. DISCUSIÓN.....	52
VI. CONCLUSIONES.....	55
VII. RECOMENDACIONES	58
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ANEXOS	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planteamiento del problema: Método del embudo.....	6
Figura 2. Schinus molle	14
Figura 3. Sistema de hidrodestilación.....	17
Figura 4. Equipo de fluidos supercríticos	18
Figura 5. Períodos de extracción con fluidos supercríticos	19
Figura 6. Espectrofotómetro	20
Figura 7. Equipo de cromatografía de gases.....	21
Figura 8. Coordenadas de colecta de las hojas de S. molle	26
Figura 9. Diagrama de operaciones para la obtención de extracto aromático de las hojas de S. molle por tecnología supercrítica	29
Figura 10. Colecta de materia prima (Hojas de S. molle)	30
Figura 11. Secado de las hojas de S. molle	31
Figura 12. Empacado al vacío de las hojas de S. molle.....	31
Figura 13. Molienda de las hojas de S. molle.....	32
Figura 14. Acondicionamiento del lecho de extracción	32
Figura 15. Acondicionamiento de los parámetros termodinámicos para la obtención de extracto aromático de S. molle por tecnología supercrítica	33
Figura 16. Colecta del extracto aromático de S. molle.....	34
Figura 17. Pesado del extracto aromático de S. molle	35
Figura 18. Curva de ajuste para la determinación del tiempo de medición de la absorbancia de los extractos aromáticos de S. molle.....	36
Figura 19. Cromatógrafo de gases (SHIMADZU, GC-2010 PLUS)	38
Figura 20. Análisis de color de las hojas de S. molle después del proceso SFE.....	42
Figura 21. Extractos aromáticos de S. molle obtenidos a 1) 35°C, 150 bar 2) 45°C, 250 bar y 3) 55°C, 350 bar	43
Figura 22. Rendimiento de los extractos aromáticos de S. molle obtenidos por SFE....	44
Figura 23. Distribución normal de residuos para rendimiento global de los extractos aromáticos de S. molle obtenidos por SFE.....	46
Figura 24. Rendimiento de los extractos aromáticos de S. molle obtenidos por SFE en función a la interacción presión (bar) y temperatura (°C).....	47
Figura 25. Superficie 3D del rendimiento de los extractos aromáticos de S. molle obtenidos por SFE en función a la interacción presión (bar) y temperatura (°C)	48

Figura 26. Cinética de extracción del extracto aromático de <i>S. molle</i> obtenido por SFE	49
Figura 27. Frascos colectados en la cinética de extracción	50
Figura 28. Actividad antioxidante de los extractos aromáticos de <i>S. molle</i> obtenidos por SFE	51
Figura 29. Perfil cromatográfico de los compuestos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de <i>S. molle</i> por SFE	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de Schinus molle.....	15
Tabla 2. Operacionalización de variables independientes y dependientes	24
Tabla 3. Diseño factorial para el proceso de extracción supercrítica de extracto aromático de las hojas de S. molle	27
Tabla 4. Condiciones de análisis CG-MS.....	38
Tabla 5. Determinación del tamaño de partícula de las hojas de S. molle molidas	40
Tabla 6. Análisis de colorimetría de las hojas de S. molle después del proceso SFE....	41
Tabla 7. Análisis de varianza del rendimiento de extracto aromático obtenido por SFE45	
Tabla 8. Comparación de medias por la prueba de Bonferroni	45
Tabla 9. Metabolitos bioactivos identificados en el extracto aromático de S. molle extraído a 150 bar y 45 °C	52

PRESENTACIÓN

La extracción de compuestos bioactivos empleando tecnologías verdes es una alternativa sostenible para la recuperación de metabolitos secundarios de gran importancia para la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica. El presente trabajo de investigación está orientado a la valorización de las especies aromáticas nativas producidas en la provincia de Tarma, siendo la materia prima de estudio el *Schinus molle* L.

La parte experimental se desarrolló en los laboratorios del Instituto de Investigación en Tecnologías Altoandinas (INITA) de la UNAAT, donde se aplicó la tecnología de fluidos supercríticos para la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle*. El analito obtenido se sometió a análisis por cromatografía de gases en el Laboratorio de Investigación y Certificaciones (LABICER) de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), siendo los principales compuestos identificados el shyobunol (33,42 %), bicyclogermacrene (12,61 %), elemol (10,36 %), lupenone (6,55 %), germacrene D-4-ol (6,28 %) y γ -gurjunene (5,70 %). También se analizó la capacidad antioxidante de todos los extractos aromáticos usando el método del radical libre DPPH. Cabe resaltar que el trabajo de investigación brinda un soporte técnico, debido a que se han establecido condiciones termodinámicas adecuadas de presión y temperatura, los cuales servirán a la industria de productos naturales para recuperar compuestos bioactivos de las hojas de *S. molle* y aplicarlo como biocidas ecológicos, repelentes y en la formulación de productos farmacológicos.

RESUMEN

Las hojas de *S. molle* son una gran fuente de metabolitos bioactivos con alto valor comercial para la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica. El objetivo de este estudio fue la determinación del rendimiento global, la capacidad antioxidante y la identificación de los metabolitos bioactivos presentes en el extracto aromático obtenido de las hojas de *S. molle* mediante tecnología supercrítica. Para el proceso de extracción supercrítica se utilizó presiones de 150, 250 y 350 bar y temperaturas de 35, 45 y 55 °C. La condición supercrítica de 45 °C y 150 bar fue la que permitió alcanzar el mayor rendimiento de extracto aromático (1,36 % ± 0,03). La muestra HSM-35350 fue el extracto aromático con el mayor porcentaje de inhibición (62,50 ± 0,62 %) de DPPH (0.01 mg/mL). Los principales compuestos identificados en la muestra HSM-45150 fueron el shyobunol (33,42%), bicyclogermacrene (12,61 %), elemol (10,36 %), lupenone (6,55 %), germacrene D-4-ol (6,28 %) y γ -gurjunene (5,70 %). De acuerdo a la literatura científica consultada, estos metabolitos bioactivos poseen propiedades funcionales, insecticidas, antibacterianas y antifúngicas los cuales se pueden aplicar en la formulación de larvicidas ecológicos, películas comestibles y fármacos con propiedades analgésicas y anticancerígenas. Considerando esas potencialidades del *S. molle*, se concluye que la aplicación de la tecnología de fluidos supercríticos para la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle* es una gran alternativa ecoamigable para la producción de bioactivos, requiriéndose de más estudios de aplicación y producción a nivel industrial.

Palabras clave: *Schinus*; extracto aromático; shyobunol; bicyclogermacrene; capacidad antioxidante; CO₂ supercrítico.

ABSTRACT

The leaves of *S. molle* are a great source of bioactive metabolites with high commercial value for the food, cosmetic, and pharmaceutical industries. The objective of this study was to determine the overall yield, antioxidant capacity, and identification of the bioactive metabolites present in the aromatic extract obtained from the leaves of *S. molle* using supercritical technology. For the supercritical extraction process, pressures of 150, 250, and 350 bar and temperatures of 35, 45, and 55 °C were used. The supercritical condition of 45 °C and 150 bar was the one that allowed for the highest yield of aromatic extract (1.36 % ± 0.03). The sample HSM-35350 was the aromatic extract with the highest percentage of DPPH (0.01 mg/mL) inhibition (62.50 ± 0.62%). The main compounds identified in the sample HSM-45150 were shyobunol (33.42%), bicyclogermacrene (12.61%), elemol (10.36%), lupenone (6.55%), germacrene D-4-ol (6.28%), and γ -gurjunene (5.70%). According to the consulted scientific literature, these bioactive metabolites possess functional, insecticidal, antibacterial, and antifungal properties, which can be applied in the formulation of ecological larvicides, edible films, and drugs with analgesic and anticancer properties. Considering the potential of *S. molle*, it is concluded that the application of supercritical fluid technology for obtaining aromatic extract from *S. molle* leaves is a great eco-friendly alternative for the production of bioactives, requiring further studies on application and industrial production.

Keywords: *Schinus*; aromatic extract; shyobunol; bicyclogermacrene; antioxidant capacity; supercritical CO₂.

I. INTRODUCCIÓN

En la búsqueda continua de recursos naturales con propiedades terapéuticas y funcionales, las plantas medicinales han emergido como fuentes valiosas de compuestos bioactivos con potenciales aplicaciones en la salud y la industria (Belhoussaine et al., 2024). Entre ellas, *S. molle*, comúnmente conocida como el pimentero peruano o pimienta rosada por sus semillas comestibles de color rojo/rosado, ha captado la atención por sus propiedades funcionales, insecticidas, antibacterianas y antifúngicas (Abdel-Sattar et al., 2010; Morales-Rabanales et al., 2022).

Esta planta medicinal crece en la provincia de Tarma de manera silvestre, siendo aprovechada por los pobladores locales para la formulación de bebidas alcohólicas (Rodríguez & García, 2017), teñido de fibras (Bocangel et al., 2021) y en la medicina tradicional para tratar diversas afecciones, gracias a su riqueza en metabolitos secundarios (Feriani et al., 2020). Aunque tiene un gran potencial para la industria, hasta la fecha existe un escaso conocimiento científico y tecnológico sobre la producción de bioactivos de esta especie que permita su aprovechamiento.

Considerando esas potencialidades del *S. molle*, surge el interés por aplicar CO₂ supercrítico para la obtención de principios activos, debido a que esta tecnología mejora la eficiencia de extracción y es amigable con el medio ambiente (Chañi-Paucar et al., 2022; Khaw et al., 2017). Este método no solo maximiza la recuperación de los principios activos, sino que también mantiene las propiedades biológicas de los metabolitos extraídos (Santana et al., 2023).

La aplicación de la tecnología de fluidos supercríticos para la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle* rico en bioactivos de alto valor biológico, permite establecer condiciones óptimas de presión, temperatura y flujo másico; siendo estos datos de gran importancia técnica y operativa para el escalamiento del proceso a nivel industrial (Murrieta-Dionicio et al., 2023).

En este contexto, la presente investigación se centra en la evaluación de la capacidad antioxidante y la composición de metabolitos bioactivos del extracto aromático de las hojas de *S. molle* extraído con CO₂ supercrítico. Es importante destacar que la identificación y caracterización de los analitos bioactivos presentes en el extracto aromático proporcionan una visión integral de su perfil fitoquímico, destacando el potencial que tiene el *S. molle* para ser aplicado en la formulación de películas comestibles (Chavez-Marquez et al., 2023), biopesticida ecológico (Lalia et al., 2023), fármacos con

propiedades analgésicas, antidiarreicas y hepatoprotectoras (Belayneh et al., 2024) y para aromatizar alimentos (Giuffrida et al., 2020).

Finalmente, el estudio busca valorizar y promover más estudios para el aprovechamiento integral de las especies aromáticas nativas producidas en la provincia de Tarma, en especial el *S. molle*.

1.1. Determinación del problema

La provincia de Tarma presenta condiciones edafoclimáticas propicias para el crecimiento de diversas especies aromáticas, entre las cuales se encuentra el *S. molle*, el cual se usa tradicionalmente en la elaboración de chicha (bebida fermentada) (Alagon, 2024) y como ungüento para tratar golpes e inflamaciones (Espinoza, 2020). Sin embargo, existe un vacío de conocimiento sobre las propiedades bioactivas y potencialidades que tiene esta planta silvestre para la industria.

El interés por las propiedades funcionales y nutracéuticas del *S. molle* ha motivado a los investigadores a realizar la extracción de aceites esenciales y compuestos bioactivos empleando metodologías como la hidrodestilación (dos Santos et al., 2015) y el arrastre de vapor (Volpini-Klein et al., 2021). En cuanto a la aplicación de la tecnología de fluidos supercríticos para la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle*, aún no se han establecido parámetros termodinámicos óptimos de presión y temperatura. Evidenciando que existe un vacío de información científica para aplicar esta tecnología emergente en la recuperación de metabolitos bioactivos y funcionales (da Silva et al., 2023).

Por otra parte, la poca valorización del *S. molle* producido en la provincia de Tarma, se debe a la falta de investigaciones que analicen la composición fenólica, capacidad antioxidante, antimicrobiana y demuestren el potencial del extracto aromático para ser aplicado en la Agroindustria (İlgün et al., 2023). Por ello, el presente trabajo de investigación se enfoca en aplicar tecnologías limpias y con mayor eficiencia en la recuperación de extracto aromático. Siendo la extracción con CO₂ supercrítico, una gran alternativa para la recuperación de bioactivos, desde compuestos polares hasta compuestos apolares (Chañi-Paucar et al., 2022).

En ese contexto, la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle* empleando tecnologías emergentes representa una gran alternativa ecoamigable para aprovechar eficientemente y valorar esta materia prima que crece de manera silvestre en la provincia de Tarma.

Figura 1*Planteamiento del problema: Método del embudo***1.2. Formulación del problema****1.2.1. Problema general**

- ¿Cuál será el efecto de las condiciones de extracción supercrítica con CO₂ en el rendimiento, capacidad antioxidante y perfil de metabolitos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de *S. molle*?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cómo varía el rendimiento porcentual del extracto aromático obtenido de las hojas de *S. molle* a diferentes condiciones de extracción supercrítica?
- ¿Cuál será la capacidad antioxidante del extracto aromático obtenido de las hojas de *S. molle* a diferentes condiciones de extracción supercrítica?

- ¿Cuál será la composición de metabolitos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de *S. molle* por tecnología supercrítica?

1.3. Hipótesis

1.3.1. Hipótesis general

- La aplicación de CO₂ supercrítico en la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle*, ofrece un proceso de extracción ecológico, eficiente y con un elevado contenido de metabolitos bioactivos.

1.3.2. Hipótesis específicas

- La optimización de la presión y temperatura en la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle* con CO₂ supercrítico, permite incrementar el rendimiento de extracción.
- La aplicación de CO₂ supercrítico en la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle* es un factor que determina la capacidad antioxidante de las muestras.
- El extracto aromático extraído de las hojas de *S. molle* por tecnología supercrítica es una gran fuente de metabolitos bioactivos.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto de las condiciones de extracción supercrítica con CO₂ en el rendimiento, capacidad antioxidante y perfil de metabolitos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de *S. molle*.

1.4.2. Objetivos específicos

- Establecer la interacción que existe entre el rendimiento de extracto aromático obtenido y las diferentes condiciones de extracción supercrítica.

- Determinar la capacidad antioxidante del extracto aromático extraído de las hojas de *S. molle* por tecnología supercrítica.
- Determinar la composición de metabolitos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de *S. molle* por tecnología supercrítica.

1.5. Consideraciones éticas

La presente investigación se desarrolló respetando las disposiciones emitidas por el Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre (SERFOR, 2024). Para lo cual se realizó el trámite, solicitando autorización para coleccionar muestras de *S. molle* en la provincia de Tarma con fines de investigación científica. En respuesta a la solicitud presentada, el SERFOR emitió la Resolución Administrativa N.º D000260-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL, donde este documento autoriza la colecta de flora silvestre fuera de Áreas Naturales Protegidas con fines de investigación científica.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio

2.1.1. Antecedentes internacionales

A nivel internacional existen estudios limitados sobre la aplicación de CO₂ supercrítico para la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle*, por otra parte, en la literatura académica están disponibles diversas investigaciones que aplican tecnologías convencionales para extraer aceite esencial de *S. molle*.

Shehata et al. (2024), estudiaron los componentes fitoquímicos volátiles y las actividades antimicrobianas, antioxidantes y citotóxicas de los extractos de semillas y hojas de *S. molle*. Los resultados del análisis de cromatografía de gases – espectrometría de masas (GC-MS) reveló que el extracto de semilla de *S. molle* presenta 7 picos, siendo el compuesto principal el 2-ethylhexyl (59,11%), seguido del ácido n-hexadecanoico (10,84%), en cuanto al extracto de las hojas de *S. molle* se exhibieron 16 picos, destacándose la presencia del escualeno (16,87%), azuleno (14,88%) y lupeol (12,4%). En lo que respecta a la actividad antimicrobiana los extractos presentaron una alta actividad de inhibición que oscilaron entre $15 \pm 0,57$ y $27,33 \pm 0,88$ mm contra los macroorganismos ensayados. Estos hallazgos resaltan el potencial del *S. molle* para ser aplicado en la biomedicina.

da Silva et al. (2023), analizaron la composición fitoquímica y la actividad biocida de los aceites esenciales extraídos de las hojas frescas y secas de *S. molle*. El análisis de los componentes volátiles mediante GC-MS reveló la presencia de bioactivos como spathulenol, β -cariofileno y óxido de cariofileno, los cuales se encontraban en concentraciones de 16,00%; 13,30% y 9,80% en el aceite esencial extraído de hojas frescas y en proporciones de 20,80%; 15,80% y 10,00% en el extracto de hojas secas, evidenciando que las condiciones de secado influyen en el rendimiento y contenido de compuestos volátiles. En cuanto a la actividad biocida, el estudio demostró que el spathulenol puro presenta actividad antibacteriana contra *Xanthomonas citri*.

Murrieta-Dionicio et al. (2023), caracterizaron el perfil fitoquímico del aceite esencial obtenido de las hojas de *S. molle* mediante 2 sistemas de destilación (Rayleigh y Clevenger) y distintos tiempos de extracción (20 a 120 min). Los resultados del rendimiento de extracción fueron 1,03 % y 1,63 % para los sistemas Rayleigh y Clevenger, respectivamente. En cuanto a la composición de los fitoquímicos volátiles, se identificó 37 compuestos en el AE obtenido por Clevenger de los cuales 31 estuvieron presentes en el AE obtenido con destilador Rayleigh. La similitud del perfil fitoquímico entre los extractos de ambos equipos varió entre 87,2 y 96,2 % en función del tiempo de operación, siendo los compuestos principales el α -felandreno (21,20-28,57 %), limoneno + β -felandreno (19,07-27,78 %), canfeno (3,32-9,93 %), α -pineno (5,74-8,56 %), β -mirceno (2,95-6,91 %) y β -pineno (1,31-3,55 %). Estos datos evidencian que el escalamiento del proceso permite obtener mayor cantidad de aceite esencial, sin embargo, el rendimiento y el contenido de fitoquímicos volátiles es menor en comparación con la extracción por hidrodestilación.

Belhoussaine et al. (2022), reportaron la composición química y el efecto insecticida contra *Sitophilus oryzae* del aceite esencial (AE) extraído de las hojas y frutos del *S. molle*. La extracción de AE se realizó por hidrodestilación durante 6h, donde se alcanzó un rendimiento de 2,97 % para las hojas y 2,67 % para los frutos de *S. molle*. Por otro lado, el análisis GC-MS identificó 46 componentes volátiles (91% - 92%) en AE de hojas y frutos de *S. molle*, siendo los compuestos principales el β -pineno (10,36-5,44%), γ -terpineno (12,01-8,15%), limoneno (22,94-18,49%), 10-epi-elemol (7,64-8,03%), γ -eudesmol (5,17-4,09%) y longifolene (7,67-8,48%). La evaluación de la actividad antioxidante de AE de hojas y frutos (5 mg/mL) reveló un porcentaje de inhibición radical de 17,99% y 53,30%, lo que evidencia que los frutos exhiben mayor actividad antioxidante que las hojas. También se reportó que AE de frutos presenta 100 % de mortalidad contra *S. oryzae* a una concentración de $25 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ después de 3 días de exposición, mientras que, para las hojas este valor de mortalidad se marcó después de 7 días de exposición para la misma concentración.

Umay, (2022) investigó la composición química y los efectos fitotóxicos de los aceites esenciales extraídos de las hojas y resinas de *S. molle*. La extracción de AE se realizó por hidrodestilación acoplado a un horno microondas de 340 watt, el cual permitió obtener un rendimiento de 0,4% y 0,3% para las hojas y resinas, respectivamente. En cuanto a la

composición fitoquímica se observó diferencias en las cantidades y contenidos de los AE, siendo los compuestos mayoritarios en las hojas el α -phellandrene (20,3%), D-limonene (16,4%), germacrene D (15,5%), bicyclogermacrene (12,3%) y en las resinas el germacrene B (20,2%), caryophyllene (18,3%) y bicyclogermacrene (9,2%). Por otro lado, la evaluación del efecto fitotóxico sobre semillas de *P. oleracea* y *R. sativus*, evidenció que los AE en diferentes concentraciones presentan actividad inhibidora en tasas de 57%, 67% y 70%, 80% sobre la germinación de las semillas de verdolaga y rábano, confirmando el efecto herbicida del *S. molle*.

Volpini-Klein et al. (2021), estudiaron la influencia de la extracción por hidrodestilación (HD) y arrastre de vapor (AV) sobre la composición química de los aceites esenciales obtenidos de las hojas y frutos de *S. molle*. También determinaron el rendimiento de extracción de las 2 metodologías, donde se observó que HD alcanza 1,2 % y 1,8%, mientras que AV llega a 0,5% y 0,8%, respectivamente. Por otro lado, se identificó que los AE procedentes de hojas y frutos contenían componentes fitoquímicos similares como (sabinene, myrcene, caryophyllene, germacrene-D, bicyclogermacrene, γ -cadinene y epi- α -cadinol), sin embargo, sus respectivas cantidades varían según la técnica de extracción utilizada. Para AE de las hojas, se encontró que la extracción por HD proporciona mayor poder para extraer monoterpenos (47,7%), esto se evidenció en la comparación de los métodos donde se notó grandes variaciones en los compuestos como myrcene y sabinene, siendo sus cantidades 3,1%/21,3% y 8,0%/18,7%, respectivamente. En lo que respecta al AE de las hojas obtenido por AV, se determinó que existe mayor concentración de los sesquiterpenos (77,6%).

Scopel et al. (2013), evaluaron la actividad antimicrobiana y el rendimiento global de los extractos obtenidos de hojas y ramas de *S. molle* mediante CO₂ supercrítico y cosolventes. Los rendimientos alcanzados fueron 2,70 % (CO₂), 1,89 % (CO₂ + C₂H₅OH) y 0,41 % (CO₂ + H₂O), evidenciando que el uso de cosolventes como el agua y el etanol disminuyen el rendimiento global del extracto de *S. molle*. En el aspecto microbiológico, los análisis mostraron que los extractos obtenidos con CO₂ a una condición de 150 bar y 60°C presentaron acción antimicrobiana contra *M. luteus* y *E. coli*.

Barroso et al., (2011), evaluaron la extracción con fluidos supercríticos de compuestos volátiles y no volátiles de las hojas y ramas de *S. molle*. Los experimentos se realizaron en un extractor a escala piloto con una capacidad de 1 L a presiones de 90, 100, 120, 150 y 200 bar a 50°C. Los compuestos volátiles se obtuvieron por extracción supercrítica con CO₂ a presión moderada (90 bar), mientras que los compuestos no volátiles se extrajeron a mayor presión (120 a 200 bar). El mayor rendimiento alcanzado fue de 4,65%, el cual se consiguió ajustando una presión de 150 bar y una temperatura de 50 °C. El análisis del aceite esencial se realizó por GC-MS y los principales compuestos identificados fueron spathulenol (4,03%), sabinene (5,85%), germacrene D (8,86%), bicyclogermacrene (11,59%), (E)-caryophyllene (15,60%) y limonene (41,37%).

Marongiu et al. (2004), analizaron la composición química del extracto obtenido de las hojas de *S. molle* mediante CO₂ supercrítico. Las condiciones de extracción fueron las siguientes: presión (90 bar); temperatura (50 °C); flujo de dióxido de carbono ($\Phi = 1.0$ kg/h). Las ceras fueron atrapadas en el primer separador ajustado a 90 bar y -10 °C. El aceite se recuperó en el segundo separador a una presión de 15 bar y una temperatura de 10 °C, alcanzando un rendimiento de 0,7 %. Los compuestos principales de la fracción volátil fueron α -phellandrene (26,5%); limonene + β -phellandrene (21,0%); elemol (10,8%) y α -eudesmol (6,1%).

2.1.2. Antecedentes nacionales

En el Perú se han desarrollado diversas investigaciones acerca del *S. molle*, siendo la Universidad Nacional Mayor de San Marcos una de las instituciones que más trabajos reporta sobre la aplicación, beneficios y compuestos bioactivos del *S. molle*, sin embargo, aún no se han reportado investigaciones que apliquen tecnologías emergentes como los fluidos supercríticos para la obtención de extractos aromáticos de las hojas de *S. molle*.

Herrera-Calderon et al. (2022), estudiaron la actividad antioxidante in vitro y el perfil de los fitoquímicos volátiles del aceite esencial de las hojas de *S. molle* obtenidas por hidrodestilación. El análisis GC- MS presento 34 componentes volátiles, siendo el alfa-felandreno (32,68%), D-limoneno (12,59%) y beta-felandreno (12,24%) los de mayor presencia. En cuanto al análisis de capacidad antioxidante, se evidenció que de los 3 ensayos aplicados (DPPH, ABTS y FRAP), el aceite esencial de *S. molle* demostró mejor afinidad en el ensayo FRAP y IC₅₀ equivalente a 1,50 \pm 0,02mg/mL, sin embargo, este

estudio concluyó que los componentes volátiles no presentan buena actividad antioxidante.

Ruiz-Quiroz et al. (2021), determinaron la composición química y el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *S. molle* recolectadas en la ciudad de Lima. Los resultados del análisis de cromatografía de gases evidenciaron que el aceite esencial contenía 37 componentes volátiles, siendo los principales α -felandreno (19,59%), canfeno (19,10%) y α -pineno (16,56%). Por otro lado, el aceite esencial de *S. molle* mostró una buena actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis* (CMI= 0,3125 μ L/mL), actividad moderada frente a *Staphylococcus aureus* (CMI= 20 μ L/mL), y no tuvo actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* (CMI > 40 μ L/mL). Estos resultados corroboran que el aceite esencial de *S. molle* contiene importantes componentes volátiles y con gran potencial antibacteriano.

Palacios & Castillo (2015), evaluaron la cinética y el rendimiento de extracción del aceite esencial de *S. molle* a 2 caudales de vapor (4 y 6 kg de vapor/h). Para el desarrollo de la parte experimental se empleó un equipo de extracción por arrastre de vapor a nivel piloto. Los resultados del rendimiento de extracción demuestran que con un caudal de 6 kg de vapor/h solo se alcanza un rendimiento de 0,0835 %, mientras que con un caudal de 4 kg de vapor/h se logra un mayor rendimiento 0,1154 %, siendo este último parámetro la condición óptima. En lo que respecta a la cinética de extracción se evidencia que entre el minuto 5 y 65, es el periodo donde más aceite esencial se extrae del *S. molle*, empleando caudales de 4 y 6 kg de vapor/h.

Angulo-Gutiérrez (2015), investigó la extracción de aceite esencial de *S. molle* con CO₂ supercrítico, con el objetivo de determinar los fitoquímicos volátiles y las características fisicoquímicas del extracto obtenido. Las extracciones se realizaron a temperaturas de 30 y 32 °C combinadas con las presiones de 73 y 74 bar. El análisis GC – MS realizado al extracto dio como resultado la presencia de compuestos volátiles como *sabineno* (17,15%), *terpinol* (9,43%), *ácido palmítico* (8,39%), *ácido octadecadienoico* (8,30%) y *α -felandreno* (1,62%). La presencia de estos fitoquímicos corrobora el gran potencial que tiene el *S. molle* de la provincia de Huancayo para la industria de bioactivos.

2.2. Marco teórico

2.2.1. *Schinus molle*

El *S. molle* (Figura 2), llamado comúnmente molle, mulli, aguaribay o pimienta peruana, es oriundo de los valles interandinos del centro del Perú. El fruto de *S. molle* es una drupa verdosa que cuando madura, se torna rosada o marrón claro, dependiendo de la zona donde crece. En cuanto a las hojas, la corteza y los frutos del molle, se destaca la presencia de aceites esenciales, las cuales son una rica fuente de triterpenos, sesquiterpenos y monoterpenos (Giuffrida et al., 2020).

Figura 2

Schinus molle



2.2.2. Descripción botánica

El *S. molle* es un árbol de 6 a 8 m de altura, crece tanto de manera silvestre como cultivada en zonas secas del territorio peruano, desde el nivel del mar hasta los 3500 m.s.n.m. Presenta una copa redonda y abierta, con hojas pecioladas y alternadas, terminadas en punta (GBIF, 2024). Sus flores son muy pequeñas, de color blanquecino o amarillento, y están dispuestas en un gran número en panículas colgantes terminales y axilares (KEW SCIENCE, 2024). Sus frutos son de color rojo, una vez secos se asemejan a granos de pimienta. Este fruto contiene una sustancia colorante y un aceite esencial, el cual produce una resina fragante (Ovidi et al., 2021).

Tabla 1*Clasificación taxonómica de Schinus molle*

Reino	Plantae
Subreino	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Sapindales
Familia	Anacardiaceae
Género	Schinus
Especie	<i>Schinus molle</i> L.
Nombre común	Molle

Nota. Recuperado de GBIF, (2024).

2.2.3. Aceite esencial de *S. molle*

El aceite esencial de *S. molle* constituye una fuente rica de monoterpenos, sesquiterpenos y triterpenos, los cuales se emplean en perfumería y como fungicidas naturales. El aceite esencial de esta planta se encuentra principalmente en las hojas y en los frutos. Las hojas pueden contener hasta 2% de aceite esencial; mientras que los frutos hasta 5%. El aceite esencial de *S. molle* está compuesto principalmente por: Shyobunone (10,14%), α -felandreno (9,63%), α -cadinol (7,46%), δ -cadinene (7,45%) y germacrene D (7,09%) (Lalia et al., 2023; Mügge & Morlock, 2023).

2.2.4. Usos del *S. molle*

Las propiedades funcionales, medicinales, insecticidas y antifúngicas, hacen que el *S. molle* sea denominado como el árbol virtuoso (Razzak et al., 2023). Por ello, a continuación, se menciona las principales aplicaciones del *S. molle*:

a) Alimento: La bebida fermentada de molle, también conocida como chicha de molle, es una bebida tradicional en varias regiones de América del Sur, especialmente en Perú y Bolivia. Esta bebida fermentada presenta un sabor característico que puede variar en dulzura y acidez dependiendo del tiempo de fermentación y los ingredientes adicionales (Alagon, 2024).

b) Medicinal: El aceite esencial extraído de las hojas de *S. molle*, tiene propiedades beneficiosas para la piel. Destacándose el efecto cicatrizante y antiinflamatorio que presentan las cremas y ungüentos a base de *S. molle* (Espinoza, 2020).

c) Abono: El biochar hecho a partir de *S. molle* es un tipo de carbón vegetal que permite recuperar los suelos degradados a través de la estabilización del pH y la captura de carbono (Cervantes-Ramos, 2022).

d) Tinte: La cocción de la corteza y hojas de *S. molle* produce un tinte amarillo, al cual se añade alumbre y se remojan los tejidos que obtendrán una coloración amarilla permanente (Bocangel et al., 2021).

2.2.4. Hidrodestilación

La extracción de aceites esenciales empleando el sistema de hidrodestilación (Figura 3), es considerada la tecnología más limpia para realizar la recuperación de metabolitos bioactivos de las hierbas aromáticas. Esta metodología es muy práctica y dinámica para extraer compuestos volátiles a escala de laboratorio, permitiendo a los investigadores realizar ensayos preliminares para establecer condiciones de trabajo como la temperatura, tamaño de partícula, relación masa/solvente y tiempo, siendo estos parámetros muy importantes para escalar el proceso a un nivel industrial (Katekar et al., 2023).

Varios estudios han comparado el rendimiento de la hidrodestilación asistida por energía solar y los sistemas de hidrodestilación convencionales. Llegando a la conclusión de que el rendimiento porcentual y la cantidad de componentes recuperados por ambos métodos eran casi idénticos (Katekar et al., 2023).

Figura 3*Sistema de hidrodestilación*

2.2.5. Tecnología de los solventes verdes

La aplicación de disolventes alternativos permite reducir el consumo de energía, generar menos compuestos perjudiciales y obtener extractos de alta calidad y seguros a través de la extracción verde de productos naturales. Para diseñar procesos de extracción que respeten el medio ambiente, tanto a nivel industrial como en el laboratorio, es fundamental optimizar el uso de las materias primas, seleccionar disolventes alternativos y gestionar eficientemente la energía. Estos tres elementos son esenciales para lograr una extracción más sostenible (Chemat et al., 2012; Pasquel Reátegui et al., 2014).

La principal ventaja de la extracción con fluidos supercríticos (SFE) en comparación con las tecnologías convencionales es que emplea disolventes considerados seguros (GRAS), permite una extracción más rápida y eficiente de compuestos bioactivos. Este método es selectivo, no requiere pasos adicionales para purificar el extracto, y utiliza solo pequeñas cantidades de muestra para la extracción (Chañi-Paucar et al., 2022; Herrero et al., 2006).

2.2.5. Extracción con fluidos supercríticos

La extracción con CO₂ supercrítico (Figura 4), supera a los métodos convencionales al proporcionar altas tasas de extracción, buenas propiedades de transporte y una fácil difusión a través de materiales sólidos. La baja temperatura crítica del CO₂ evita el deterioro de los compuestos volátiles y permite que el disolvente se elimine por completo. Además, el CO₂ no es explosivo, no presenta toxicidad y es económico. Para la extracción de compuestos bioactivos de biomasa, como semillas oleaginosas y especias aromáticas, este método es rápido, eficiente y limpio (Albuquerque & Meireles, 2012; Temelli & Güçlü-Üstündağ, 2005).

El CO₂ puede reemplazar a los disolventes orgánicos en procesos de extracción cuando se emplea en un punto supercrítico. En este estado, el CO₂ presenta propiedades intermedias entre las de un líquido y un gas, combinando características de ambos estados. Dado que se trata de un disolvente apolar que se disuelve en sustancias químicas lipofílicas, pueden añadirse portadores polares como metanol, etanol o agua para extraer componentes polares (Díaz-Reinoso et al., 2006; Santana et al., 2023).

Un sistema SFE estándar consta de los siguientes componentes: un compresor de aire, un balón de CO₂, una bomba para presurizar el CO₂, un chiller, una columna de extracción, un fluxómetro, una micrométrica, un medidor de flujo y un vaso recolector (Johner & Meireles, 2016).

Figura 4

Equipo de fluidos supercríticos



2.2.6. Curvas de extracción con fluidos supercríticos

En la extracción de fluidos supercríticos la transferencia de masa (TM) es controlada por tres periodos como se visualiza en la Figura 5 (da Silva et al., 2016; Pereira & Meireles, 2009).

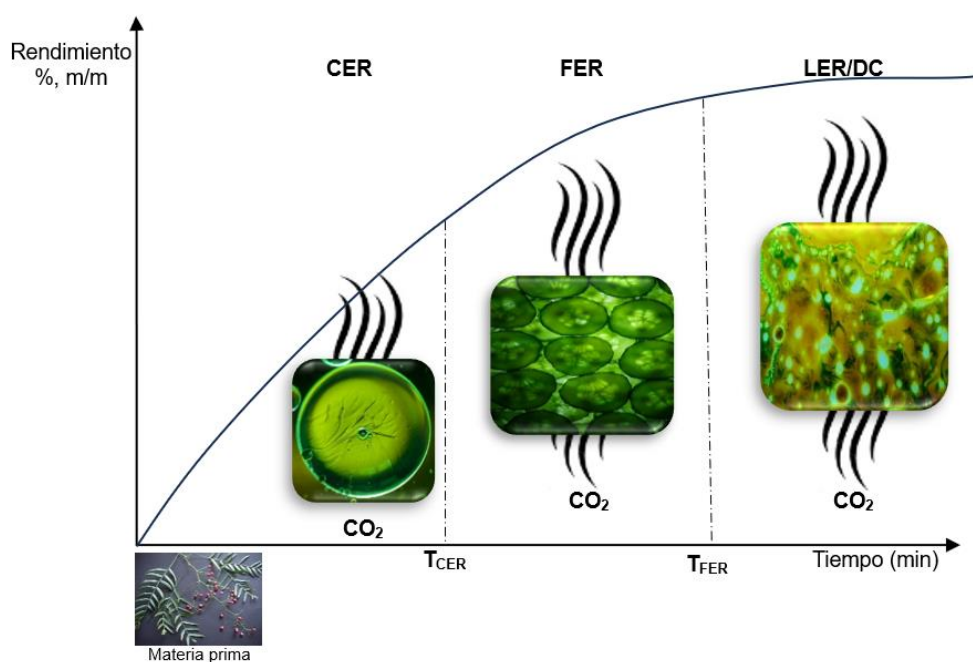
Primer periodo: La tasa de extracción es constante (CER), el soluto cubre la superficie del sólido y domina la convección.

Segundo periodo: Existe una caída de la tasa de extracción (FER), la cantidad de soluto en la superficie disminuye, produciéndose una extracción por difusión y convección de la parte interna de la muestra.

Tercer periodo: Ocurre una baja tasa de extracción (LER) o difusión controlada (DC), en la que el soluto de la superficie desaparece y la TM se alcanza mediante la difusión interna de las partículas.

Figura 5

Períodos de extracción con fluidos supercríticos



Nota: Adaptado de da Silva et al, (2016).

2.2.7. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de los extractos obtenidos mediante SFE es notablemente alta debido a la eficiencia y selectividad del proceso. Esta técnica permite la extracción de compuestos bioactivos, como polifenoles, flavonoides y carotenoides, con una mayor concentración y pureza en comparación con métodos convencionales. La baja temperatura de operación en la extracción con fluidos supercríticos minimiza la degradación de los compuestos antioxidantes sensibles al calor, asegurando que los extractos mantengan su actividad antioxidante original. Además, la capacidad del CO₂ supercrítico para adaptarse a diferentes densidades y propiedades de disolución facilita una separación precisa de los compuestos deseados, mejorando aún más la calidad del extracto (Chañi-Paucar et al., 2022; Kim et al., 2021).

Figura 6

Espectrofotómetro



2.2.8. Cromatografía de gases

La cromatografía de gases (GC) es una técnica analítica clave para el análisis cuantitativo y cualitativo de los extractos obtenidos mediante la extracción con fluidos supercríticos. Esta metodología es especialmente eficaz para separar e identificar compuestos volátiles y semi-volátiles presentes en los extractos. Al aplicar GC a los extractos de SFE, se pueden identificar una amplia variedad de componentes, como terpenos, ácidos grasos y otros metabolitos orgánicos, proporcionando un perfil químico preciso. Esto permite una comprensión detallada de la composición del extracto y facilita la optimización del proceso de extracción al ajustar parámetros como la temperatura y presión para mejorar la eficiencia y calidad del producto (Santana et al., 2023; Volpini-Klein et al., 2021).

Además, la cromatografía de gases contribuye a la evaluación de la pureza y calidad de los extractos obtenidos por SFE al detectar y cuantificar posibles impurezas y contaminantes. Esta capacidad de análisis detallado asegura que los extractos sean consistentes y cumplan con los estándares requeridos para aplicaciones industriales, farmacéuticas y cosméticas. Al ofrecer un perfil químico completo, la GC no solo ayuda a verificar la eficacia de la extracción, sino que también proporciona información valiosa para el desarrollo de productos y el control de calidad (Atapattu & Temerdashev, 2023; Santana et al., 2023).

Figura 7

Equipo de cromatografía de gases



2.3. Definición de términos

2.3.1. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de un extracto aromático es un indicador de su potencial para proteger contra el daño oxidativo (Giaquinta et al., 2017).

2.3.2. Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es una técnica esencial para el análisis detallado de extractos aromáticos, que permite la separación, identificación y cuantificación de sus componentes volátiles y semi-volátiles. Esta técnica es particularmente útil para analizar extractos de aceites esenciales y otros extractos derivados de plantas aromáticas (Mota et al., 2021).

2.3.3. CO₂ supercrítico

El CO₂ supercrítico es un fluido con propiedades intermedias entre líquidos y gases que se utiliza ampliamente en aplicaciones de extracción, purificación, y limpieza debido a su capacidad para disolver compuestos apolares (NIST, 2024).

2.3.4. 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)

El DPPH es un radical libre estable utilizado en la investigación como reactivo para medir la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos de las hojas y semillas oleaginosas (PubChem, 2024).

2.3.5. Extracción por fluidos supercríticos

La extracción por fluidos supercríticos es una técnica eficiente y versátil que ofrece la capacidad de obtener extractos puros y de alta calidad, manteniendo la integridad de los compuestos valiosos y contribuyendo a procesos más sostenibles (Chañi-Paucar et al., 2022).

2.3.6. Solvente GRAS

Los solventes GRAS son sustancias reconocidas por su seguridad para el uso en procesos de extracción y fabricación relacionados con alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos. Su clasificación asegura que, cuando se usan adecuadamente, no presentan riesgos significativos para la salud humana (FDA, 2023).

III. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo y nivel de investigación

El presente trabajo de investigación reúne las condiciones metodológicas de una investigación básica y un nivel experimental, debido a que se aplicó la tecnología de fluidos supercríticos para la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle*. Posteriormente, el analito recuperado fue sometido a análisis por cromatografía de gases, donde se determinó la composición de metabolitos bioactivos.

3.2. Variables

3.2.1. Variables independientes

- Presión (bar)
- Temperatura (°C)

3.2.2. Variables dependientes

- Rendimiento global de extracción (% , m/m)
- Capacidad antioxidante
- Composición de metabolitos bioactivos

3.3. Operacionalización de variables

Tabla 2

Operacionalización de variables independientes y dependientes

Variables	Definición conceptual	Indicador	Unidad	Fuente y/o Instrumento
Variables independientes:	Estos son los parámetros de funcionamiento que se modificarán en el equipo de extracción por fluido supercrítico, a las que se someterá las muestras de hojas de <i>S. molle</i> .	Temperaturas de trabajo (35, 45 y 55) y presiones de trabajo (150, 250 y 350)	°C bar	Equipo de extracción por fluidos supercríticos
<ul style="list-style-type: none"> • Presión • Temperatura 				
Variables dependientes:				
<ul style="list-style-type: none"> • Rendimiento global de extracción 	Es el rendimiento de extracto aromático obtenido bajo diferentes condiciones de extracción supercrítica.	(Extracto aromático (g) / peso muestra (g)) * 100	%, m/m	Fórmula
<ul style="list-style-type: none"> • Capacidad antioxidante 	Es la capacidad de inhibición de la degradación oxidativa que tiene el extracto de <i>S. molle</i> sobre las especies reactivas.	Radical libre DPPH	% Inhibición	Espectrofotómetro

- Composición de metabolitos bioactivos Son los compuestos bioactivos presentes en el extracto aromático de *S. molle*. Espectro de masas y tiempo de retención de los bioactivos. % m/z CAS Cromatografía de gases
-

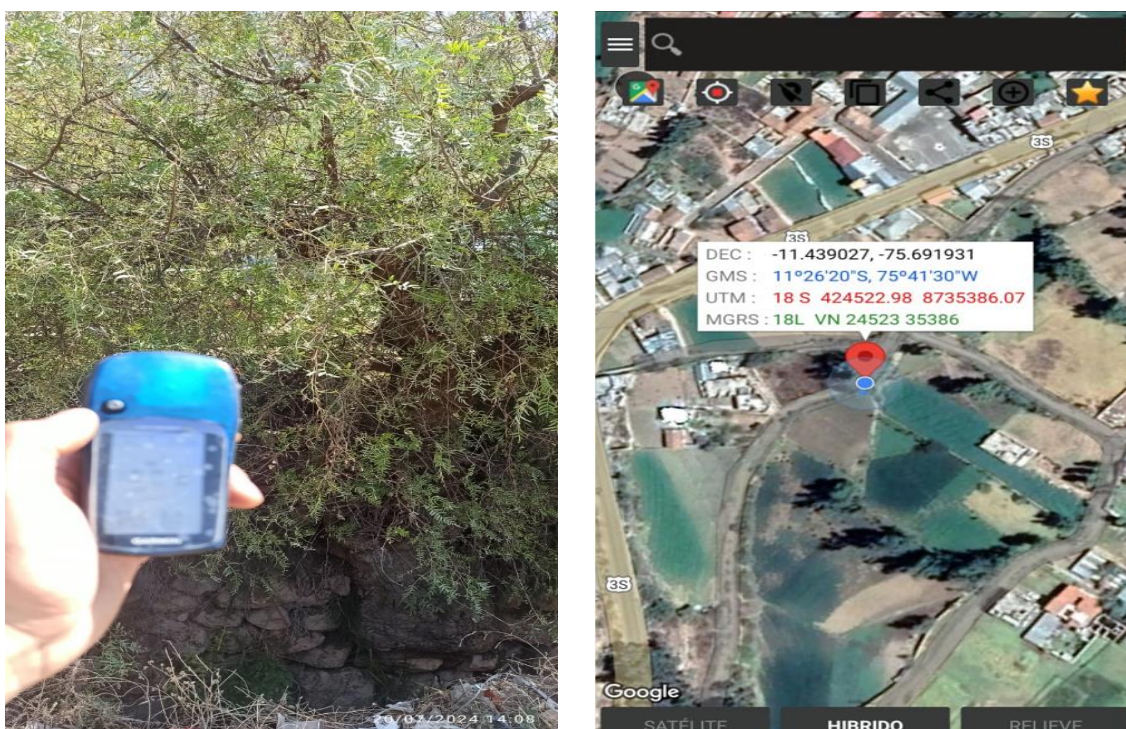
3.4. Población, muestra y muestreo

3.4.1. Población

Un total de 10 kg de hojas de *S. molle* fue colectada en el Centro Poblado de Huanuquillo perteneciente a la provincia de Tarma, con previa autorización del presidente de la junta vecinal (Sociedad Unión Progreso Huanuquillo). En cuanto al punto de colecta se tomaron coordenadas UTM, GMS, DEC y MGRS empleando un GPS.

Figura 8

Coordenadas de colecta de las hojas de S. molle



3.4.2. Muestra

La extracción supercrítica se realizó empleando 10 g de hojas secas de *S. molle*, esta cantidad de muestra fue establecida en función a la capacidad de la columna de extracción (100mL). Cabe señalar que 10 g de muestra permiten obtener una cantidad adecuada de extracto aromático para realizar los análisis de cromatografía de gases y capacidad antioxidante.

3.4.3. Muestreo

Se aplicó la técnica de muestreo no probabilístico por conveniencia, el cual permitió emplear muestras de *S. molle* de acuerdo a la facilidad de acceso.

3.5. Diseño experimental

Los experimentos del presente estudio se realizaron por duplicado empleando un diseño factorial 3^2 , constando de 2 factores y 3 niveles. Las variables a estudiar fueron la temperatura (35, 45, 55 °C) y presión (150, 250 y 350 bar). En total se desarrollaron 18 tratamientos incluidas las réplicas, que corresponden a todas las posibles combinaciones de los factores con sus niveles, como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3

Diseño factorial para el proceso de extracción supercrítica de extracto aromático de las hojas de S. molle

Corrida	Código de muestra	Densidad de CO ₂ (kg/m ³)	Variables independientes		Variables respuesta	
			X1 (bar)	X2 (°C)	RG (% m/m)	CA (mmol Tx/g DS)
1	HSM-45150-1	741,97	150	45	RG1	CA1
2	HSM-55250-1	810,65	250	55	RG2	CA2
3	HSM-35250-1	901,23	250	35	RG3	CA3
4	HSM-45150-2	741,97	150	45	RG4	CA4
5	HSM-45350-1	917,12	350	45	RG5	CA5
6	HSM-35150-1	815,06	150	35	RG6	CA6
7	HSM-35250-2	901,23	250	35	RG7	CA7
8	HSM-55350-1	881,17	350	55	RG8	CA8
9	HSM-55250-2	810,65	250	55	RG9	CA9
10	HSM-35350-1	952,29	350	35	RG10	CA10
11	HSM-45250-1	857,14	250	45	RG11	CA11
12	HSM-35150-2	815,06	150	35	RG12	CA12
13	HSM-35350-2	952,29	350	35	RG13	CA13
14	HSM-55350-2	881,17	350	55	RG14	CA14
15	HSM-45250-2	857,14	250	45	RG15	CA15
16	HSM-55150-1	653,50	150	55	RG16	CA16
17	HSM-45350-2	917,12	350	45	RG17	CA17
18	HSM-55150-2	653,50	150	55	RG18	CA18

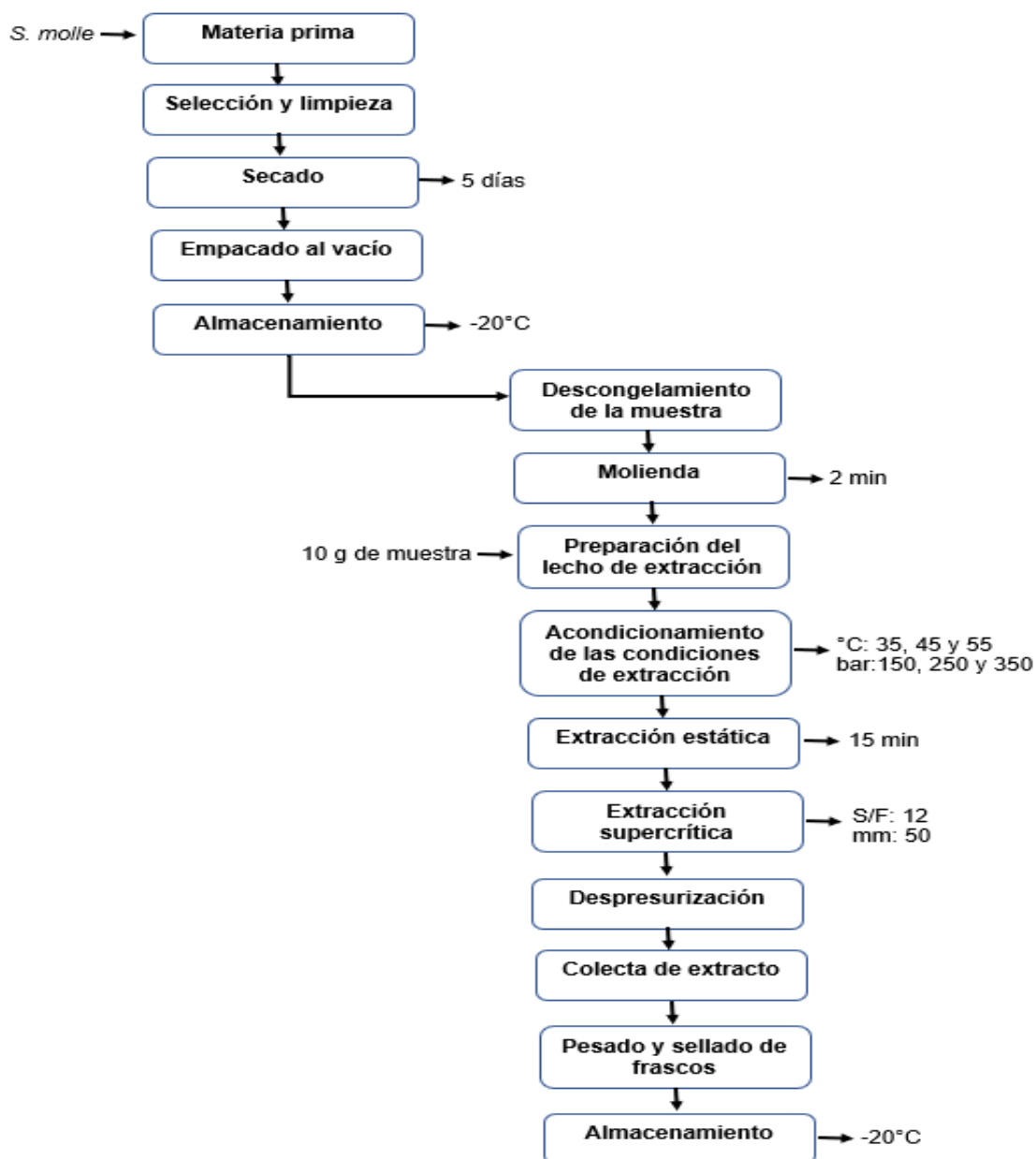
X1= Presión; X2= Temperatura; RG= Rendimiento global; CA= Capacidad antioxidante.

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle* empleando CO₂ supercrítico se realizó siguiendo una serie de operaciones unitarias, como se detalla en la Figura 9.

Figura 9

Diagrama de operaciones para la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle* por tecnología supercrítica



3.6.1. Acondicionamiento y secado de las hojas de *S. molle*

Las hojas de *S. molle* fueron colectadas en la provincia de Tarma, como se muestra en la Figura 10. El acondicionamiento de las hojas se realizó siguiendo las operaciones que se describen a continuación:

Figura 10

Colecta de materia prima (Hojas de S. molle)



a). Selección

Esta operación se realizó manualmente en donde se eliminó las hojas de *S. molle* con signos de daño mecánico y con indicios de decoloración.

b). Limpieza

Las hojas de *S. molle* por lo general contienen fragmentos de tallos, residuos de los frutos y partículas de tierra, estos se retiraron de forma manual utilizando un tamiz y una tijera de poda.

c). Secado

Las hojas de *S. molle* se secaron a la sombra a temperatura ambiente, con una temperatura promedio anual de 13 °C y una humedad relativa promedio anual de 72 %, durante un período de 5 días. Este proceso permitió reducir el contenido de humedad y dejar más quebradizas a las hojas de *S. molle*.

Figura 11

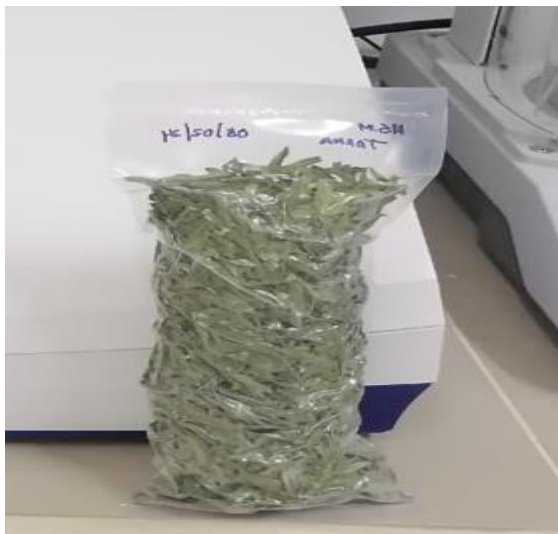
Secado de las hojas de S. molle

**d). Empacado al vacío**

Para el empacado al vacío de las hojas de *S. molle* se utilizaron bolsas de media densidad con capacidad de 250 g. Este procedimiento permitió conservar las muestras hasta la realización de los ensayos de extracción.

Figura 12

Empacado al vacío de las hojas de S. molle

**e). Almacenamiento**

Las hojas de *S. molle* empacadas al vacío fueron envueltas con papel aluminio para protegerlos de la luz. Luego se almacenaron en un congelador de laboratorio a -20°C hasta los ensayos de extracción.

3.6.2. Proceso de extracción supercrítica

A continuación, se describe las operaciones realizadas para la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle* por SFE:

a). Descongelamiento de la muestra

Las hojas de *S. molle* empacadas al vacío, fueron retiradas del congelador y se sometieron a descongelamiento a temperatura ambiente para evitar la degradación de compuestos bioactivos termosensibles.

b). Molienda

Las hojas secas de *S. molle* se sometieron a molienda en un molino de laboratorio por un tiempo de 2 minutos, esto con el objetivo de facilitar la extracción de los compuestos bioactivos. Cabe mencionar, que la reducción de tamaño incrementa el área de transferencia de masa.

Figura 13

Molienda de las hojas de S. molle

**c). Preparación del lecho de extracción**

Se pesó 10 g de hojas de *S. molle* molidas y se introdujeron en la columna de extracción. El lecho de extracción se estructuró de la siguiente forma: la muestra de hojas molidas fue colocada entre 2 capas de lana de vidrio, las cuales se situaban en la parte inferior y superior de la muestra. El espacio excedente en la columna fue rellenado con perlas de vidrio con la finalidad de ahorrar el consumo de CO₂.

Figura 14

Acondicionamiento del lecho de extracción



d). Acondicionamiento de las condiciones de extracción

Para iniciar con el proceso de obtención de extracto aromático, se reguló la temperatura y presión de extracción de acuerdo con el diseño experimental (Tabla 3). También se ajustó la temperatura del chiller a -4°C para garantizar que el CO_2 ingrese a la bomba en estado líquido.

Figura 15

*Acondicionamiento de los parámetros termodinámicos para la obtención de extracto aromático de *S. molle* por tecnología supercrítica*



e). Extracción estática

Se empleó un tiempo de 15 minutos para la extracción estática, periodo en donde la materia prima fue sometida a las condiciones de extracción (presión y temperatura) sin flujo del solvente (CO_2), este proceso tuvo por objetivo asegurar que el solvente se difundiera hacia el interior de las partículas.

f). Extracción dinámica

Se abrieron las válvulas de bloqueo y se permitió el flujo del solvente (CO_2) en las condiciones de extracción prefijadas (Tabla 2). El tiempo de extracción se midió en función a un S/F de 12 y se controló a través del medidor de gases. Para mantener un flujo constante del solvente se reguló la válvula micrométrica y el fluxómetro a un caudal de 50 mm (Anexo 4).

g). Despresurización

Una vez finalizada la extracción se cortó el flujo de CO₂ utilizando la válvula de bloqueo, luego se descomprimió la bomba del solvente y se cerró el cilindro de alimentación de CO₂. A seguir se retiró el frasco de colecta de la línea de extracción, para luego iniciar con la despresurización del sistema colocando un frasco limpio y abriendo la válvula de bloqueo y micrométrica.

h). Colecta de extracto

El frasco de colecta con el extracto aromático de *S. molle* fue retirado de la línea de extracción, seguido se quitó la tapa y se dejó en reposo para promover la separación del CO₂ impregnado en el extracto aromático.

Figura 16

Colecta del extracto aromático de S. molle

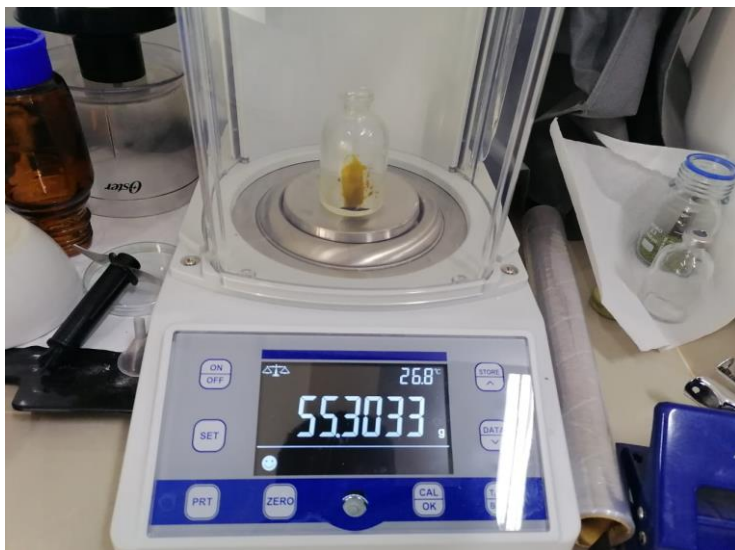


i). Registro del peso y sellado de frascos

Se procedió a pesar los frascos con el extracto aromático, el dato obtenido se restó con el peso del frasco vacío para calcular el peso neto del extracto aromático obtenido por CO₂ supercrítico. Seguido se rotularon y sellaron los frascos con tapas de goma y papel aluminio para evitar el contacto con el medio ambiente.

Figura 17

Pesado del extracto aromático de S. molle



j). Almacenamiento del extracto

Los extractos aromáticos obtenidos se almacenaron en un congelador de laboratorio a -20°C y protegidos de la luz hasta los análisis posteriores.

3.6.3. Análisis de colorimetría

El color del extracto aromático y los residuos sólidos (hojas de *S. molle* después de la extracción SFE) se midieron utilizando un colorímetro portátil (Konica Minolta). Los valores de color se expresaron como L* (luminosidad), a* (coordenadas rojo/verde), b* (coordenadas amarillo/azul), C* (croma o saturación) y °h (ángulo de tono) (Durmus, 2020).

Los valores C* y °h se calcularon de la siguiente manera:

$$\text{Croma (C}^*) = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

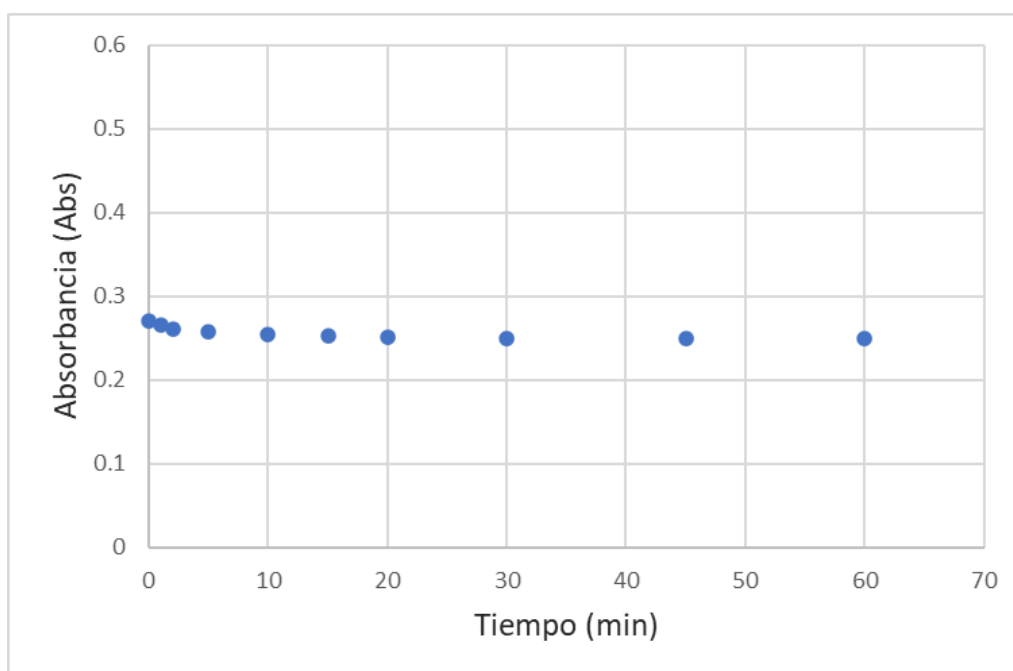
$$\text{Ángulo de tono (}^\circ\text{h)} = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

3.6.4. Análisis de capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de todos los extractos aromáticos de *S. molle* se evaluó siguiendo el procedimiento de Brand-Williams et al. (1995). Para la preparación de la solución metanólica de DPPH se pesó 0,0025 g de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo y se diluyó en 250 mL de metanol absoluto. En cuanto a la preparación de las muestras, se diluyó 0,1 g de extracto aromático en 5 mL de metanol absoluto, seguido se agitó por 3 minutos y se insertó en un tubo de ensayo con previa filtración (filtro pirinola) del extracto diluido. Para la determinación del tiempo de medición de la absorbancia se realizó una curva de ajuste el cual consistió en medir la absorbancia de un control (3,9 mL de solución metanólica de DPPH + 0,1 mL de metanol) y la absorbancia del extracto preparado (0,1 mL de extracto + 3,9 mL de solución metanólica de DPPH), ambas mediciones se realizaron a 517 nm. En la Figura 18 se visualiza que al minuto 20 la medición de la absorbancia se estabiliza, por lo que se estableció ese tiempo como periodo de incubación.

Figura 18

Curva de ajuste para la determinación del tiempo de medición de la absorbancia de los extractos aromáticos de *S. molle*



Una vez definido el tiempo de medición de la absorbancia de los extractos aromáticos de *S. molle*, se procedió con la lectura por triplicado de los 9 extractos obtenidos por diferentes condiciones de extracción supercrítica. La actividad antioxidante se estima de acuerdo con la siguiente ecuación.

$$\% \text{ Inhibición} = \left(\frac{\text{Abs control} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs control}} \right) * 100$$

Donde:

Abs control: Es la absorbancia del control negativo,

Abs muestra: Es la absorbancia del compuesto probado.

3.6.5. Análisis de cromatografía de gases

La identificación fitoquímica del extracto aromático obtenido de las hojas de *S. molle* por tecnología supercrítica se determinó por cromatografía de gases (SHIMADZU, GC-2010 Plus) en el Laboratorio de Investigación y Certificaciones (LABICER) de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), la metodología fue ajustada a partir del método desarrollado por Bendif et al. (2018).

Los compuestos se separaron utilizando una columna capilar (RTX-5MS, 30m x 0,25 mm ID x 0,25 μ m) y el siguiente programa de temperatura del horno: 5 min a 60 °C, aumentado a 220 °C a 4 °C/min, luego hasta 280 °C a 11 °C/min, mantenido durante 15 min. La temperatura del inyector y del detector fue de 280 °C y 290 °C, respectivamente. El gas portador fue helio con un caudal de 1 mL/min. La relación de Split fue de 1:50. Los espectros de masas se adquirieron en el rango: 29–500 m/z utilizando el modo de impacto electrónico (EI) con un voltaje de ionización de 70 eV. El extracto HSM-45150-2 (0,1343 g) se diluyó 1:100 en *n*-hexano y se inyectó 2 μ L de solución en el cromatógrafo de gases. Los picos cromatográficos obtenidos se analizaron en la librería de espectros NIST 2014.

Figura 19*Cromatógrafo de gases (SHIMADZU, GC-2010 PLUS)***Tabla 4***Condiciones de análisis CG-MS*

Equipos utilizados	
Cromatógrafo de gases	SHIMADZU, GC-2010 Plus
Auto muestreador	SHIMADZU, AOC-6000
Detector de espectrometría de masas	SHIMADZU, GCMS-QP210 Ultra
Inyección líquida (AOC-6000)	
Jeringa	LS1-10 μL
Ciclo de pre-enjuague	3
Ciclos de enjuague con muestra	1
Razón de flujo de aspiración	1 $\mu\text{L/s}$
Inyector	SPL1
Razón de flujo de inyección	100 $\mu\text{L/min}$
Ciclos post-enjuague	3
Volumen de inyección	2.0 μL

Puerto de inyección		
Tipo	Split	
Razón de Split	50	
Temperatura	280 °C	
Tipo	Helio	
Modo de control de flujo	Velocidad lineal (36.5 cm/sec)	
Flujo de columna	1 mL/min	
Flujo de purga	3 mL/min	
Rampa de temperatura de columna		
Razón	Temperatura	Hold time
-	60 °C	5 min
4 °C/min	220 °C	0 min
11 °C/min	280 °C	15 min
Tiempo total: 65.45 min		
Detector		
Tipo	Masas	
Temperatura de fuente de iones	250°C	
Temperatura de interface	290°C	
Tiempo de corte	2 min	
Tiempo de inicio MS	3 min	
Energía de ionización	70eV	
Modo de adquisición	Scan	
Rango SCAN	29-500 m/z	
Columna cromatográfica		
Tipo	Rtx®-5 MS	
Dimensiones	30 m x 0.25 mm x 0.25 µm	

3.7. Métodos de análisis de datos

El análisis estadístico se desarrolló en el software Minitab Statistical 19. Para determinar si existe efecto de los factores termodinámicos sobre el rendimiento global de los extractos aromáticos de *S. molle*, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y para comprobar diferencias significativas entre las medias de los niveles de cada factor se usó la prueba estadística Bonferroni a un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

IV. RESULTADOS

4.1. Identificación botánica de la especie *S. molle*

La especie *S. molle* fue identificada y depositada en el Laboratorio de Dendrología y Herbario (MOL) de la Facultad de Ciencias Forestales, emitiendo la respectiva constancia de depósito (Anexo 4) y constancia de determinación botánica (Anexo 5).

4.2. Análisis de granulometría de las hojas de *S. molle* molidas

El análisis de granulometría se llevó a cabo utilizando un tamiz vibratorio, con un tiempo de operación de 15 min, una amplitud de 2.70 mm y una cantidad de muestra de 30.02 g. Este análisis de índice de finura permitió determinar el tamaño de partícula y la distribución de las hojas de *S. molle* molidas. Es importante destacar que este análisis tiene relevancia en el proceso de extracción supercrítica, debido a que influye en las propiedades físicas y químicas de la muestra, como su fluidez, solubilidad, reactividad y comportamiento en procesos de laboratorio.

Tabla 5

Determinación del tamaño de partícula de las hojas de S. molle molidas

Número de malla (μm)	Peso de tamiz (g)	Peso de tamiz + muestra (g)	Peso de muestra (g)	% de las fracciones	% acumulado de las fracciones
> 3350	351,70	351,70	0,00	0,00	0,00
3350 - 1400	323,39	326,17	2,78	9,26	9,26
1400 - 850	311,15	324,55	13,40	44,64	53,90
850 - 500	283,89	293,80	9,91	33,01	86,91
500 - 250	256,42	259,30	2,88	9,59	96,50
Base	364,72	365,77	1,05	3,50	100,00
Total			30,02	100,00	

En la tabla 5 se observa que la mayor cantidad de hojas de *S. molle* molidas se quedan retenidas entre las mallas 1400 y 850 μm , alcanzando un 44,64%. Por otro lado, la menor retención de las fracciones se da entre la base y la malla 250 μm , alcanzando un 3,50 %. De acuerdo con la investigación desarrollada por Melo et al. (2020), donde se realizó la extracción de bioactivos con CO_2 supercrítico de hojas de *V. vinífera* empleando 2 tamaños de partícula (<1000 μm y <10000 μm), se concluyó que cuanto más pequeñas sean las partículas de biomasa, mayor será el coeficiente de transferencia de masa convectiva. Por lo tanto, para condiciones similares de extracción supercrítica y tamaños de partícula distintos, los resultados finales de SFE fueron 40,3 % más altos para la corrida B4G (400 bar, 80 °C y <1000 μm) en comparación con B3 (400 bar, 80 °C y <10000 μm).

4.3. Análisis de color de las hojas de *S. molle* y el extracto aromático

Las muestras de *S. molle* empleadas en el proceso de extracción supercrítica se sometieron a un análisis de colorimetría en base al sistema CIELAB (L^* , a^* , b^*) y (C^* , h°). En la Tabla 6 se aprecia como los parámetros de color de las hojas de *S. molle* sufren cambios luego de finalizar la obtención de extracto aromático, siendo la variable más influyente la temperatura. Las muestras que fueron sometidas a una temperatura de 35°C se tornan de color verde a verde oscuro, mientras que una condición de 55 °C cambia la tonalidad de las hojas de *S. molle* a un color verde amarillento. La razón del cambio de color de las muestras es debido al aumento de temperatura en la extracción supercrítica, el cual provoca la degradación de la clorofila haciendo que las hojas cambien de color, adquiriendo tonos amarillos o marrones, siendo indicio de estrés térmico (Paramadhas et al., 2024).

Tabla 6

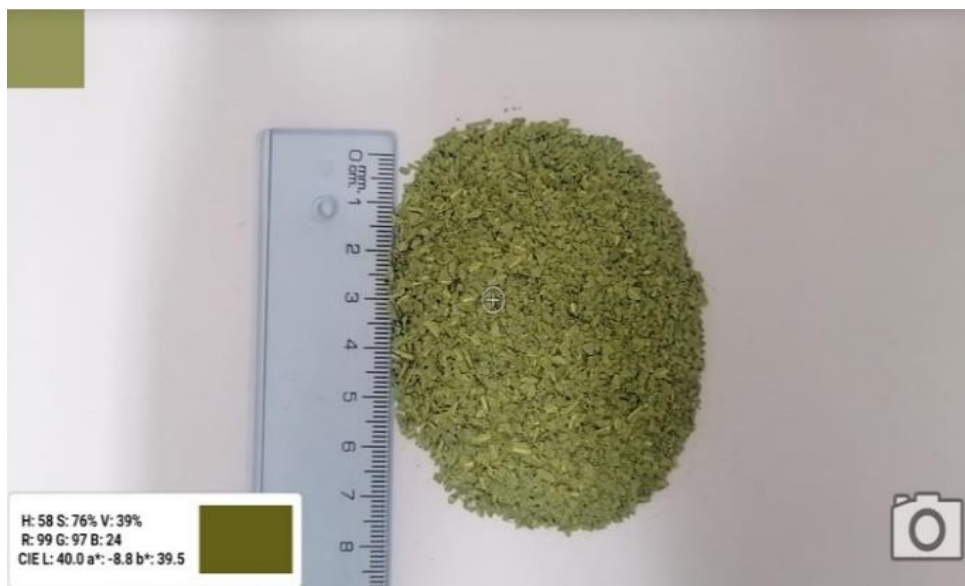
Análisis de colorimetría de las hojas de S. molle después del proceso SFE

Muestra	Coordenadas de color				
	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
HSM- 35150	79,35 ± 0,23	-5,50 ± 0,09	33,95 ± 0,15	34,39 ± 0,07	99,20 ± 0,17
HSM- 45150	78,40 ± 0,16	-3,85 ± 0,18	34,33 ± 0,23	34,54 ± 0,15	96,40 ± 0,20
HSM- 55150	71,35 ± 0,28	-0,60 ± 0,26	34,24 ± 0,36	34,24 ± 0,24	91,00 ± 0,38
HSM- 35250	88,40 ± 0,13	-7,77 ± 0,35	35,20 ± 0,17	36,04 ± 0,33	102,45 ± 0,18
HSM- 45250	84,60 ± 0,46	-4,44 ± 0,24	37,84 ± 0,42	38,10 ± 0,25	96,69 ± 0,39
HSM- 55250	84,95 ± 0,39	-2,75 ± 0,34	40,40 ± 0,35	40,49 ± 0,30	93,89 ± 0,33
HSM- 35350	87,40 ± 0,25	-7,29 ± 0,09	35,86 ± 0,24	36,59 ± 0,07	101,49 ± 0,25
HSM- 45350	81,45 ± 0,17	-5,27 ± 0,16	37,02 ± 0,12	37,39 ± 0,18	98,10 ± 0,13
HSM- 55350	83,15 ± 0,08	-3,10 ± 0,37	38,92 ± 0,32	39,04 ± 0,40	94,55 ± 0,35

Los valores se expresan como media ± DE (n=3)

Figura 20

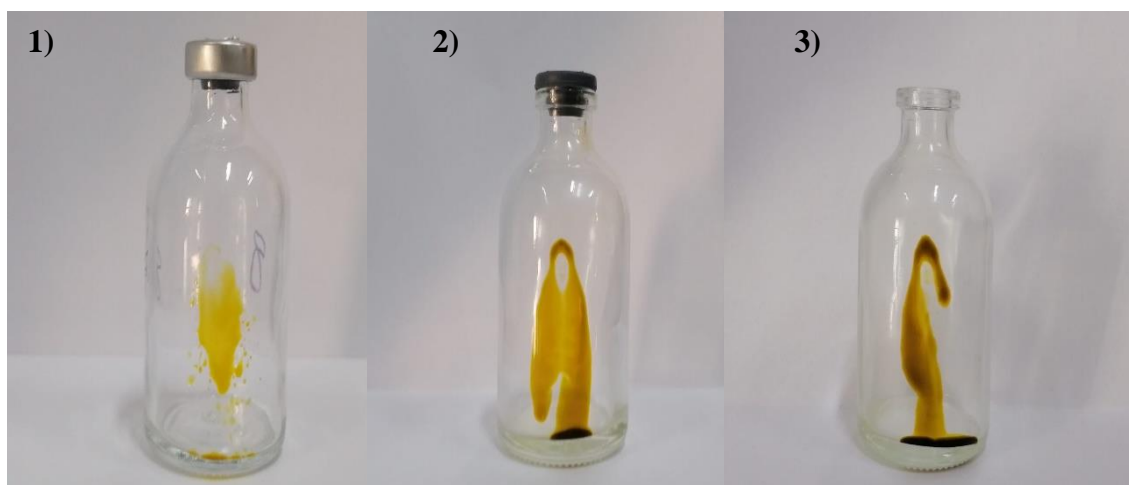
Análisis de color de las hojas de S. molle después del proceso SFE



En la Figura 21 se observa como la temperatura y presión influyen en el color de los extractos aromáticos. Las tonalidades van de amarillo claro a marrón amarillento a medida que se incrementa la presión y temperatura, esta característica podría deberse a una menor concentración de ciertos compuestos fitoquímicos. Algunas investigaciones también reportaron estos colores en los extractos obtenidos a partir de hojas y tallo, por ejemplo, los extractos de *Mentha piperita* (Abbas et al., 2024), *Eucalyptus camaldulensis* (Abbas, Anwar, Alqahtani, et al., 2022) y *Coriandrum sativum* (Abbas, Anwar, Ahmad, et al., 2022) obtenidos a condiciones de extracción supercrítica similares (45 °C y 100 bar) presentaron una coloración marrón amarillento, amarillo brillante y amarillo claro, respectivamente.

Figura 21

Extractos aromáticos de S. molle obtenidos a 1) 35°C, 150 bar 2) 45°C, 250 bar y 3) 55°C, 350 bar

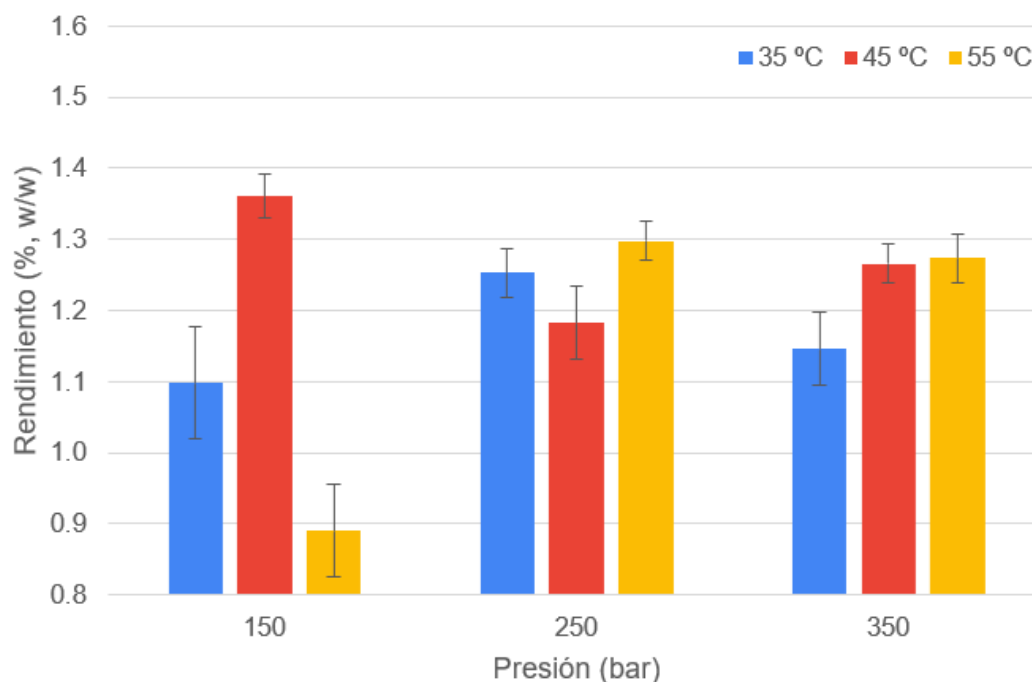


4.4. Efecto de la presión y temperatura sobre el rendimiento de los extractos aromáticos de *S. molle* obtenidos por SFE

Las variables termodinámicas de presión y temperatura influyeron en el rendimiento global de los extractos aromáticos de *S. molle*, siendo $1,36 \pm 0,03$ % el mayor rendimiento y $0,88 \pm 0,08$ % el menor rendimiento, estos extractos se obtuvieron a una condición supercrítica de $45\text{ }^{\circ}\text{C}, 150\text{ bar}$ y $55\text{ }^{\circ}\text{C}, 150\text{ bar}$, respectivamente. Estos resultados difieren con los datos obtenidos por Marongiu et al. (2004), donde el mayor rendimiento alcanzado fue $0,7$ %. Cabe indicar que la investigación mencionada solo extrajo la fracción volátil de las hojas de *S. molle*, razón por la cual las ceras fraccionadas no formaron parte del rendimiento global. También se ha reportado investigaciones donde se extrajo compuestos volátiles y no volátiles de las hojas y tallo de *S. molle*, por ejemplo, la investigación ejecutada por Barroso et al. (2011) reportó un rendimiento global de $4,65$ % alcanzado a una condición supercrítica de 150 bar y $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que el estudio de Scopel et al. (2013) reportaron rendimientos de $2,70$ % (CO_2); $1,89$ % ($\text{CO}_2 + \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) y $0,41$ % ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$) los cuales se obtuvieron aplicando cosolventes y una condición supercrítica de 150 bar y $60\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Figura 22

Rendimiento de los extractos aromáticos de S. molle obtenidos por SFE



En la Tabla 7 se presenta el análisis de varianza (ANOVA) aplicado a los datos experimentales. Los resultados del ANOVA, realizado con un nivel de significancia de 0,05; indican que las variables termodinámicas de presión (P-valor = 0,002) y temperatura (P-valor = 0,005) tienen un efecto significativo en el rendimiento de extracción de extracto aromático de *S. molle*. Además, la interacción entre estas dos variables también influye significativamente en el proceso de extracción con CO₂ supercrítico.

Cabe mencionar que el incremento y la disminución de estas 2 variables termodinámicas influyen en la solubilidad del extracto y la densidad del CO₂. Un incremento en la presión mejora la densidad del CO₂ y aumenta la solubilidad del extracto. Por otro lado, aumentar la temperatura a alta presión mejora la volatilidad del soluto y su solubilidad; permitiendo una mayor eficiencia de extracción, mientras que el incremento de la temperatura a baja presión tiende a disminuir la solubilidad y la densidad del CO₂ (Chañi-Paucar et al., 2023; Martínez-Ávila et al., 2022).

Tabla 7*Análisis de varianza del rendimiento de extracto aromático obtenido por SFE*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	8	0,32994	0,041243	16,35	0,000
Lineal	4	0,11476	0,028689	11,37	0,001
Temperatura (°C)	2	0,05041	0,025206	9,99	0,005
Presión (bar)	2	0,06434	0,032172	12,76	0,002
Interacciones de 2 términos	4	0,21519	0,053797	21,33	0,000
Temperatura (°C) * Presión (bar)	4	0,21519	0,053797	21,33	0,000
Error	9	0,02270	0,002522		
Total	17	0,35264			

La prueba de Bonferroni mostró que los rendimientos medios de los extractos aromáticos de *S. molle* fueron significativamente diferentes cuando se trabajó a una presión (150 bar) y temperaturas (45 °C, 55 °C), mientras que los rendimientos promedio obtenidos a 250 y 350 bar no fueron significativamente diferentes, considerando un nivel de significancia de 0,05.

Tabla 8*Comparación de medias por la prueba de Bonferroni*

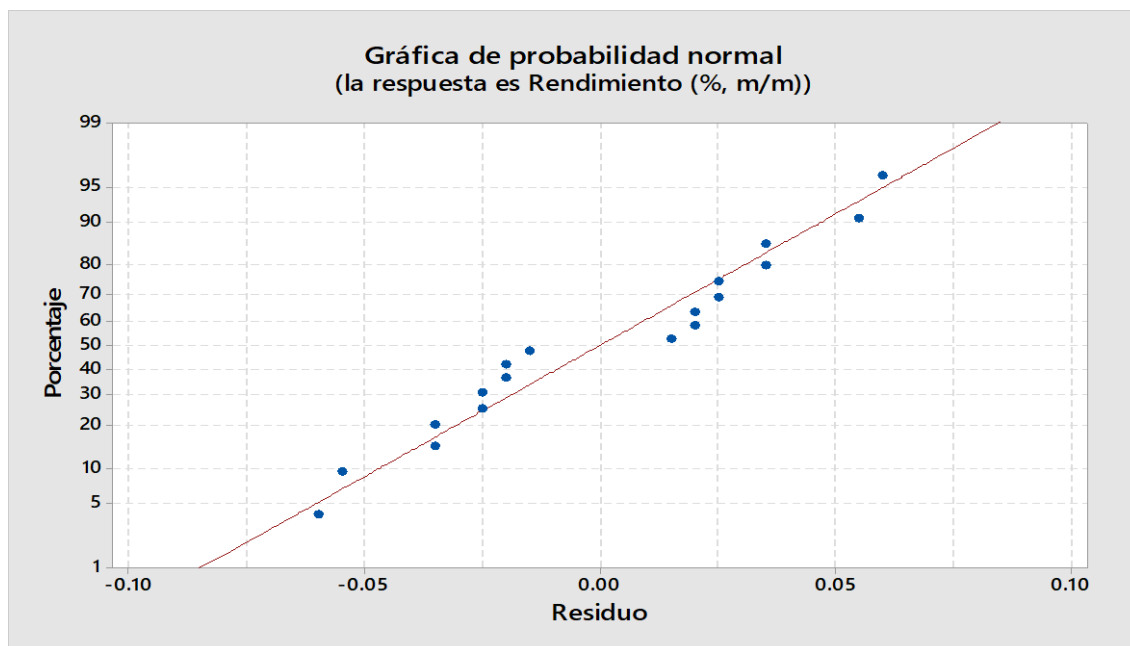
Temperatura (°C) *	Presión (bar)	N	Media	Agrupación
45	150	2	1,360	A
55	250	2	1,300	A B
55	350	2	1,275	A B
45	350	2	1,265	A B
35	250	2	1,255	A B
45	250	2	1,185	A B
35	350	2	1,145	A B
35	150	2	1,095	B C
55	150	2	0,880	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

En la Figura 23 se visualiza que los residuos estandarizados siguen una distribución normal, puesto que los puntos de los datos obtenidos están muy próximos a la línea central.

Figura 23

Distribución normal de residuos para rendimiento global de los extractos aromáticos de S. molle obtenidos por SFE



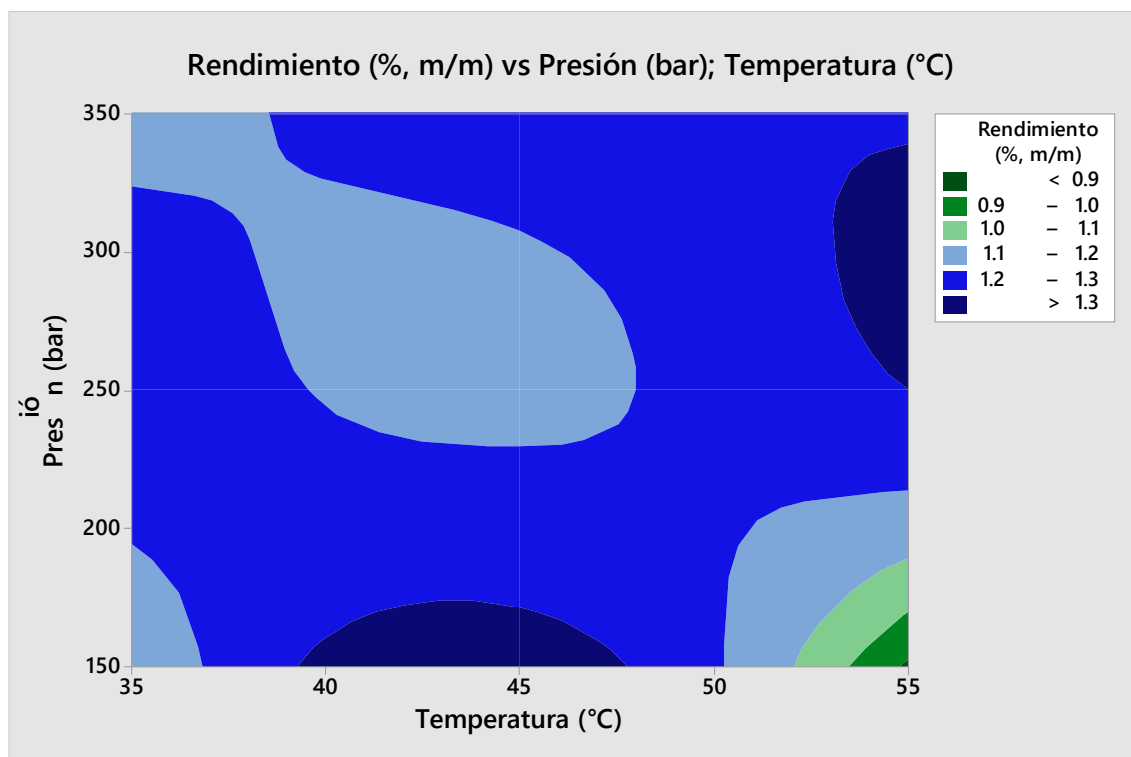
La ecuación de regresión del diseño factorial se presenta a continuación:

$$\begin{aligned}
 R (\%, m/m) = & 1.1956 - 0.0306 T(35^\circ C) + 0.0744 T(45^\circ C) - 0.0439 T(55^\circ C) \\
 & - 0.0839 P(150 \text{ bar}) + 0.0511 P(250 \text{ bar}) + 0.0328 P(350 \text{ bar}) \\
 & + 0.0139 T(35^\circ C) * P(150 \text{ bar}) + 0.0389 T(35^\circ C) * P(250 \text{ bar}) \\
 & - 0.0528 T(35^\circ C) * P(350 \text{ bar}) + 0.1739 T(45^\circ C) * P(150 \text{ bar}) \\
 & - 0.1361 T(45^\circ C) * P(250 \text{ bar}) - 0.0378 T(45^\circ C) * P(350 \text{ bar}) \\
 & - 0.1878 T(55^\circ C) * P(150 \text{ bar}) + 0.0972 T(55^\circ C) * P(250 \text{ bar}) \\
 & + 0.0906 T(55^\circ C) * P(350 \text{ bar})
 \end{aligned}$$

Los rendimientos globales del extracto de *S. molle* se vieron afectados por la interacción entre la presión y la temperatura. En la figura 24 se visualiza que el efecto de la temperatura sobre el rendimiento de extracción es más complejo que el de la presión. A 350 bar se produce un aumento de la densidad del CO₂ debido a la reducción de la temperatura de 55 °C a 35 °C, lo que resulta en un incremento del rendimiento global, mientras que para presiones superiores a 265 bar (punto donde las isoterms se interceptan entre sí) el aumento de la temperatura de 35 °C a 55 °C logró un mayor rendimiento global. Este comportamiento se conoce como presión de cruce y se define como el punto donde la presión de vapor de los compuestos del extracto es más pronunciada que el efecto de la densidad del disolvente sobre la solubilidad de los compuestos (De Vieira Melo et al., 2009). Este fenómeno también se ha reportado en investigaciones donde se extrajo aceite de *Geoffroea decorticans* (Salinas et al., 2020) y *Prunus persica* (Mezzomo et al., 2010).

Figura 24

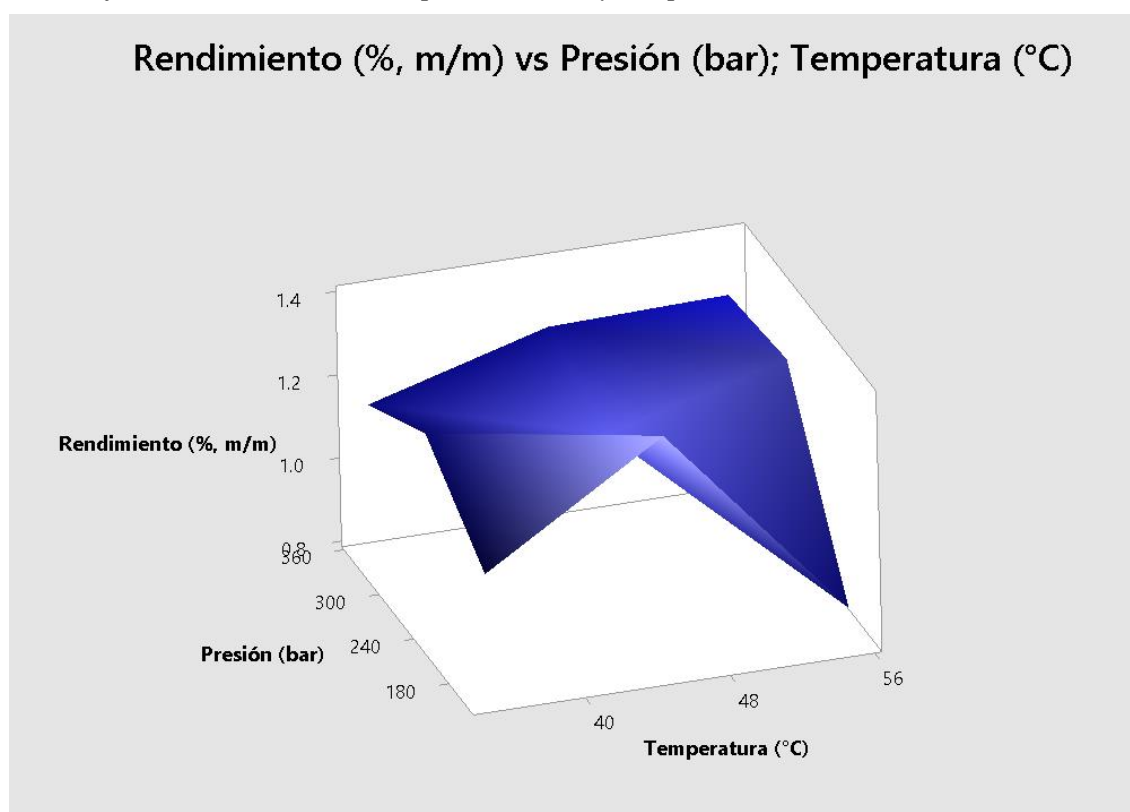
Rendimiento de los extractos aromáticos de S. molle obtenidos por SFE en función a la interacción presión (bar) y temperatura (°C)



El efecto de la temperatura en el rendimiento es bastante complejo, ya que afecta tanto al disolvente como al material vegetal. En la figura 25 se visualiza que una alta temperatura genera una baja tasa de recuperación de compuestos bioactivos, debido a que afecta la solubilidad y la volatilidad del soluto. La condición supercrítica de 150 bar y 45 °C resultó en el mayor rendimiento de extracto aromático de *S. molle* ($1,36 \pm 0,03$ %), sin embargo, un aumento posterior de la temperatura a 55 °C provocó una disminución significativa de la recuperación del extracto total ($0,88 \pm 0,08$ %) debido a la disminución de la densidad del disolvente de 741,97 a 653,50 kg/m³ (Fornari et al., 2012). Se ha reportado investigaciones donde se trabajó con hojas y flores de *Lavandula officinalis* (Nadalin et al., 2014) y semillas de *Coriandrum sativum* (Zeković et al., 2017), evidenciando que la interacción de la presión y temperatura tienen un efecto significativo en el rendimiento, la solubilidad de la muestra y la densidad del CO₂.

Figura 25

Superficie 3D del rendimiento de los extractos aromáticos de *S. molle* obtenidos por SFE en función a la interacción presión (bar) y temperatura (°C)

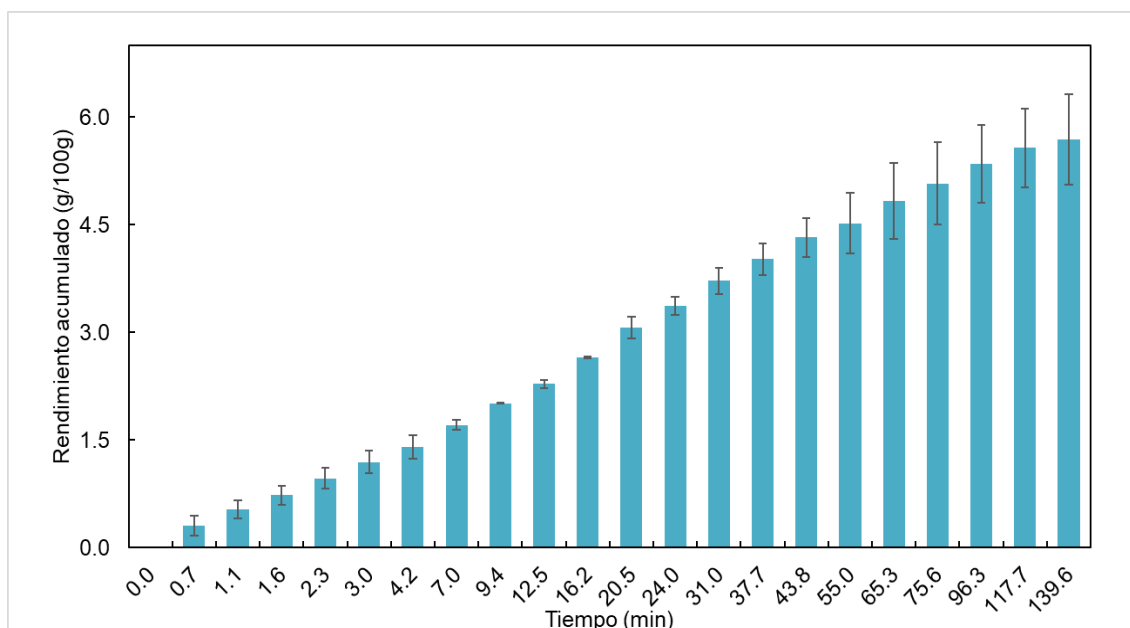


4.5. Cinética de extracción

La condición seleccionada para el estudio cinético fue 45 °C y 150 bar, debido a que estos parámetros alcanzaron el mayor rendimiento global ($1,36 \pm 0,03$ %) en las corridas experimentales realizadas. En la figura 26 se presenta la curva global de extracción del extracto aromático de *S. molle*, el cual logró alcanzar un rendimiento global de $5,69 \pm 0,63$ % en un tiempo transcurrido de 139,60 min. Estos resultados son diferentes a otros estudios que también investigaron la extracción con CO₂ supercrítico del *S. molle*. En la investigación ejecutada por Marongiu et al. (2004), donde se recuperó solo la fracción volátil de las hojas de *S. molle*, se alcanzó un rendimiento de 0,7 % en un tiempo de extracción de 180 min, mientras que el estudio de Scopel et al. (2013) donde se obtuvo el extracto de las hojas y tallo de *S. molle*, reportaron un rendimiento de 2,70 % alcanzado en 170 min.

Figura 26

Cinética de extracción del extracto aromático de S. molle obtenido por SFE



En la figura 27 se aprecia como los frascos con extracto aromático de *S. molle* van disminuyendo conforme pasa el tiempo de extracción. Cabe señalar que la curva global de extracción del presente trabajo tiene el comportamiento típico de la cinética de SFE, donde se puede observar que el proceso de extracción inicia con un período de tasa de extracción constante (CER), caracterizado por la remoción de compuestos fácilmente extraíbles por el solvente, controlado principalmente por transferencia de masa convectiva en la película de fluido alrededor de las partículas molidas. Después del período CER, la tasa de extracción se reduce porque comienza un período de transición, donde la tasa de extracción es controlada tanto por mecanismos de transferencia de masa convectivos como difusionales. Esta etapa es comúnmente llamado período de tasa de extracción descendente (FER). Cuando el soluto de fácil acceso se vuelve escaso en la matriz vegetal, la difusión intrapartícula se convierte en el principal mecanismo de transferencia de masa en SFE y la curva global de extracción asume la forma típica de curva de difusión, con tasa de extracción reducida (da Silva et al., 2016; Salinas et al., 2020).

Figura 27

Frascos colectados en la cinética de extracción

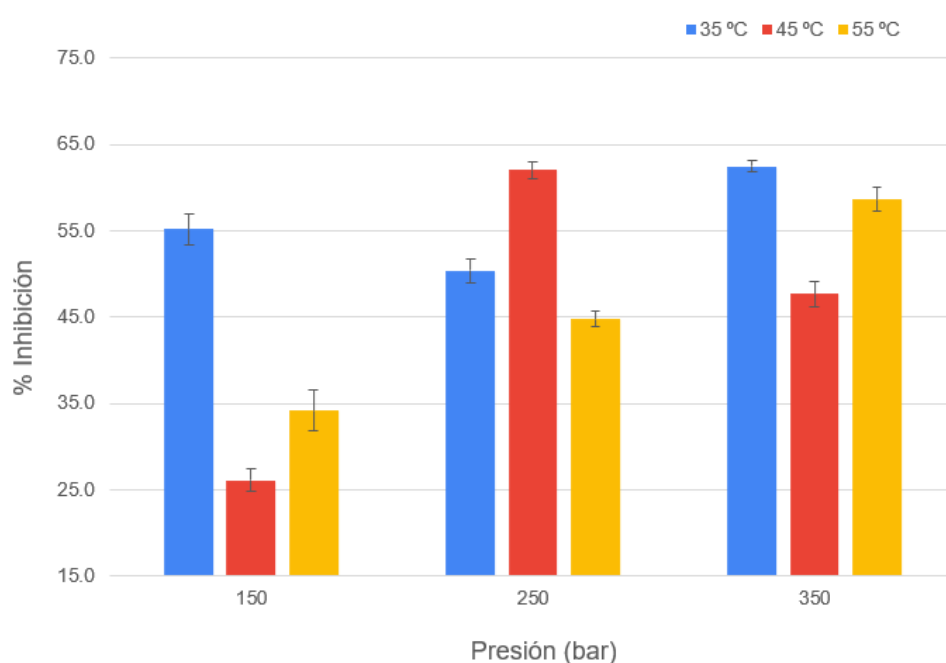


4.6. Capacidad antioxidante

En la Figura 28 se visualiza la capacidad de eliminación de radicales libres (DPPH) de los extractos aromáticos de *S. molle*, siendo la condición supercrítica de 350 bar y 35 °C el que permitió obtener el extracto con el mayor porcentaje de inhibición ($62,50 \pm 0,62$ %), mientras que el extracto obtenido a 150 bar y 45 °C fue la muestra con el menor porcentaje de inhibición ($26,13 \pm 1,37$ %). Este comportamiento en la actividad antioxidante es influenciado por la naturaleza química de los componentes extraíbles.

Figura 28

Actividad antioxidante de los extractos aromáticos de S. molle obtenidos por SFE



4.7. Composición del extracto aromático obtenido de las hojas de *S. molle* por SFE

La composición de metabolitos bioactivos del extracto aromático de *S. molle* extraído a 45 °C y 150 bar se visualiza en la Tabla 9. Los principales compuestos identificados fueron el shyobunol (33,42 %), bicyclogermacrene (12,61 %), elemol (10,36 %), lupenone (6,55 %), germacrene D-4-ol (6,28 %) y γ -gurjunene (5,70 %). Estos resultados varían en cuanto a las concentraciones máxicas de los compuestos bioactivos reportados por otras investigaciones donde se extrajo la fracción volátil y no volátil de las hojas de *S. molle* empleando diversas metodologías como la hidrodestilación (da Silva et al., 2023), el arrastre de vapor (Volpini-Klein et al., 2021) y fluidos supercríticos (Scopel et al., 2013). Por ejemplo, en la investigación desarrollada por Shehata et al. (2024) se reportó que el escualeno (16,87%) era el compuesto principal del extracto obtenido de las

hojas *S. molle*, mientras que Herrera-Calderon et al. (2022) informo que el α -phellandrene (32,68 %) fue el compuesto más abundante en el aceite esencial extraído de las hojas de *S. molle*. De acuerdo a los resultados del presente trabajo y los reportados en la literatura consultada se puede mencionar que la composición fitoquímica de los extractos obtenidos de las hojas de *S. molle* varia en gran medida dependiendo el método de extracción y las condiciones de operación.

Tabla 9

Metabolitos bioactivos identificados en el extracto aromático de S. molle extraído a 150 bar y 45 °C

# Pico	TR (min)	CAS	Nombre químico	NQC	Área (%)	IS
1	7,073	99-83-2	α -phellandrene	HM	0,19	92
2	7,983	499-97-8	pseudolimonene	HM	0,17	91
3	19,226	3242-08-8	γ -elemene	HS	1,16	94
4	21,050	515-13-9	β -elemene	HS	1,14	97
5	21,591	489-40-7	α -gurjunene	HS	0,51	95
6	21,887	87-44-5	caryophyllene	HS	1,82	96
7	22,959	6753-98-6	humulene	HS	0,63	97
8	23,194	68832-35-9	9-epi- β -Caryophyllene	HS	0,34	95
9	23,828	23986-74-5	germacrene D	HS	0,26	92
10	24,323	24703-35-3	bicyclogermacrene	HS	12,61	93
11	24,457	10208-80-7	α -muurolene	HS	0,20	94
12	24,893	23445-02-5	cubebol	HS	0,59	93
13	25,012	69350-61-4	6-epi-shyobunol	SO	4,52	90
14	25,183	69350-61-4	6-epi-shyobunol	SO	4,33	92
15	25,368	69350-61-4	6-epi-shyobunol	SO	0,19	89
16	25,914	639-99-6	elemol	SO	10,36	97
17	26,416	5986-49-2	palustrol	SO	0,30	95
18	26,661	198991-79-6	germacrene D-4-ol	SO	6,28	95
19	27,124	552-02-3	viridiflorol	SO	0,80	94
20	27,242	552-02-3	viridiflorol	SO	0,71	86
21	27,453	577-27-5	ledol	SO	0,48	93
22	28,193	88728-58-9	epiglobulol	SO	0,32	85
23	29,274	639-99-6	elemol	SO	0,74	92

24	29,916	35727-45-8	shyobunol	SO	33,42	96
25	32,231	22567-17-5	γ -gurjunene	HS	5,70	87
26	33,018	577-27-5	ledol	SO	1,01	82
27	47,178	7459-33-8	linoleoyl chloride	AG	0,25	90
28	47,281	463-40-1	α -linolenic acid	AG	0,09	85
29	47,516	629-94-7	heneicosane	A	0,08	93
30	50,602	111-02-4	squalene	T	0,36	94
31	56,688	638-97-1	β -amyrone	HS	3,26	93
32	57,110	559-70-6	β -amyrin	T	0,62	91
33	57,564	1617-70-5	lupenone	T	6,55	94

TR: Tiempo de retención

CAS: Número de registro CAS

IS: Índice de similitud

NQS: Naturaleza química de los compuestos

HM: Hidrocarburos monoterpénicos (0,36 %)

HS: Hidrocarburos sesquiterpénicos (28,22 %)

SO: Sesquiterpenos oxigenados (63,46 %)

AG: Ácidos grasos (0,34 %)

A: Alcanos (0,08 %)

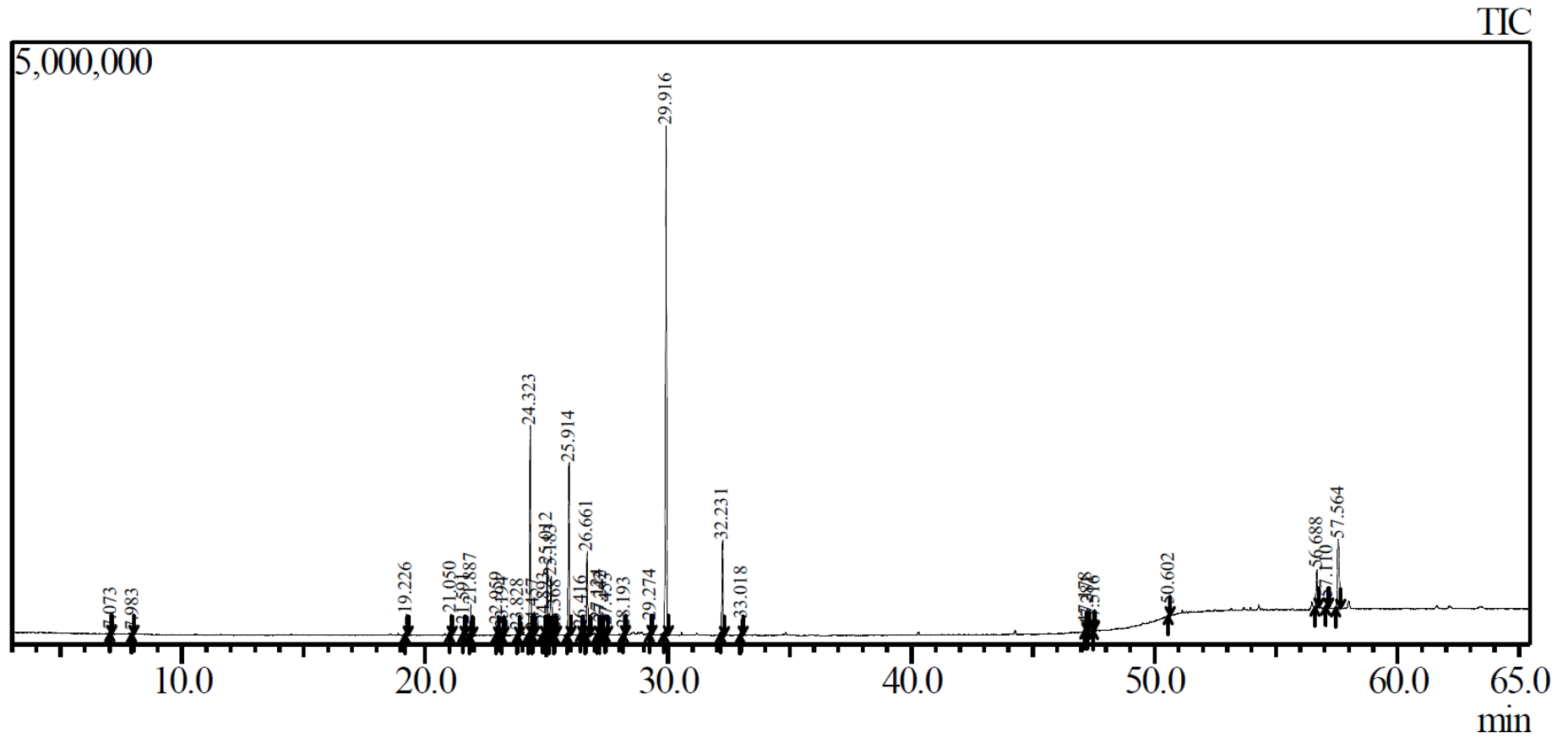
T: Triterpenoides (7,53 %)

Nota: Elaborado con datos de análisis CG-MS realizado por LABICER – UNI

El perfil cromatográfico de los compuestos bioactivos presentes en el extracto aromático de *S. molle* se visualiza en la Figura 29. Los sesquiterpenos oxigenados (63,46 %), los hidrocarburos sesquiterpénicos (28,22 %) y los triterpenoides (7,53 %) fueron los compuestos de mayor abundancia. Cabe señalar que estos fitoquímicos son muy requeridos por la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica para el desarrollo de nuevos productos.

Figura 29

Perfil cromatográfico de los compuestos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de S. molle por SFE



V. DISCUSIÓN

La aplicación de CO₂ supercrítico (45 °C y 150 bar) en la obtención de extracto aromático de las hojas de *S. molle* permitió alcanzar un rendimiento global de $1,36 \pm 0,03$ %. Este rendimiento supera a los obtenidos en la extracción supercrítica de diversos tipos de hojas, dentro de las cuales se resaltan las materias primas de *Rosmarinus eriocalyx* (Bendif et al., 2018), *Syzygium aromaticum* (Frohlich et al., 2023), *Mentha piperita* (Abbas et al., 2024), *Eucalyptus camaldulensis* (Abbas, Anwar, Alqahtani, et al., 2022) y *Coriandrum sativum* (Abbas, Anwar, Ahmad, et al., 2022). Estas especies alcanzaron un rendimiento global de 0,36 % (450 bar y 70 °C); 1,94 % (300 bar y 60 °C); 0,13 % (100 bar y 45 °C); 0,52 % (100 bar y 45 °C) y 0,09 % (100 bar y 45 °C), respectivamente. La variación de los rendimientos se atribuye a diferentes factores como la variedad de la planta, el tamaño de partícula, el estado de madurez del material vegetal y las condiciones de extracción supercrítica (Dashtian et al., 2024).

Se determinó que los metabolitos bioactivos de los extractos aromáticos de *S. molle* tienen un efecto en la inhibición de radicales libres (DPPH), influyendo en su capacidad antioxidante. La condición supercrítica de 350 bar y 35 °C permitió obtener el extracto con el mayor porcentaje de inhibición ($62,50 \pm 0,62$ %), mientras que el extracto obtenido a 150 bar y 45 °C fue la muestra con el menor porcentaje de inhibición ($26,13 \pm 1,37$ %). En la investigación ejecutada por Kazan et al. (2014), donde se extrajo compuestos fenólicos de las hojas de *Prunus persica* empleando CO₂ y cosolvente, se reportó que el extracto con mayor porcentaje de inhibición (53,25 %) se logró a 150 bar y 60 °C, mientras que el extracto con el menor porcentaje de inhibición (20,83 %) fue obtenido a 225 bar y 40 °C (Kazan et al., 2014).

En otra investigación desarrollada por Bendif et al. (2018) se reportó que los compuestos lipofílicos extraídos de las hojas y flores de *R. eriocalyx* con CO₂ presentan menores efectos de eliminación de radicales debido a las complejas interacciones moleculares que se producen entre los constituyentes polares y apolares. Considerando nuestros resultados y la información reportada por otros investigadores se demuestra que la disminución significativa en la actividad antirradical se atribuye a las condiciones de extracción supercrítica y a la falta de compuestos fenólicos solubles en agua en los extractos de SFE (Bendif et al., 2017).

Los principales compuestos identificados en el extracto aromático de *S. molle* fueron el shyobunol (33,42 %), bicyclogermacrene (12,61 %), elemol (10,36 %), lupenone (6,55 %), germacrene D-4-ol (6,28 %) y γ -gurjunene (5,70 %). Cabe señalar que estos fitoquímicos son muy requeridos por la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica para el desarrollo de nuevos productos.

Dentro de los metabolitos bioactivos identificados el shyobunol (33,42 %) fue el componente principal del extracto aromático de *S. molle*. Este compuesto posee propiedades nutraceuticas que son de gran valor para la aplicación en la medicina. Investigaciones reportaron que el shyobunol presente en los aceites esenciales tiene un efecto terapéutico contra la diabetes mellitus (Sriramavaratharajan et al., 2022), también posee una actividad antiinflamatoria y antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* y *Bacillus cereus* (Hasni et al., 2023).

En cuanto al valor comercial del bicyclogermacrene (12,61 %) y el elemol (10,36 %) se destaca el desarrollo de larvicidas ecológicos contra los mosquitos vectores de la malaria y el dengue (Govindarajan & Benelli, 2016) y la formulación de películas híbridas con efecto protector contra la podredumbre poscosecha del tomate (Morales-Rabanales et al., 2022).

Los otros compuestos bioactivos como el lupenone (6,55 %), germacrene D-4-ol (6,28 %) y γ -gurjunene (5,70 %) también son de gran valor para la industria. Por ejemplo, el lupenone se utiliza como inhibidor contra *Fusarium circinatum* demostrando que este fitoquímico es un gran antifúngico y puede ayudar a los sembríos a que no se infecten de este patógeno (Perveen et al., 2024). El germacrene D-4-ol también posee actividad insecticida y puede usarse para producir larvicidas más amigables con el medio ambiente en el control de *A. aegypti* (Seixas et al., 2023). Finalmente, el γ -gurjunene presente en el aceite esencial de *S. pisidica* demuestra una considerable actividad citotóxica debido a un mecanismo relacionado con la apoptosis, indicando que sus componentes bioactivos podrían utilizarse como sustancias anticancerígenas naturales (Semiz et al., 2023).

VI. CONCLUSIONES

- La interacción de las variables termodinámicas de presión y temperatura influyeron en el rendimiento global de los extractos aromáticos de *S. molle*, siendo $1,36 \pm 0,03$ % el mayor rendimiento y $0,88 \pm 0,08$ % el menor rendimiento, estos extractos se obtuvieron a una condición supercrítica de $45\text{ }^{\circ}\text{C}, 150\text{ bar}$ y $55\text{ }^{\circ}\text{C}, 150\text{ bar}$, respectivamente. Estos resultados evidencian que la modificación de una variable termodinámica afecta la densidad del CO_2 y la solubilidad de los compuestos; influyendo directamente en el rendimiento global de los extractos aromáticos de *S. molle*.
- La capacidad antioxidante de los extractos aromáticos de *S. molle* es influenciada por la naturaleza química de los metabolitos bioactivos y las diferentes condiciones de extracción supercrítica. La muestra HSM-35350 fue la que alcanzó el mayor porcentaje de inhibición ($62,50 \pm 0,62$ %) de DPPH (0,01 mg/mL), mientras que la muestra HSM-45150 fue la de menor porcentaje de inhibición ($26,13 \pm 1,37$ %) de DPPH (0,01 mg/mL).
- Los principales compuestos identificados en la muestra HSM- 45150 fueron el shyobunol (33,42 %), bicyclogermacrene (12,61 %), elemol (10,36 %), lupenone (6,55 %), germacrene D-4-ol (6,28 %) y γ -gurjunene (5,70 %). Estos metabolitos bioactivos son muy requeridos por la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica para el desarrollo de nuevos productos como larvicidas ecológicos, formulación de películas híbridas y como sustancias anticancerígenas naturales.

VII. RECOMENDACIONES

- Ampliar el estudio para evaluar la rentabilidad de la implementación del proceso SFE de las hojas de *S. molle* a escalas mayores.
- Estudiar la vida útil del extracto aromático de *S. molle*, analizando los principales compuestos bioactivos a diferentes condiciones de almacenamiento.
- Realizar estudios de aplicación del extracto aromático de *S. molle* en la formulación de productos alimentarios, cosméticos y farmacéuticos.
- Evaluar la actividad antioxidante de los extractos aromáticos de *S. molle* empleando otras metodologías como FRAP y ABTS.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A., Anwar, F., Ahmad, N., Rehman, A. tur, Mohammed, O. A., Abdel-Reheim, M. A., Iqbal, M., Iqbal, S., & Nazir, A. (2024). GC-MS analysis and nutra-pharmaceutical potential of *Mentha piperita* essential oil extracted by supercritical fluid extraction and hydro-distillation. *Heliyon*, *10*(16), e35282. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2024.E35282>
- Abbas, A., Anwar, F., Ahmad, N., Shahid, M., Al-Mijalli, S. H., Yaseen, M., Farooq, S., & Iqbal, M. (2022). Characterization of Bioactives and Nutra-Pharmaceutical Potential of Supercritical Fluid and Hydro-Distilled Extracted Coriander Leaves Essential Oil. *Dose-Response*, *20*(4). https://doi.org/10.1177/15593258221130749/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_15593258221130749-FIG1.JPEG
- Abbas, A., Anwar, F., Alqahtani, S. M., Ahmad, N., Al-Mijalli, S. H., Shahid, M., & Iqbal, M. (2022). Hydro-Distilled and Supercritical Fluid Extraction of *Eucalyptus camaldulensis* Essential Oil: Characterization of Bioactives Along With Antioxidant, Antimicrobial and Antibiofilm Activities. *Dose-Response*, *20*(3). https://doi.org/10.1177/15593258221125477/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_15593258221125477-FIG3.JPEG
- Abdel-Sattar, E., Zaitoun, A. A., Farag, M. A., El Gayed, S. H., & Harraz, F. M. H. (2010). Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Natural Product Research*, *24*(3), 226–235. <https://doi.org/10.1080/14786410802346223>
- Alagon, J. M. (2024). Capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de *Schinus molle* “molle.” *Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga*. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/6476>
- Albuquerque, C. L. C., & Meireles, M. A. A. (2012). Defatting of annatto seeds using supercritical carbon dioxide as a pretreatment for the production of bixin: Experimental, modeling and economic evaluation of the process. *The Journal of Supercritical Fluids*, *66*, 86–95. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2012.01.004>
- Angulo-Gutiérrez, O. E. (2015). Extracción y caracterización de aceite esencial del Molle *Schinus linneo* por medio de fluidos supercríticos [Universidad Nacional del

- Centro del Perú]. In *Universidad Nacional del Centro del Perú*.
<http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/20.500.12894/1198>
- Atapattu, S. N., & Temerdashev, A. (2023). Recent advances in gas chromatography injection port derivatization in analytical method development. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *168*, 117334. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2023.117334>
- Barroso, M. S. T., Villanueva, G., Lucas, A. M., Perez, G. P., Vargas, R. M. F., Brun, G. W., & Cassel, E. (2011). Supercritical fluid extraction of volatile and non-volatile compounds from *Schinus molle* L. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, *28*(2), 305–312. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322011000200015>
- Belayneh, Y. M., Mengistu, G., & Hailay, K. (2024). Evaluation of hepatoprotective and antidiarrheal activities of the hydromethanol crude extract and solvent fractions of *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) leaf and fruit in mice. *Metabolism Open*, *21*, 100272. <https://doi.org/10.1016/J.METOP.2024.100272>
- Belhoussaine, O., El Kourchi, C., Harhar, H., Bouyahya, A., El Yadini, A., Fozia, F., Alotaibi, A., Ullah, R., & Tabyaoui, M. (2022). Chemical Composition, Antioxidant, Insecticidal Activity, and Comparative Analysis of Essential Oils of Leaves and Fruits of *Schinus molle* and *Schinus terebinthifolius*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2022*.
<https://doi.org/10.1155/2022/4288890>
- Belhoussaine, O., El Kourchi, C., Harhar, H., El Moudden, H., El Yadini, A., Ullah, R., Iqbal, Z., Goh, K. W., Goh, B. H., Bouyahya, A., & Tabyaoui, M. (2024). Phytochemical characterization and nutritional value of vegetable oils from ripe berries of *Schinus terebinthifolia raddi* and *Schinus molle* L., through extraction methods. *Food Chemistry: X*, *23*, 101580.
<https://doi.org/10.1016/J.FOCHX.2024.101580>
- Bendif, H., Boudjeniba, M., Djamel Miara, M., Biqiku, L., Bramucci, M., Caprioli, G., Lupidi, G., Quassinti, L., Sagratini, G., Vitali, L. A., Vittori, S., & Maggi, F. (2017). *Rosmarinus eriocalyx*: An alternative to *Rosmarinus officinalis* as a source of antioxidant compounds. *Food Chemistry*, *218*, 78–88.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.09.063>
- Bendif, H., Miara, M. D., Kalboussi, Z., Grauzdytė, D., Povilaitis, D., Venskutonis, P. R., & Maggi, F. (2018). Supercritical CO₂ extraction of *Rosmarinus eriocalyx* growing in Algeria: Chemical composition and antioxidant activity of extracts and

- their solid plant materials. *Industrial Crops and Products*, 111, 768–774.
<https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2017.11.056>
- Bocangel, J. C., Sucasaca, A., Sanchez-Gonzales, G., Flores, G. M., & Barriga-Sánchez, M. (2021). Estudio preliminar de teñido de fibra de alpaca utilizando extracto acuoso de molle (*Schinus molle*) como pigmento natural. *Revista de innovación y transferencia productiva*, 2(1), e003–e003.
<https://doi.org/10.54353/RITP.V2I1.E003>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cervantes-Ramos, J. G. (2022). Efecto del biochar de molle (*Schinus molle L.*) en la recuperación de suelos degradados, usando como indicador el maíz (*Zea mays L.*), Huánuco 2021.
- Chañi-Paucar, L. O., dos Santos, L. C., Scopel, E., Torres-Mayanga, P. C., Hatami, T., & Martínez, J. (2023). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from quinilla (*Manilkara bidentata*) seed. *The Journal of Supercritical Fluids*, 193, 105831. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2022.105831>
- Chañi-Paucar, L. O., Johner, J. C. F., Zobot, G. L., & Meireles, M. A. A. (2022). Technical and economic evaluation of supercritical CO₂ extraction of oil from sucupira branca seeds. *The Journal of Supercritical Fluids*, 181, 105494.
<https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2021.105494>
- Chañi-Paucar, L. O., Santana, Á. L., Albarelli, J. Q., & Meireles, M. A. A. (2022). Extraction of polyphenols by sub/supercritical based technologies. *Technologies to Recover Polyphenols from AgroFood By-Products and Wastes*, 137–168.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85273-9.00006-5>
- Chavez-Marquez, E., Bernedo, M. S. B., de Jara, E. M., Quequezana-Bedregal, M. J., Gutierrez-Oppe, E. E., & Pessôa Filho, P. de A. (2023). Development of intelligent and active potato starch films based on purple corn cob extract and molle essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242, 125080.
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.125080>
- Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012). Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences 2012, Vol. 13, Pages 8615-8627*, 13(7), 8615–8627. <https://doi.org/10.3390/IJMS13078615>

- da Silva, I. R. R., Fernandes, C. C., Gonçalves, D. S., Martins, C. H. G., & Miranda, M. L. D. (2023). Chemical composition and anti-Xanthomonas citri activities of essential oils from Schinus molle L. fresh and dry leaves and of its major constituent spathulenol. *Natural Product Research*.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2249584>
- da Silva, R. P. F. F., Rocha-Santos, T. A. P., & Duarte, A. C. (2016). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76, 40–51. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2015.11.013>
- Dashtian, K., Kamalabadi, M., Ghoorchian, A., Ganjali, M. R., & Rahimi-Nasrabadi, M. (2024). Integrated supercritical fluid extraction of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 1733, 465240.
<https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2024.465240>
- de Melo, M. M. R., Carius, B., Simões, M. M. Q., Portugal, I., Saraiva, J., & Silva, C. M. (2020). Supercritical CO₂ extraction of V. vinifera leaves: Influence of cosolvents and particle size on removal kinetics and selectivity to target compounds. *The Journal of Supercritical Fluids*, 165, 104959.
<https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2020.104959>
- De Vieira Melo, S. A. B., Costa, G. M. N., Viana, A. C. C., & Pessoa, F. L. P. (2009). Computation of Crossover Pressure for Synthesis of Supercritical Fluid Separation Systems. *Computer Aided Chemical Engineering*, 27(C), 399–404.
[https://doi.org/10.1016/S1570-7946\(09\)70287-1](https://doi.org/10.1016/S1570-7946(09)70287-1)
- Díaz-Reinoso, B., Moure, A., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2006). Supercritical CO₂ Extraction and Purification of Compounds with Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(7), 2441–2469.
<https://doi.org/10.1021/JF052858J>
- dos Santos Cavalcanti, A., Alves, M. de S., da Silva, L. C. P., Patrocínio, D. D. S., Sanches, M. N., Chaves, D. S. de A., & de Souza, M. A. A. (2015). Volatiles composition and extraction kinetics from Schinus terebinthifolius and Schinus molle leaves and fruit. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(4), 356–362.
<https://doi.org/10.1016/J.BJP.2015.07.003>
- Durmus, D. (2020). CIELAB color space boundaries under theoretical spectra and 99 test color samples. *Color Research & Application*, 45(5), 796–802.
<https://doi.org/10.1002/COL.22521>

- Espinoza, E. J. (2020). Efecto cicatrizante de una crema elaborada a base de aceite esencial de las hojas de *Schinus Molle* L. (Molle). *Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote*.
<https://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/16254>
- FDA. (2023). *Generally Recognized as Safe (GRAS) / FDA*.
<https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/generally-recognized-safe-gras>
- Feriani, A., Tir, M., Hamed, M., Sila, A., Nahdi, S., Alwasel, S., Harrath, A. H., & Tlili, N. (2020). Multidirectional insights on polysaccharides from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* fruits: Physicochemical and functional profiles, in vitro antioxidant, anti-genotoxicity, antidiabetic, and antihemolytic capacities, and in vivo anti-inflammatory and anti-nociceptive properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, *165*, 2576–2587.
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.10.123>
- Fornari, T., Vicente, G., Vázquez, E., García-Risco, M. R., & Reglero, G. (2012). Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A*, *1250*, 34–48.
<https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2012.04.051>
- Frohlich, P. C., Santos, K. A., Ascari, J., Santos Refati, J. R. dos, Palú, F., Cardozo-Filho, L., & da Silva, E. A. (2023). Antioxidant compounds and eugenol quantification of clove (*Syzygium aromaticum*) leaves extracts obtained by pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, *196*, 105865. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2023.105865>
- GBIF. (2024). *Schinus molle* L. Global Biodiversity Information Facility.
<https://www.gbif.org/es/species/3190642>
- Giaquinta Aranda, A., Fernández Araque, A., Curbelo Rodriguez, R., & Rojo Aragues, A. (2017). Glaucoma y antioxidantes: revisión sistemática. *Revista Mexicana de Oftalmología*, *91*(3), 112–121. <https://doi.org/10.1016/J.MEXOFT.2016.03.007>
- Giuffrida, D., Martínez, N., Arrieta-Garay, Y., Fariña, L., Boido, E., & Dellacassa, E. (2020). Valorisation of *Schinus molle* fruit as a source of volatile compounds in foods as flavours and fragrances. *Food Research International*, *133*, 109103.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109103>
- Govindarajan, M., & Benelli, G. (2016). Eco-friendly larvicides from Indian plants: Effectiveness of lavandulyl acetate and bicyclogermacrene on malaria, dengue and

- Japanese encephalitis mosquito vectors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133, 395–402. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2016.07.035>
- Hasni, M., Belboukhari, N., Sekkoum, K., Stefan-van Staden, R. I., Alothman, Z. A., Demir, E., & Ali, I. (2023). Heliotropium bacciferum essential oil extraction: Compositions determination by GC-MS and anti-inflammatory and antibacterial activities evaluation. *Analytical Biochemistry*, 683, 115366. <https://doi.org/10.1016/J.AB.2023.115366>
- Herrera-Calderon, O., Chavez, H., Enciso-Roca, E. C., Común-Ventura, P. W., Hañari-Quispe, R. D., Figueroa-Salvador, L., Loyola-Gonzales, E. L., Pari-Olarte, J. B., Aljarba, N. H., Alkahtani, S., & Batiha, G. E. S. (2022). GC-MS Profile, Antioxidant Activity, and in Silico Study of the Essential Oil from Schinus molle L. Leaves in the Presence of Mosquito Juvenile Hormone-Binding Protein (mJHBP) from Aedes aegypti. *BioMed Research International*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5601531>
- Herrero, M., Cifuentes, A., & Ibañez, E. (2006). Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review. *Food Chemistry*, 98(1), 136–148. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.05.058>
- İlgün, S., Şeker Karatoprak, G., Çiçek Polat, D., Köngül Şafak, E., Yücel, Ç., İnce, U., Uvat, H. Ö., & Küpeli Akkol, E. (2023). Assessment of Phenolic Composition, Antioxidant Potential, Antimicrobial Properties, and Antidiabetic Activity in Extracts Obtained from Schinus molle L. Leaves and Fruits. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 28(12), 353. <https://doi.org/10.31083/J.FBL2812353/DE09A9F05AC5A24B24B716084B85BC7E.PDF>
- Johner, J. C. F., & Meireles, M. A. de A. (2016). Construction of a supercritical fluid extraction (SFE) equipment: validation using annatto and fennel and extract analysis by thin layer chromatography coupled to image. *Food Science and Technology*, 36(2), 210–247. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.0027>
- Katekar, V. P., Rao, A. B., & Sardeshpande, V. R. (2023). A hydrodistillation-based essential oils extraction: A quest for the most effective and cleaner technology. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 36, 101270. <https://doi.org/10.1016/J.SCP.2023.101270>

- Kazan, A., Koyu, H., Turu, I. C., & Yesil-Celiktas, O. (2014). Supercritical fluid extraction of *Prunus persica* leaves and utilization possibilities as a source of phenolic compounds. *The Journal of Supercritical Fluids*, *92*, 55–59.
<https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2014.05.006>
- KEW SCIENCE. (2024). *Schinus molle L.* | *Plants of the World Online* | Kew Science. Royal Botanic Gardens.
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:71044-1>
- Khaw, K. Y., Parat, M. O., Shaw, P. N., & Falconer, J. R. (2017). Solvent Supercritical Fluid Technologies to Extract Bioactive Compounds from Natural Sources: A Review. *Molecules* *2017*, Vol. 22, Page 1186, *22*(7), 1186.
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES22071186>
- Kim, M. J., Kim, D. W., Kim, J. G., Shin, Y., Jung, S. K., & Kim, Y. J. (2021). Analysis of the chemical, antioxidant, and anti-inflammatory properties of pink pepper (*Schinus molle* L.). *Antioxidants*, *10*(7), 1062.
<https://doi.org/10.3390/ANTIOX10071062/S1>
- Lalia, A., Harizia, A., Righi, K., & Daikh, Z. E. (2023). Chemical composition and allelopathic potential of *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) essential oils against common weeds of wheat crop. *Natural Product Research*.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2287174>
- Marongiu, B., Porcedda, A. P. S., Casu, R., & Pierucci, P. (2004). Chemical composition of the oil and supercritical CO₂ extract of *Schinus molle* L. *Flavour and Fragrance Journal*, *19*(6), 554–558. <https://doi.org/10.1002/FFJ.1350>
- Martínez-Ávila, M., Rodríguez-Rodríguez, J., Gutiérrez Uribe, J. A., & Guajardo-Flores, D. (2022). Selective supercritical fluid extraction of non-polar phytochemicals from black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by-products. *The Journal of Supercritical Fluids*, *189*, 105730.
<https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2022.105730>
- Mezzomo, N., Mileo, B. R., Friedrich, M. T., Martínez, J., & Ferreira, S. R. S. (2010). Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Process yield and extract composition. *Bioresource Technology*, *101*(14), 5622–5632.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2010.02.020>
- Morales-Rabanales, Q. N., Coyotl-Pérez, W. A., Rubio-Rosas, E., Cortes-Ramírez, G. S., Sánchez Ramírez, J. F., & Villa-Ruano, N. (2022). Antifungal properties of hybrid films containing the essential oil of *Schinus molle*: Protective effect against

- postharvest rot of tomato. *Food Control*, *134*, 108766.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.108766>
- Mota, M. F. S., Waktola, H. D., Nolvachai, Y., & Marriott, P. J. (2021). Gas chromatography – mass spectrometry for characterisation, assessment of quality and authentication of seed and vegetable oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *138*, 116238. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2021.116238>
- Mügge, F. L. B., & Morlock, G. E. (2023). Chemical and cytotoxicity profiles of 11 pink pepper (*Schinus* spp.) samples via non-targeted hyphenated high-performance thin-layer chromatography. *Metabolomics*, *19*(5), 1–15.
<https://doi.org/10.1007/S11306-023-02008-8/FIGURES/6>
- Murrieta-Dionicio, U., Medrano-Hernández, J. M., Guerra-Ramírez, D., & Valle-Guadarrama, S. (2023). Composición de aceite esencial de hojas de *Schinus molle* L. afectada por el tiempo de extracción y escalamiento del proceso. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, *29*(2), 25–40.
<https://doi.org/10.5154/R.RCHSCFA.2022.04.027>
- Nadalin, V., Lepojević, Ž., Ristić, M., Vladić, J., Nikolovski, B., & Adamović, D. (2014). Investigation of cultivated lavender (*Lavandula officinalis* L.) extraction and its extracts. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, *20*(1), 71–86. <https://doi.org/10.2298/CICEQ120715103N>
- NIST. (2024). *Isothermal Properties for Carbon dioxide*. NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY.
https://webbook.nist.gov/cgi/fluid.cgi?Action=Load&Applet=on&ID=C124389&Type=IsoTherm&Digits=5&PLow=150&PHigh=350&PInc=50&T=35&RefState=DEF&TUnit=C&PUnit=bar&DUnit=mol%2F1&HUnit=kJ%2Fmol&WUnit=m%2Fm&VisUnit=uPa*s&STUnit=N%2Fm
- Ovidi, E., Garzoli, S., Laghezza Masci, V., Turchetti, G., & Tiezzi, A. (2021). GC-MS investigation and antiproliferative activities of extracts from male and female flowers of *Schinus molle* L. *Natural Product Research*, *35*(11), 1923–1927.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1644628>
- Palacios, A. L., & Castillo, W. E. (2015). Modelamiento de extracción del aceite esencial de *Aloysia citriodora* y *Schinus molle*. *INGENIERÍA: Ciencia, Tecnología e Innovación*, *2*(2), 14–14. <https://doi.org/10.26495/ICTI.V2I2.254>
- Paramadhas, S., Selvi, P., Shridar, B., Palanisamy, P., Baburaj, N. S., Govindarajan, N., & Pandiselvam, R. (2024). Optimization and extraction of annatto pigments

- obtained from *Bixa orellana* L. using supercritical fluid extraction. *Microchemical Journal*, 206, 111494. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2024.111494>
- Pasquel Reátegui, J. L., Machado, A. P. D. F., Barbero, G. F., Rezende, C. A., & Martínez, J. (2014). Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus* sp.) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound. *The Journal of Supercritical Fluids*, 94, 223–233. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2014.07.019>
- Pereira, C. G., & Meireles, M. A. A. (2009). Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives. *Food and Bioprocess Technology* 2009 3:3, 3(3), 340–372. <https://doi.org/10.1007/S11947-009-0263-2>
- Perveen, K., Debnath, S., Alshaikh, N. A., Khan, F., Suyal, D. C., Alsulaimi, J. A., & Parikesit, A. A. (2024). Exploring the inhibitory potential of Lupenone against *Fusarium circinatum*: An empirical in silico study utilizing molecular docking and dynamics simulations for novel antifungal agents in canker disease control. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 129, 102180. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2023.102180>
- PubChem. (2024). *1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazine* / C₁₈H₁₃N₅O₆ / CID 74358. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/74358>
- Razzak, A., Khiari, R., Moussaoui, Y., & Belgacem, N. (2023). Schinus Molle: Currently Status and Opportunity. In *Annual Plant: Sources of Fibres, Nanocellulose and Cellulosic Derivatives* (pp. 535–551). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-2473-8_18
- Rodríguez, C. J., & García, G. A. P. (2017). Capacidad probiótica de bacterias lácticas aisladas de chicha de molle. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 83(4), 391–402. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2017000400004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Ruiz Quiroz, J. R., Salazar Salvatierra, M. E., Ruiz Quiroz, J. R., & Salazar Salvatierra, M. E. (2021). Composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* DIELS, *Schinus molle* y *Tagetes elliptica* Smith. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 87(3), 228–241. <https://doi.org/10.37761/RSQP.V87I3.350>
- Salinas, F., Vardanega, R., Espinosa-Álvarez, C., Jimenez, D., Muñoz, W. B., Ruiz-Domínguez, M. C., Meireles, M. A. A., & Cerezal-Mezquita, P. (2020). Supercritical fluid extraction of chañar (*Geoffroea decorticans*) almond oil: Global

- yield, kinetics and oil characterization. *The Journal of Supercritical Fluids*, *161*, 104824. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2020.104824>
- Santana, Á. L., Chañi-Paucar, L. O., Veggi, P. C., Viganó, J., & Meireles, M. A. A. (2023). Supercritical Fluid Extraction. In *Bentham Science* (pp. 280–323). <https://doi.org/10.2174/9789815049459123030009>
- Scopel, R., Neto, R. G., Falcão, M. A., Cassel, E., & Vargas, R. M. F. (2013). Supercritical CO₂ extraction of *Schinus molle* L with co-solvents: mathematical modeling and antimicrobial applications. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *56*(3), 513–519. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013000300020>
- Seixas, P. T. L., Demuner, A. J., Barbosa, L. C. A., Cerceau, C. I., Blank, D. E., Santos, M. H. Dos, Farias, E. de S., & Picanço, M. C. (2023). Chemical composition and larvicidal activity of essential oils of three *Artemisia* species. *Journal of Applied Entomology*, *147*(2), 116–125. <https://doi.org/10.1111/JEN.13094>
- Semiz, G., Mutlu, D., Günal, B., Semiz, A., & Arslan, Ş. (2023). The anticancer effect of *Salvia pisidica* essential oil through promotion intrinsic and extrinsic apoptosis pathways in human cancer cell lines. *Journal of Herbal Medicine*, *39*, 100664. <https://doi.org/10.1016/J.HERMED.2023.100664>
- SERFOR. (2024). *Solicitar autorización para investigar la flora o fauna silvestre fuera de un área natural protegida - Trámite - Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - Plataforma del Estado Peruano*. MIDAGRI. <https://www.gob.pe/27451-solicitar-autorizacion-para-investigar-la-flora-o-fauna-silvestre-fuera-de-un-area-natural-protegida>
- Shehata, M. E., El-Sherbiny, G. M., Sharaf, M. H., Kalaba, M. H., & Shaban, A. S. (2024). Phytochemical analysis, antimicrobial, antioxidant, and cytotoxicity activities of *Schinus molle* (L.) extracts. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1–18. <https://doi.org/10.1007/S13399-024-05301-1/FIGURES/6>
- Sriramavaratharajan, V., Chellappan, D. R., Karthi, S., Ilamathi, M., & Murugan, R. (2022). Multi target interactions of essential oil nanoemulsion of *Cinnamomum travancoricum* against diabetes mellitus via in vitro, in vivo and in silico approaches. *Process Biochemistry*, *118*, 190–204. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2022.04.031>
- Temelli, F., & Güçlü-Üstündağ, Ö. (2005). Supercritical Technologies for Further Processing of Edible Oils. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. <https://doi.org/10.1002/047167849X.BIO057>

- Umay, A. (2022). Investigation of Chemical Composition and Phytotoxic Effects of Essential Oils Obtained from Schinus Molle Leaves and Resins. *Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences*, 75(1), 26–33.
<https://doi.org/10.7546/CRABS.2022.01.04>
- Volpini-Klein, A. F. N., Lima Júnior, S. E., Cardoso, C. A. L., Cabral, M. R. P., Louro, G. M., Coutinho, E. J., de Jesus, D. A., Junior, D. P., & Simionatto, E. (2021). Chemical Composition of Essential Oils from Leaves and Fruits of Schinus molle Obtained by Different Extraction Methods (Hydrodistillation, Fractional Hydrodistillation and Steam Distillation) and Seasonal Variations. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(2), 228–242.
<https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1914739>
- Zeković, Z., Bera, O., Đurović, S., & Pavlić, B. (2017). Supercritical fluid extraction of coriander seeds: Kinetics modelling and ANN optimization. *The Journal of Supercritical Fluids*, 125, 88–95. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2017.02.006>

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Evaluación de la capacidad antioxidante y composición de metabolitos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de *Schinus molle* L. con CO₂ supercrítico

Problema	Objetivo	Hipótesis	Variables	Metodología
Problema general	Objetivo general	Hipótesis general	Independientes:	Diseño metodológico
¿Cuál será el efecto de las condiciones de extracción supercrítica con CO ₂ en el rendimiento, capacidad antioxidante y perfil de metabolitos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de <i>S. molle</i> ?	Evaluar el efecto de las condiciones de extracción supercrítica con CO ₂ en el rendimiento, capacidad antioxidante y perfil de metabolitos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de <i>S. molle</i> .	La aplicación de CO ₂ supercrítico en la obtención de extracto aromático de las hojas de <i>S. molle</i> , ofrece un proceso de extracción ecológico, eficiente y con un elevado contenido de metabolitos bioactivos.	<ul style="list-style-type: none"> • Presión (bar) • Temperatura (°C) Dependientes: <ul style="list-style-type: none"> • Rendimiento (% m/m) • Capacidad antioxidante • Composición de metabolitos bioactivos 	Tipo de investigación: Básica Nivel de investigación: Explicativo Método de investigación: Deductivo Diseño de investigación: Experimental

Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específicas	Población:
¿Cómo varía el rendimiento porcentual del extracto aromático obtenido de las hojas de <i>S. molle</i> a diferentes condiciones de extracción supercrítica?	Establecer la interacción que existe entre el rendimiento de extracto aromático obtenido y las diferentes condiciones de extracción supercrítica.	La optimización de la presión y temperatura en la obtención de extracto aromático de las hojas de <i>S. molle</i> con CO ₂ supercrítico, permite incrementar el rendimiento de extracción.	10 kg de hojas de <i>S. molle</i> colectadas en el Centro Poblado de Huanuquillo perteneciente a la provincia de Tarma.
¿Cuál será la capacidad antioxidante del extracto aromático obtenido de las hojas de <i>S. molle</i> a diferentes condiciones de extracción supercrítica?	Determinar la capacidad antioxidante del extracto aromático extraído de las hojas de <i>S. molle</i> por tecnología supercrítica.	La aplicación de CO ₂ supercrítico en la obtención de extracto aromático de las hojas de <i>S. molle</i> es un factor que determina la capacidad antioxidante de las muestras.	<p>Muestra:</p> <p>Para la obtención de extracto aromático de las hojas de <i>S. molle</i> por tecnología supercrítica se utilizó 10 g de muestra.</p> <p>Técnica de Muestreo:</p> <p>Muestreo no probabilístico por conveniencia.</p>

¿Cuál será la composición de metabolitos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de <i>S. molle</i> por tecnología supercrítica?	Determinar la composición de metabolitos bioactivos del extracto aromático obtenido de las hojas de <i>S. molle</i> por tecnología supercrítica.	la de <i>molle</i> por tecnología supercrítica es una gran fuente de metabolitos bioactivos.
--	--	--

Anexo 2. RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA N.º D000260-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL



SERFOR Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales
Firmado digitalmente por MEDINA
RAYLON Ana Elizabeth FAU
2060203627 scif
Cargo: Administrador Técnico Pfa.
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 14.06.2024 09:47:06 -05:00

San Ramon, 14 de Junio del 2024

RA N° D000260-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL

EXPEDIENTE N° : 2024-0020060
PROCEDIMIENTO : Autorización con fines de investigación científica fuera de Áreas Naturales Protegidas, con colecta de flora
PROCEDENCIA : Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre Selva Central
ADMINISTRADO : Larry Oscar Chañi Paucar
REFERENCIA : Informe Técnico N°D0039-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL-HJCR

VISTO:

El Informe Técnico N°039-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL/HJCR, de fecha 12 de mayo de 2023, en referencia la solicitud de la autorización con fines de investigación científica fuera de Áreas Naturales Protegidas, con colecta de flora silvestre, presentada por Larry Oscar Chañi Paucar y,

CONSIDERANDO:

1. Que, el art 66 de la Constitución Política del Estado establece que los recursos naturales renovables y no renovables son patrimonio de la Nación, y el Estado es soberano en su aprovechamiento y dispone además que por ley orgánica se fijen las condiciones de su utilización y de su otorgamiento a particulares;
2. Que, el artículo 9° de la Ley N° 26821, Ley Orgánica para el aprovechamiento sostenible de los Recursos Naturales, establece que el Estado promueve la investigación científica y tecnológica sobre la diversidad, calidad, composición, potencialidad y gestión de los recursos naturales. Promueve, asimismo, la información y el conocimiento de los recursos naturales. Para estos efectos, podrán otorgarse permisos para investigación;
3. Que, el artículo 13° de la Ley N° 29763. "Ley Forestal y de Fauna Silvestre", creó el Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR. como organismo público técnico especializado, con personería jurídica de derecho público interno, como pliego presupuestal adscrito al Ministerio de Agricultura y Riego;
4. Que, la Primera Disposición Complementaria Final del Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI Reglamento para Gestión Forestal de la Ley N° 29763 "Ley Forestal y de Fauna Silvestre", establece que "En los casos donde no se haya realizado la transferencia de competencias sectoriales en materia forestal y de fauna silvestre, el SERFOR ejerce las funciones como Autoridad Regional Forestal y de Fauna Silvestre (ARFFS). a través de las Administraciones Técnicas Forestales y de Fauna Silvestre (ATFFS). hasta que culmine la transferencia antes mencionada";
5. Que, el artículo 137° de la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, Ley 29763, declara de interés nacional la investigación, el desarrollo tecnológico, la mejora del conocimiento y el monitoreo del estado de conservación del patrimonio forestal y de fauna silvestre de la Nación;

Firmado digitalmente por RIVERA
POMAHUALI Jose Luis FAU
2060203627 scif
Motivo: Soy V° B°
Fecha: 13.06.2024 15:16:14 -05:00

SERFOR Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales

Firmado digitalmente por CAMPOS
RIVERA Ferron Jacinto FAU
2060203627 scif
Motivo: Soy V° B°
Fecha: 13.06.2024 14:59:32 -05:00

3. Que, el artículo 154° del Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI Reglamento para Gestión



Forestal, establece que, La investigación científica del Patrimonio se aprueba mediante autorizaciones, salvaguardando los derechos del país respecto de su patrimonio genético nativo Dichas autorizaciones no requieren del pago de derecho de trámite Las ARFFS otorgan autorizaciones con fines de investigación científica, que impliquen la utilización de métodos directos e indirectos para especies no categorizadas como amenazadas y no listadas en los Apéndices CITES y que en ningún caso otorgue el acceso a los recursos genéticos o sus productos derivados, de acuerdo con los lineamientos aprobados por el SERFOR para la evaluación de las solicitudes, así como los criterios para la verificación de cumplimiento de los compromisos de los investigadores;

7. Que, el artículo 158, del Decreto Supremo N°018-2015-MINAGRI, "Reglamento para la Gestión Forestal", establece en el segundo párrafo las obligaciones que genera la autorización para actividades de investigación científica de flora silvestre; a No extraer especímenes, ni muestras biológicas, de flora silvestre no autorizada; no ceder los mismos a terceras personas, ni utilizarlos para fines distintos a lo autorizado b Entregar al SERFOR un informe final en idioma español, incluyendo una versión digital en el mismo idioma, como resultado de la autorización otorgada, así como copia de las publicaciones producto de la investigación realizada, e indicar el número de la Autorización en las publicaciones generadas. Esta información es ingresada al SNIFFS c Depositar el material colectado en una institución científica nacional depositaria de material biológico, así como entregar al SERFOR la constancia de dicho depósito. En casos debidamente justificados, y siempre que el material colectado no constituya holotipos ni ejemplares únicos, el depósito se podrá realizar en una institución distinta a la mencionada; para ello se requiere la autorización del SERFOR d Incluir a por lo menos un investigador nacional, cuando la autorización de investigación sea requerida por extranjeros, e Incluir en las publicaciones el reconocimiento correspondiente al investigador nacional que participó en la investigación, en caso la autorización haya sido otorgada a investigadores extranjeros;
8. Que, según lo dispuesto por el artículo 140° de la Ley en mención, señala que el SERFOR evalúa y otorga la autorización para extracción de recursos forestales y de fauna silvestre con fines de investigación científica cuando: (i) se incluye especies amenazadas^{1,2}, (ii) especies consideradas en los Apéndices de CITES³, (iii) se realiza acceso a recursos genéticos sin fines de lucro; y (iv) propósitos culturales. Asimismo, en el citado artículo de la Ley indica que la colecta o extracción de recursos forestales y de fauna silvestre con fines de investigación orientada a determinación de genotipo, filogenia, sistemática y biogeografía es autorizada siguiendo procedimientos simplificados establecidos por el SERFOR;
9. Que, mediante la Cuarta Disposición Complementaria Transitoria del Decreto Legislativo N° 1497, publicado el 10 de mayo de 2020, se dispuso la suspensión hasta el 31 de diciembre de 2020, de la aplicación del numeral 134.3 del artículo 134° del Texto Único Ordenado - TUO de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado por Decreto Supremo N° 004-2019-JUS, respecto a la obligación de la presentación física del escrito o documentación por parte de los administrados; suspensión que mediante Decreto Supremo N° 187-2021-PCM, fue prorrogada hasta el 31 de diciembre de 2024;
10. Que, en ese contexto, mediante la carta s/n registrada con Expediente N° 2024-0020060, de fecha 03 de mayo de 2024, el administrado solicitó a la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal (DGSPF) *la autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, fuera de áreas naturales protegidas (ANP), para desarrollar el proyecto denominado Valorización de especies vegetales aromáticas comercializadas en la ciudad de Tarma para la obtención de compuestos volátiles usando tecnología de fluidos supercríticos; a ser efectuado en los distritos de la provincia de Tarma, departamento de Junín;*

¹ Decreto Supremo N° 043-2006-AG. Aprueban categorización de especies amenazadas de flora silvestre.

² Decreto Supremo N° 004-2014-MINAGRI. Actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre.

³ Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres.



11. Que, en el actual Texto Único de Procedimientos Administrativos - TUPA del SERFOR, aprobado por Decreto Supremo N° 001-2016-MINAGRI y modificado por Resolución Ministerial N° 613-2016-MINAGRI, Resolución Ministerial N° 026-2019-MINAGRI, Resolución de Dirección Ejecutiva N° D000103-2020-MINAGRI-SERFOR-DE y Resolución de Dirección Ejecutiva N° D000099-2021-MIDAGRI-SERFOR-DE; no se contempla el procedimiento de autorización para realizar investigación científica fuera de ANP;
12. Que, en observancia del principio de impulso de oficio, el cual se encuentra previsto en el numeral 1.3 del artículo IV del Título Preliminar del Texto Único Ordenado - TUO de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado por Decreto Supremo N° 004-2019-JUS; se desprende que las autoridades deben dirigir e impulsar de oficio el procedimiento y ordenar la realización o práctica de los actos que resulten convenientes para el esclarecimiento y resolución de las cuestiones necesarias;
13. Que, de acuerdo con el artículo 140° de la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, Ley N° 29763, es competencia del SERFOR la evaluación de la presente solicitud, puesto que la investigación se desarrollará fuera de áreas naturales protegidas, e involucrará especies de flora silvestre que no se encuentran amenazadas según la normativa del Decreto Supremo N° 043-2006-AG, ni listadas en CITES, además se realizará en un solo departamento;
14. Que, por tanto, en ese sentido, la solicitud en evaluación aplica lo dispuesto en el numeral 9 del ANEXO N° 1 del Reglamento para la Gestión Forestal, establece los requisitos para la solicitud de autorizaciones con fines de investigación de flora silvestre; en concordancia con el numeral 6.6 de los lineamientos aprobados por Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE, señalan los siguientes requisitos para la autorización con fines de investigación científica fuera de ANP: i) Solicitud con carácter de declaración jurada que contenga información sobre el investigador, según formato; ii) Hoja de vida del investigador principal y plan de investigación, según formato; iii) Carta de presentación de los investigadores participantes, emitida por la institución académica u organización científica nacional o extranjera de procedencia; iv) Documento que acredite el consentimiento informado previo, expedido por la respectiva organización comunal representativa, de corresponder; y v) Documento que acredite el acuerdo entre las instituciones que respaldan a los investigadores nacionales y extranjeros, en caso la solicitud sea presentada por un investigador extranjero;
15. Que, en ese sentido, mediante el Informe Técnico N°D0039-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL-HJCR, emitido de fecha 13 de junio de 2024; concluye que, la solicitud de investigación científica cumple con los requisitos exigidos en el numeral 9 del Anexo N° 1 del Reglamento para la Gestión Forestal y con los "Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre", aprobado mediante Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE; así como, las condiciones mínimas y los criterios técnicos para su ejecución, considerándose procedente el plazo propuesto para el desarrollo de las actividades con fines de investigación de flora silvestre, esto es, por el periodo de veinticuatro (24) meses;
16. Que, asimismo, a través de dicho Informe Técnico, se recomienda la emisión del acto administrativo que aprueba la solicitud de investigación científica de flora silvestre, fuera de ANP, para el desarrollo del proyecto denominado *Valorización de especies vegetales aromáticas comercializadas en la ciudad de Tarma para la obtención de compuestos volátiles usando tecnología de fluidos supercríticos*;
17. Que, finalmente, en dicho informe se señala que la presente investigación permitirá el desarrollo de un estudio relacionado a tecnologías eficientes y limpias como la de fluidos supercríticos, para la extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas, a fin de realizar los experimentos y optimización del mismo proceso, para futuras aplicaciones y transformación en productos de valor añadido; así mismo, que con el conocimiento adquirido permitirá capacitar a los profesionales, estudiantes de la Escuela Profesional de Ingeniería



Agroindustrial de la Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma - UNAAT y público interesado en la temática ;

18. Que, por otro lado, el artículo 158° del Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI, establece como obligaciones del investigador en flora silvestre que son las siguientes:

- a. *No extraer especímenes, ni muestras biológicas, de flora silvestre no autorizadas; no ceder los mismos a terceras personas, ni utilizarlos para fines distintos a lo autorizado.*
- b. *Entregar a la ATFFS Selva Central un informe final en idioma español y en versión digital, como resultado de la autorización otorgada, así como copia de las publicaciones producto de la investigación realizada, e indicar el número de la Autorización en las publicaciones generadas. Esta información es ingresada al SNIFFS.*
- c. *Solicitar el correspondiente permiso de exportación ante el SERFOR a través de la Ventanilla Única de Comercio Exterior - VUCE, así como pasar el control respectivo, en caso se requiera enviar al extranjero parte del material colectado, por razones científicas acotadas. Los ejemplares únicos de los grupos taxonómicos colectados y holotipos solo podrán ser exportados en calidad de préstamo.*

19. Que, asimismo, en el marco de la autorización otorgada, el administrado considerará los siguientes compromisos:

- a. *Comunicar con la debida anticipación a la autoridad forestal, el ingreso y salida a campo.*
- b. *Indicar el número de la resolución en las publicaciones generadas a partir de la autorización concedida.*
- c. *Solicitar anticipadamente ante la ATFFS Selva Central del SERFOR y dentro del periodo del cronograma de trabajo del plan de investigación, cualquier cambio en las características del estudio aprobado (por ejemplo, cronograma, inclusión de especialistas, etc.), que demande la modificación de la presente resolución.*
- d. *En caso sobrevenga algún hecho o evento que imposibilite la ejecución de la investigación autorizada o que origine que no se pueda continuar con el desarrollo de la misma, corresponde al administrado solicitar por escrito ante la ATFFS Selva Central, la renuncia a la autorización otorgada; renuncia que deberá ser solicitada dentro del plazo de vigencia de la autorización, precisándose el hecho o evento que origina la imposibilidad de ejecutar o de continuar ejecutando la investigación aprobada, debiendo además el administrado adjuntar la documentación de sustento que estime necesaria, de ser el caso.*

20. Que, por otro lado, el artículo 100° del Reglamento para la Gestión Forestal y de Fauna Silvestre en Comunidades Nativas y Comunidades Campesinas, señala lo siguiente:

“Investigaciones científicas realizadas dentro de las tierras de comunidades campesinas y comunidades nativas

Toda investigación científica en materia forestal y de fauna silvestre a realizarse dentro de tierras de comunidades campesinas o comunidades nativas, requiere de la autorización expresa de la comunidad y autorización otorgada por la autoridad correspondiente. (...).”

21. Que, en adición a ello, debemos precisar que, la presente autorización no habilita el ingreso a predios privados y áreas de conservación privada (ACP) en cuyos casos, deberán gestionar la autorización de ingreso correspondiente ante la autoridad o titular del área, según corresponda;

22. Que, en ese sentido, en caso la ejecución de la investigación comprenda el ingreso a territorios de Comunidades Campesinas o Comunidades Nativas, previamente deberá solicitarse la autorización correspondiente;

Que, de conformidad con la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, aprobada por Ley N° 29763; el Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI; el Decreto Supremo N° 004-2019-JUS que aprueba el Texto Único Ordenado de la



Ley N° 27444 Ley del Procedimiento Administrativo General; el literal g) del Artículo 53° del Reglamento de Organización y Funciones aprobado por Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI, y su modificatoria mediante Decreto Supremo N° 014-2016-MINAGRI; la Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE; y la Resolución de Dirección Ejecutiva N° D000312-2022-MIDAGRI- SERFOR-DE;

SE RESUELVE:

Artículo 1.- Otorgar la autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, fuera de áreas naturales protegidas (ANP), a favor del señor **Larry Oscar Chañi Paucar**, ciudadano peruano, identificado con DNI N° 43118124, correspondiéndole el Código de **Autorización N°12-SEC/AUT-IFL-2024-001**; a efectos de desarrollar el proyecto denominado **Valorización de especies vegetales aromáticas comercializadas en la ciudad de Tarma para la obtención de compuestos volátiles usando tecnología de fluidos supercríticos**, a ser efectuado en los distritos de la provincia de Tarma, departamento de Junín, en conformidad con lo señalado en la Cuadro N° 1 del **Anexo 1** cuya vigencia se contabilizará *contado a partir del día siguiente hábil de la notificación de la presente Autorización*.

Artículo 2.- Autorizar la participación de los investigadores señalados por el administrado, conforme con la Cuadro N° 2 del **Anexo 2** de la presente resolución.

Artículo 3.- El ingreso y desarrollo de las actividades de investigación científica dentro de tierras comunales (comunidades campesinas) que abarquen las zonas de muestreo del estudio, deberán ser autorizadas previamente por la autoridad correspondiente, por lo que es responsabilidad del titular obtener la autorización de ingreso, antes de la ejecución de la investigación.

Artículo 4.- El administrado se encuentra sujeto al cumplimiento de lo presentado en el plan de investigación y al plazo correspondiente a veinticuatro (24) meses, así como a la colecta de material biológico de flora silvestre, de acuerdo con lo señalado en el cuadro N° 3 del **Anexo 3** de la presente resolución. Los ejemplares de herbario serán depositados en la Institución Científica Nacional Depositaria de Material Biológico – ICNDBM registrada ante el SERFOR, el Herbario MOL de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Asimismo, deberán cumplir con las obligaciones establecidas en la legislación forestal y de fauna silvestre, según lo señalado en la parte considerativa de la presente resolución.

Artículo 5.- La presentación del Informe Final, en versión digital como resultado de la autorización otorgada, se realizará de acuerdo con los términos señalados en el **Anexo 4** de la presente resolución, y deberá ser presentado dentro de los noventa (90) días calendarios posteriores a la culminación de la investigación.

Artículo 6.- La presente autorización no limita el ejercicio de las funciones y/o requisitos de las entidades, en los ámbitos en los que se realice la investigación (ARFFS, ACR, ACP y otros).

Artículo 7.- Toda modificación en el desarrollo de la investigación será comunicada al SERFOR dentro del plazo de vigencia de la presente resolución.

Artículo 8.- La presente autorización no habilita la exportación de muestras biológicas, en caso se requiera realizar esta actividad, el administrado y los investigadores identificados en la presente resolución, podrán gestionar el correspondiente Permiso de Exportación ante la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre del SERFOR.

Artículo 9.- La contravención a las obligaciones y/o condiciones establecidas en la presente resolución conllevará a la comisión de las infracciones tipificadas en el numeral 5) del Anexo 1 del Cuadro de Infracciones y Sanciones en materia forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 007-2021-MIDAGRI.



Artículo 10.- Notificar la presente resolución directoral al señor Larry Oscar Chafí Paucar, a efectos de que tome conocimiento de su contenido. Contra la presente Resolución es posible la interposición de los recursos impugnativos contemplados en el Texto Único Ordenado de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado mediante Decreto Supremo N° 004-2019-JUS, dentro del plazo de quince (15) días hábiles más el término de la distancia en caso corresponda, contados a partir del día siguiente de notificada la misma.

Artículo 11.- Remitir la presente resolución a la Sub Sede Tarma de esta administración técnica; para su conocimiento y fines pertinentes.

Regístrese y comuníquese

Documento firmado digitalmente
ANA ELIZABETH MEDINA BAYLON
Administrador Técnico
Administración Técnica Forestal y de
Fauna Silvestre Selva Central
Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre



RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA

ANEXO 1

Cuadro N° 1. Listado de los distritos para el desarrollo de la investigación

DEPARTAMENTO	PROVINCIA	DISTRITO	SUPERPOSICION CON COMUNIDADES CAMPESINAS
JUNÍN	TARMA	ACOBAMBA	SAN ANTONIO DE ATAQUERO
			TUPIN
			OCHONGA
			HUAYLAHUICHAN
		HUARICOLCA	SACAS
		HUASAHUASI	CALLAS PALCA
		YANIC	
		LA UNION	HUANCOY SACSAMARCA
			CHANCHA
			HUANCAY SACSAMARCA
			NINATAMBO
			TUPIN
		PALCA	OCHONGA
			CALLAS PALCA
			HUAYLAHUICHAN
		PALCAMAYO	TAPO
			SAN PEDRO DE CAJAS
		SAN PEDRO DE CAJAS	OCHONGA
			YANIC
			CHUPAN
			SAN PEDRO DE CAJAS SAN FRANCISCO DE CHICHAUSIRI LOTE 1
		TAPO	TAPO
			CALLAS HUAYANAY
			CALLAS PALCA
TARMA	PIAN SANYACANCHA		
	HUANCAY SACSAMARCA		
	NINATAMBO		
	TUPIN		
		HUANCOY SACSAMARCA	



RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA

ANEXO 2

Cuadro N° 2. Datos de los investigadores que participarán en la presente investigación

Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Documento de Identidad	Cargo en el Equipo	Institución de Procedencia
Lary Oscar Chañi Paucar	Peruana	DNI N° 43118124	Investigador principal (Responsable)	Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma-UNAAT
Walter Javier Cuadrado Campó	Peruana	DNI N° 20669126	Co-Investigador	Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma-UNAAT
Grimaldo Wilfredo Quispe Santivañez	Peruana	DNI N° 06703641	Co-Investigador	Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma-UNAAT
Perfecto Chagua Rodríguez	Peruana	DNI N° 44143522	Co-Investigador	Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma-UNAAT
Joselin Paucarchuco Soto	Peruana	DNI N° 71083073	Tesista	Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma-UNAAT
Erick Abel Barzola Ollera	Peruana	DNI N° 76851324	Estudiante/equipo en formación)	Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma
Daysi Beatriz Mendoza Vega	Peruana	DNI N° 47314661	Tesista	Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma-UNAAT
María Angela de Almeida Meireles	Brasileira	PAS N° FO782000	Co-Investigadora	Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma
Julio Cesar Maceda Santivañez	Peruana	DNI N° 42421139	Co-Investigador	Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 23 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: VGBACD4



RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA

ANEXO 3

Cuadro N° 3. Detalle del material biológico de flora silvestre a coleccionar para el desarrollo de la investigación

N°	Familia	Nombre científico	Tipo de muestra	Cantidad	Colecta (flora y/o fauna) o Captura temporal (solo para fauna)
1	Fabaceae	<i>Otholobium pubescens</i>	Hojas	25 kilogramos	Colecta
			Ramas	5 kilogramos	Colecta
			Frutos	10 kilogramos	Colecta
			Semillas	10 kilogramos	Colecta
			muestra botánica	4 ejemplares	Colecta
2	Anacardiaceae	<i>Schinus molle</i>	Hojas	25 kilogramos	Colecta
			Ramas	5 kilogramos	Colecta
			Frutos	10 kilogramos	Colecta
			Semillas	10 kilogramos	Colecta
			muestra botánica	4 ejemplares	Colecta
3	Asteraceae	<i>Ambrosia arboreocens</i>	Hojas	25 kilogramos	Colecta
			Ramas	5 kilogramos	Colecta
			Frutos	10 kilogramos	Colecta
			Semillas	10 kilogramos	Colecta
			muestra botánica	4 ejemplares	Colecta
4	Lamiaceae	<i>Minthostachys mollis</i>	Hojas	25 kilogramos	Colecta
			Ramas	5 kilogramos	Colecta
			Frutos	10 kilogramos	Colecta
			Semillas	10 kilogramos	Colecta
			muestra botánica	4 ejemplares	Colecta



RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA

ANEXO 4

FORMATO DE INFORME FINAL

Como parte del cumplimiento de obligaciones adquiridas en el marco de la autorización de investigación científica de flora y/o fauna silvestre, fuera de áreas naturales protegidas, el(la) administrado(a) deberá presentar la siguiente información:

- a. Indicar el número de la Resolución Administrativa que autorizó la investigación y el(los) número(s) de resolución de modificación, de corresponder. Tener en cuenta que el título del proyecto debe coincidir con la autorización otorgada.
- b. Resumen para ser publicado en la web del SERFOR (donde se deberá señalar los resultados y la relevancia del estudio, entre otros, de forma sintetizada respecto de lo encontrado en la investigación realizada, hasta 3000 caracteres o 500 palabras). Se adjunta un modelo en el siguiente enlace: https://drive.google.com/drive/folders/1E0Y-u0UdEjwY1p76GhhkKC7AaOTYPwvH?usp=drive_link
- c. Resultados (Se debe indicar los resultados más relevantes tomando en cuenta los objetivos planteados para la investigación).
- d. Conclusiones (En esta sección se deberá incorporar los enunciados generados producto del análisis de resultados, los cuales responderán las interrogantes u objetivos planteados).
- e. Anexos

Adjuntar la(s) copia(s) de las(s) constancia(s) de depósito del material biológico⁴, en caso de haber realizado colectas. La(s) constancia(s) deberá(n) ser emitida(s) por una institución científica nacional depositaria de material biológico-ICNDMB, registrada por el SERFOR. Si desea visualizar el registro de ICNDMB autorizadas, puede ingresar al siguiente enlace: <https://sniffs.serfor.gob.pe/estadistica/es/tableros/recursos-geneticos/instituciones-cientificas-nacionales-depositarias-de-material-biologico>

 - ✓ Material fotográfico, en formato original. Se resguardará los derechos de autor.
 - ✓ Adjuntar las autorizaciones de ingreso a territorios comunales, ACR, ACP, títulos habilitantes, predios rurales cuando corresponda.
 - ✓ Listado taxonómico de las especies de flora y/o fauna silvestre objeto de investigación (colectadas, capturas temporalmente, registros mediante registros directos e indirectos, etc.), de acuerdo con el formato indicado en el siguiente enlace: https://drive.google.com/drive/folders/1E0Y-u0UdEjwY1p76GhhkKC7AaOTYPwvH?usp=drive_link
 - ✓ En caso de no haber realizado colectas, remitir la información del ámbito de estudio, de acuerdo con el formato indicado en el siguiente enlace: https://drive.google.com/drive/folders/1E0Y-u0UdEjwY1p76GhhkKC7AaOTYPwvH?usp=drive_link
 - ✓ Entregar la(s) publicación(es), producto de la investigación realizada en formato digital, (se podrá adjuntar el enlace de acceso al artículo, DOI, etc.) o de lo contrario señalar que no cuenta con publicación. En caso de contar con publicación de tesis de pre o posgrado, indicar el enlace del repositorio en donde se encuentra depositado.

Dicha información podrá ser entregada en formato digital a través de la Mesa de Partes Virtual (<https://apps.serfor.gob.pe/mesadepartesvirtual/#/>) o físico en formato impreso en mesa de partes presencial en cualquiera de las sedes de la ATFFS Selva Central

⁴ Artículo 155 y el Artículo 135 del Reglamento para la Gestión Forestal y el Reglamento para la Gestión de Fauna Silvestre, aprobados con Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI y Decreto Supremo N° 019-2015-MINAGRI, respectivamente; señalan que el material biológico colectado debe ser depositado en Instituciones Científicas Nacionales registradas ante el SERFOR.

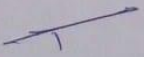
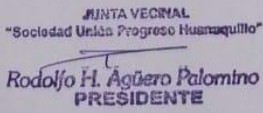
Anexo 3. Autorización para realizar colecta de *S. molle*

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

AUTORIZACIÓN DE INGRESO A COMUNIDAD PARA REALIZAR COLECTA DE MUESTRA VEGETALES NATIVAS

Yo, RODOLFO HUGO AGÜERO PALOMINO, identificado con documento nacional de identidad N° 21137744, domiciliado en Vrb. "ROSALÍA"
Mz "B" LOTE 13- HUANUQUILLO.,
en mi calidad de Presidente JUNTA VECINAL de la Comunidad Campesina/Centro Poblado/otros, SOCIEDAD UNIÓN PROGRESO HUANUQUILLO, autorizo el ingreso de los integrantes del grupo de investigación del proyecto "Valorización de especies vegetales aromáticas comercializadas en la ciudad de Tarma para la obtención de compuestos volátiles usando tecnología de fluidos supercríticos" aprobado con Resolución de Comisión Organizadora N° 0109-2023-UNAAT¹, para realizar colecta de muestras de especies vegetales nativas de acuerdo a la RA N° D000260-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL².

HUANUQUILLO, 14, de SETIEMBRE de 2024

Firma:  

Nombre y Apellidos: RODOLFO H. AGÜERO PALOMINO

Cargo: PRESIDENTE JUNTA VECINAL SO -

Comunidad: CIUDAD UNIÓN PROGRESO HUANUQUILLO

Celular: 938580919

¹ <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/4594935/RCO%200109-2023.pdf?v=1684871350>

² <https://drive.google.com/drive/folders/1x0U8gGgWBYY8aSngtpo1ea9HsnBtc-UM?usp=sharing>

Anexo 4. Constancia de depósito de la muestra *S. molle*



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
LABORATORIO DE DENDROLOGÍA Y HERBARIO



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

CONSTANCIA DE DEPÓSITO

N° 101-2024-HF-UNALM

EL DIRECTOR DEL LABORATORIO DE DENDROLOGIA Y HERBARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

Da Constancia:

Que esta institución ha recibido del Ing. LARRY OSCAR CHAÑI PAUCAR, 4 muestras botánicas (según lista adjunta) en calidad de depósito.

LARRY OSCAR CHAÑI PAUCAR Identificado con DNI N° 43118124, informa que los especímenes provienen del Departamento de Junín; Provincia de Tarma, producto del Proyecto de Investigación: "Valoración de especies vegetales aromáticas comercializadas en la Ciudad de Tarma para la obtención de compuestos volátiles usando tecnología de fluidos supercríticos" y que corresponde a la autorización:

- RA N° D000260-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL

Se expide el presente documento a solicitud del interesado para los fines que hubiere lugar.

Lima, 14 de Octubre 2024.

Carlos Reynel Rodríguez Ph. D.

Profesor Principal, Dpto. Académico de Manejo Forestal
Director del Laboratorio de Dendrología y
Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales (MOL).





UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
CONSTANCIA
N° 101 - 2024 - HF-UNALM



N°	Código de Muestra	No. de Colecta	Familia	Especies	Departamento	Provincia	Distrito	Localidad	Muestras Depósitadas	Autorización
1	52113	LOCP-001	FABACEAE	<i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W.Grimes	Junín	Tarma	Tarma	Comunidad Campesina Vicora Congas	1	RA N° D000260-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL
2	52114	LOCP-002	ANACARDIACEAE	<i>Schinus molle</i> L.	Junín	Tarma	Tarma	Comunidad Campesina Vicora Congas	1	RA N° D000260-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL
3	52115	LOCP-003	ASTERACEAE	<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.	Junín	Tarma	Tarma	Comunidad Campesina Vicora Congas	1	RA N° D000260-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL
4	52116	LOCP-004	LAMIACEAE	<i>Minthostachys mollis</i> (Benth.) Griseb.	Junín	Tarma	Tarma	Huanuquillo	1	RA N° D000260-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-SELVA CENTRAL

*Información proporcionada por el solicitante.



Anexo 5. Constancia de determinación botánica de la muestra *S. molle*



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
LABORATORIO DE DENDROLOGÍA Y HERBARIO



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN BOTÁNICA

A solicitud del Ing. **LARRY OSCAR CHAÑI PAUCAR**, investigador de la **Universidad Nacional Autónoma Altoandina de Tarma** se proporciona la identidad de los especímenes indicados.

La información proporcionada por el depositante sobre las muestras es:

Proyecto : **“Valoración de especies vegetales aromáticas comercializadas en la Ciudad de Tarma para la obtención de compuestos volátiles usando tecnología de fluidos supercríticos”**

Zona de colección : Comunidad Campesina Vicora Congas y Huanuquillo - Tarma

Provincia : Tarma

Departamento : Junín

Colector : Larry Chañi Paucar

N° COL	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	FAMILIA
LOCP-001	<i>Otholobium pubescens</i> (Poir.) J.W. Grimes	“Culen”	FABACEAE
LOCP-002	<i>Schinus molle</i> L.	“Molle”	ANACARDIACEAE
LOCP-003	<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.	“Marco”	ASTERACEAE
LOCP-004	<i>Minthostachys mollis</i> (Benth.) Griseb.	“Muña”	LAMIACEAE

Determinado por:

Carlos Reynel Rodríguez Ph.D.

Profesor Principal, Dpto. Académico de Manejo Forestal
Director del Laboratorio de Dendrología y
Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales (MOL).



La Molina, 29 de Octubre del 2024

Anexo 6. Datos de calibración del caudalímetro



Telephone: 847.549.7600
 800.323.4340
 Fax: 847.247.2929
 E-mail: techinfo@coleparmer.com
 Web: www.coleparmer.com

034-39-GL FLOWMETER CALIBRATION DATA 034/25

CUSTOMER	CUST. P.O. No	REF. CURVE NUMBER
		0396-AM-02

Max. Flow	Min. Flow	Units	Metering Fluid	Date
7485	402	std. ml/min	carbon dioxide	30-Nov-1999

Model Number		Metering Temperature	70.0 °F
Tube Number	034-39-GL	Metering Pressure	14.70 psia
Serial Number		Metering density	0.001835 g/ml
Float Material	glass	Metering Viscosity	0.01470 cp
Float Density	2.53 g/ml	Density at STD.Cond	0.001835 g/ml
STD. Conditions	STP: 1 atm @ 70 °	Accuracy	Standard
Room Temperature	70.0 °F	Barometric Pressure	14.70 psia

SCALE READINGS AT CENTER OF FLOAT	
Scale Reading (mm)	Flow
150	7485
140	7008
130	6586
120	6094
110	5567
100	5117
90	4625
80	4120
70	3633
60	3099
50	2582
40	2065
30	1529
20	991
10	402

Anexo 7. Informe de ensayo N° 0775 – 24 – LABICER



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO LABICER
ANÁLISIS QUÍMICO, CONSULTORÍA E INVESTIGACIÓN



INFORME DE ENSAYO N° 0775 – 24 – LABICER

1. **DATOS DEL CLIENTE**
 - 1.1. NOMBRE / RAZÓN SOCIAL : JOSELIN PAUCARCHUCO SOTO
GERMAN PADILLA PACAHUALA
 - 1.2. D.N.I / R.U.C. : 71083073 / 70832639
 - 1.3. DIRECCIÓN : -
2. **CRONOGRAMA DE FECHAS**
 - 2.1. FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA : 15 / 08 / 2024
 - 2.2. FECHA DE EJECUCIÓN DEL ENSAYO : 20 / 08 / 2024
 - 2.3. FECHA DE EMISIÓN DEL INFORME : 22 / 08 / 2024
3. **ANÁLISIS SOLICITADO** : ANÁLISIS CUALITATIVO Y SEMICUANTITATIVO
4. **DATOS DE LA MUESTRA**
 - 4.1. TIPO DE MUESTRA : VEGETALES Y PRODUCTOS NATURALES
 - 4.2. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA : 01 MUESTRA DE EXTRACTO AROMÁTICO OBTENIDO DE LAS HOJAS DE *SCHINUS MOLLE L.* CON CO₂ SUPERCRÍTICO (0.1343 g)
CODIFICACIÓN : HSM-45150-2
TESIS : "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPOSICIÓN DE METABOLITOS BIOACTIVOS DEL EXTRACTO AROMÁTICO OBTENIDO DE LAS HOJAS DE *SCHINUS MOLLE L.* CON CO₂ SUPERCRÍTICO"
ENVASE DE VIDRIO
 - 4.3. OBSERVACIONES (SI APLICA) :
5. **LUGAR DE RECEPCIÓN Y ANÁLISIS** : LABORATORIO LABICER-UNI
6. **CONDICIONES AMBIENTALES** : Temperatura: 20.5 °C; Humedad relativa: 59 %
7. **EQUIPOS UTILIZADOS**

CROMATÓGRAFO DE GASES. SHIMADZU, GC-2010 Plus.

 - Automuestreador: SHIMADZU, AOC-6000.
 - Detector de espectrometría de masas: SHIMADZU, GCMS-QP210 Ultra.

COLUMNA GC: RESTEK. RTX-5MS, 30m x 0.25 mm ID x 0.25 µm df. Serial: 1346249.
8. **REACTIVOS**
 - Helio UHP (5.0), ≥99.999%
 - n-hexano, P.A. Merck Millipore, EMSURE.
9. **PROCEDIMIENTO**
 - 9.1. **TRATAMIENTO DE MUESTRA**

Se recibió 01 muestra de extracto aromático (descrita en el ítem 4). Se diluyó 0.10 mL de la muestra con n-hexano y se llevó a un volumen de 10 mL.

Se filtró usando filtros de jeringa de 0.45 µm y se trasvasó la muestra diluida y filtrada en un vial, el cual se colocó inmediatamente en el automuestreador del GCMS para su lectura.



9.2. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Análisis por Inyección Líquida

TABLA N°1. Condiciones de Operación		
Equipo GC/MS	GCMS-QP210 Ultra	
Inyección Líquida (AOC-6000)		
Jeringa	LS1-10 µL	
Ciclo de Pre-Enjuague	3	
Ciclos de Enjuague con Muestra	1	
Razón de Flujo de Aspiración	1 µL/s	
Inyector	SPL1	
Razón de Flujo de Inyección	100 µL/min	
Ciclos Post-Enjuague	3	
Volumen de Inyección	2.0 µL	
Puerto de Inyección		
Tipo	Split	
Razón de Split	50.0	
Temperatura	280 °C	
Tipo	Helio	
Modo de Control de flujo	Velocidad Lineal (36.5 cm/sec)	
Flujo de columna	1.00 mL/min	
Flujo de purga	3 mL/min	
Programa de Temperatura de Columna		
<u>Razón</u>	<u>Temperatura</u>	<u>Hold time</u>
-	60 °C	5 min
4 °C/min	220 °C	0 min
11 °C/min	280 °C	15 min

Tiempo total programado: 65.45 min

Detector	
Tipo	Masas
Temperatura de Fuente de iones	250°C
Temperatura de Interface	290°C
Tiempo de corte	2 min
Tiempo de inicio MS	3 min
Energía de ionización	70eV
Modo de adquisición	Scan
Rango SCAN	29-500 m/z
Columna Cromatográfica	
Tipo	Rtx®-5 MS
Dimensiones	30 m x 0.25 mm x 0.25 µm



10. RESULTADOS

PARÁMETRO	RESULTADO	MÉTODO DE REFERENCIA ⁽¹⁾
Análisis cualitativo y semicuantitativo de los componentes de la muestra ^(2,3)	<p>Los componentes de la muestra que presentan mayor área relativa son:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cyclohexanol, 3-ethenyl-3-methyl-2-(1-methylethenyl)-6-(1-methylethyl)-, [1R-(1α,2α,3β,6α)]: 33.42 % • (1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetramethylbicyclo [8.1.0]undeca-2,6-diene: 12.61 % • Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3.alpha.,4.beta.)]: 10.36 % • Lup-20(29)-en-3-one: 6.55% <p>Los compuestos se muestran en la Tabla N°1 (Anexos).</p>	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). (Inyección líquida).

⁽¹⁾ Método de ensayo de referencia o técnica aceptada por el cliente.

⁽²⁾ La identificación (análisis cualitativo) de los compuestos es el resultado probabilístico obtenido por el software del equipo GCMS solution de SHIMADZU utilizando la librería NIST 2014. La probabilidad se mide por el SI (Similarity index) que se encuentra en cada espectro de masa (en el texto superior a la gráfica). Normalmente se usa el rango de SI de 85 a 100.

⁽³⁾ El análisis semicuantitativo se basa en la siguiente fórmula: área relativa del compuesto (%) = (APV/TAP) x100, donde APV: Área de pico individual, TAP: Área de picos totales.

11. VALIDEZ DEL INFORME DE ENSAYO

Los resultados del informe de ensayo sólo son válidos para la(s) muestra(s) ensayadas, descrita(s) en el ítem 4 del presente documento.



Bach. Jesús Utano Reyes
Analista
LABICER – UNI



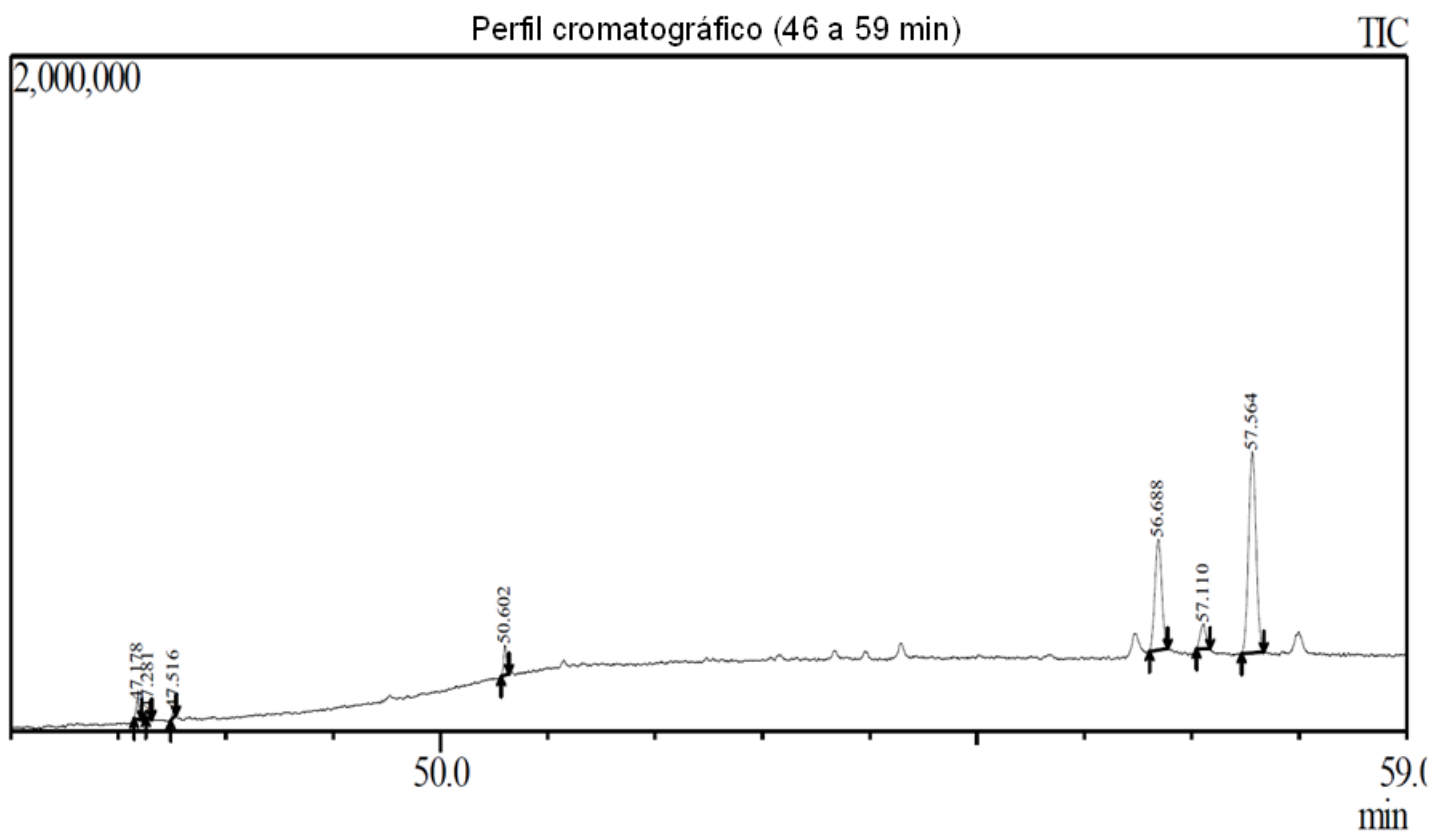
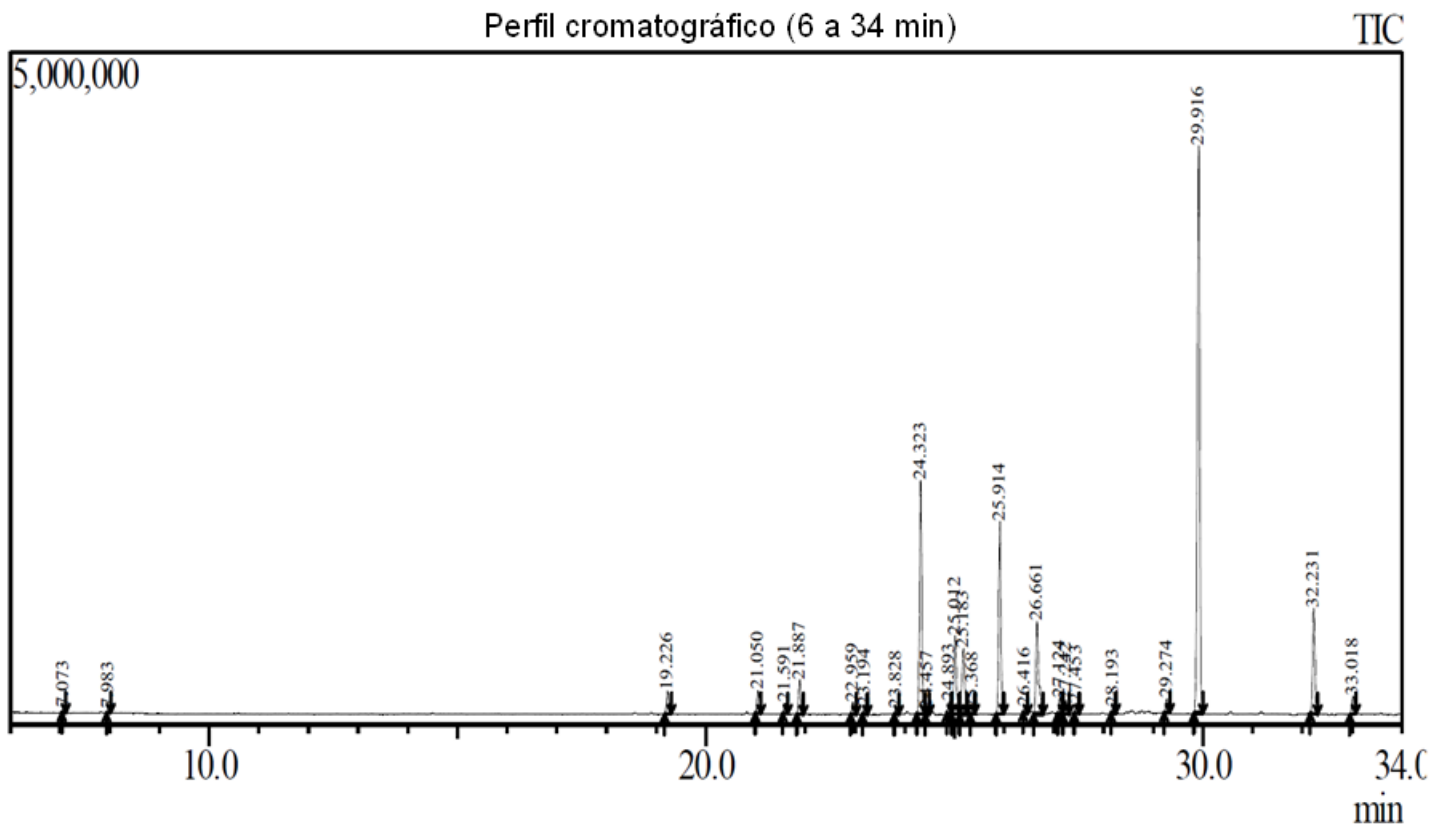
Firmado digitalmente por:
MAZAMEJIA ILY MARILU FIR
10519227 hard
Método: Dey V° 8*
Fecha: 22/08/2024 18:02:38.0500

M.Sc. Ily Marilú Maza Mejía
Jefe de Laboratorio
CQP 1149

NOTAS:

1. LABICER-UNI no se responsabiliza del muestreo ni de la procedencia de la muestra.
2. LABICER-UNI no se hace responsable de la información proporcionada por el cliente, incluidos en los ítems 1 y del 4.1 al 4.2 del presente documento.
3. Los resultados de los ensayos obtenidos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
4. Este documento carece de validez sin sello y firmas correspondientes.

Anexo 8. Perfil cromatográfico del extracto aromático extraído de las hojas de *S. molle* a 150 bar y 45 °C



Anexo 9. Instrumento de recolección de datos

SAMPLE: <i>Schinus Molle L.</i>														
Date: Junio			Totalizer estimate (m ³): 0.192				S/F: 12.1			CO ₂ density (kg/m ³): 1.257				
Static time (min): 10														
Nº	Pressure (bar)	Temperature (°C)	Fluxmeter	Sample weight (g)	Bottle (g)	Bottle + extract (g)	Initial totalizer (m ³)	Final totalizer (m ³)	Time (min)	Extract (g)	Yield (% m/m)	Mean	SD	
1	150	35	50	10.0210	58.3372	58.4528	14.871	14.966	37.07	0.1156	1.15	1.10	0.08	
2	150	35	50	10.0125	53.4444	53.5487	18.158	18.253	40.05	0.1043	1.04			
3	150	45	50	10.0303	55.4447	55.5833	16.220	16.315	36.39	0.1386	1.38	1.36	0.03	
4	150	45	50	10.0297	58.2273	58.3616	13.956	14.051	38.19	0.1343	1.34			
5	150	55	50	10.0088	58.2135	58.3072	15.051	15.146	38.51	0.0937	0.94	0.88	0.08	
6	150	55	50	10.0523	54.5622	54.6449	17.995	18.090	39.04	0.0827	0.82			
7	250	35	50	10.0421	54.9499	55.0782	17.102	17.197	34.58	0.1283	1.28	1.25	0.03	
8	250	35	50	10.0426	57.2645	57.3879	14.429	14.524	33.34	0.1234	1.23			
9	250	45	50	10.0390	56.8243	56.9393	15.297	15.392	35.20	0.1150	1.15	1.18	0.05	
10	250	45	50	10.0169	55.5086	55.6307	17.275	17.370	36.01	0.1221	1.22			
11	250	55	50	10.0392	52.5697	52.7019	14.169	14.264	39.25	0.1322	1.32	1.30	0.03	
12	250	55	50	10.0450	59.0313	59.1597	17.538	17.633	36.24	0.1284	1.28			
13	350	35	50	10.0041	54.3552	54.4662	15.479	15.574	34.05	0.1110	1.11	1.15	0.05	
14	350	35	50	10.0460	55.6114	55.7301	16.838	16.933	34.01	0.1187	1.18			
15	350	45	50	10.0061	55.2241	55.3489	14.602	14.697	35.38	0.1248	1.25	1.27	0.03	
16	350	45	50	10.0165	55.1737	55.3024	16.656	16.751	36.01	0.1287	1.28			
17	350	55	50	10.0399	54.2500	54.3803	15.746	15.841	35.44	0.1303	1.30	1.27	0.03	
18	350	55	50	10.0214	55.5323	55.6575	16.386	16.481	34.34	0.1252	1.25			

Anexo 10. Trabajo desarrollado en los laboratorios del INITA

Preparación y acondicionamiento de la muestra (hojas de *S. molle*)



Proceso de extracción supercrítica



Extracto obtenido de las hojas de *S. molle*



Análisis de capacidad antioxidante de los extractos aromáticos de *S. molle*



Análisis de cromatografía de gases

