

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**PROYECTO DE GRADO**

**“DETERMINACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL MOLLE A PARTIR DE LA  
EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS”**

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO**

**POSTULANTE: JACQUELINE ISABEL LOAYZA NINA**  
**TUTOR: ING. ERLAN WILLIAM ESPINOZA ALARCON**

**LA PAZ – BOLIVIA**

**2024**



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE INGENIERIA**



**LA FACULTAD DE INGENIERIA DE LA UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS AUTORIZA EL USO DE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE DOCUMENTO SI LOS PROPÓSITOS SON ESTRICTAMENTE ACADÉMICOS.**

**LICENCIA DE USO**

El usuario está autorizado a:

- a) Visualizar el documento mediante el uso de un ordenador o dispositivo móvil.
- b) Copiar, almacenar o imprimir si ha de ser de uso exclusivamente personal y privado.
- c) Copiar textualmente parte(s) de su contenido mencionando la fuente y/o haciendo la cita o referencia correspondiente en apego a las normas de redacción e investigación.

El usuario no puede publicar, distribuir o realizar emisión o exhibición alguna de este material, sin la autorización correspondiente.

**TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS. EL USO NO AUTORIZADO DE LOS CONTENIDOS PUBLICADOS EN ESTE SITIO DERIVARA EN EL INICIO DE ACCIONES LEGALES CONTEMPLADAS EN LA LEY DE DERECHOS DE AUTOR.**

## **Dedicatoria**

Este proyecto de grado se lo dedico a Dios, por guiarme siempre por el buen camino y no apartarse de mi en las adversidades.

A mi familia por ellos soy lo que soy, a mi madre que siempre me brindo su apoyo incondicional, por su comprensión y todo su amor, a mi padre que desde el cielo me acompaña, a mis hermanos Victor y Gonzalo quien fue un apoyo indispensable en esta etapa final de mi formación.

A mis pequeñas hijas Camila y Victoria porque día a día son la razón para salir adelante.

## **Agradecimientos**

A mi tutor Ing. Erlan William Espinoza por la amistad y el apoyo brindado, y un agradecimiento a los ingenieros Jorge Vásquez y Eduardo Garay por la paciencia y el esfuerzo hacia mi persona.

A la carrera de Ingeniería Química por abrigarme en sus aulas templo de saber, donde obtuve muchos conocimientos y pasé muy buenos momentos en sus aulas.

A la facultad de bioquímica por haberme abierto las puertas para realizar parte importante de mi proyecto.

A mi madre Rufina porque siempre me brinda su apoyo y amor incondicional.

A mi hermano Gonzalo por que fue una gran mano amiga en este proceso.

## RESUMEN

El presente Proyecto de Grado planteó la extracción del aceite esencial crudo de molle (*Schinus molle* L.) con dióxido de carbono por medio de la técnica de fluidos supercríticos, mediante un proceso de tipo batch (por lotes). Las muestras de la especie vegetal (hojas y tallos) fueron recolectadas de plantas de la zona de Cota Cota, La Paz. Se obtuvo 8.797 gramos de extracto (en el cual se encuentra el aceite esencial crudo de molle) a partir de 500 gr de muestra secada a 40 °C durante 48 horas y molidos a malla 80. Se llevaron a cabo doce pruebas, considerando como principales variables la presión de extracción (150 y 300 bar), la temperatura de extracción (30 °C, 40 °C y 70 °C) y el flujo de extractante (10 y 15 [mL/min]). De estas, la óptima fue la realizada a 300 bar y 40 °C, con un flujo de dióxido de carbono puro de 10 [mL/min], ya que con esta el rendimiento de la extracción fue de 1.7594 %.

Mediante cromatografía gaseosa se estableció la composición química del aceite esencial crudo de molle referida a terpenoides. En base a esto, el rendimiento global del proceso fue de 1.3720 %. El aceite esencial sin refinar de molle tuvo una densidad de 0,912 [g/mL], un pH de 4.92 y un índice de refracción de 1.4762 a 25°C; su punto de ebullición fue de 167.3 °C y su solubilidad fue elevada en éter dietílico y en alcohol etílico, mientras que es prácticamente insoluble en agua. A 25 °C y en 100 gramos de disolvente, se pueden disolver respectivamente 36.3, 19.7 y 2.51 gr, valores que se elevan conforme se incrementa la temperatura. Con base en una comparación teórica de los resultados experimentales con otros bibliográficos, se pudo establecerse que los resultados obtenidos fueron adecuados e incluso superiores a los obtenidos por diversos autores.

**Palabras clave:** molle, aceite esencial, fluidos supercríticos

## ABSTRACT

This Degree Project proposed the extraction of the raw essential oil of molle (*Schinus molle* L.) with carbon dioxide using the supercritical fluid technique, through a batch type process. The samples of the plant species (leaves and stems) were collected from plants in the Cota Cota area, La Paz. 8,797 grams of extract (in which the crude essential oil of molle is found) was obtained from 500 g of sample dried at 40 °C for 48 hours and ground to 80 mesh. Twelve tests were carried out, considering the main The extraction pressure (150 and 300 bar), the extraction temperature (30 °C, 40 °C and 70 °C) and the extractant flow (10 and 15 [mL/min]) are variable. Of these, the optimal one was carried out at 300 bar and 40 °C, with a pure carbon dioxide flow of 10 [mL/min], since with this the extraction yield was 1.7594%.

Using gas chromatography, the chemical composition of the crude molle essential oil was established in terms of terpenoids. Based on this, the overall process efficiency was 1.3720%. The unrefined molle essential oil had a density of 0.912 [g/mL], a pH of 4.92 and a refractive index of 1.4762 at 25°C; Its boiling point was 167.3 °C and its solubility was high in diethyl ether and ethyl alcohol, while it is practically insoluble in water. At 25 °C and in 100 grams of solvent, 36.3, 19.7 and 2.51 grams can dissolve respectively, values that increase as the temperature increases. Based on a theoretical comparison of the experimental results with other bibliographic results, it was established that the results obtained were adequate and even superior to those obtained by various authors.

**Keywords:** molle, essential oil, supercritical fluids

## ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
ÍNDICE DE CONTENIDO .....	3
INDICE DE TABLAS .....	6
INDICE DE FIGURAS .....	7
CAPÍTULO I .....	1
1. Introducción .....	2
1.3.1. Objetivo General.....	3
1.3.2. Objetivos Específicos. ....	3
1.4.1. Justificación Técnica. ....	4
1.4.2. Justificación Académica. ....	4
1.4.3. Justificación Social. ....	5
1.4.4. Justificación Ambiental. ....	5
1.4.5. Justificación Económica. ....	5
CAPÍTULO II.....	7
2. Marco Teórico.....	8
2.1. Molle (Schinus molle L.).....	8
2.1.1. Aspectos Generales. ....	8
2.1.2. Clasificación Taxonómica.....	9
2.1.3. Descripción Botánica del Molle.....	9
2.1.4. Usos.....	11
2.1.5. Aceite Esencial del Molle. ....	13
2.2. Extracción con Fluidos Supercríticos.....	13
2.2.1. Generalidades. ....	13
2.2.2. Características.....	16
2.2.3. Instrumentación para EFS. ....	17
2.2.4. Proceso de Extracción Supercrítica.....	19
2.2.5. Ventajas y desventajas. ....	20

2.2.6. Tipos de EFS.....	21
2.2.7. Optimización de las condiciones de extracción.....	21
2.2.7.1. Influencia de la presión.....	22
2.2.7.2. Influencia de la temperatura.....	22
2.2.7.3. Influencia de la velocidad del fluido.....	22
2.2.7.4. Adición de un modificador.....	23
2.2.7.5. Influencia de la naturaleza de la matriz.....	23
2.3. Propiedades Físicas de Fluidos Supercríticos.....	23
CAPÍTULO III.....	27
3. Descripción de la Metodología.....	28
3.1. Materia Prima, Materiales, Reactivos y Equipos.....	28
3.1.1. Materia Prima.....	28
3.1.2. Materiales, Reactivos y Equipos.....	28
3.2. Pruebas.....	29
3.3. Análisis.....	29
3.4. Procedimiento experimental.....	30
3.4.1. Diagrama de flujo.....	30
3.4.2. Obtención de la Materia Prima.....	32
3.4.3. Separación y selección.....	32
3.4.4. Secado, Molienda y Tamizado de Muestra (Hojas y Tallos).....	32
3.4.5. Extracción del Aceite Esencial de Molle.....	32
3.4.6. Cromatografía.....	33
3.4.7. Caracterización Físicoquímica.....	34
3.4.8. Envasado y Almacenado.....	34
CAPÍTULO IV.....	35
4. Trabajo Desarrollado.....	36
4.1. Pruebas Realizadas.....	36
4.2. Cálculos.....	37
4.2.1. Extracción con Dióxido de Carbono Supercrítica.....	37
CAPÍTULO V.....	39
5. Resultados.....	40



5.1.	Resultados para cada Prueba .....	40
5.2.	Composición Química del Extracto de la Prueba Óptima .....	42
5.3.	Rendimiento Global y Comparación con Valores Bibliográficos .....	47
5.4.	Propiedades Fisicoquímicas.....	47
CAPÍTULO VI .....		49
6.	Conclusiones.....	50
CAPÍTULO VII .....		51
7.	Recomendaciones .....	52
CAPÍTULO VIII .....		53
8.	Bibliografía.....	54
CAPÍTULO IX .....		57
9.	Anexos.....	58
Anexo A. Reporte de Laboratorio .....		58
Anexo B. Imágenes del Manual .....		59
Anexo C. Imágenes del Equipo de Extracción de Fluidos Supercríticos .....		63
Anexo D. Imágenes de las Muestras .....		70

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Propiedades críticas de las sustancias más comúnmente empleadas en condiciones supercríticas .....	14
<b>Tabla 2.</b>	Valores de densidad, viscosidad y coeficiente de difusión para gases, fluidos supercríticos y líquidos .....	16
<b>Tabla 3.</b>	Principales ventajas y desventajas de la EFS .....	20
<b>Tabla 4.</b>	Condiciones operativas de cada prueba .....	36
<b>Tabla 5.</b>	Parámetros fisicoquímicos y organolépticos del molle empleado .....	37
<b>Tabla 6.</b>	Porcentaje másico útil y masas totales necesarias para cada prueba .....	37
<b>Tabla 7.</b>	Masas de extracto en función del tiempo para cada prueba .....	40
<b>Tabla 8.</b>	Rendimiento en función del tiempo (prueba 8) .....	41
<b>Tabla 9.</b>	Composición porcentual de los terpenoides del extracto .....	43
<b>Tabla 10.</b>	Solubilidad [g] del aceite esencial de molle obtenido en 100 [g] de diversos solventes .....	48
<b>Tabla 11.</b>	Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de molle obtenido .....	48

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Descripción botánica del molle: a) aspecto general, b) tronco y corteza, c) hojas y frutos, d) inflorescencias y flores.....	11
<b>Figura 2.</b> Diagrama de fases sólido/líquido/gas .....	14
<b>Figura 3.</b> Variación de la densidad en función de la presión y temperatura en las cercanías del punto crítico .....	17
<b>Figura 4.</b> Esquema de la instrumentación necesaria para la extracción con fluidos supercríticos.....	18
<b>Figura 5.</b> Ubicación del lugar de obtención de materia prima .....	28
<b>Figura 6.</b> Diagrama de flujo del proceso experimental .....	30
<b>Figura 7.</b> Gráfico de la masa de extracto en función del tiempo (prueba 8).....	41
<b>Figura 8.</b> Curva de extracción: rendimiento en función del tiempo (prueba 8).....	41
<b>Figura 9.</b> Cromatograma del extracto de la prueba 8 .....	42
<b>Figura 10.</b> Imágenes de la muestra sometida a cromatografía .....	43

**CAPÍTULO I**  
**INTRODUCCIÓN**

## 1. Introducción

### 1.1. Antecedentes

El uso de plantas con propiedades curativas es una práctica ancestral que se ha mantenido hasta nuestros días. Por lo general, se utilizan algunos órganos de las mismas como hojas o flores y en ocasiones, tallos y raíces, consumiéndose de forma directa, en infusiones o en presentaciones homeopáticas (pastillas o soluciones que contienen solo una pequeña cantidad de un ingrediente activo). No obstante, a pesar que en los últimos años se ha desarrollado una serie de investigaciones para obtener el mayor beneficio posible de este tipo de plantas, aún se desconoce el principio activo químico de varias de estas, que son relacionadas con efectos benéficos de distinta índole.

En la actualidad, la implementación de nuevas tecnologías y procedimientos en procesos para la extracción de compuestos químicos orgánicos de alta pureza (aceites esenciales y extractos de plantas aromáticas), ha permitido aprovechar más eficientemente los mismos, mejorando su procesamiento y conservación por más tiempo sin afectar sus propiedades para ser comercializados; siendo utilizados en la industria de distintos productos farmacéuticos, cosmetológicos, aromatizantes, entre otros; asegurando además su uso por parte de la población.

En los últimos años se han realizado investigaciones referidas a la técnica de extracción con fluidos supercríticos, misma que utiliza dióxido de carbono al someterlo a cierta temperatura y presión para que se convierta en un fluido supercrítico, es decir por encima de su punto crítico termodinámico, adquiriendo la propiedad de difundirse a través de los sólidos como un gas y de disolver los materiales como un líquido.

Los fluidos supercríticos tienen la capacidad de extraer ciertos compuestos químicos de muestras sólidas complejas, con el uso de determinados solventes específicos bajo la combinación de temperatura y presión; esto permite extraer selectivamente algunas sustancias de interés, sin dejar rastros del solvente en el extracto final, garantizando un producto de calidad superior. Además, la extracción con esta técnica reduce o elimina el uso o producción de sustancias peligrosas para el medio ambiente, reduce el tiempo, costo de elaboración y el número de operaciones unitarias para la transformación.

El género *Schinus* (Anacardiaceae) incluye especies productoras de aceites esenciales con aroma especiado agradable. Una de las principales especies de este género es el molle (*Schinus molle* L.), que ha generado interés debido a que el uso de sus hojas, frutos, corteza y

resina, se ha relacionado a distintos ámbitos, destacándose el medicinal, ya que se utiliza como antibacterial, analgésico, antimicrobial, antidepresivo, astringente, antiviral, antifúngico, antiespasmódico, balsámico, citotóxico, diurético, expectorante, hipotensivo, purgativo, estomáquico, tónico, uterino y estimulante.

El presente trabajo de investigación plantea la extracción del aceite esencial del molle por medio de la técnica de fluidos supercríticos, a fin de generar información acerca de este procedimiento que, es poco común en nuestro medio por los costos de instalación de los equipos de alta presión que se requieren para su cometido; asimismo, en nuestro país aún no se tiene suficientes estudios de esta especie arbórea para favorecer su aprovechamiento.

## **1.2. Planteamiento del Problema**

Existen varios procesos que son más comunes y conocidos para la extracción de aceites esenciales con diferentes solventes químicos, los cuales tienen algunas desventajas con respecto a la calidad del producto, necesitando que se realicen procesos de purificación para así poder disminuir la cantidad de solvente que suele quedar en el producto extraído.

Sin embargo, en la extracción con fluidos supercríticos se utiliza el dióxido de carbono, el tiempo de extracción se reduce y tiene rendimientos más altos, las operaciones se realizan en temperaturas que no degradan algunos de los componentes, además de la ausencia de solvente en el extracto.

En Bolivia aún no hay mucha información acerca de la extracción del aceite del molle por fluidos supercríticos, ni de las características que tiene dicho aceite obtenido mediante este proceso.

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1. Objetivo General.**

- ✓ Realizar la extracción con fluidos supercríticos del aceite esencial crudo de molle (*Schinus molle L.*) utilizando dióxido de carbono puro como extractante.

### **1.3.2. Objetivos Específicos.**

- ✓ Establecer las pruebas a realizar de acuerdo a un programa de mezclas, identificando las principales variables en la extracción con fluidos supercríticos.

- ✓ Establecer la composición química del aceite esencial crudo de molle mediante cromatografía gaseosa.
- ✓ Determinar las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial sin refinar de molle.
- ✓ Calcular el rendimiento de la extracción por fluidos supercríticos.
- ✓ Realizar una comparación teórica de los resultados de la extracción por fluidos supercríticos con otras técnicas de extracción y con otros resultados bibliográficos.

#### **1.4. Justificación**

##### **1.4.1. Justificación Técnica.**

La intención de realizar la extracción de aceite esencial de molle por medio de extracción con fluidos supercríticos nace de la necesidad de ampliar conocimientos sobre métodos de extracción existentes.

La extracción mediante fluidos supercríticos son particularmente buenos disolventes debido a su capacidad para disolver sustancias de forma similar a los disolventes orgánicos, y debido a que su viscosidad y coeficiente de difusión son próximos a los de los gases, facilitando así las propiedades de transporte de estos fluidos. Además, puesto que la tensión superficial de los fluidos supercríticos es igual a cero, estos fluidos son particularmente adecuados para la extracción de sustancias contenidas en matrices sólidas. Otra ventaja en el uso de los fluidos supercríticos es la posibilidad de cambiar su poder de solvatación por variaciones de la presión y/o temperatura del fluido, permitiendo así la extracción fraccionada de los solutos, y la recuperación completa del disolvente mediante simples ajustes de la presión.

##### **1.4.2. Justificación Académica.**

Con el presente trabajo se desea realizar un aporte sobre el estudio de la extracción de aceites esenciales por un método que se caracteriza por ser considerado como química verde, utilizando el dióxido de carbono en condiciones supercríticas. Para ello se aplicaron conocimientos de Operaciones Unitarias III, Fisicoquímica, Termodinámica, Química Analítica Cualitativa y Cuantitativa y Química Orgánica.

Con el uso de los conocimientos adquiridos, nos disponemos a conocer más del molle y del principio activo del mismo, lo cual es importante porque los principios activos son los que ejercen una acción farmacológica cuando es utilizada en medicamentos, también participando en la cosmética al ser parte de productos ayudando a cumplir su función.

### **1.4.3. Justificación Social.**

Uno de los principales beneficios de involucrarse en la producción de aceites esenciales, es que podría generarse ingresos de los mismos, al mismo tiempo que se dejaría de importarlos, asimismo, podría ayudar a generar empleos.

El molle es una planta que se puede encontrar en muchos lugares de La Paz, sin embargo, no existe un lugar específico que se dedique especialmente al cultivo del mismo, con este trabajo se pretende mostrar también las propiedades que contiene y por lo tanto crear conciencia para que se pueda tomar más interés en el cultivo de esta planta medicinal.

### **1.4.4. Justificación Ambiental.**

Debido a que muchos procesos involucran en su desarrollo compuestos nocivos, lo que se pretende es minimizar el uso de los mismo, y ya que se conoce el dióxido de carbono es conocido como un disolvente verde, medioambientalmente favorable.

Lo ya mencionado es una de las ventajas de la extracción supercrítica utilizando como solvente el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) mismo que a su vez nos permite obtener un extracto libre de impurezas, por lo que no será necesario utilizar otros compuestos para poder purificar el extracto final.

### **1.4.5. Justificación Económica.**

El sector de aceites esenciales está conformado por aquellas empresas que son fabricantes de aceites esenciales, generalmente de exportación y que producen fragancias, extractos de plantas y especias, de cítricos, de plantas medicinales, aromas naturales, entre otros.

Debido a que muchos procesos involucran en su desarrollo compuestos nocivos, lo que se pretende es minimizar el uso de los mismo, y ya que se conoce el dióxido de carbono es considerado parte de química verde porque no queda residuos en el extracto y evita necesitar de otros compuestos para realizar purificaciones.

## **1.5. Metas**

- Extraer satisfactoriamente el aceite esencial crudo de molle con dióxido de carbono puro.
- Obtener el máximo rendimiento posible mediante la extracción con fluidos supercríticos, con base en un programa de mezclas.



- Conocer la composición química y las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial crudo de molle obtenido.

### **1.6. Alcance**

El presente Proyecto de Grado propone la extracción del aceite esencial crudo de molle con dióxido de carbono supercrítico puro, mediante un proceso de tipo batch (por lotes). Este aceite no se someterá a refinación, pero se caracterizará (composición química y propiedades fisicoquímicas) para garantizar que la extracción fue exitosa en relación a la separación de los principales terpenoides del molle utilizado (plantas de la zona de Cota Cota, La Paz, Bolivia). Este permite sentar un precedente en la extracción y obtención de aceite esencial de molle, que puede ser utilizado en la industria farmacéutica y cosmética, para lo que deberán realizarse análisis adicionales posteriormente.





**CAPÍTULO II**  
**MARCO TEÓRICO**

## 2. Marco Teórico

### 2.1. *Molle (Schinus molle L.)*

#### 2.1.1. Aspectos Generales.

El molle (*Schinus molle L.*) también conocido como “árbol pimentero” y “salsa aroeira”, es una especie arbórea de hojas perennes originaria de Perú que se ha extendido en toda el área andina (Bolivia, Chile y Ecuador) a altitudes de hasta 3.650 m.s.n.m.; no obstante, como especie introducida se encuentra ampliamente distribuida en México, Centroamérica y en el sur de California y oeste de Texas, en Estados Unidos (Gómez, 2017).

La palabra *Shinus* se deriva del nombre “shinos” de una planta de la especie lentisco (*Pistacia lentiscus*) de origen griego, un árbol muy parecido al molle; además es una especie arbórea perteneciente a la familia Anacardiaceae, ya que provoca una resina olorosa que tienen características muy similares a la de la especie lentisco. Por otra parte, la palabra *molle* es referido al nombre genérico para esta planta, el cual fue asignado por el científico francés Tournefort. Sin embargo, algunos autores y especialistas han señalado que el término no deriva de la palabra latina “molle” (flojo) sino que proviene de la palabra quechua “mulli” (Ramírez y Soto, 2018).

Por otra parte, el molle es una especie arbórea que prospera naturalmente a orillas de caminos, en áreas con vegetación secundaria, en lomeríos, en pedregales, en terrenos agrícolas y pendientes. Asimismo, se desarrolla y crece adecuadamente en clima subtropical, semiárido, cálido-templado, templado húmedo y templado seco. A pesar de no tener exigencias en relación al suelo, prefiere suelos arenosos y tolera suelos pedregosos, pobres, salinos o calizos compactados y con texturas pesadas. Tolerancia la proximidad al mar, la contaminación y la exposición ventosa (Rondón, 2021).

Es considerado como un árbol de alta sobrevivencia y con una gran capacidad competitiva debido a que captura agua, luz y nutrientes de manera eficiente. Presenta rápido crecimiento cuando es joven, alcanzando tres metros de altura en un año y puede vivir alrededor de cien años, produce una gran cantidad de biomasa y tiene facilidad de aclimatación. Es importante resaltar que es un árbol que presenta alelopatía, es decir, que inhibe el desarrollo y/o crecimiento de las plantas vecinas. Su descomposición foliar es lenta y moderadamente lenta en frutos y madera (Clemente y Paucar, 2017).

### 2.1.2. Clasificación Taxonómica.

Según Carrión (2010) y Ramírez y Soto (2018), la clasificación taxonómica de esta especie arbórea es la siguiente:

<b>Reino:</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sub Reino:</b>	<i>Traqueobionta</i>
<b>Super División:</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>Filo:</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sub Clase:</b>	<i>Rosidas</i>
<b>Orden:</b>	<i>Sapindales</i>
<b>Familia:</b>	<i>Anacardiaceae</i>
<b>Género:</b>	<i>Schinus</i>
<b>Especie:</b>	<i>Molle</i>

### 2.1.3. Descripción Botánica del Molle.

De acuerdo a lo mencionado por Rondón (2021), Ramírez y Soto (2018), Gómez (2017), Sánchez (2014) y Carrión (2010), el molle presenta la siguiente descripción botánica:

- a) **Aspecto general:** es un árbol perennifolio que tiene de 4 a 8 metros aproximadamente de altura y puede llegar hasta los 15 metros de altura, tiene un diámetro de 25 a 35 metros a la altura del pecho. Asimismo, presenta una copa redondeada y abierta proporcionando sombra moderada, tiene un fuste muy robusto y nudoso; su corteza es agrietada, es de color claro y se distingue porque sus hojas son láminas resinosas, alargadas y muy olorosas al estrujar. Su follaje es abierto, denso y perenne con ramas y ramillas notablemente colgantes (ver figura 1A).
- b) **Tronco y corteza:** su tronco es nudoso y la corteza es de color marrón oscuro, fisurada y rugosa con una madera dura y compacta.
- c) **Ramas:** son de color verde, marrón y/o rojizo, muy regulares, lisas, resinosas, pendulares, flexibles, colgantes, abiertas y con un diámetro aproximando de 3 a 5 milímetros.
- d) **Hojas:** alternas esparcidas y compuestas imparipinnadas con una longitud aproximada de 20 a 30 cm y con el raquis doblemente acanalado. Folíolos de 16 a 20 pares lanceolados y con una longitud de 2 a 4 centímetros x 0.4 a 0,8 centímetros de ancho. El ápice agudo tiene

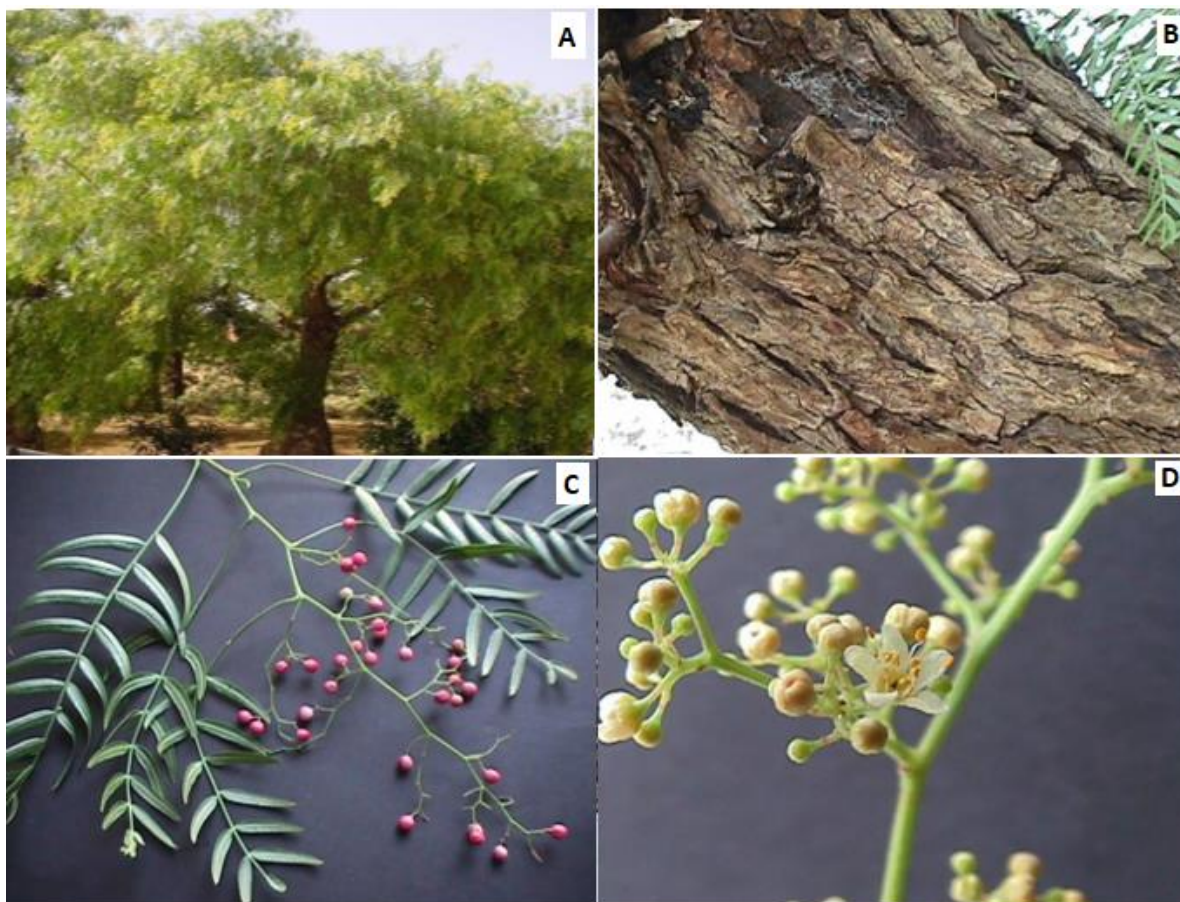
un breve (1 milímetro) acumen y en caso denticulado o tridentado tiene una base algo inequilateral y aguda. Sus bordes son enteros, a veces denticulado irregularmente, nerviación pinnada con 22 a 26 pares de nervios secundarios. Sus láminas son resinosas, sésiles, cartáceas, glabras y olorosas a trementina.

- e) **Inflorescencias:** se presentan en axilares laxas de una longitud de 10 o más centímetros aproximadamente, además de portar numerosas flores.
- f) **Flores:** son unisexuales, pequeñas, actinomorfas que tienen una longitud de 3 milímetros incluyendo el pedúnculo y su cáliz tiene una longitud de 1 milímetro. Las flores masculinas se caracterizan por tener de 8 a 10 estambres con filamentos libres que están insertados en un disco nectarífero; mientras que las flores femeninas tienen de 8 a 10 estaminodios con ovario superior, estilo trifurcado y un pistilo de 1 milímetro de longitud aproximadamente. En Bolivia florece de octubre a noviembre.
- g) **Frutos:** son drupas globosas – ovoides, algo aplanadas que tienen un diámetro de 4 a 5 milímetros de color rojizo o rosado, secos, con el pericarpio membranoso y fuerte olor resinoso al estrujar. Además, su superficie es lisa y el peso promedio de los frutos es de 0.034 gramos, cada fruto contiene una a dos semillas. En Bolivia fructifica de abril a mayo. La dispersión de las semillas es zoocórica, principalmente por aves.
- h) **Semilla:** se encuentra rodeada por el endocarpo del fruto, presenta una forma oblonga, comprimida, de 2 a 2,5 milímetros de largo. La testa es de color castaño claro, lisa, lustrosa, membranosa, muy delgada. El embrión bien diferenciado, es recto o ligeramente curvo, comprimido o globoso, de color amarillo crema y ocupa toda la cavidad de la semilla. Tiene dos cotiledones grandes, carnosos, oblongos. La radícula es corta, inferior. Carece de endospermo.
- i) **Raíz:** sistema radical extendido y superficial.



**Figura 1**

*Descripción botánica del molle: a) aspecto general, b) tronco y corteza, c) hojas y frutos, d) inflorescencias y flores*



*Nota:* extraído de [www.plantasyhongos.es](http://www.plantasyhongos.es) (s.f.)

#### **2.1.4. Usos.**

De acuerdo a lo mencionado por Rondón (2021), Ramírez y Soto (2018), Gómez (2017), Sánchez (2014) y Carrión (2010), los principales usos que se le da al molle son los siguientes:

- a) **Aromatizante**, todo el árbol despiden un intenso olor perfumado debido a la presencia de abundantes aceites esenciales y volátiles.
- b) **Base para chicle**, su resina blanquecina (exudado) es usada en Sudamérica como goma de mascar, ciertos estudios mencionan que fortalece las encías y sana las úlceras de la boca.
- c) **Colorantes**, el cocimiento de hojas, ramas, corteza y raíz se emplea para el teñido amarillo pálido de tejidos de lana.
- d) **Combustible**, su madera es utilizada como leña y carbón.

- e) **Comestible**, con los frutos de la especie es posible preparar una bebida refrescante. En México se elaboran bebidas mezclándolas cierto tipo de bebidas fermentadas.
- f) **Condimento/Especias**, los frutos secos se han empleado en algunos países para adulterar la pimienta negra por su sabor semejante. Aunque su uso es cada vez menor ya que afecta la salud.
- g) **Cosmético/Higiene**, de las hojas se extrae un aceite aromatizante que se usa en enjuagues bucales y como dentífrico. Las semillas contienen aceites de los cuales se obtiene un fijador que se emplea en la elaboración de perfumes, lociones, talcos y desodorantes.
- h) **Curtiente**, su corteza puede ser utilizada para teñir pieles.
- i) **Forrajero**, su fruto se constituye en un importante alimento para pájaros.
- j) **Implementos de trabajo**, su madera es utilizada para la fabricación de mangos de herramientas, estacas, enseres rurales y fustes de sillas de montar.
- k) **Industrializable**, la resina se podría utilizar en la fabricación de barnices. Su ceniza rica en potasa se le usa como blanqueador de ropa; así mismo, en la purificación del azúcar.
- l) **Insecticida**, el aceite esencial de las hojas y frutos ha mostrado ser un efectivo repelente de insectos, particularmente contra la mosca casera. El fruto puede contener 5 % de aceite esencial y las hojas 2 por ciento.
- m) **Melífera**, sus flores permiten actividades de apicultura.
- n) **Medicinal**, la hoja, el fruto, corteza y resina de esta especie se utiliza como analgésico, antibacterial, antidepresivo, antimicrobial, antifúngico, antiviral, antiespasmódico, astringente, balsámico, citotóxico, diurético, expectorante, hipotensivo, purgativo, estomáquico, tónico, uterino, estimulante.

Se recomienda para padecimientos digestivos (cólicos, bilis, dolor de estómago y estreñimiento) y se emplea como purgante y diurético. Las hojas (en cocimiento o machacadas) se usan para lavados en casos de enfermedades venéreas (gonorrea), ojos irritados, conjuntivitis y cataratas. La infusión de la corteza disminuye las inflamaciones y favorece la cicatrización de las úlceras. La resina es sumamente peligrosa, pero se ha usado en dolor de muelas, dientes picados y para cicatrizar heridas. Las ramas maceradas como papilla o hervidas para su aplicación local o remojadas en alcohol, se emplean para molestias del reumatismo y otros dolores musculares. La planta entera se usa externamente para fracturas y como un antiséptico local. En inhalación las hojas (muchas veces mezcladas con hojas de eucalipto) se usan para

aliviar resfriados, afecciones bronquiales, hipertensión, depresión y arritmia. Mezclada la corteza con las hojas, sirve para la hinchazón y dolor en enfermedades venéreas y genito-urinarias. La cocción de su corteza es un remedio en pies hinchados y purgante para animales domésticos.

### 2.1.5. Aceite Esencial del Molle.

El aceite esencial de las hojas frescas posee actividad antibacterial, antiviral y antifúngica. Las siguientes bacterias y hongos exhiben una sensibilidad significativa al aceite:

- Bacterias: *Klebsiella pneumoniae*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Leuconostoc cremoris*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Clostridium sporogenes*, *Acinetobacter calcoacetica*, *Escherichia coli*, *Beneckea natriegens*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis* y *Brochothrix thermosphacata*.
- Hongos: *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium culmorum* y *Alternaria alternata*.

## 2.2. Extracción con Fluidos Supercríticos

### 2.2.1. Generalidades.

Un fluido supercrítico es un estado de la materia en la que se encuentra bajo condiciones de presión y temperatura superior a su punto crítico, en el que no se pueden distinguir el estado gaseoso del estado líquido. En este punto el compuesto es compresible, comportándose como un gas y tiene la densidad de un líquido y por lo tanto su poder disolvente (Reyes, 2018 y Luque de Castro *et al.*, 1993).

La figura 2 presenta un diagrama de fases, las curvas de fusión, sublimación y vaporización muestran las zonas de coexistencia de dos fases. Tan solo hay un punto de coexistencia de tres estados, el llamado punto triple (PT). El punto crítico (PC) se encuentra marcado al final de la curva del equilibrio líquido-gas, y el área sombreada indica la región de fluido supercrítico. El punto crítico de un compuesto se encuentra en la intersección de la temperatura y la presión crítica (Bhimanagouda *et al.*, 2009).

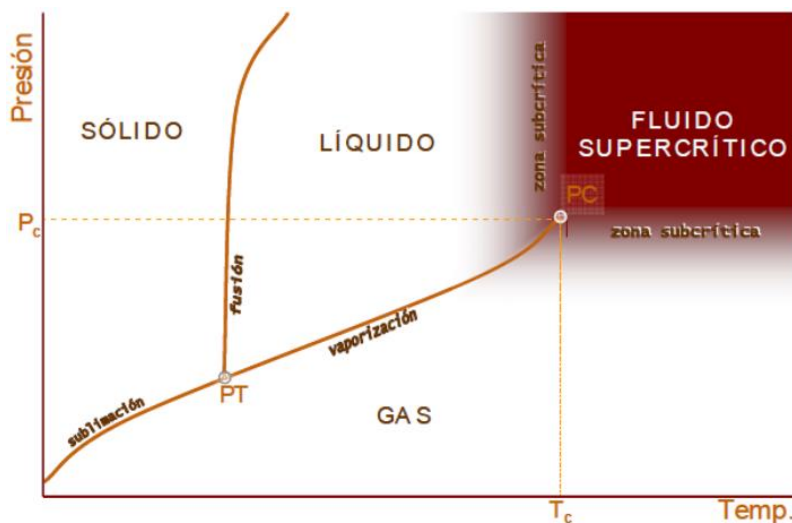
- **Temperatura crítica:** por encima de esta temperatura el componente gaseoso del compuesto puro no puede ser licuado sin importar la presión aplicada.



- **Presión crítica:** por encima de esta presión, el componente líquido del compuesto puro no puede ser evaporado sin importar la temperatura aplicada.

**Figura 2**

*Diagrama de fases sólido/líquido/gas*



*Donde: PT: Punto Triple, PC: Punto Crítico, P<sub>c</sub>: Presión crítica, T<sub>c</sub>: Temperatura crítica*

Fuente: Mendiola (2008).

Tanto el punto triple como el punto crítico son característicos de cada sustancia. En la tabla 1 se presentan las condiciones de presión y temperatura que definen el punto crítico de algunas de las sustancias más estudiadas.

**Tabla 1**

*Propiedades críticas de las sustancias más comúnmente empleadas en condiciones supercríticas*

Compuesto	Peso molecular (g/mol)	Presión crítica (bar)	Temperatura crítica (°C)	Densidad crítica (g/ml)
Dióxido de carbono	44,01	72,0	31,1	0,5
Agua	18,02	214,8	374,2	0,3
Amoniaco	17,03	109,8	132,5	0,2

<b>Compuesto</b>	<b>Peso molecular (g/mol)</b>	<b>Presión crítica (bar)</b>	<b>Temperatura crítica (°C)</b>	<b>Densidad crítica (g/ml)</b>
Argón	39,95	48,6	-122,4	0,7
Acetona	58,08	47,0	235,0	0,3
Etanol	4607,00	72,0	243,4	0,3
Metanol	32,04	78,9	239,0	0,3
Metano	16,04	46,0	-82,6	0,2
Etano	30,07	47,6	32,3	0,2
n-Propano	44,10	42,4	96,7	0,2
n-Butano	51,12	70,6	152,0	0,2
n-Pentano	72,15	32,9	196,0	0,2
n-Hexano	86,16	30,1	234,2	0,2
Dimetiléter	46,07	52,6	126,2	0,3
Dietiléter	74,12	63,8	193,6	0,3
Piridina	79,10	56,3	347,0	0,3

Fuente: Mendiola (2008).

El fluido supercrítico más usado es el dióxido de carbono. Hay varias razones que lo explican. En primer lugar, el CO<sub>2</sub> es barato y está disponible comercialmente incluso con una alta pureza. No es inflamable ni tóxico, a diferencia de muchos disolventes orgánicos. La temperatura y presión crítica son moderadas (31,1 °C y 72,84 atm). Estas condiciones lo convierten en un disolvente adecuado para la extracción de compuestos termosensibles. Desde el punto de vista del proceso, al ser un gas a temperatura ambiente es seguro de manejar y no deja residuos de disolvente en los productos finales.

Pero también tiene desventajas, debido a que no es polar, la extracción de analitos polares puede ser un desafío. Esto se puede mejorar mediante la adición de una pequeña cantidad de disolvente modificador polar o un agente tensioactivo (Reyes, 2018 y Mendiola, 2008).

### 2.2.2. Características.

Los fluidos supercríticos poseen unas propiedades fisicoquímicas únicas que los hacen atractivos como disolventes de extracción, tal como se muestra en la tabla 2. Con respecto a la cinética, su viscosidad es 5 - 20 veces menor que la de los líquidos ordinarios: los coeficientes de difusión de solutos son, en consecuencia, mayores. Esto proporciona claramente un medio para extracciones más rápidas y eficientes en comparación con fases líquidas clásicas, debido a una penetración más rápida y más completa en las matrices sólidas.

**Tabla 2**

*Valores de densidad, viscosidad y coeficiente de difusión para gases, fluidos supercríticos y líquidos*

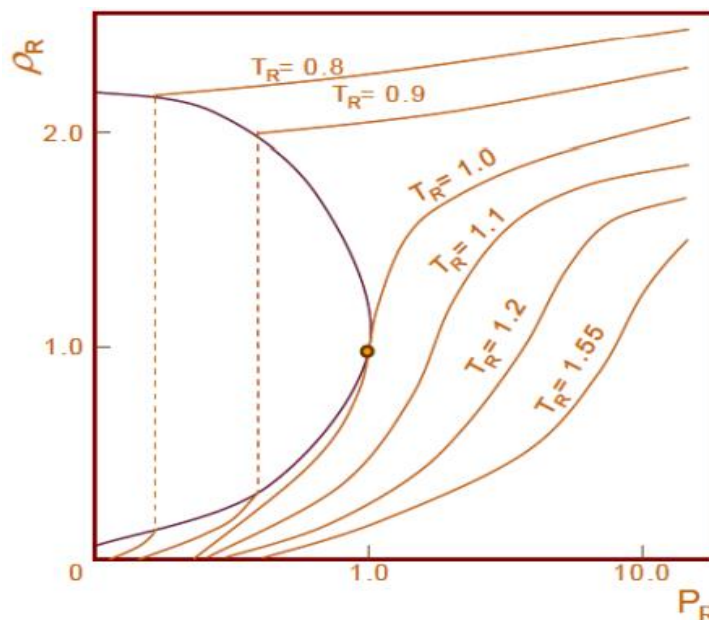
<b>Fluido</b>	<b>Densidad (g cm<sup>-3</sup>)</b>	<b>Viscosidad (Pa s)</b>	<b>Coefficiente de difusión (cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>)</b>
Gas	(0,6 - 2) x 10 <sup>-3</sup>	(1 - 3) x 10 <sup>-5</sup>	0,1 - 1,0
Fluido supercrítico	0,2 - 0,9	(1 - 3) x 10 <sup>-4</sup>	(0,1 - 5) x 10 <sup>-4</sup>
Líquido	0,6 - 1,6	(0,2 - 3) x 10 <sup>-3</sup>	(0,2 - 3) x 10 <sup>-5</sup>

Fuente: Leyendecker et al., 1987 citado por Reyes (2018).

Desde un punto de vista termodinámico, los fluidos supercríticos tienen densidades 100 - 1000 veces mayores que los gases, lo que les da un poder de solvatación más cercano a la de los líquidos. Además, su densidad está estrechamente relacionada con la presión y, en menor extensión, la temperatura, tal como se observa en la figura 3.

**Figura 3**

*Variación de la densidad en función de la presión y temperatura en las cercanías del punto crítico*



Donde:  $PR$ ,  $TR$  y  $Pr$  son las variables reducidas ( $PR=P/PC$ ,  $TR=T/TC$  y  $\rho R=\rho/\rho C$ )

Fuente: Mendiola (2008).

Como la fuerza de extracción de un fluido supercrítico está directamente relacionada con su densidad (puede ser descrito por la correlación empírica

$$\delta = 1.25 \cdot P_c^{\frac{1}{2}} \cdot \left( \frac{\rho_g}{\rho_l} \right)$$

Donde  $\delta$  es el parámetro de solubilidad de Hildebrand,  $P_c$  es la presión crítica del fluido,  $\rho_g$  es la densidad del fluido supercrítico, y  $\rho_l$  es la densidad del fluido en su estado líquido, la capacidad de solvatación de un fluido supercrítico hacia una especie puede ser fácilmente modificada cambiando la presión y/o la temperatura de extracción (Leyendecker et al., 1987 y Reyes, 2018).

Eso permite el ajuste de una gran escala de valores de densidad y la extracción selectiva de compuestos variando la presión de extracción.

### 2.2.3. Instrumentación para EFS.

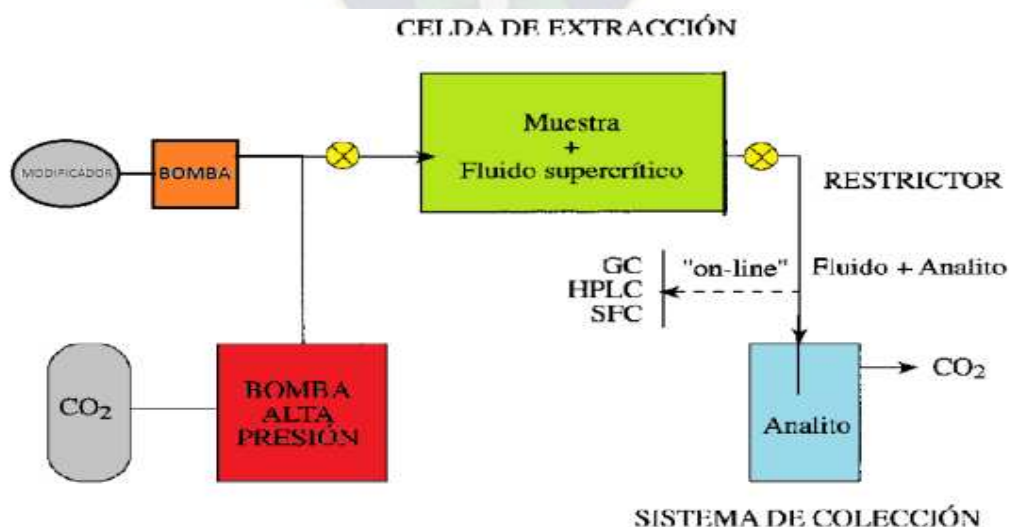
La figura 4 ilustra la instrumentación requerida para realizar una EFS, el proceso comienza con una fuente limpia de fluido, que en la mayoría de los casos es una botella de alta

presión de CO<sub>2</sub>. Una bomba se usa para aumentar la presión del fluido por encima de su presión crítica. La presión de extracción de trabajo está determinada por la densidad requerida para disolver los analitos de interés de la muestra. La muestra está contenida en la cámara de extracción, que se calienta a la temperatura de extracción deseada por encima del punto crítico. El fluido presurizado es llevado a la temperatura adecuada por la cámara y se permite que fluya a través de la matriz de muestra para extraer los analitos. Después de la muestra, el fluido cargado de analito fluye a un restrictor, que controla la velocidad de flujo del fluido. El restrictor mantiene la alta presión del fluido en el cámara. En el restrictor, el fluido supercrítico pierde su fuerza de solvatación cuando su presión cae a la presión atmosférica. Después del restrictor, los analitos se pueden recoger para el análisis posterior (Valverde, 1995).

El poder de solvatación del CO<sub>2</sub> se puede mejorar mediante la adición de una pequeña cantidad de disolvente modificador cuya pureza debe estar garantizada. En el pasado, se han usado botellas de mezcla de CO<sub>2</sub> que contenían un disolvente modificador, pero había ciertas dudas respecto a la consistencia de la mezcla a lo largo de la vida útil de la botella. Actualmente se usan equipos con bombas modificadoras especiales que dosifican y mezclan el disolvente modificador con el CO<sub>2</sub>.

**Figura 4**

*Esquema de la instrumentación necesaria para la extracción con fluidos supercríticos*



#### 2.2.4. Proceso de Extracción Supercrítica.

Según Gallego y Castañeda (2004) indican que un proceso de extracción supercrítica consta de 4 etapas:

- Etapa de presurización
- Etapa de ajuste de temperatura
- Etapa de extracción
- Etapa de separación

Los mismos autores señalan que, el material a extraer se carga dentro de la cámara de extracción. Una vez que esté listo se hace pasar el fluido supercrítico dentro de la cámara de extracción mediante una bomba, presurizándose hasta alcanzar la presión y la temperatura por encima del punto crítico. Aquí el disolvente entra en contacto con los componentes de la matriz, solubilizando y arrastrando los componentes afines. El fluido, cargado de analito, fluye al restrictor, donde se produce la descompresión del fluido cambiando éste de fase y separándose de los componentes disueltos para poder ser recuperados (Valverde, 1995).

Para que las extracciones sean efectivas hay que tener en cuenta un factor muy importante como es el diseño del sistema usado para la recogida de los analitos. La extracción off-line consiste en un tubo de ensayo o vial, el cual contiene un pequeño volumen de disolvente orgánico, en el que el fluido, al salir del restrictor, burbujea. Con este tipo de extracción no es necesario realizar etapas de preconcentración, ya que los extractos obtenidos se pueden analizar en el correspondiente sistema cromatográfico.

En la extracción on-line los analitos extraídos son trasladados y pueden ser recogidos en diferentes sistemas como “bucle” de inyección, trampa de termodesorción o la fase estacionaria en la cabeza de columna. En este tipo el sistema cromatográfico se acopla directamente al equipo de extracción. Los sistemas usados pueden ser la cromatografía de gases (GC), la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de fluidos supercríticos (CFS). Gracias a este acoplamiento la automatización del proceso es más fácil y más sensible, ya que todo el analito que se ha extraído pasa al sistema cromatográfico (Reyes, 2018 y Valverde, 1995).



### 2.2.5. Ventajas y desventajas.

Algunas de las ventajas y desventajas de la extracción con disolventes supercríticos en comparación con los métodos convencionales se resumen en la tabla 3.

**Tabla 3**

*Principales ventajas y desventajas de la EFS*

<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Debido a su baja viscosidad y alta difusidad, el fluido supercrítico puede penetrar dentro de un sólido poroso con mayor facilidad, lo que resulta en una extracción más rápida.	Debido a la naturaleza del proceso se requieren presiones elevadas para llevar a cabo la extracción.
La disolución del fluido supercrítico es controlada en función de la presión y/o temperatura.	Alto costo debido a la inversión para el equipo y mantenimiento.
En la extracción supercrítica se hace pasar fluido fresco a través de la muestra continuamente.	La compresión del solvente requiere medidas elaboradas de recirculación para reducir los costos energéticos
Los fluidos supercríticos son fácilmente recuperados del extracto mediante despresurización.	Disuelven pocos compuestos no polares.
Los compuestos termolábiles pueden ser extraídos sin daño alguno debido a las bajas temperaturas empleadas.	El uso de modificadores puede alterar la polaridad del CO <sub>2</sub> , pero pueden quedar en el extracto necesitando un proceso de separación posterior
La extracción supercrítica utiliza disolventes no hostiles con el medio ambiente.	
El fluido supercrítico puede ser reciclado o reusado, minimizando la generación de desperdicios.	

Fuente: Lang y Wai (2001).

Debido a la preocupación por el medio ambiente, la extracción con fluidos supercríticos muestra excelentes oportunidades para lograr los objetivos claves de la “química verde”. Este término se refiere al diseño de productos y procesos químicos que reducen o eliminan el uso o producción de sustancias peligrosas para el medio ambiente. Esta metodología cumple varios objetivos como la disminución del uso de disolventes y que éstos sean lo más inocuos posible.

#### **2.2.6. Tipos de EFS.**

La extracción con fluidos supercríticos, al igual que las extracciones con disolventes líquidos, puede llevarse a cabo de forma estática o de forma dinámica. En la forma estática, la celda de extracción es presurizada con el fluido manteniendo cerrada la válvula de salida del extractor, una vez finalizada la extracción, dicha válvula se abre, pasando el fluido, con los analitos extraídos, al sistema de colección. En el modelo dinámico, el fluido supercrítico se deja fluir en forma continua a través de la celda de extracción, manteniendo las válvulas de entrada y de salida del extractor abiertas durante todo el periodo de extracción. En este caso, el flujo del fluido a través del sistema de extracción viene fijado, fundamentalmente, por la presión de trabajo y por las características del restrictor (longitud y diámetro interno en el caso de los restrictores fijos) (Reyes, 2018 y Chafer *et al.*, 2005).

En principio, cabe pensar que la extracción dinámica dé mejores y más rápidas recuperaciones ya que, con esta forma de operación, durante todo el proceso de extracción, se produce la renovación continua del fluido que entra en contacto con la muestra, lo que hace que sea difícil que el fluido puede llegar a saturarse. No obstante, el modelo estático permite una mayor penetración del fluido en los poros de la matriz de la muestra, así como que se pueda alcanzar el equilibrio de reparto del analito entre la matriz y el fluido. Esta es la razón de que, en la práctica, las extracciones suelen llevarse a cabo realizando una extracción estática, a la que sigue un periodo de extracción dinámica (Chafer *et al.*, 2005).

#### **2.2.7. Optimización de las condiciones de extracción.**

Los dos parámetros básicos en EFS son la recuperación de extracción (la proporción de la cantidad de soluto extraído con respecto a su cantidad inicial, generalmente expresado como un porcentaje masivo) y la tasa de extracción (recuperación de extracción por unidad de tiempo a una determinada velocidad del fluido supercrítico a través de la célula).



La realización de la extracción de un determinado soluto de una matriz necesita la optimización de varios parámetros, de los que destacan la presión, la temperatura, la posible adición de un modificador orgánico para el fluido, la velocidad de flujo y el tipo de matriz.

#### ***2.2.7.1. Influencia de la presión.***

La presión del fluido es el parámetro principal que influye en la recuperación de la extracción. Una elevación de esta presión a una temperatura dada da como resultado un aumento en la densidad del fluido, lo que significa una mejor solubilidad de los solutos. En consecuencia, a mayor presión de extracción, menor es el volumen de fluido necesario para una extracción dada. Sin embargo, una presión alta no es siempre recomendada para matrices complejas debido a la mayor solubilidad de los solutos cuando la presión es elevada; por lo tanto, el extracto puede volverse muy complejo y, en consecuencia, su análisis resulta muy difícil. Por otro lado, se debe tener en cuenta que la presencia de solutos coextraídos puede cambiar drásticamente el nivel de solubilidad del soluto de interés (Reyes, 2018; Chafer et al., 2005 y Camel et al., 1993).

#### ***2.2.7.2. Influencia de la temperatura.***

A una presión constante, la densidad del CO<sub>2</sub> disminuye cuando la temperatura aumenta. Este efecto es más pronunciado a medida que aumenta la compresibilidad. La temperatura también afecta a la volatilidad del soluto. Para un soluto no volátil, una temperatura más alta daría como resultado una menor recuperación de extracción debido a una disminución en la solubilidad. Por otro lado, para un soluto volátil, hay una competencia entre su solubilidad en CO<sub>2</sub> (que disminuye a medida que la temperatura aumenta) y su volatilidad (que aumenta al aumentar temperatura) (Reyes, 2018; Chafer et al., 2005 y Camel et al., 1993).

#### ***2.2.7.3. Influencia de la velocidad del fluido.***

La velocidad del fluido supercrítico que fluye a través de la célula tiene una gran influencia en la eficiencia de la extracción. Cuanto más lenta es la velocidad del fluido, más profundamente penetra en la matriz. La velocidad del fluido puede ser expresado por la velocidad lineal, que depende fuertemente de la velocidad de flujo y la geometría de la celda. Para una célula de extracción dada, la velocidad de flujo se puede cambiar fácilmente mediante el uso un nuevo restrictor con un diámetro interior diferente. La disminución de la tasa de flujo

da como resultado una menor velocidad lineal y generalmente mayores recuperaciones de extracción (como resultado de un contacto prolongado entre el fluido supercrítico y la muestra) (Reyes, 2018; Chafer et al., 2005 y Camel et al., 1993).

#### **2.2.7.4. Adición de un modificador.**

La baja polaridad del CO<sub>2</sub> limita su uso a la extracción de solutos relativamente apolar, o moderadamente polares. Por lo tanto, se agrega una pequeña cantidad de un disolvente orgánico polar (metanol, acetonitrilo, agua, etc.), llamado "Modificador", al fluido supercrítico para la extracción de solutos más polares. La naturaleza del modificador depende de la naturaleza del soluto a extraer. Un punto de partida razonable consiste en seleccionar un modificador que sea un buen disolvente en su estado líquido para el analito de interés.

#### **2.2.7.5. Influencia de la naturaleza de la matriz.**

Factores como el tamaño de partícula, forma, área superficial, porosidad, humedad, nivel de solutos extraíbles y la naturaleza de la matriz afectarán a los resultados analíticos. De la misma manera, las interacciones entre solutos y sitios activos de la matriz pueden necesitar condiciones de extracción estrictas. Usualmente, se prefiere el menor tamaño de partícula, para poder aprovechar mayor área superficial, es decir, para que se logre un mayor contacto entre el soluto y el fluido supercrítico.

### **2.3. Propiedades Físicas de Fluidos Supercríticos**

Los fluidos supercríticos comparten algunas características comunes tanto con gases como con líquidos. Esto permite aprovechar una correcta combinación de las propiedades.

#### **- Densidad**

La densidad característica de un fluido supercrítico se encuentra entre la de un gas y un líquido, pero más cercana a la de un líquido. En la región supercrítica, la densidad de un fluido supercrítico aumenta con el aumento de la presión (a temperatura constante). Cuando la presión es constante, la densidad del material disminuye con el aumento de la temperatura. El efecto de disolución de un fluido supercrítico depende de su valor de densidad. Los fluidos supercríticos también son mejores portadores que los gases gracias a su mayor densidad. Por lo tanto, la

densidad es un parámetro esencial para las técnicas analíticas que utilizan fluidos supercríticos como solventes.

#### - **Difusividad**

Debido a que los fluidos supercríticos tienen más difusividad que un líquido, es lógico pensar que un soluto puede mostrar mejor difusividad en un fluido supercrítico que en un líquido. La difusividad es paralela a la temperatura y contrariamente a la presión. El aumento de la presión afecta a las moléculas de fluido supercrítico para acercarse entre sí y disminuye la difusividad en el material. La mayor difusividad da a los fluidos supercríticos la oportunidad de ser portadores más rápidos para aplicaciones analíticas. Por lo tanto, los fluidos supercríticos juegan un papel importante en los métodos de cromatografía y extracción.

#### - **Viscosidad**

La viscosidad para un fluido supercrítico es casi la misma que un gas, siendo aproximadamente 1/10 de la de un líquido. Por lo tanto, los fluidos supercríticos son menos resistentes que los líquidos hacia los componentes que fluyen. La viscosidad de los fluidos supercríticos también se distingue de la de los líquidos en que la temperatura tiene un pequeño efecto sobre la viscosidad del líquido, donde puede influir dramáticamente en la viscosidad del fluido supercrítico.

Estas propiedades de viscosidad, difusividad y densidad están relacionadas entre sí. El cambio de temperatura y presión puede afectar a todos ellos en diferentes combinaciones. Por ejemplo, aumentar la presión provoca un aumento de la viscosidad y el aumento de la viscosidad da como resultado una disminución de la difusividad.

El descubrimiento de fluidos supercríticos condujo a nuevas aplicaciones analíticas en los campos de la cromatografía y extracción conocidas como cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) y extracción de fluidos supercríticos (SFE). La cromatografía de fluidos supercríticos se acepta como método de cromatografía en columna junto con cromatografía de gases (GC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Debido a las propiedades de los fluidos supercríticos, SFC combina cada una de las ventajas tanto de GC como de HPLC en un solo método. Además, la extracción de fluidos supercríticos es una técnica analítica avanzada.

### - **Cromatografía Súper Fluida (SFC)**

Al igual que los fluidos supercríticos combinan los beneficios de líquidos y gases, SFC reúne las ventajas y los aspectos fuertes de HPLC y GC. La SFC puede ser más ventajosa que la HPLC y la GC cuando se analizan compuestos que se descomponen a altas temperaturas con GC y no tienen grupos funcionales para ser detectados por sistemas de detección por HPLC.

Hay tres cualidades principales para las cromatografías en columna: selectividad, eficacia y sensibilidad.

Generalmente, la HPLC tiene mejor selectividad que la SFC debido a fases móviles cambiables (especialmente durante una ejecución experimental particular) y una amplia gama de fases estacionarias. Aunque SFC no tiene la selectividad de HPLC, tiene buena calidad en términos de sensibilidad y eficiencia. La SFC permite el cambio de algunas propiedades durante el proceso cromatográfico. Esta capacidad de afinación permite la optimización del análisis. Además, SFC tiene una gama más amplia de detectores que la HPLC. SFC supera a GC para el análisis de sustancias fácilmente descomponibles; estos materiales pueden ser utilizados con SFC debido a su capacidad para trabajar con temperaturas más bajas que la GC. SFC tiene una configuración similar a un instrumento de HPLC. Utilizan fases estacionarias similares con tipos de columnas similares. Sin embargo, existen algunas diferencias. La temperatura es crítica para los fluidos supercríticos, por lo que debe haber una herramienta de control de calor en el sistema similar a la de GC. Además, debe existir un mecanismo de control de presión, un restrictor, ya que la presión es otro parámetro esencial para que los materiales de fluidos supercríticos se mantengan en el nivel requerido. Se coloca un mecanismo de microprocesador en el instrumento para SFC. Esta unidad recopila datos de presión, temperatura del horno y rendimiento del detector para controlar las piezas relacionadas del instrumento.

- **Fase Estacionaria:** las columnas SFC son similares a las columnas de HPLC en términos de materiales de recubrimiento. Las columnas tubulares abiertas y las columnas empaquetadas son los dos tipos más comunes utilizados en SFC. Se prefieren los tubulares abiertos y tienen similitudes con las columnas de sílice fundida por HPLC. Este tipo de columna contiene un recubrimiento interno de un material de siloxano reticulado como fase estacionaria. El espesor del recubrimiento puede ser de 0.05 - 1.0  $\mu\text{m}$ . La longitud de la columna puede variar de 10 a 20 m.

- **Fases Móviles:** existe una amplia variedad de materiales utilizados como fase móvil en SFC. La fase móvil se puede seleccionar entre los grupos disolventes de disolventes inorgánicos, hidrocarburos, alcoholes, éteres, haluros; o puede ser acetona, acetonitrilo, piridina, etc. El fluido supercrítico más común que se usa en SFC es el dióxido de carbono porque su temperatura y presión críticas son fáciles de alcanzar. Adicionalmente, el dióxido de carbono es de bajo costo, fácil de obtener, inerte frente a los rayos UV, no venenoso y un buen disolvente para moléculas no polares. Además de dióxido de carbono, etano, n-butano,  $N_2O$ , diclorodifluorometano, éter dietílico, amoníaco, tetrahidrofurano se pueden usar.





**CAPÍTULO III**

**DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA**



### 3. Descripción de la Metodología

#### 3.1. Materia Prima, Materiales, Reactivos y Equipos

##### 3.1.1. Materia Prima.

- Molle (*Schinus molle* L.).

La materia prima (*Schinus molle* L.) utilizada para la investigación fue obtenida de la zona de Cota Cota, misma que se encuentra ubicada aproximadamente a 15 Km al sudoeste de la ciudad de La Paz, a una altitud de 3200 m.s.n.m., entre las coordenadas latitud Sur 16°32" y longitud Oeste 68°8" (ver figura 5).

#### Figura 5

Ubicación del lugar de obtención de materia prima



Fuente: Google Earth, 2023

##### 3.1.2. Materiales, Reactivos y Equipos.

- Materiales:
  - Vaso de precipitados de 100 [mL].
  - Probeta de 25 [mL].
  - Pipeta graduada de 10 [mL].
- Reactivos:

- Dióxido de carbono (99.5 % m/m).
  - Éter dietílico.
  - Alcohol etílico.
- Equipos:
- Horno de secado.
  - Molino.
  - Tamiz malla 80.
  - Balanza digital (capacidad de 300 [g], resolución de 1 [mg]).
  - Balanza digital (capacidad de 300 [g], resolución de 1 [mg]).
  - pH-metro.
  - Densímetro DMA 4500 M.
  - Refractómetro Abbemat 550.
  - Viscosímetro Brookfield DV2T.
  - Equipo de destilación sencilla.
  - Cromatógrafo de gases.
  - Extractor supercrítico de acero inoxidable (capacidad para 5 litros), Thar SFC-MS.

### **3.2. Pruebas.**

Las condiciones operativas de las pruebas realizadas se decidieron de acuerdo al diseño de mezclas, considerando como principales variables (con mayor influencia en los resultados, de acuerdo a bibliografía) la presión de extracción (P), la temperatura de extracción (T) y el flujo de fluido supercrítico ( $F_{FSC}$ ). Es importante mencionar que dichas variables se mantuvieron constantes (sin variación gradual).

En todos los casos, el tiempo de extracción fue de dos horas (120 [min]); durante 80 minutos se insertaron tanto el flujo constante de dióxido de carbono ( $CO_2$ ) puro (99.5 % m/m) como el de muestra (6.25 [g/min]); durante los últimos 40 minutos solamente ingresó el dióxido de carbono, manteniéndose el mismo flujo.

### **3.3. Análisis.**

Para el producto de la extracción supercrítica:



- Masa de extracto.
- Composición química.

Para el producto final (aceite esencial del molle):

- Densidad.
- pH.
- Índice de refracción.
- Solubilidad (en agua, éter dietílico y alcohol etílico).

### ***3.4. Procedimiento experimental***

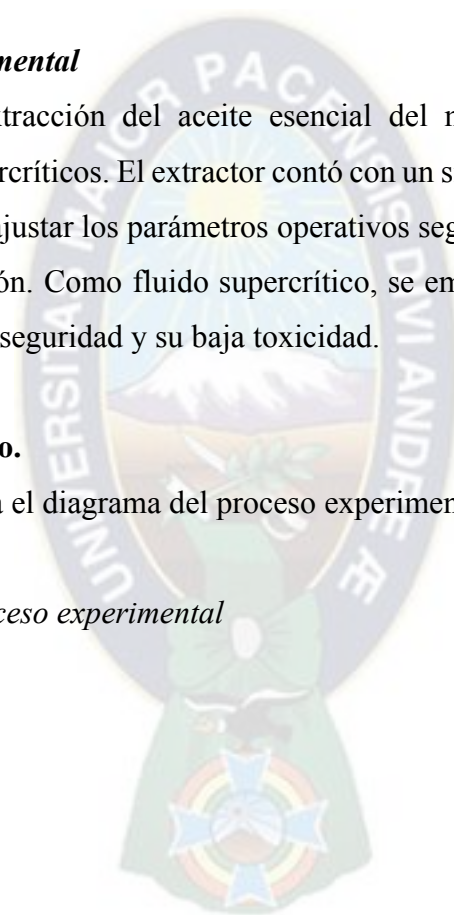
Para realizar la extracción del aceite esencial del molle, se utilizó un equipo de extracción con fluidos supercríticos. El extractor contó con un sistema de control de temperatura y presión, lo que permitió ajustar los parámetros operativos según las condiciones supercríticas requeridas para la extracción. Como fluido supercrítico, se empleó dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) debido a su alta eficiencia, seguridad y su baja toxicidad.

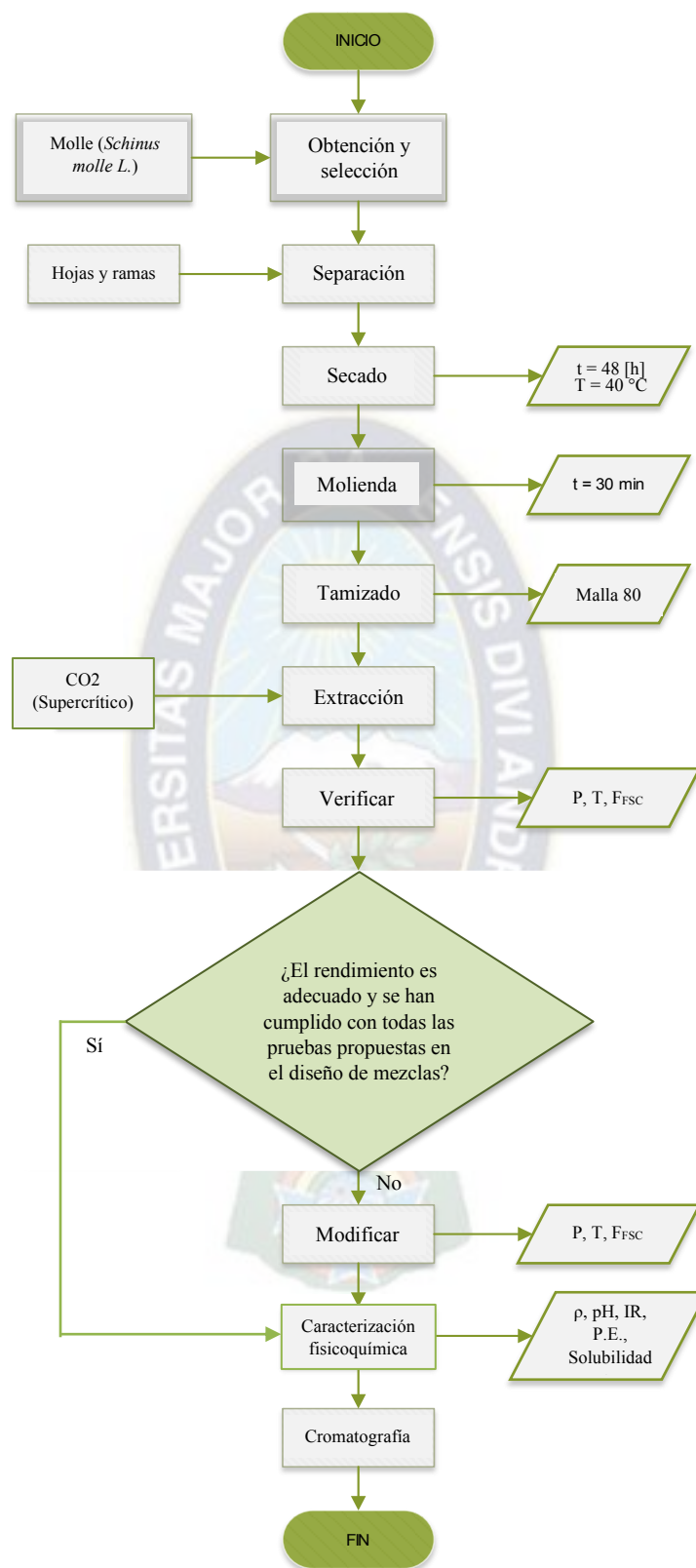
#### **3.4.1. Diagrama de flujo.**

La figura 6 presenta el diagrama del proceso experimental.

#### **Figura 6**

*Diagrama de flujo del proceso experimental*





### **3.4.2. Obtención de la Materia Prima.**

La primera etapa del proceso experimental fue la obtención de la materia prima, en este caso, hojas y frutos de molle de la variedad *Schinus molle*. Estos fueron cuidadosamente recolectados de árboles cultivados en la zona de Cota Cota, La Paz.

### **3.4.3. Separación y selección.**

Una vez en el laboratorio, se procedió a la fase de separación y selección de las muestras. Este paso implicó un proceso minucioso en el cual se separaron las hojas y los tallos de molle obtenidos en el campo. Para asegurar la pureza de las muestras, se lavaron suavemente para eliminar cualquier impureza superficial. Además, se aplicaron estándares de calidad organolépticos (color, textura), y se descartaron aquellas partes que no cumplieran con estos criterios. Esta etapa de selección y purificación aseguró que solo las partes de calidad adecuada se incluyeran en el proceso de extracción posterior, garantizando la precisión de los resultados y la representatividad de las muestras utilizadas en la investigación.

### **3.4.4. Secado, Molienda y Tamizado de Muestra (Hojas y Tallos).**

Una vez que se tuvo lista la muestra (hojas y tallos de molle), esta se sometió a secado en un horno de secado durante 48 horas, a una temperatura constante de 40 °C. Este paso tuvo como objetivo eliminar la humedad de la muestra para a continuación poder someter la misma a molienda, verificándose mediante tamizado que el tamaño de partícula sea siempre inferior a malla 80 (0.180 milímetros), con la finalidad de aumentar el rendimiento de la extracción, ya que, al reducir las muestras a fragmentos de menor tamaño, se incrementa significativamente la superficie de contacto disponible para la interacción con el fluido supercrítico.

### **3.4.5. Extracción del Aceite Esencial de Molle.**

La investigación se centró en la extracción de los componentes esenciales del molle utilizando un equipo de extracción con fluidos supercríticos de última generación. Este equipo se destaca por su capacidad para controlar con precisión la temperatura y la presión, lo que permite ajustar los parámetros operativos de acuerdo con las condiciones supercríticas necesarias para la extracción. El dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) se eligió como el fluido supercrítico debido a sus propiedades únicas, como su alta eficiencia y su seguridad, además de su baja toxicidad. La muestra se introdujo en el extractor (masa de 500 gramos), y se establecieron los parámetros de operación, es decir, la temperatura, la presión y el flujo de dióxido de carbono supercrítico. El tiempo de la extracción se fijó en 120 minutos (dos horas), controlando la masa

de extracto obtenido en función del tiempo. Este proceso aseguró que los datos recopilados durante la investigación fueran altamente representativos y precisos para realizar los cálculos necesarios.

- **Etapa de Presurización.**

En esta fase inicial, las muestras trituradas de molle se cargaron en el extractor de fluidos supercríticos. Aquí, se aplicó un aumento gradual de la presión del sistema utilizando un compresor especializado. Este aumento controlado de la presión es esencial para alcanzar las condiciones supercríticas del fluido, en este caso, el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Luego de esto, la presión se mantiene constante para realizar la extracción.

- **Etapa de Temperatura.**

La siguiente etapa implicó el ajuste preciso de la temperatura del sistema, de acuerdo a la prueba realizada. Esto es de suma importancia para garantizar una extracción eficiente de los componentes deseados, pero al mismo tiempo, es necesario controlar la temperatura con precisión para evitar la degradación de compuestos sensibles al calor. El control de la temperatura es esencial para, al final, definir cuál es el valor óptimo que permite maximizar el rendimiento de extracción.

- **Etapa de Extracción.**

En esta fase crucial, el fluido supercrítico, en este caso, el CO<sub>2</sub>, actuó como solvente para extraer los componentes volátiles del molle. Cabe destacar que el flujo de este extractante también fue fijado en un determinado valor, para luego poder conocer cuál es el parámetro óptimo. La extracción se llevó a cabo durante un lapso de dos horas, para maximizar la transferencia de solutos al fluido y, por lo tanto, obtener una extracción óptima de los componentes esenciales. Esta etapa debe garantizar una extracción eficiente y completa, lo que es fundamental para la obtención de un aceite esencial de alta calidad y concentración.

#### **3.4.6. Cromatografía.**

Una vez que se obtiene el extracto deseado, con los resultados óptimos en relación a los parámetros empleados en la extracción supercrítica, es necesario realizar una caracterización química precisa, para lo que se decidió emplear la técnica de cromatografía gaseosa (GC), y de esa forma conocer los compuestos químicos presentes en el extracto (aceite esencial de molle sin refinar) y la composición del mismo.

### **3.4.7. Caracterización Físicoquímica.**

La caracterización físicoquímica se llevó a cabo de manera minuciosa y detallada para comprender a fondo las propiedades físicas y químicas del aceite esencial de molle sin refinar; asimismo, para validar que el extracto pueda considerarse con alto contenido de aceite esencial. Por ello, se determinaron varias propiedades físicas útiles para esta validación, las cuales son la densidad, el pH, el punto de ebullición, el índice de refracción y la solubilidad en tres diferentes disolventes (éter dietílico, alcohol etílico y agua). Estas mediciones proporcionaron una visión completa de las características físicas del aceite esencial, lo que es esencial para su aplicación en diversas áreas, como la industria farmacéutica, la cosmética y la perfumería.

### **3.4.8. Envasado y Almacenado.**

Después de completar el proceso de extracción con fluidos supercríticos y los análisis posteriores, el aceite esencial obtenido fue envasado en frascos de vidrio de color ámbar. Este tipo de envase se eligió estratégicamente debido a sus propiedades protectoras contra la luz y el oxígeno, lo que ayuda a preservar la integridad y la calidad del aceite esencial a lo largo del tiempo. Además, el vidrio es un material que no reacciona con los compuestos químicos presentes en el aceite esencial, lo que garantiza que no haya contaminación ni interacciones no deseadas. Los frascos fueron almacenados bajo condiciones de refrigeración constante, manteniendo una temperatura controlada de 4-5 °C. Este proceso de almacenamiento en frío se llevó a cabo para mantener las propiedades y la estabilidad del aceite esencial a lo largo del tiempo.

**CAPÍTULO IV**  
**TRABAJO DESARROLLADO**



## 4. Trabajo Desarrollado

### 4.1. Pruebas Realizadas

Las condiciones operativas para las pruebas realizadas, tal como se indicó en el capítulo previo, se decidieron a partir de datos bibliográficos. En la tabla 4 se detalla los valores de los parámetros que se variaron:

**Tabla 4**

*Condiciones operativas de cada prueba*

Prueba	P [bar]	T (°C)	F <sub>FSC</sub> [mL/min]
1	150	30	10
2	150	40	10
3	150	70	10
4	150	30	15
5	150	40	15
6	150	70	15
7	300	30	10
8	300	40	10
9	300	70	10
10	300	30	15
11	300	40	15
12	300	70	15

Además, los parámetros fijados:

- Tipo de relleno: Anillos Fenske.
- Tiempo de extracción: 80 minutos bombeando muestra y CO<sub>2</sub>; 40 minutos bombeando CO<sub>2</sub>.
- Flujo de muestra de molle: 6.25 [g/min] (500 gramos en 80 minutos).
- Flujo de dióxido de carbono: 10 [mL/min] y 15 [mL/min] (a las condiciones de presión y temperatura dadas)
- Temperatura de extracción: 30 °C, 40 °C y 70 °C (303.15 K, 313.15 K y 343.15 K).
- Presión de extracción: 150 [bar] y 300 [bar].



Para todas las pruebas, inicialmente se separaron las partes útiles e inútiles de la planta del molle, considerando útiles únicamente a las hojas y a las ramas. En la tabla 5, se detallan los parámetros fisicoquímicos y organolépticos del molle empleado. Ahora bien, es necesario someter las hojas y ramas seleccionadas a un proceso de secado durante 48 horas a una temperatura de 40 °C, para finalmente moler este material, asegurando que las partículas utilizadas en la extracción sean menores a 0.180 [mm] (tamiz de malla 80, óptimo de acuerdo a bibliografía). Luego del secado, de la molienda y del tamizado, la masa útil para que sea la muestra que se someterá a extracción debe ser de 500 gramos.

**Tabla 5**

*Parámetros fisicoquímicos y organolépticos del molle empleado*

<b>Parámetro</b>	<b>Característica</b>
Color	Verde intenso (hojas), rojo oscuro (ramas)
Olor	Herbal
Textura	Crujiente
pH	6.5
Diámetro (ramas)	3 – 4 [mm]
Longitud (hojas)	2 – 3.5 [cm]
Ancho (hojas)	0.45 – 0.65 [cm]

## 4.2. Cálculos

### 4.2.1. Extracción con Dióxido de Carbono Supercrítico.

Para las pruebas realizadas, la tabla 6 refleja los porcentajes máxicos de las partes útiles respecto al total de la masa necesaria (totalidad de la planta, exceptuando el tronco):

**Tabla 6**

*Porcentaje máxico útil y masas totales necesarias para cada prueba*

<b>Prueba</b>	<b>Porcentaje máxico útil (%)</b>	<b>Masa total necesaria [g]</b>
1	39.44	1267.8
2	39.80	1256.2
3	36.89	1355.4



Prueba	Porcentaje másico útil (%)	Masa total necesaria [g]
4	33.56	1489.9
5	36.84	1357.2
6	34.29	1458.2
7	33.04	1513.3
8	37.90	1319.3
9	34.92	1431.8
10	38.72	1291.3
11	35.78	1397.4
12	38.40	1302.1
<b>Promedio</b>	36.63	1370.0

Por ejemplo, en el caso de la prueba 1:

$$\% \left( \frac{m}{m} \right)_{\text{útil}} = \frac{m_{\text{muestra}}}{m_{\text{total}}} \cdot 100 \%$$

$$m_{\text{total}} = \frac{m_{\text{muestra}}}{\% \left( \frac{m}{m} \right)_{\text{útil}}} \cdot 100 \%$$

$$m_{\text{total}} = \frac{500 \text{ [g]}}{39.44 \text{ \%}} \cdot 100 \%$$

$$m_{\text{total}} = 1267.8 \text{ [g]}$$



**CAPÍTULO V**  
**RESULTADOS**

## 5. Resultados

### 5.1. Resultados para cada Prueba

Las masas de extracto obtenidas en función del tiempo, para todas las pruebas, se especifican en la tabla 7.

**Tabla 7**

*Masas de extracto en función del tiempo para cada prueba*

t [min]	0	15	30	45	60	75	90	105	120
<b>Prueba</b>									
<b>1</b>	0	0.153	0.502	1.101	1.889	2.356	3.021	3.399	3.522
<b>2</b>	0	0.161	0.528	1.115	1.904	2.371	3.085	3.470	4.059
<b>3</b>	0	0.154	0.432	1.009	1.492	1.592	1.681	1.689	1.694
<b>4</b>	0	0.137	0.469	1.068	1.826	2.327	2.880	3.167	3.343
<b>5</b>	0	0.142	0.495	1.076	1.827	2.344	2.988	3.378	3.921
<b>6</b>	0	0.109	0.394	0.967	1.442	1.672	1.719	1.783	1.783
<b>7</b>	0	0.302	0.855	1.675	2.626	3.443	4.620	5.144	5.726
<b>8</b>	0	0.396	1.034	2.255	3.877	5.974	7.472	8.725	8.797
<b>9</b>	0	0.331	0.837	1.540	2.192	2.727	3.235	3.364	3.380
<b>10</b>	0	0.243	0.772	1.427	2.133	2.532	3.046	3.380	3.587
<b>11</b>	0	0.339	0.906	1.965	3.390	5.297	6.604	6.992	7.035
<b>12</b>	0	0.201	0.621	1.238	1.915	2.076	2.213	2.254	2.259

Concluyéndose que la prueba 8 permite obtener un rendimiento de extracción muy superior al resto:

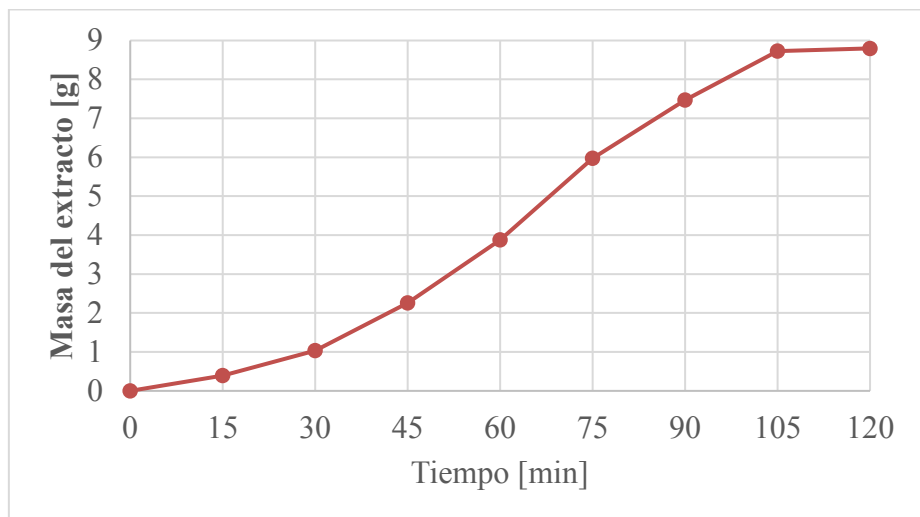
$$\eta = \frac{m_{extracto}}{m_{muestra}} \cdot 100 \%$$

$$\eta = \frac{8.797 [g]}{500 [g]} \cdot 100 \%$$

$$\eta = 1.7594 \%$$

**Figura 7**

Gráfico de la masa de extracto en función del tiempo (prueba 8)



El rendimiento en función del tiempo, para la prueba con los mejores resultados:

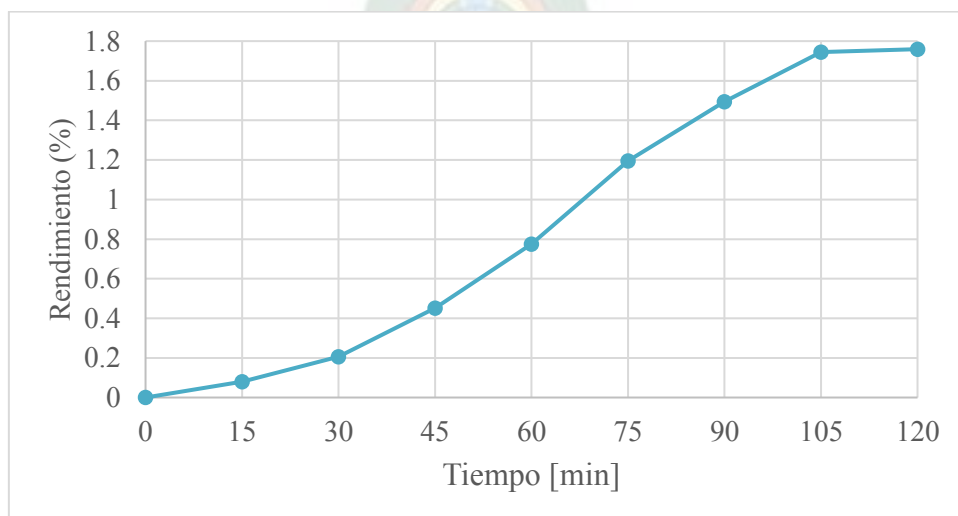
**Tabla 8**

Rendimiento en función del tiempo (prueba 8)

t [min]	0	15	30	45	60	75	90	105	120
$\eta$ (%)	0	0.0792	0.2068	0.451	0.7754	1.1948	1.4944	1.745	1.7594

**Figura 8**

Curva de extracción: rendimiento en función del tiempo (prueba 8)

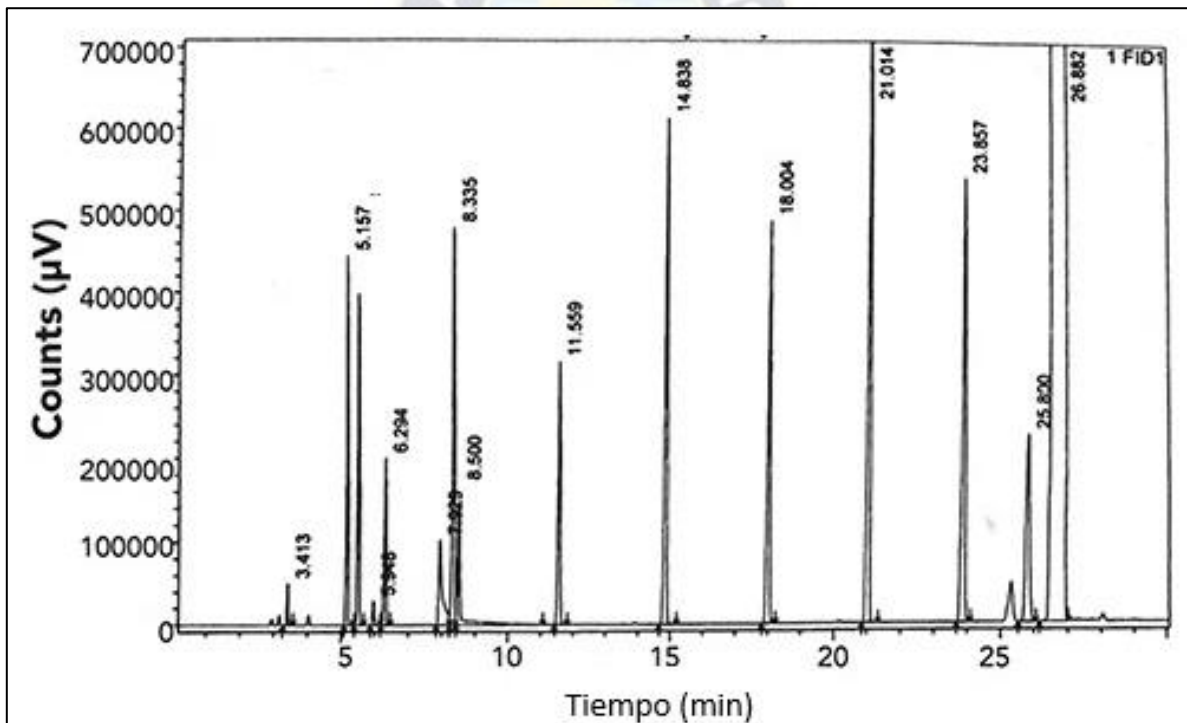


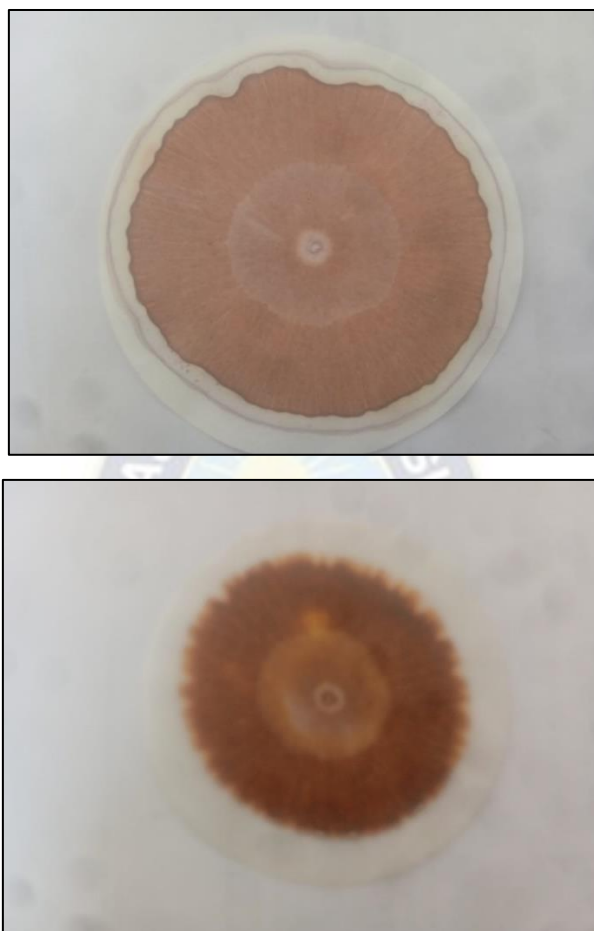
## 5.2. Composición Química del Extracto de la Prueba Óptima

Posteriormente, mediante análisis cromatográfico del extracto de la prueba 8 (por cromatografía de gases, ver figuras 9 y 10), se determinó la composición detallada en la tabla 9, incluyendo únicamente los terpenoides (77.98 %), que son los compuestos químicos que se consideran base de cualquier aceite esencial. El restante 22.02 % corresponde a compuestos volátiles no terpenoides: 2-alilfenol (2.17 %), alilfeniléter (3.53 %), metanol (0.94 %), etanol (0.82 %), propanol (1.61 %), propanona (2.94 %), 1-butanona (3.72 %), fenol (2.01 %), dietiléter (1.98 %) y propilbenceno (2.30 %).

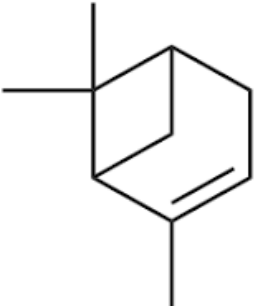
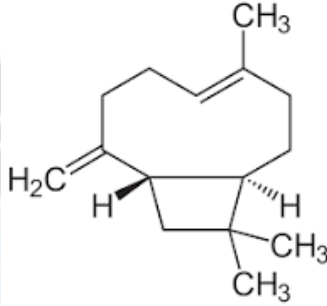
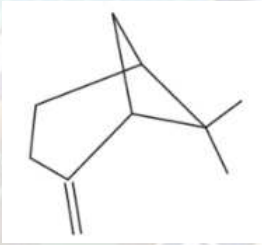
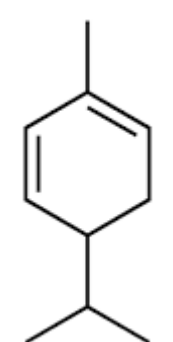
**Figura 9**

*Cromatograma del extracto de la prueba 8*

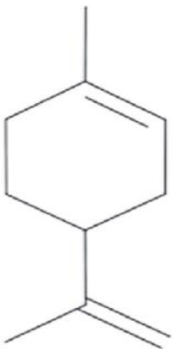
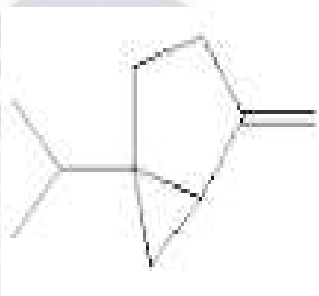
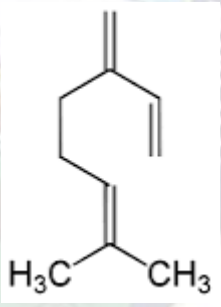
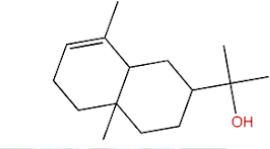
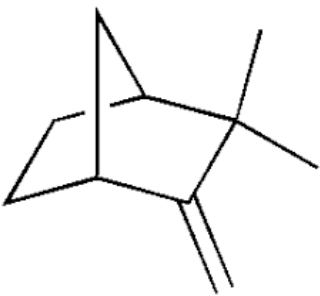


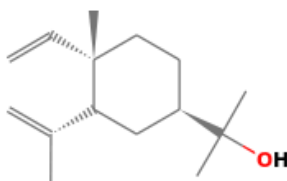
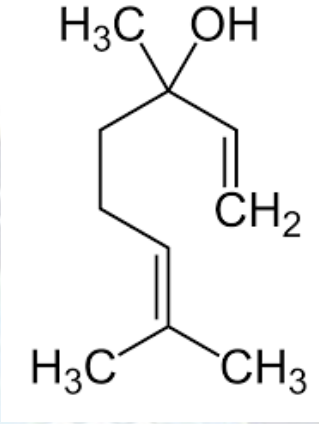
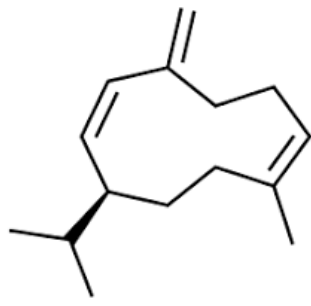
**Figura 10***Imágenes de la muestra sometida a cromatografía***Tabla 9***Composición porcentual de los terpenoides del extracto*

Compuesto	Fórm. Molec.	Estructura Quím.	Composición porcentual (%)
$\alpha$ -felandreno	$C_{10}H_{16}$		11.36

Compuesto	Fórm. Molec.	Estructura Quím.	Composición porcentual (%)
$\alpha$ -pineno	$C_{10}H_{16}$		10.12
$\beta$ - cariofileno	$C_{15}H_{24}$		9.97
$\beta$ -pineno	$C_{10}H_{16}$		9.39
$\beta$ - felandreno	$C_{10}H_{16}$		8.06



Compuesto	Fórm. Molec.	Estructura Quím.	Composición porcentual (%)
Limoneno	$C_{10}H_{16}$		7.27
Sabineno	$C_{10}H_{16}$		6.75
$\beta$ -mirceno	$C_{10}H_{16}$		4.62
$\alpha$ -eudesmol	$C_{15}H_{26}O$		3.91
Canfeno	$C_{10}H_{16}$		2.76

Compuesto	Fórm. Molec.	Estructura Quím.	Composición porcentual (%)
$\alpha$ -elemol	$C_{15}H_{26}O$		2.11
Linalool	$C_{10}H_{18}O$		1.17
Germacren o D	$C_{15}H_{24}$		0.49

Resultando, en sumatoria, que el 77.98 % del extracto es el aceite esencial. Es decir, la pureza:

$$P = \frac{m_{aceite}}{m_{extracto}} \cdot 100 \%$$

$$77.98 \% = \frac{m_{aceite}}{8.797 [g]} \cdot 100 \%$$

$$m_{aceite} = 6.860 [g]$$

Por lo que, de los 500 [g] de muestra inicial (hojas y ramas de molle), únicamente 6.860 [g] corresponden al aceite esencial de dicha planta.

### 5.3. Rendimiento Global y Comparación con Valores Bibliográficos

El rendimiento global del proceso, con los valores previamente obtenidos y calculados:

$$\eta_{global} = \frac{m_{aceite}}{m_{muestra}} \cdot 100 \%$$

$$\eta_{global} = \frac{6.860 [g]}{500 [g]} \cdot 100 \%$$

$$\eta_{global} = 1.372 \%$$

Comparando este resultado con otros bibliográficos, el valor obtenido se encuentra en un rango óptimo. En el caso de Scopel et al. (2013), se obtiene como máximo un rendimiento del 2.6 % trabajando con dióxido de carbono sin cosolventes, trabajando con una temperatura del extractor de 60 °C, presión de 150 [bar] y flujo de dióxido de carbono de 5 [g/min]; sin embargo, es fundamental considerar que su masa de muestra es mucho menor, estando su escala experimental más alejada de una escala industrial (masa de muestra: 150 gramos de material seco y molido). Murrieta-Dionicio et al. (2023) alcanzan un rendimiento máximo de 0.366 % con el aparato Clevenger. Volpini-Klein et al. (2021), con este mismo equipo, lograron un rendimiento de extracción del 0.6 %. Cabe destacar que el aparato Clevenger es útil solamente a escala laboratorio, por lo que la muestra utilizada fue de 100 gramos; puede suponerse que, a mayor escala, el rendimiento se verá disminuido. Finalmente, Ali et al. (2011) obtienen como máximo rendimiento de la extracción un 0.3 %, trabajando a 40 °C y 90 [bar]. Por otra parte, Silva (2012) alcanza un 0.39 % en el rendimiento de la extracción supercrítica de polifenoles de la vaina de tara, proceso muy similar al realizado en este trabajo, por los parámetros utilizados, aún con la optimización matemática realizada.

En resumen, el valor del rendimiento logrado a través de este trabajo (1.372 %) es bastante elevado, considerando que no fue sometido a varias etapas de refinación o purificación, y siendo que la masa de muestra inicial es mayor a las masas utilizadas en otros experimentos (en este caso es de 500 gramos). Además, la pureza del extracto respecto a los terpenoides que este contiene, permite establecer la efectividad de la extracción con fluidos supercríticos para esta obtención.

### 5.4. Propiedades Fisicoquímicas

✓ Densidad: la densidad del aceite esencial del molle fue de 0,912 [g/mL] a 25°C.

- ✓ pH: el pH del aceite esencial obtenido fue de 4.92.
- ✓ Índice de refracción: se registró un índice de refracción de 1,4762 a 25°C.
- ✓ Punto de ebullición: el punto de ebullición determinado es de 167.3 °C.
- ✓ Solubilidad: El aceite esencial del molle se disolvió fácilmente en etanol y éter etílico, mostrando una baja solubilidad en agua, como se registra en la tabla 10:

**Tabla 10**

*Solubilidad [g] del aceite esencial de molle obtenido en 100 [g] de diversos solventes*

<b>Solvente</b>	<b>25 °C</b>	<b>50 °C</b>
<b>Éter dietílico</b>	36.3	41.2
<b>Alcohol etílico</b>	19.7	21.4
<b>Agua</b>	2.51	2.93

En la tabla 11 se resumen los parámetros fisicoquímicos determinados para el aceite esencial obtenido:

**Tabla 11**

*Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de molle obtenido*

<b>Laboratorio:</b>	PURUMA	<b>Fecha:</b>	20/08/2023
<b>REPORTE DE ANÁLISIS</b>			
<b>Muestra:</b>	Aceite de molle		
<b>Procedencia:</b>	Calidad		
<b>ANÁLISIS</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>CONDICIONES DE EQUIPO</b>	
Índice de Refracción	1.4762	25 °C	
pH	4.92	25 °C	
Densidad [g/mL]	0.912	25 °C	
Punto de ebullición (°C)	167.3	-	



**CAPÍTULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6. Conclusiones

- ✓ Se realizó la extracción con fluidos supercríticos del aceite esencial crudo de molle (*Schinus molle L.*) utilizando dióxido de carbono puro como extractante, logrando obtenerse 8.797 gramos de extracto (en el cual se encuentra el aceite esencial crudo de molle) a partir de 500 gramos de muestra correspondiente a hojas y tallos de molle secados a 40 °C durante 48 horas y molidos a malla 80.
- ✓ De acuerdo al programa de mezclas, se llevaron a cabo doce pruebas, considerando como principales variables la presión de extracción (150 y 300 bar), la temperatura de extracción (30 °C, 40 °C y 70 °C) y el flujo de extractante (10 y 15 [mL/min]). De estas, la óptima fue la realizada a 300 bar y 40 °C, con un flujo de dióxido de carbono puro de 10 [mL/min], ya que con esta el rendimiento de la extracción fue de 1.7594 %.
- ✓ Mediante cromatografía gaseosa se estableció la composición química del aceite esencial crudo de molle referida a terpenoides; dicho aceite se compone de . En base a esto, el rendimiento global del proceso es de 1.3720 %.
- ✓ El aceite esencial sin refinar de molle tiene una densidad de 0,912 [g/mL], un pH de 4.92 y un índice de refracción de 1.4762 a 25°C; su punto de ebullición es de 167.3 °C y su solubilidad es elevada en éter dietílico y en alcohol etílico, mientras que es prácticamente insoluble en agua. A 25 °C y en 100 gramos de disolvente, se pueden disolver respectivamente 36.3, 19.7 y 2.51 gramos, valores que se elevan conforme se incrementa la temperatura.
- ✓ Con base en una comparación teórica de los resultados experimentales con otros bibliográficos, puede establecerse que los resultados obtenidos son adecuados e incluso superiores a los obtenidos por diversos autores.

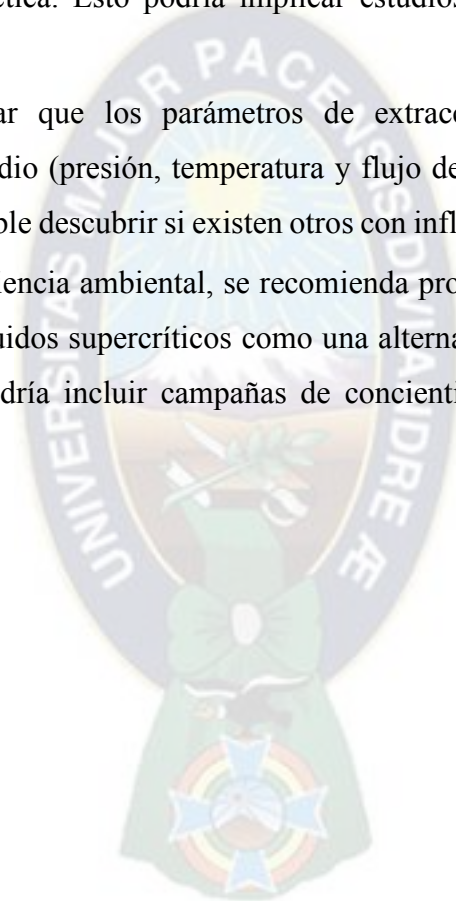


**CAPÍTULO VII**  
**RECOMENDACIONES**



## 7. Recomendaciones

- ✓ Para garantizar un uso industrial eficiente del aceite esencial de molle, se recomienda llevar a cabo estudios adicionales sobre su estabilidad y vida útil en diversas aplicaciones, así como el análisis de costos de materia prima, reactivos, equipos y procesos y del suministro de materia prima.
- ✓ Se recomienda llevar a cabo investigaciones aplicadas para explorar las aplicaciones específicas del aceite esencial de molle en diversas industrias, como la farmacéutica, la alimentaria y la cosmética. Esto podría implicar estudios de formulación y pruebas de producto.
- ✓ Es importante verificar que los parámetros de extracción con fluidos supercríticos empleados en este estudio (presión, temperatura y flujo de extractante), sean los óptimos. También es recomendable descubrir si existen otros con influencia notable en los resultados.
- ✓ Dada la creciente conciencia ambiental, se recomienda promover activamente la adopción de la extracción con fluidos supercríticos como una alternativa sostenible a otros métodos de extracción. Esto podría incluir campañas de concientización y divulgación entre las industrias relacionadas.



**CAPÍTULO VIII**  
**BIBLIOGRAFÍA**

## 8. Bibliografía

- 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>
- Ali, N., Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D., y Al-Othman, A. (2011). Comparative analysis of the oil and supercritical CO<sub>2</sub> extract of *Schinus molle* L. growing in Yemen. *Natural Product Research*, 25(14), 1366–1369. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.513978>
- Belhamel, K., Abderrahim, A., & Ludwi, R. (2009). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Schinus molle* L. growth in Algeria. *Acta Horticulturae*, 826, 201–204. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.826.27>
- Bhimanagouda P, Brodbelt J, Miller E, Turner N. (2009). Potential Health Benefits of Citrus: An Overview. *American Chemical Society*, 936, 1-16.
- Camel, V.; Tambuté, A., y Caude M. (1993). Analytical-scale supercritical fluid extraction: a promising technique for the determination of pollutants in environmental matrices. *Journal of Chromatography*, 642(1), 263-281.
- Carrión, A. (2010). *Propagación botánica de Schinus molle* L. *en diferentes tipos de sustrato*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo.
- Chafer, A., Pascual-Martí, M.C., Salvador, A. y Berna, A. (2005). Supercritical fluid extraction and HPLC determination of relevant polyphenolic compounds in grape skin. *Journal of Separation Science*, 28(16), 2050-2056.
- Clemente, C. y Paucar, R. (2017). *Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de Schinus molle* L. “molle”. (Tesis de pregrado). Universidad Wiener, Lima.
- Gallego, I y Castañeda, D. (2004). Diseño conceptual de un sistema de extracción supercrítica, a escala blanco, utilizando dióxido de carbono como disolvente. Universidad EAFIT. Resumen de los trabajos de grado desarrollados en ingeniería de procesos durante el 2003. Medellín; 46-53.

- Gómez, E. (2017). *Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de Schinus molle (molle) sobre streptococcus mutans atcc 25175*. (Tesis de pregrado). Universidad César Vallejo, Piura.
- Lang, Q, y Wai C. (2001). Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies a practical review. *Talanta*, 53(4): 771-782.
- Leyendecker D, Leyendecker D, Schmitz F, Lorenschat B, Klesper E. (1987). Supercritical Fluid Chromatography using mixtures of carbon dioxide or ethane with 1,4-dioxane as eluents. *Journal of Chromatography A.*, 398, 105-123.
- Luque de Castro M., Valcárcel, M. y Tena M. (1993). *Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico*. Reverté.
- Mendiola, J. (2008). *Extracción de compuestos bioactivos de microalgas mediante fluidos supercríticos*. (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Madrid, Madrid.
- 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>
- Ramírez, R. y Soto, R. (2018). *Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de molle (Schinus molle L.) frente a cepas de Escherichia coli in vitro*. (Tesis de pregrado). Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Lima.
- Reyes, J. (2018). *Extracción con Fluidos Supercríticos: Aplicaciones de Interés Farmacéutico*. Universidad de Sevilla, Facultad de Farmacia. España. 36 p.
- Rodríguez, M., Alcaraz, L. y Real, S. (2012). *Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas*. Edit. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C. La Paz, Baja California Sur, México. 38 p.
- Rondon, R. (2021). *Schinus molle L. como fitorremediador en la bioacumulación de plomo*. Ed. UnC. 86 p.

- Sánchez, J. (2014). *Schinus molle L.* Recuperado de [https://www.murcia.es/medioambiente/parquesyjardines/material/Arbol\\_mes\\_2014/2014\\_12%20Schinus%20moll e.pdf](https://www.murcia.es/medioambiente/parquesyjardines/material/Arbol_mes_2014/2014_12%20Schinus%20moll e.pdf)
- Scopel, R., Góes, N. R., Alves, F. M., Cassel, E., & Figueiró, V. R. M. (2013). Supercritical CO<sub>2</sub> 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>
- Silva, S. (2012). OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA DE LOS POLIFENOLES DE LA VAINA DE TARA (*Caesalpinia spinosa*). [Tesis de pregrado]. Universidad de Chile, Santiago de Chile.
- Valverde A. (1995). Extracción con fluidos supercríticos: principios y aplicaciones al análisis de residuos de plaguicidas. En: Valverde A y Fernandez-Alba A.R. Residuos de plaguicidas '94. Almeria. p.141-154.
- Volpini-Klein, A., Lima Júnior, S., Cardoso, C., Cabral, M., Louro, G., Coutinho, E., de Jesús, D., Junior, D. y Simoniatto, 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/10.1080/09872060X.2021.1914739>

**CAPÍTULO IX**  
**ANEXOS**

## 9. Anexos

### Anexo A



#### REPORTE DE LABORATORIO

Los datos registrados de acuerdo a los análisis realizados para la muestra entregada en fecha 19 de agosto del año en curso (aceite de molle sin refinar – extracto) se sintetizan en la siguiente tabla:

REPORTE DE ANÁLISIS			
<b>Laboratorio:</b>	PURUMA	<b>Fecha de recepción:</b>	19/08/2023
<b>Estado:</b>	Aprobado	<b>Fecha de análisis:</b>	20/08/2023
<b>Muestra:</b>	Aceite de molle sin refinar		
<b>Procedencia:</b>	Calidad		
<b>ANÁLISIS</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>CONDICIONES DE EQUIPO</b>	
Índice de Refracción	1.4762	25 °C	
pH	4.92	25 °C	
Densidad [g/mL]	0.912	25 °C	
Punto de ebullición (°C)	167.3	-	

Detallando los equipos y/o métodos utilizados, se emplearon un refractómetro, un pH-metro, un densímetro, todos calibrados y con la muestra a 25 °C. Para determinar el punto de ebullición se empleó un equipo de destilación sencilla.

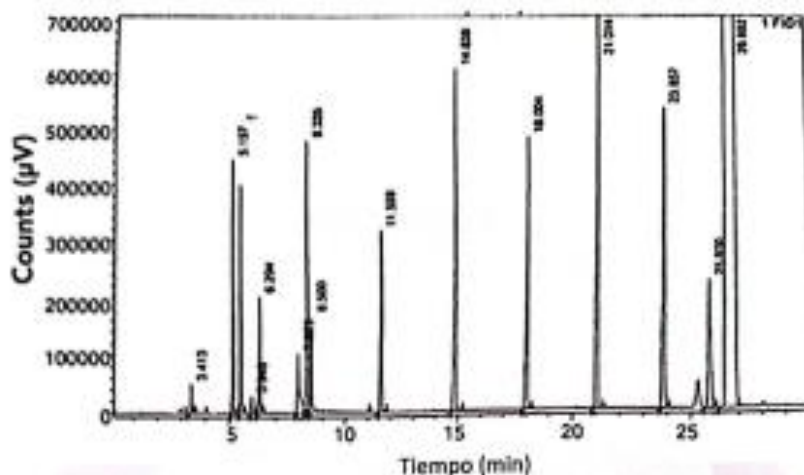
Respecto a la solubilidad, se realizaron pruebas a dos temperaturas, 25 °C y 50 °C, para éter dietílico, alcohol etílico y agua como disolventes, utilizando 250 gramos de disolvente en cada caso (con resolución de 0.1 gramos para las pruebas):

Solvente	25 °C	50 °C
Éter dietílico	36.3	41.2
Alcohol etílico	19.7	21.4
Agua	2.51	2.93

El cromatograma obtenido para el extracto (por cromatografía de gases) es el siguiente:







Por lo tanto, la composición del extracto en terpenoides es:

Compuesto	Fórm. Molec.	Composición porcentual (%)
$\alpha$ -felandreno	$C_{10}H_{16}$	11.36
$\alpha$ -pineno	$C_{10}H_{16}$	10.12
$\beta$ -cariofileno	$C_{15}H_{24}$	9.97
$\beta$ -pineno	$C_{10}H_{16}$	9.39
$\beta$ -felandreno	$C_{10}H_{16}$	8.06
Limoneno	$C_{10}H_{16}$	7.27
Sabineno	$C_{10}H_{16}$	6.75
$\beta$ -mirreno	$C_{10}H_{16}$	4.62
$\alpha$ -eudesmol	$C_{15}H_{26}O$	3.91
Canfeno	$C_{10}H_{16}$	2.76
$\alpha$ -elemol	$C_{15}H_{26}O$	2.11
Linalool	$C_{10}H_{18}O$	1.17
Germacreno D	$C_{15}H_{24}$	0.49



## Anexo B

### Imágenes del Manual

### Setting Up the ThermoFlex Chiller

Use this guide in conjunction with the "quick start guide" found in your chiller manual. Describing your chiller based on these parameters will ensure optimal performance and extend the chiller's life.

**IMPORTANT! Conduct periodic maintenance as described in the chiller manual.**

*If there is an issue or defect the first call should be to the manufacturer. If the chiller is out of warranty and/or the manufacturer is difficult to communicate with contact Eden Labs' Service department for assistance.*

1. Push mode button twice to get to "Setup"
2. "Units" skip this step by hitting enter button (leaving temperature in Celsius and pressure in psi)
3. "Flo" should be set to "gallons" (default setting) Press enter button
4. "Pres" should be set to "Psi" (default setting) Press enter button
5. "Hi T" use up/down arrow buttons to set to **12°C**. Press enter button. *12 = 50 + C*
6. "Lo T" use up/down arrow buttons to set to **3°C**. Press enter button. *3 = 37 + C*
7. "Hi P1" use up/down arrow buttons to set to **45**. Press enter button. *45 = 50 + C*
8. "delay" use up/down arrow buttons to set to **30**. Press enter button.
9. "Lo P1" use up/down arrow buttons to set to **25**. Press enter button. *25 = 50 + C*
10. "delay" use up/down arrow buttons to set to **30**. Press enter button. *30 = 50 + C*
11. "ALr" press down button to set to "indC." Press enter button.
12. "Sound" Leave sound on; press enter button twice.
13. "StArt" Leave autorestart on; press enter button twice.
14. "CarE" should be set to "L1" (default setting) Press enter
15. "HiFlo" use up/down arrow buttons to set to **5**. Press enter button.
16. "LoFlo" use up/down arrow buttons to set to **2**. Press enter button.
17. "CArE" We recommend you leave this setting as it was, hit enter twice
18. "StorE" Press up button to save all changes

**Setting Run Temperature:**  
Push the "mode" button once. The readout should flash "SP" (stands for set point) and then the set temperature, which comes set for 20°C from the factory. Use the arrow buttons to toggle that down to 5°C. Then hit the "enter" button to save the setting.

**When Chiller is Running:**  
Press the down button. Chiller will display water pressure. Typically this is around 35 psi. Hit down button again. Chiller will display water flow rate. Typically this is around 4 gallons/minute.

Eden Labs - Chiller / Compressor Quick Start GuidePage 1 of 3



## EASY TROUBLESHOOTING TIPS

*But, if you are stumped, need advice or operational support call our Tech Support & Service team at 888-626-3271 or contact us via our web site at [www.edenlabs.com/](http://www.edenlabs.com/)*

### Unable to get up to pressure

1. Ensure your orders have shipped earlier for 3-4 day delivery.
2. Ensure your pump is primed by seeing as the Pump Drive Motor and (2) 400-psi (200) is seen.
3. Check your fluid paths - confirm your valve configurations and check for leaks.

Small drops in pressure when the pump is turned off are normal, and are simply the CO<sub>2</sub> settling. Large drops over 200 psi indicate either a leak, or an open fluid path to a vessel at lower pressure. An isolated leak contributing to that reach loss of pressure will be noticeable.

Minor leaks are not especially noticeable, and generally won't contribute to any kind of significant drop in pressure. They're generally caused by compression fittings being a bit loose. Try to snuggly tighten (do not over-tighten as this could make the leak worse).

Terrific leaks are more obvious, and often can be heard and a big will be seen at the compressor fitting. These are usually fixed by tightening, but if the nut face is severely ragged and will won't seal, it's time to change the fitting & nut/washer. *Contact us!*

### Flooding Separators

Signs of Trouble: Bar between separators is cold, Separator 1 vents liquid (CO<sub>2</sub> flow) and/or extract from bottom.

Fix by:

1. Check Separator heat bath, ensure proper flow of water, and proper temperature (120-140°F).
2. Ensure chiller is at proper temperature (0-9°C) and
3. Ensure water flow is good.

When operating at lower pressure and/or temperature in the Extraction Vessel, you may need to dial back the pump speed slightly on your Compressed Air Manifold. This is because the pump is able to work more efficiently, and the increased flow is overpowering your Separator.

### Watery Extract

The water content in your plant material is notable in your CO<sub>2</sub>.

1. Ensure that your plant material is as dry as humanly possible before beginning an extraction. Small amounts of water will stay locked up in your CO<sub>2</sub> as you continue to re-pressurize.
2. If extract comes out waterier than usual, it's time to discard (vent) the contaminated CO<sub>2</sub> and start fresh.
3. You may also want to purge your accumulator. Follow steps in the manual for accumulator purge.

### Pressure relief valves deploying

*likely causes:*

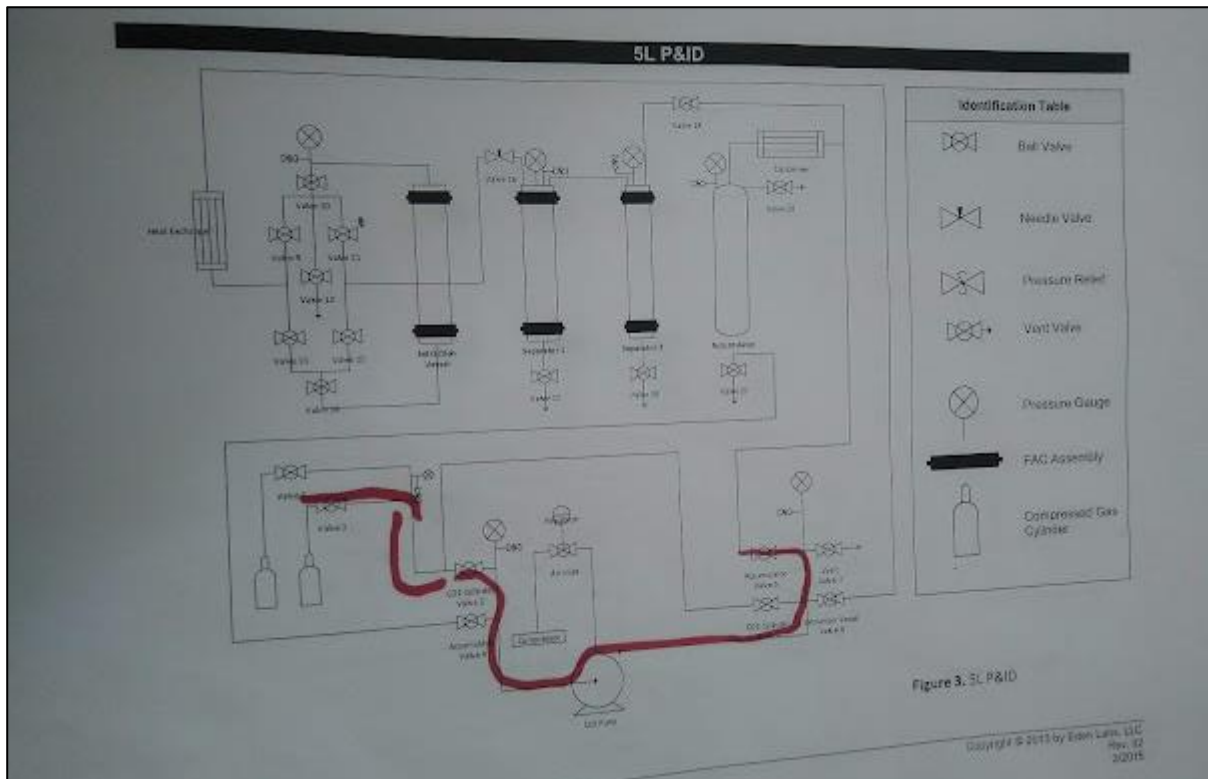
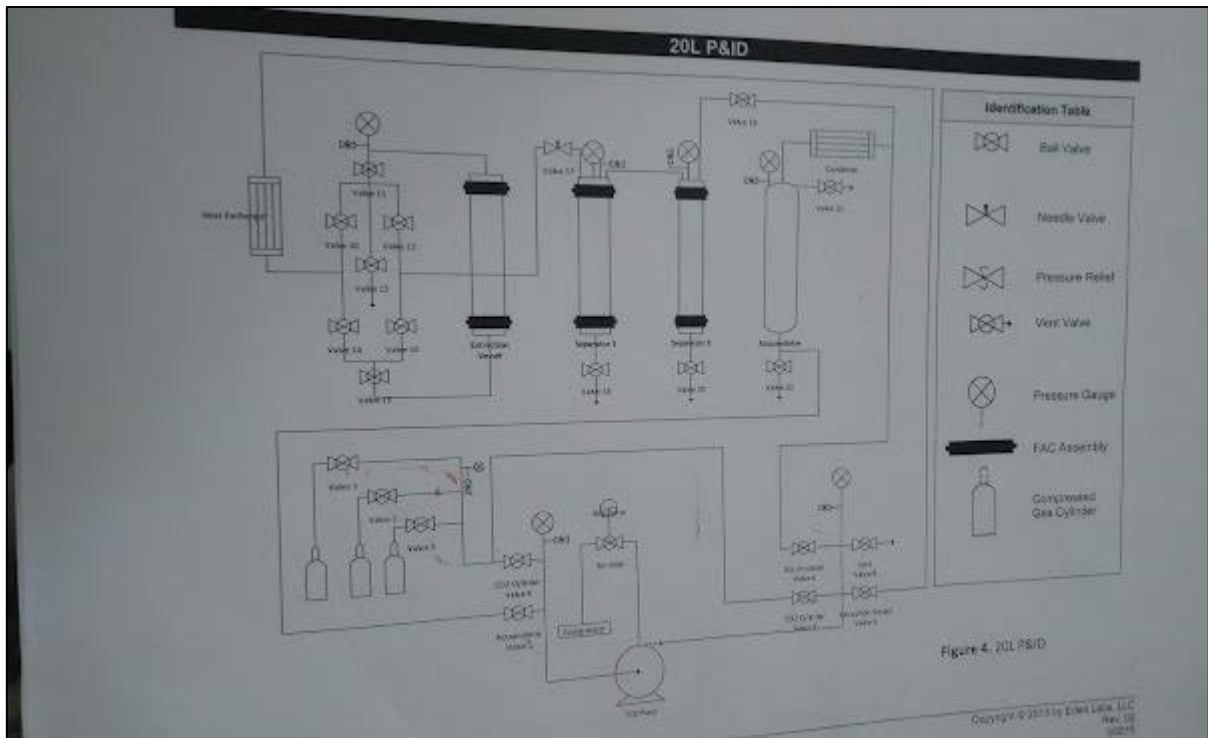
1. You're pumping your extraction vessel up past its maximum pressure.
2. Your PRV corresponds to a vessel, check that the heating/cooling is proper.
3. A valve is closed unintentionally somewhere in your fluid path.

After a harsh deployment, your valve may not re-seal immediately. It may be frozen open by a chunk of dry ice. To check this, apply gentle heat with a heat gun to melt ice buildup, and then attempt to re-pressurize. If it still does not re-seal, it needs to be repaired. *Contact us!*

### Pressure Gauge Malfunction

Gauge issues are uncommon, but they do happen. Gauge will either not show pressure, or show pressure incorrectly. To test this, depressurize and swap the suspect gauge with the gauge on Separator 2, then re-pressurize. The pressure reading on Separator 2 should be identical to Separator 1.

A gauge may also develop a very small internal main leak. If this is the case, your gauge will still read the correct pressure, however, the cold CO<sub>2</sub> leak will begin to freeze the gauge's liquid filling, making the dial face appear cloudy. *Contact us!*



**Anexo C***Imágenes del Equipo de Extracción de Fluidos Supercríticos*







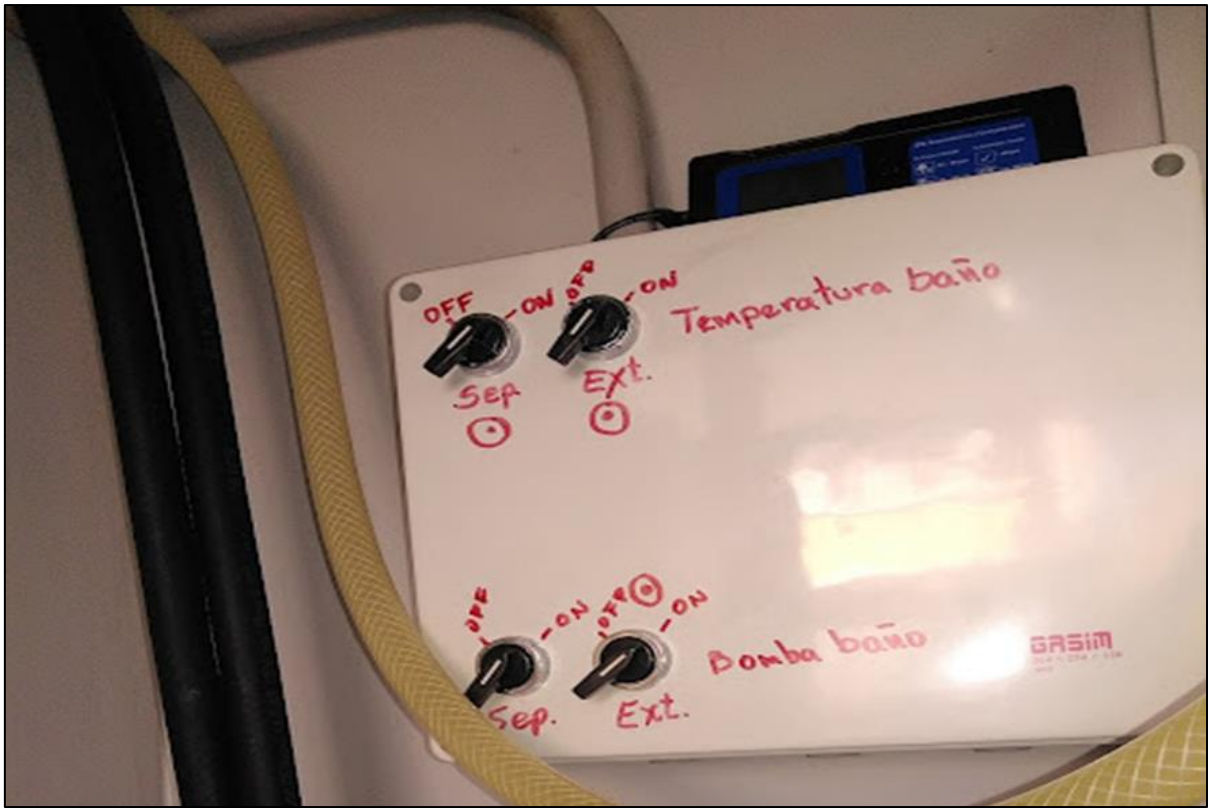














**Anexo D***Imágenes de las Muestras*







DIRECCIÓN DE DERECHO DE AUTOR  
Y DERECHOS CONEXOS  
RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA NRO. 1-904/2024  
La Paz, 28 de marzo de 2024

**VISTOS:**

La solicitud de Inscripción de Derecho de Autor presentada en fecha **21 de marzo de 2024**, por **JACQUELINE ISABEL LOAYZA NINA** con C.I. N° **6789570 LP**, con número de trámite **DA 505/2024**, señala la pretensión de inscripción del Proyecto de Grado titulado: **"DETERMINACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL MOLLE A PARTIR DE LA EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS"**, cuyos datos y antecedentes se encuentran adjuntos y expresados en el Formulario de Declaración Jurada.

**CONSIDERANDO:**

Que, en observación al Artículo 4º del Decreto Supremo N° 27938 modificado parcialmente por el Decreto Supremo N° 28152 el *"Servicio Nacional de Propiedad Intelectual SENAPI, administra en forma desconcentrada e integral el régimen de la Propiedad Intelectual en todos sus componentes, mediante una estricta observancia de los regímenes legales de la Propiedad Intelectual, de la vigilancia de su cumplimiento y de una efectiva protección de los derechos de exclusiva referidos a la propiedad industrial, al derecho de autor y derechos conexos; constituyéndose en la oficina nacional competente respecto de los tratados internacionales y acuerdos regionales suscritos y adheridos por el país, así como de las normas y regímenes comunes que en materia de Propiedad Intelectual se han adoptado en el marco del proceso andino de integración"*.

Que, el Artículo 16º del Decreto Supremo N° 27938 establece *"Como núcleo técnico y operativo del SENAPI funcionan las Direcciones Técnicas que son las encargadas de la evaluación y procesamiento de las solicitudes de derechos de propiedad intelectual, de conformidad a los distintos regímenes legales aplicables a cada área de gestión"*. En ese marco, la Dirección de Derecho de Autor y Derechos Conexos otorga registros con carácter declarativo sobre las obras del ingenio cualquiera que sea el género o forma de expresión, sin importar el mérito literario o artístico a través de la inscripción y la difusión, en cumplimiento a la Decisión 351 Régimen Común sobre Derecho de Autor y Derechos Conexos de la Comunidad Andina, Ley de Derecho de Autor N° 1322, Decreto Reglamentario N° 23907 y demás normativa vigente sobre la materia.

Que, la solicitud presentada cumple con: el Artículo 6º de la Ley N° 1322 de Derecho de Autor, el Artículo 26º inciso a) del Decreto Supremo N° 23907 Reglamento de la Ley de Derecho de Autor, y con el Artículo 4º de la Decisión 351 Régimen Común sobre Derecho de Autor y Derechos Conexos de la Comunidad Andina.

Que, de conformidad al Artículo 18º de la Ley N° 1322 de Derecho de Autor en concordancia con el Artículo 18º de la Decisión 351 Régimen Común sobre Derecho de Autor y Derechos Conexos de la Comunidad Andina, referentes a la duración de los Derechos Patrimoniales, los mismos establecen que: *"la duración de la protección concedida por la presente ley será para toda la vida del autor y por 50 años después de su muerte, a favor de sus herederos, legatarios y cesionarios"*

Que, se deja establecido en conformidad al Artículo 4º de la Ley N° 1322 de Derecho de Autor, y Artículo 7º de la Decisión 351 Régimen Común sobre Derecho de Autor y Derechos Conexos de la Comunidad Andina que: *"...No son objeto de protección las ideas contenidas en las obras literarias, artísticas, o el contenido ideológico o técnico de las obras científicas ni su aprovechamiento industrial o comercial"*

Que, el artículo 4, inciso e) de la ley N° 2341 de Procedimiento Administrativo, instituye que: *"... en la relación de los particulares con la Administración Pública, se presume el principio de buena fe. La confianza, la cooperación y la lealtad en la actuación de los servidores públicos y de los*



ciudadanos ...", por lo que se presume la buena fe de los administrados respecto a las solicitudes de registro y la declaración jurada respecto a la originalidad de la obra.

**POR TANTO:**

El Director de Derecho de Autor y Derechos Conexos sin ingresar en mayores consideraciones de orden legal, en ejercicio de las atribuciones conferidas.

**RESUELVE:**

**INSCRIBIR** en el Registro de Tesis, Proyectos de Grado, Monografías y Otras Similares de la Dirección de Derecho de Autor y Derechos Conexos, el Proyecto de Grado titulado: **"DETERMINACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS DEL MOLLE A PARTIR DE LA EXTRACCIÓN CON FLUIDOS SUPERCRÍTICOS"** a favor de la autora y titular: **JACQUELINE ISABEL LOAYZA NINA** con C.I. N° **6789570 LP**, quedando amparado su derecho conforme a Ley, salvando el mejor derecho que terceras personas pudieren demostrar.

Regístrese, Comuníquese y Archívese.

CASA/im

Firmado Digitalmente por:

Servicio Nacional de Propiedad Intelectual - SENAPI

**CARLOS ALBERTO SORUCO ARROYO**

**DIRECTOR DE DERECHO DE AUTOR Y DERECHOS CONEXOS**

LA PAZ - BOLIVIA



Firma:



pYxKk7F d70F8L

PARA LA VALIDACIÓN DEL PRESENTE DOCUMENTO INGRESAR A LA PÁGINA WEB [www.senapi.gob.bo/verificacion](http://www.senapi.gob.bo/verificacion) Y COLOCAR CÓDIGO DE VERIFICACIÓN O ESCANEAR CÓDIGO QR.



**Oficina Central - La Paz**  
Av. Montez, N° 515,  
entre Esp. Uruguay y  
C. Batallón Líbrami.  
Telf.: 2115700  
2116216 - 2116217

**Oficina - Santa Cruz**  
Av. Uruguay, Calle  
prolongación Quijarro,  
N° 29, Edif. Bicentenario.  
Telf.: 3321752 - 33242936

**Oficina - Cochabamba**  
Calle Bolívar, N° 131,  
entre 15 de Julio y Antezana.  
Telf.: 4141433 - 72042657

**Oficina - El Alto**  
Av. Juan Pablo II, N° 2500  
Edif. Multicentro El Ceibo,  
Lado Piso 2, Of. 38,  
Zona 15 de Julio.  
Telf.: 2141001 - 72043029

**Oficina - Oruro**  
Calle Kilómetro 7, N° 366  
casillas, Urugochalla,  
Zona Parque Bolívar.  
Telf.: 72005673

**Oficina - Sucre**  
Av. La Paz, entre  
Calle Oro Trigo y Aconcagua,  
Edif. Santa Clara, N° 243.  
Telf.: 72005206

**Oficina - Sucre**  
Calle 8 de Octubre, N° 9037,  
entre Apacucho  
y Junín, Calles Central,  
Of. 14.  
Telf.: 67201288

**Oficina - Potosí**  
Av. Villazón entre calles  
Wenceslao Albo y San Alberto,  
Edif. AN. Salinas N° 242,  
Paseo Pao, Of. 11.  
Telf.: 72318190



**LOAYZA NINA JACQUELINE ISABEL**

**[jacquisabel@gmail.com](mailto:jacquisabel@gmail.com)**

**cel. 60688919**