



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES  
INSTITUTO DE FÍSICA**

**ESTUDIO DE COLORANTES AMARILLOS MEXICANOS MEDIANTE  
ESPECTROSCOPIAS RAMAN Y SERS**

**TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
DOCTORA EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES**

**PRESENTA:  
MARÍA ANGÉLICA GARCÍA BUCIO**

**TUTOR PRINCIPAL  
DR. JOSÉ LUIS RUVALCABA SIL  
INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM**

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR  
DR. ROBERTO YSACC SATO BERRÚ  
ICAT, UNAM  
DR. JUAN CARLOS CHEANG WONG  
INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM**

**CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE, 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Agradecimientos

A mi asesor de tesis, el Dr. José Luis Ruvalcaba Sil por no sólo apoyarme en el desarrollo del proyecto de doctorado, sino por haber contribuido durante muchos años en mi formación científica.

A los miembros de mi comité tutor, el Dr. Roberto Ysacc Sato Berrú y el Dr. Juan Carlos Cheang Wong, quienes me asesoraron en la elaboración de este proyecto durante cuatro años.

Al Lic. Isaac Rangel Chávez por la adquisición y procesamiento de las fotografías UV, Vis, IR e IRFC, así como por todo el apoyo brindado para la elaboración de este proyecto.

Al Dr. Miguel Ángel Maynez Rojas por su asesoría en la elaboración de pigmentos laca, y al Mtro. Nathael Cano por el apoyo en la elaboración de los materiales pictóricos de referencia.

A la Mtra. Lilian García y a Alejandro Ruiz por la recolección e identificación de algunos de los especímenes de plantas utilizadas en este proyecto.

Al Biól. Jorge Rojas por la identificación botánica de algunos de los especímenes de plantas utilizadas en este trabajo.

Al Dr. José Javier Cárcamo Vega por el apoyo en la elaboración de los coloides de nanopartículas metálicas y a los Doctores Alejandro Mitrani y Edgar Casanova por el apoyo en la revisión del artículo de investigación.

A los técnicos del IF-UNAM: Roberto Hernández, Samuel Tehuacanero, Diego Quiterio, Francisco Jaimes, Mauricio Escobar y Diego Romero.

A mis compañeros de LANCIC-IF: Sol, Óscar, Mayra, Rocío, Griselda, Ángela, Carlos, Paulina, Valentina, Lucía y Aline por todos sus consejos y apoyo en la elaboración del trabajo.

Se agradece el apoyo del Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural LANCIC sede Instituto de Física UNAM, a través de los proyectos CONACYT LN 279740, LN293904, LN299076 y CB239609; así como al proyecto PAPIIT UNAM IN112018.

Al proyecto REDES 150136 CONICYT (Chile).

A las autoridades de la biblioteca José María Lafragua de la BUAP por las facilidades brindadas para el estudio del código Sierra.

Al CONACYT por haberme dado una beca durante mis estudios de doctorado.

## Dedicatoria

Con mucho cariño a mis padres Oralia y Víctor, por estar presentes, por quererme y apoyarme en cada etapa de mi vida.

A mis hermanos Rodrigo y Eduardo.

A mi familia, en especial a mi abuelo José, a tía Guille y tío David, a tía Ofe y tío Javier y a tío Tito.

A mi otra familia, los comensales del pie: Rosita, Gus, Endy, Sergio, Silvia, Asael, Aline y Juanma.



## Resumen

Esta tesis representa uno de los primeros trabajos para la identificación de colorantes amarillos extraídos de recursos naturales mexicanos por espectroscopía Raman y por espectroscopía Raman amplificada por superficie (SERS), los cuales han sido poco estudiados debido a su complejidad y difícilmente identificados en patrimonio cultural mediante técnicas no destructivas y no invasivas.

De forma general, el trabajo ha sido dividido en tres partes principales, cada una con sus metodologías y resultados específicos. En una primera parte (fase I) se ha evaluado la técnica SERS en el análisis de los extractos de las plantas seleccionadas para este estudio, y se obtuvieron por primera vez espectros SERS de los extractos de *xochipalli*, pericón y cempasúchil, así como de sus moléculas colorantes principales: buteína y quercetagina.

Debido a que la identificación de colorantes en patrimonio cultural se basa en la comparación directa entre los resultados obtenidos del objeto estudiado y referencias materiales específicas, en la segunda fase de este trabajo se propone el estudio mediante Raman y SERS complementada con análisis colorimétrico y técnicas de imagen de pigmentos laca amarillos, los cuales fueron elaborados con recetas antiguas propuestas por Jo Kirby. En esta fase fue posible obtener espectros Raman característicos de cada laca amarilla, así como una clasificación de éstas en función de sus cualidades colorimétricas y de la información obtenida mediante las técnicas de imagen.

Dado que uno de los mayores retos en el estudio de colorantes amarillos es su identificación en bienes culturales, en la fase tres de este trabajo se propone una metodología no destructiva y no invasiva para los materiales pictóricos de referencia elaborados con las lacas amarillas, evaluando las ventajas y limitaciones del uso de la espectroscopía Raman como técnica principal.

En la parte final de este trabajo se muestra la aplicación de la metodología propuesta en el estudio de los colores amarillos en una obra original: el folio 33 del código Sierra-Texupan, en donde fue posible identificar una laca amarilla, posiblemente elaborada con *zacatlaxcalli*.



# Contenido

Índice de siglas y abreviaturas .....	7
Introducción .....	9
Capítulo 1. Colorantes amarillos .....	13
1.1 Colorantes .....	13
1.2. Aplicación en patrimonio cultural .....	13
1.2.1. Tinción de fibras textiles .....	13
1.2.2. Pigmentos laca .....	15
1.2.3. Códices y documentos coloniales .....	17
1.3. Colorantes amarillos en época prehispánica .....	20
1.4. Colorantes amarillos en la tintorería tradicional mexicana .....	23
Capítulo 2. Antecedentes .....	27
2.1. Análisis de colorantes amarillos en bienes culturales mediante técnicas destructivas.....	27
2.2. Estudios no destructivos de colorantes amarillos en patrimonio cultural .....	29
Capítulo 3. Teoría de la espectroscopía Raman .....	31
3.1. Efecto Raman .....	31
3.2. Instrumentación .....	32
3.3. Limitaciones de la espectroscopía Raman .....	33
3.4. Técnicas basadas en espectroscopía Raman.....	33
Capítulo 4. Metodología general.....	39
4.1. Investigación y selección de especímenes .....	39
Capítulo 5. Fase I: Extractos naturales .....	43
5.1. Metodología experimental.....	43
5.1.1. Extracción .....	43
5.1.2. Preparación de nanopartículas metálicas .....	44
5.1.3. Equipos y procedimientos .....	44
5.2. Resultados caracterización de nanopartículas.....	46
5.3. Resultados SERS en extractos .....	47
5.4. Consideraciones finales.....	64
Capítulo 6. Fase II: Pigmentos laca.....	67

6.1. Metodología experimental.....	67
6.1.1. Elaboración de lacas.....	67
6.1.2. Equipos y procedimiento .....	69
6.2. Resultados .....	71
6.2.1. Colorimetría en lacas.....	72
6.2.2. Resultados Raman de lacas .....	74
6.2.3. Resultados SERS en lacas.....	82
6.2.4. Resultados con técnicas de imagen .....	86
6.2.5. Consideraciones finales.....	93
Capítulo 7. Fase III: Materiales pictóricos de referencia.....	95
7.1. Metodología experimental.....	95
7.1.2. Elaboración de materiales pictóricos .....	95
7.1.3. Instrumentación .....	96
7.2. Resultados .....	97
7.2.1. Colorimetría .....	97
7.2.2. Espectroscopía Raman .....	99
7.2.3. Técnicas de imagen .....	105
7.2.4. Consideraciones finales.....	109
Capítulo 8. Aplicación de la metodología en el estudio de una obra original .....	111
8.1. Estudio del Códice Sierra-Texupan.....	111
8.2. Consideraciones finales.....	115
Conclusiones .....	117
Trabajo a futuro .....	121
Apéndice A .....	123
Apéndice B .....	131
Apéndice C.....	137
Apéndice D .....	141
Artículo de investigación.....	143
Bibliografía .....	153

## Índice de siglas y abreviaturas

AA-V: Intervalo colorimétrico “amarillo-amarillo, verde”

Ach-Ca (K): Laca de achiote elaborada con carbonato de calcio (potasio)

AL: Aceite de linaza

ALS: Aceite de linaza con sellado de cola de conejo

AR-A: Intervalo colorimétrico “amarillo-rojo, amarillo”

AR-R: Intervalo colorimétrico “amarillo-rojo-rojo”

CARS: Coherent Anti-Stokes-Raman Spectroscopy

CCD's: Charge Couple Devices

CeA-Ca (K): Laca de cempasúchil amarillo elaborada con carbonato de calcio (potasio)

CeN-Ca (K): Laca de cempasúchil naranja elaborada con carbonato de calcio (potasio)

DFT: Density Functional Theory

CH: Clara de huevo

CHS: Clara de huevo con sellado de cola de conejo

Coloide Ag-Cit: Coloide de plata reducido con citrato de sodio

Coloide Ag-Hx: Coloide de plata reducido con hidroxilamina

Coloide Au-Cit: Coloide de oro reducido con citrato de sodio

DART-MS: Direct Analysis in Real Time-Mass Spectrometry

FORS: Fiber Optic Reflectance Spectroscopy

FR: Filtro Rayleigh

FTIR: Fourier Transform Infrared Spectroscopy

GA: Goma arábica

GABP: Goma arábica con base de preparación

GC-MS: Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Gu-Ca (K): Laca de gualda elaborada con carbonato de calcio (potasio)

HOMO: Highest Occupied Molecule Orbital

HPLC-ESI-Q-ToF: High Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Quadrupole-Time-of-Flight

HPLC-DAD: High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detection

HPLC-MS: High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

IRFC: Infrarrojo de falso color

LAIA: Laboratorio de Análisis e Investigaciones Arqueométricas

LANCIC-IF: Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural - sede Instituto de Física

LC-DAD: Liquid Chromatography-Diode Array Detector

LC-DAD-MS: Liquid Chromatography-Diode Array Detector-Mass Spectrometry

LUMO: Lowest Un-occupied Molecular Orbital

PaM-Ca (K): Laca de palo mora elaborada con carbonato de calcio (potasio)

Per-Ca (K): Laca de pericón elaborada con carbonato de calcio (potasio)

Qu-Ca (K): Laca de la referencia de quercetina elaborada con carbonato de calcio (potasio)

RRS: Resonant Raman Spectroscopy

SERDS: Shift Excitation Raman Difference Spectroscopy

SERS: Surface Enhanced Raman Spectroscopy

SSRS: Substracted Shifted Raman Spectroscopy

TBP: *Tzauhtli* con base de preparación de  $\text{CaCO}_3$

UV-IR: Ultravioleta-Infrarrojo

UVLW: Ultraviolet Long Wavelength

UVSW: Ultraviolet Short Wavelength

UV-Vis: Ultravioleta-Visible

Vis: Visible

XoA-Ca (K): Laca de *xochipalli* amarillo elaborada con carbonato de calcio (potasio)

XoN-Ca (K): Laca de *xochipalli* naranja elaborada con carbonato de calcio (potasio)

XRF: X-Ray Fluorescence

YH: Yema de huevo

YHS: Yema de huevo con sellado de cola de conejo

ZaF-Ca (K): Laca de *zacatlaxcalli* fresco elaborada con carbonato de calcio (potasio)

ZaS-Ca (K): Laca de *zacatlaxcalli* seco elaborada con carbonato de calcio (potasio)

## Introducción

Hasta el descubrimiento de los colorantes sintéticos en la segunda mitad del siglo XIX, una gran cantidad de tintes naturales eran utilizados para, entre otras cosas, la tinción de fibras textiles<sup>[1]</sup>. En México las plantas locales usadas para la tinción de fibras textiles fueron también utilizadas para la elaboración de materiales colorantes y pigmentos para códices (y otros documentos), pintura mural y algunos otros objetos coloreados<sup>[2,3,4]</sup>. El uso de colorantes amarillos fue descrito por el fraile franciscano Bernardino de Sahagún en el *Códice Florentino*, un documento del siglo XVI que es la principal fuente histórica sobre el uso de materiales y técnicas en época prehispánica. En particular el *zacatlaxcalli* (*Cuscuta tinctoria*), *xochipalli* (*Cosmos sulphureus*), y el *achiote* (*Bixa orellana*) se describen como recursos naturales de donde se extraía un color amarillo utilizado en época prehispánica<sup>[4]</sup>.

Después de la conquista del territorio mesoamericano por la corona española, el uso de materiales colorantes y técnicas pictóricas fueron modificados o perdidos, de tal forma que hoy en día se tiene una escasa información sobre los materiales y métodos utilizados en época prehispánica y en la primera parte del periodo colonial, pero sobre todo de los colorantes de tradición prehispánica. Los colorantes amarillos naturales aún son utilizados dentro de la tintorería tradicional mexicana, en donde maestros tintoreros hacen uso de plantas como el palo mora (*Maclura tinctoria*), *cempasúchil* (*Tagetes erecta*), pericón (*Tagetes lucida*) e incluso la gualda (*Reseda luteola*) cuyo origen es europeo<sup>[5]</sup>.

La identificación de los materiales que conforman un bien cultural es relevante porque permite recuperar el conocimiento tecnológico con el cual fue elaborado, su contextualización e historia, así como información útil para su conservación y/o restauración<sup>i</sup>.

Actualmente existen técnicas analíticas para el estudio y caracterización de materiales, las cuales permiten obtener información muy completa del objeto a estudiar. Particularmente la cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrómetro de masas (HPLC-MS), es la técnica más empleada en la identificación de colorantes<sup>[6]</sup>, incluso aquellos con matices amarillos<sup>[7]</sup>. Aunque esta técnica proporciona información sobre los cromóforos principales que están presentes en el colorante, el proceso experimental requiere de la toma de muestra, una práctica que está frecuentemente limitada o incluso prohibida cuando se trabaja con objetos únicos de patrimonio cultural.

Con el desarrollo de nuevos detectores es posible realizar análisis *in situ*<sup>ii</sup> con equipos portátiles dentro de museos y otros sitios, permitiendo llevar a cabo un estudio no destructivo y no invasivo

---

<sup>i</sup> Se tiene que tomar en cuenta que muchos de los objetos que son estudiados presentan alguna alteración, se encuentra deteriorados y (o) intervenidos.

de una gran cantidad de objetos. La combinación de diferentes técnicas como lo son la fluorescencia de rayos X (XRF), la espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), la espectroscopía Raman, la espectroscopía de Reflectancia por Fibra Óptica (FORS), la de absorción UV-Vis, y las técnicas de imágenes como imagen UV-IR e infrarrojo de falso color (IRFC), ha permitido una adecuada caracterización de pigmentos, aglutinantes, bases de preparación, soportes, barnices y colorantes sin dañar al objeto. Sin embargo, la identificación de los matices amarillos se limita solamente a aquellos de origen inorgánico, como lo son el oropimente ( $As_2S_3$ ) y el ocre amarillo identificados en códigos<sup>[8,9]</sup>, mientras que los de naturaleza orgánica son difíciles de identificar<sup>[10, 11,12]</sup>.

Algunos de los problemas para el estudio de los colorantes amarillos son, por ejemplo, la baja concentración en la que se encuentran presentes en los objetos debido a su alto poder de tinción. La mayoría de los cromóforos extraídos de plantas que dan lugar a matices amarillos son flavonoides, lo que hace difícil diferenciarlos entre sí por técnicas como FORS<sup>[13]</sup>, la cual es exitosamente utilizada en la identificación de otros colorantes<sup>[14]</sup>. Otro problema es la gran sensibilidad de los flavonoides a la luz y su rápida degradación. Adicionalmente, la fuerte fluorescencia de las moléculas orgánicas (particularmente de los flavonoides) impide la observación de las bandas características cuando se trabaja con la espectroscopía Raman. Algunos grupos han optado por el uso de las espectroscopías de absorción y fluorescencia (UV-Vis) aunque también presentan limitaciones<sup>[15]</sup>. Por otro lado, la presencia de aglutinantes y diferentes soportes (papel o fibras textiles), causa una fuerte interferencia en las bandas asociadas con los colorantes durante el análisis con FTIR, de tal forma que la identificación de los colorantes amarillos con estas técnicas, es una tarea difícil de realizar.

La espectroscopía Raman amplificada por superficie (SERS) ha sido exitosamente empleada en el estudio de moléculas orgánicas. Esta técnica amplifica la señal Raman (del orden de  $10^6$  veces en condiciones ideales<sup>[16]</sup>) y disminuye la fluorescencia de las moléculas orgánicas que se encuentran en las cercanías de metales nanoestructurados, los cuales se utilizan como sustratos SERS. Esta técnica es muy sensible, con lo que la cantidad de muestra necesaria es pequeña en comparación con otras técnicas analíticas. Ejemplo de ello, es la factibilidad de realizar la adquisición del espectro SERS de una molécula<sup>[17]</sup>. Actualmente SERS es una herramienta útil en la identificación de colorantes amarillos, en donde se ha aplicado en el estudio de algunos flavonoides como quercetina, kaempferol, luteolina, apigenina, crisina y morin<sup>[24, 18, 19, 20]</sup>, así como también en el estudio de lacas amarillas<sup>[21]</sup>, colorantes y fibras textiles<sup>[22,23,24]</sup>.

---

<sup>ii</sup> El término *in situ* cuyo significado “en el lugar o en el sitio” se refiere, en este trabajo, al estudio del objeto en el lugar en donde se encuentra, sin necesidad de trasladarlo al laboratorio.



### **Problema científico**

Los colorantes amarillos presentes en el patrimonio cultural son difíciles de identificar mediante técnicas espectroscópicas y de imagen no destructivas y no invasivas.

### **Hipótesis**

La espectroscopía Raman amplificada por superficie (SERS) permite la disminución de la fluorescencia en algunos materiales orgánicos, en particular de los colorantes amarillos, por lo que es posible llevar a cabo una caracterización de los mismos.

La espectroscopía Raman de 1064 nm es adecuada para la identificación de materiales colorantes orgánicos.

El uso de técnicas espectroscópicas complementarias permite realizar un análisis completo de los objetos sin alterar sus propiedades físicas o químicas.

### **Objetivo**

Elaborar una metodología basada en espectroscopía Raman/SERS complementada con técnicas no destructivas y no invasivas para la identificación de colorantes amarillos de objetos propios del patrimonio cultural.

Preparar referencias materiales de colorantes amarillos de épocas prehispánica y colonial, y usados en tintorería tradicional, empleando plantas locales para su extracción.

Conformar una base de espectros Raman y SERS de referencia para la identificación de colorantes amarillos.



# Capítulo 1. Colorantes amarillos

## 1.1 Colorantes

Los materiales utilizados para dar color a los objetos se pueden dividir en dos grandes grupos: los pigmentos y los colorantes. En función de sus propiedades, los pigmentos son aquellas sustancias insolubles que en combinación con algún medio o vehículo son aplicados en diferentes soportes, mientras que dada la solubilidad de los colorantes, éstos se utilizan principalmente en la tinción de fibras textiles<sup>[25]</sup>.

Los colorantes se sintetizan y acumulan mayoritariamente en las células de las plantas o animales (en el caso del carmín y el púrpura de origen americano)<sup>[26]</sup>, por lo que son de naturaleza orgánica.

De acuerdo a su estructura, los colorantes se han clasificado en seis grupos:

- Carotenoides: Colorantes amarillos y anaranjados.
- Flavonoides: Colorantes amarillos y anaranjados.
- Antocianinas: Colorantes azules y rojos.
- Quinonas: Colorantes púrpura, escarlata, anaranjado y rojo siena.
- Indigoides: Colorantes azules y púrpuras.
- Taninos: Combinados con sales precipitan en colores gris-verdoso, azul-pizarra o negro<sup>[26]</sup>.

Antes del descubrimiento de los colorantes sintéticos en la segunda mitad del siglo XIX, gran variedad de recursos naturales eran utilizados para la extracción de colorantes, empleándolos principalmente en la tinción de fibras textiles<sup>[1]</sup>. En Mesoamérica algunos colorantes eran empleados, además de en la tinción, para producir pigmentos utilizados en la elaboración de pintura mural y códices, tal es el caso del azul maya, el cual está elaborado con índigo, colorante extraído de las hojas de la planta *Indigofera suffruticosa* y con paligorskita, una arcilla mineral, donde se fija el colorante<sup>[27]</sup>.

## 1.2. Aplicación en patrimonio cultural

### 1.2.1. Tinción de fibras textiles

Teñir se refiere al proceso de transferir un colorante a una fibra o soporte a través de un medio acuoso, por ello las materias colorantes deben de ser hidrosolubles. Caso excepcional es el añil (o índigo), en donde se necesita un proceso adicional para solubilizar la indigotina, molécula principal del colorante extraído de esta planta<sup>[26]</sup>.

Distintas fibras animales y vegetales han sido utilizadas desde la antigüedad como soportes para la elaboración de diferentes textiles. Las diferencias más notables entre la tintorería andina y mesoamericana radica en el acceso que se tenía a los diferentes soportes<sup>[26]</sup>.

Las fibras de origen animal provenientes de los camélidos (alpaca y vicuña principalmente) eran utilizadas en la región andina. Debido a la constitución proteica de estas fibras animales, existe una enorme afinidad de éstas hacia los colorantes, por lo que en esta región se pudo obtener una amplia gama de textiles coloreados<sup>[26]</sup>.

En Mesoamérica, sin embargo, las fibras comúnmente hiladas eran de naturaleza vegetal (algodón, fibras agaváceas y de liliáceas), en donde el teñido era destinado a los textiles de algodón de la élite prehispánica. Debido a que el algodón es de las fibras de constitución celulósica que menos afinidad a los colorantes naturales posee, su tinción mediante materiales tintóreos estuvo ampliamente limitado. A pesar de ello, la aplicación de plumas de aves y pelo de conejo teñidos, los cuales eran insertados entre las hebras de algodón durante el proceso de hilado, permitió minimizar la limitante de la afinidad del algodón, obteniendo así diferentes objetos coloridos<sup>[26]</sup>.

Debido a las diferencias en la naturaleza de las fibras utilizadas como soportes, existen varios métodos o procesos de tinción en función tanto de las fibras, como de los colorantes empleados. Cuando las moléculas colorantes en las plantas poseen grupos funcionales afines a las fibras, se utiliza el proceso de tinción directa. En éste las fibras se sumergen en un recipiente con agua en donde previamente las plantas han sido remojadas (y/o hervidas), formando varios enlaces iónicos, en el caso de las fibras animales y colorantes aniónicos (cúrcuma, bixina), o colorantes catiónicos como la berberina. Las interacciones entre tintes directos y fibras vegetales no han sido identificadas para un gran número de colorantes, como lo es el caso de los líquenes y los taninos<sup>[1]</sup>.

La técnica empleada para teñir con índigo y púrpura de caracol emplea un proceso de reducción en condiciones alcalinas. Las fibras absorben la tinta en su forma reducida y soluble. Cuando las fibras se exponen al oxígeno del aire, el índigo y el púrpura precipitan nuevamente tornando las fibras de color azul o violeta<sup>[1]</sup>.

A menudo los colorantes poseen una afinidad química débil hacia las fibras textiles, por lo que se requiere el uso de mordientes<sup>[1]</sup>, los cuales tienen como función modificar la estructura molecular de la fibra, de tal forma que las moléculas del colorante se incorporen a éstas<sup>[26]</sup>. Los mordientes contienen iones metálicos multivalentes formando complejos entre el colorante y el metal<sup>[1]</sup>. En la tintorería americana tradicional se han empleado distintos mordientes, desde sales metálicas como el alumbre y la caparrosa hasta compuestos solubles como lo son el ácido oxálico, que se encuentra presente en algunas especies de plantas, y los taninos extraídos de las cortezas de ciertos árboles<sup>[26]</sup>.

Por otro lado, los entonadores son sustancias que varían el pH de los colorantes, y son utilizados para modificar el color final de la fibra teñida. Para acidificar el baño de tinte, algunos tintoreros utilizan, en Ecuador y Perú, frutos, hojas y raíces pertenecientes a las plantas de los géneros *Phytolacca*, *Oxalis*, *Rumex* y *Miconia* entre otras. Por el contrario, el baño era alcalinizado mediante el uso de la fermentación amoniacal de orines humanos o bien cenizas vegetales ricas en potasa. Algunas sales metálicas como el sulfato de hierro y el cobre también varían el color final de las fibras<sup>[26]</sup> (figura 1).



**Figura 1.** Fibras de lana y algodón teñidas con colorantes naturales amarillos: gualda, palo mora, palo mora post-mordentado, *zacatlaxcalli* y cempasúchil. Fotografía: Isaac Rangel

### 1.2.2. Pigmentos laca

Un pigmento laca<sup>iii</sup> está constituido esencialmente por el colorante y el sustrato, donde la función de éste último es la de dar solidez y cuerpo al pigmento, con la finalidad de ser mezclado con algún medio o vehículo cual si fuera un pigmento inorgánico<sup>[28]</sup>. La función del colorante es la de brindar el matiz específico a la laca, mientras que el sustrato aporta solidez y transparencia al pigmento. El hidróxido de aluminio amorfo es el sustrato más común encontrado en lacas rojas, con un índice de refracción muy bajo, comparable al del aceite de linaza<sup>[28]</sup>.

En particular las lacas rojas eran aplicadas con este aceite para formar veladuras<sup>iv</sup>,<sup>[28]</sup> y corladuras<sup>v</sup>,<sup>[29]</sup>. Las lacas eran utilizadas en la iluminación de manuscritos medievales, en donde los matices amarillos eran proporcionados por las lacas de gualda<sup>[30]</sup>.

Para el caso de los pigmentos amarillos, las recetas más tempranas sugieren que el sustrato más común contenía sales de calcio, mientras que para el siglo XVIII el hidróxido de aluminio amorfo era el más común<sup>[28]</sup>.

---

<sup>iii</sup>El término laca, que en México es conocido como Maque, es utilizado también para describir a la técnica artesanal que consiste en la aplicación de un barniz sobre distintos materiales (principalmente madera), el cual le brinda dureza y brillo para un posterior decorado. Sin embargo en este trabajo el término laca se refiere a los pigmentos obtenidos de la precipitación de colorantes sobre sales metálicas.

<sup>iv</sup> Las veladuras son capas pictóricas transparentes y continuas.

<sup>v</sup> Las corladuras son barnizados de láminas metálicas y panes de oro y plata con un barniz de resinas y esencias generalmente coloreado.

Las lacas eran obtenidas a partir de la precipitación de los colorantes en los sustratos, en donde ocurre una formación de compuestos de coordinación entre las moléculas colorantes y el conjunto de cationes metálicos denominado mordiente, siendo el más común el alumbre potásico ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ). El mordiente se encuentra enlazado a grupos funcionales específicos de la molécula mediante enlaces covalentes y de coordinación. En condiciones alcalinas las lacas precipitan como un complejo insoluble metal-molécula, mientras que el exceso de aluminio precipita como un sólido amorfo de óxido de aluminio hidratado. Cuando el alumbre es disuelto en agua, éste se disocia para dar lugar a iones trivalentes  $\text{Al}^{3+}$ , que al hidratarse forman iones  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ . En una solución acuosa que contiene solamente especies de carbonato o bicarbonato como fuente de alcalinidad, los iones  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  experimentan una serie de rápidas reacciones de hidrólisis hasta formar especies monoméricas y poliméricas solubles, así como  $\text{Al}_2(\text{OH})_3$ <sup>[31]</sup>. Otro mecanismo por el cual la laca puede precipitar es por la adsorción de la molécula colorante en el precipitado de hidróxido de aluminio amorfo<sup>[32]</sup>.

En la preparación tradicional de lacas amarillas, comúnmente para la de gualda, las condiciones alcalinas se logran mediante el uso de lejía o una base, la cual puede ser una solución acuosa de carbonato de potasio. En una variante de esta receta, alternativa al uso de la base se emplea alguna sal de calcio como puede ser tiza, obteniendo como resultado un pigmento con sales de calcio o sal en el sustrato, además de alúmina. Los pigmentos obtenidos mediante estos dos métodos son diferentes en apariencia<sup>[28]</sup>.

La mayoría de los colorantes presenta cierta sensibilidad a los cambios del pH de la disolución en la que se encuentran, lo cual era conocido y aprovechado para obtener distintas tonalidades (como se vio anteriormente en la tinción de fibras textiles). El medio líquido más común solía ser el agua, aunque también se empleaban sustancias como el vino, la cerveza y la orina<sup>[30]</sup>.

En el estudio de los tratados sobre las técnicas pictóricas en la elaboración de manuscritos medievales (figura 2), se menciona que los aglutinantes más empleados eran la clara de huevo, la goma arábica<sup>vi</sup> y las colas de origen animal. La yema de huevo se usaba pocas veces como aglutinante en la iluminación, debido a que tiene una adherencia menor que la clara. Por su parte, las colas animales se utilizaron sobre todo como adhesivos en los procesos de dorado y crisografía<sup>vii</sup><sup>[30]</sup>.

---

<sup>vi</sup> Nombre con el cual se identificaban varias resinas producidas de diversas especies de Acacia, específicamente la producida de la zona norte de África (*Acacia Verek* o *Acacia Senegal*).

<sup>vii</sup> La crisografía se define como el arte de escribir por medio de letras tipografía o símbolos de color dorado.



**Figura 2.** Detalle de una Ilustración de la copia de un manuscrito del siglo XIV sobre la novela de Renart. Imagen obtenida de la referencia [33].

### 1.2.3. Códices y documentos coloniales

Los códices prehispánicos (figura 3) eran objetos en los cuales fueron plasmados, con escritura tipo pictográfica, crónicas históricas, mapas, tributos, actos heroicos, entre otros temas. Por otro lado, en época novohispana la temática en estos documentos (figura 4) se amplió, mostrando interés por la historia, la vida social y las costumbres de los indígenas, con lo cual algunos códices fueron reelaborados con la intención de reconstruir el pasado, tratando de utilizar materiales y técnicas nativas<sup>[34]</sup>.

Los estudios realizados a los códices y a la pintura mural prehispánica (de los cuales se hablará más adelante), sugieren que para esta última los pigmentos utilizados fueron principalmente inorgánicos, mientras que los códices fueron preferentemente coloreados con pigmentos elaborados con colorantes naturales, debido quizá a que los murales están expuestos a la intemperie y a la luz constante, mientras que los documentos eran poco expuestos pues la mayor parte del tiempo permanecían guardados. Además, los colorantes permitieron tener colores más brillantes y específicos en los códices, los cuales no podían reproducirse con los pigmentos minerales<sup>[35]</sup>.

Los colores orgánicos presentes en los códices podían ser colorantes que se extraían, depuraban, se mezclaban con algún aglutinante y se utilizaban para pintar. A pesar de ello, de la mayoría de los materiales colorantes se elaboraban pigmentos laca, obteniéndose la estabilidad y resistencia

necesaria para su aplicación en estos documentos<sup>[36]</sup>. Los pigmentos laca mesoamericanos eran también obtenidos mediante la precipitación del colorante en un sustrato mineral<sup>[37]</sup> que podía ser ya sea una sal metálica: (alumbre, nitro ( $\text{KNO}_3$ ) o aceche ( $\text{FeSO}_4$ )), o una arcilla<sup>[36]</sup>.

De los materiales utilizados para iluminar los códices, en fuentes históricas se hace referencia al negro a base de carbón vegetal *tilli* o *tilliocotl* así como a los tintes y pigmentos laca rojos obtenidos a partir del *nocheztli*, es decir la grana cochinilla (*Dactylopius coccus*). También se menciona el colorante rojo extraído de la madera del *Haematoxylon brasiletto* que los nahuas llamaban *huitzcuahuitl*<sup>[3,4,36,37]</sup>

Los matices azules eran obtenidos de la planta de añil (*Indigofera suffruticosa*) o *xiuhquilitl* en Náhuatl, a partir de la cual se elaboraba el pigmento azul maya. De las flores de la *Commelina coelestis* o *matlaxochitl* se obtenía un colorante azul que se hacía precipitar sobre una arcilla<sup>[4,36]</sup>.

Del *achiyotl* o achiote (*Bixa orellana*), el *zacatlaxcalli* (*Cuscuta tinctoria*) y el *xochipalli* (*Cosmos sulphureus*) se obtenían colores amarillos-anaranjados<sup>[3,4,36]</sup>, los cuales se verán en detalle más adelante.

Los documentos coloniales del siglo XVI fueron elaborados con colorantes; con el pasar de los años los materiales europeos fueron adoptados por los indígenas, primero combinando y luego reemplazando a los colorantes, de forma que los códices más tardíos se encuentran conformados con pigmentos como blanco de plomo ( $\text{PbCO}_3$ ) $\cdot$  $\text{Pb(OH)}_2$ , ultramarino ( $3\text{Na}_2\text{O}\cdot 3\text{Al}_2\text{O}_3\cdot 6\text{SiO}_2\cdot 2\text{Na}_2\text{S}$ ), ocre rojo y amarillo (óxidos de Fe), minio ( $(\text{Pb}^{2+})_2\text{Pb}^{4+}\text{O}_4$ ), cinabrio (HgS) y verdigris (mezcla de acetatos de cobre)<sup>[35]</sup>.

### **Soportes**

Antes de la llegada de los españoles al continente americano, los códices, en particular los mesoamericanos, fueron elaborados principalmente de piel de venado, papel amate, y papel de maguey, de tal forma que eran fáciles de transportar. Los soportes utilizados en la colonia, específicamente en el siglo XVI, incluían además tela y papel europeo<sup>[34]</sup>.

En general todos los soportes (tanto prehispánicos como coloniales) se caracterizan por ser porosos y absorbentes. Por este motivo, los códices tenían una base de preparación o capa intermedia entre el soporte y la capa pictórica, la cual era elaborada principalmente por yeso o cal, mezclada ocasionalmente con ceniza volcánica y *tezontle*<sup>[34]</sup>.

### **Aglutinantes**

El *tzauhtli* o *tzacuhtli* era el principal adhesivo que los nahuas utilizaban como pegamento y aglutinante, el cual era obtenido de los pseudobulbos de ciertas especies de orquídeas. De acuerdo a las fuentes históricas, el *tzauhtli* era empleado en el arte plumario, en la elaboración de papel, y como aglutinante en los códices<sup>[38]</sup>.





Figura 3. Detalle del código prehispánico Colombino. Imagen obtenida de la referencia [39].

Algunos autores refieren que algunos especímenes de orquídeas poseen mejores capacidades adhesivas que otros. De las 11 especies mencionadas en las fuentes históricas, las más utilizadas fueron la *Encyclia pastoris*, *Bletia campanulata* y *Laelia autumnalis*. El *tzauhtli* está compuesto esencialmente de polisacáridos<sup>[40]</sup>.



Figura 4. Detalle del código de Cuauhtinchan 2, en donde los amarillos presentes son de origen orgánico.  
Fotografía: Dulce Aguilar.

### 1.3. Colorantes amarillos en época prehispánica

La *historia general de las cosas de Nueva España* o *Códice Florentino*, es una obra que describe las costumbres anteriores a la conquista de los pobladores de México central. Fue escrito por Fray Bernardino de Sahagún en el siglo XVI<sup>[4]</sup>. En particular, en el libro XI del tomo III titulado “De los colores de todas las maneras”, se encuentra un compendio de los materiales y técnicas pictóricas empleadas en época prehispánica. Con base en este texto y lo descrito por Francisco Hernández<sup>[41]</sup>, Arthur J. O. Anderson describe algunas fuentes de color amarillo utilizadas para dar color a diversos objetos<sup>[3]</sup>.

El *zacatloxcalli* (*Cuscuta tinctoria*) (figura 5) es una planta parásita que crece sobre los árboles pirul (*Schinus molle*) y los matorrales en la zona centro de México. De esta planta se extraía un colorante amarillo claro y según lo descrito en el código Florentino<sup>[4]</sup> y en la obra de Hernández<sup>[41]</sup>: “de ella se forman tortillas que sirven como medio colorante”<sup>[3]</sup>, “maceradas estas con agua (a la que se agregan alumbre y nitro) y modeladas en forma de conchas, sirven a los pintores para dar a sus pinturas el color amarillo rojizo; los tintoreros las usan para teñir las lanas o los hilos de seda, mezclándole yeso cuando quieren dar un color más claro”<sup>[3]</sup>. Actualmente esta planta sigue siendo utilizada dentro de la tintorería tradicional mexicana<sup>[5]</sup>.

Otros nombres con el que se conoce al *zacatloxcalli* son: mata palo, sopa, fideo, barbas de viejo, *zacapale* y *cocoxtle*<sup>[5]</sup>. La molécula responsable del color amarillo intenso que esta planta posee es la quercetina (figura 5) y algunos de sus glucósidos<sup>[42]</sup>.



**Figura 5.** Planta de *zacatloxcalli* y quercetina, molécula principal del color amarillo extraído de ésta planta.  
Fotografía: Autora.

El *xochipalli* (*Cosmos sulphureus*) (figura 6), también llamada mirasol amarillo, *chochopalli*, girasol amarillo, San Miguel, *suchipate*, *cempual*, *sumpual*, es una especie decorativa del trópico mexicano<sup>[43]</sup>. El *sochipal* o “la flor que pinta” (como es mencionada en las fuentes históricas<sup>[3]</sup>), era utilizada para producir un color “amarillo fino”, aunque también de esta flor se podían obtener

matices rojos y anaranjados, en función de los ingredientes con los que se combinara. El *xochipalli* era utilizado para teñir lanas y pintar figuras, se cocía “agregándole nitro”, después se le exprimía el jugo y se colaba<sup>[3]</sup>. El colorante amarillo obtenido del *xochipalli* está compuesto principalmente por buteina, y sulfuretina<sup>[44]</sup> (figura 6).

El *zacatlaxcalli* y el *xochipalli* eran dos pigmentos laca que eran preparados con sales metálicas y que servían para pintar de amarillo los códices nahuas<sup>[36]</sup>. De igual manera se sugiere el término en náhuatl *tecozahuatl* se utilizaba para designar a los pigmentos obtenidos de la precipitación de tintes amarillos sobre arcillas<sup>[36]</sup>.

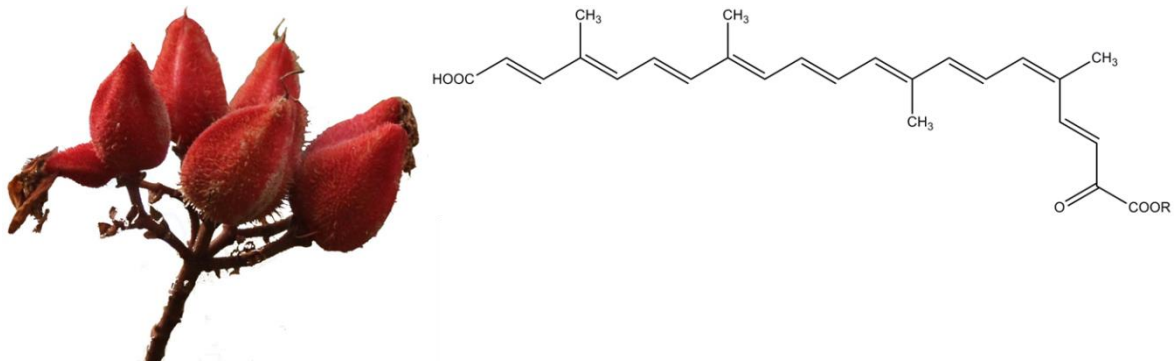


**Figura 6.** Flores de *xochipalli* amarillo y naranja; moléculas de buteina y sulfuretina, componentes mayoritarias en el colorante extraído de los pétalos de esta planta. Fotografía: Autora.

Las semillas del achiote (*Bixa orellana*) (figura 7), se ponían en agua “moderadamente fría” para dar un color escarlata. Se formaban pastillas poniendo los granos maduros en agua caliente con agitación constante. Del precipitado de la cocción se producía una pasta, de la cual “se obtenían matices bermellones, rojizos, rojizos amarillentos, descritos por Hernández como tenaces, particularmente cuando se mezcla con orina”<sup>[3]</sup>. El *achiyotl* era utilizado para pintar los códices y en ocasiones mezclado con grana cochinilla para obtener un color rojizo<sup>[36]</sup>.

Actualmente, el achiote es utilizado en la cocina mexicana y se extiende desde México hasta Brasil y es originario de América tropical, posiblemente del suroeste de la Amazonia. También es conocida en México como *acanguariaca*, *auaú*, *achi-ol*, *achiotillo*, *achote*, *achut*, *ornato*, *uruca*, *bosh*, *cuypuc*, *chancuariaca*, *pamuca*, *joosh*, *kiui*, *kúxub*, *uchuviá*, y *bia*<sup>[43]</sup>. Los principales componentes colorantes del achiote son la bixina y la norbixina (figura 7), pertenecientes al grupo de los carotenoides<sup>[1]</sup>.

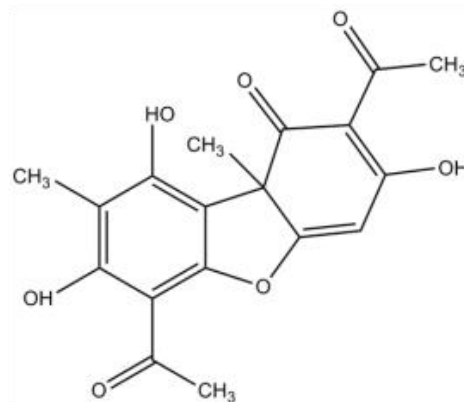




**Figura 7.** Frutos obtenidos de la planta de achiote. Estructura molecular de la bixina (R=CH<sub>3</sub>) y norbixina (R=H), moléculas mayoritarias en el colorante extraído de las semillas de esta planta. Fotografía: Autora.

El *cuapascle* o *cuappachtli* (*Usnea florida*) (figura 8) es una especie de líquen que crece en los troncos y cortezas de los árboles, así como ocasionalmente en las rocas de regiones frías y en las montañas. Son organismos muy sensibles a la contaminación por lo que se encuentran en áreas libres de la misma. El colorante principal extraído de toda la planta contiene ácido usnéico (figura 8) como molécula colorante<sup>[1]</sup>. Este tipo de líquen se utilizaba en épocas muy antiguas para la tinción de paños amarillos o “coapaxtles” por pueblos indígenas de la comunidad de Tlapa, Guerrero<sup>[45]</sup>.

De acuerdo a las fuentes históricas, el *cuapascle* “se muele, se remoja; de ahí proviene el colorante amarillento o moreno oscuro, el cual se mejora añadiendo *nacazcólol* (*Caesalpinia coriaria*) y pequeña cantidad de barro llamada *palli*<sup>[3]</sup>.



**Figura 8.** *Usnea florida*. Estructura molecular del ácido usnéico, componente principal del colorante obtenido del líquen. Fotografía obtenida de la referencia [46].

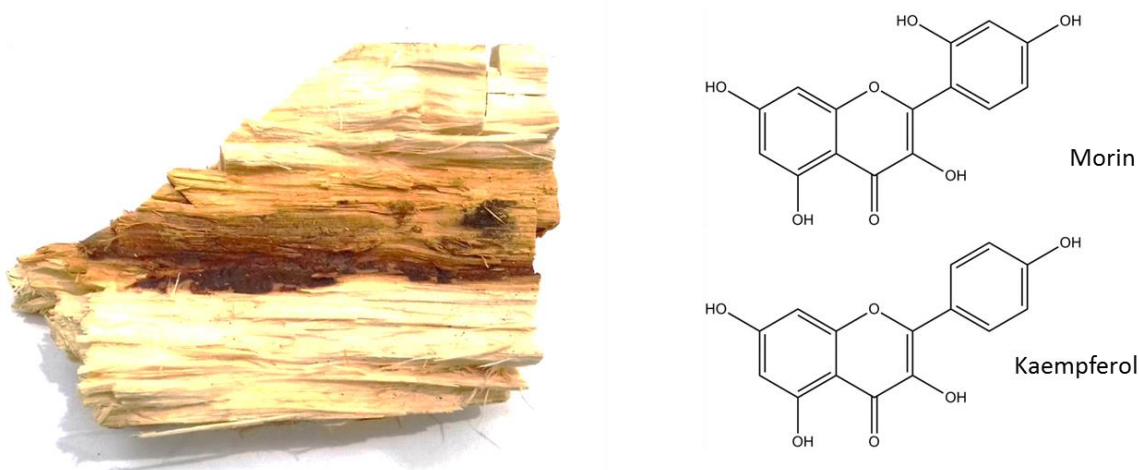
#### 1.4. Colorantes amarillos en la tintorería tradicional mexicana

La conquista española en territorio mexicano en el siglo XVI, llevó a la pérdida o modificación de las técnicas pictóricas prehispánicas. El proceso de adaptación de las técnicas europeas en la Nueva España, tuvo como consecuencia el surgimiento de nuevas formas y nuevos materiales para proporcionar color a los objetos, dando origen a la tintorería tradicional mexicana.

Sin embargo, con la explotación de las anilinas en el siglo XIX, la mayoría de los materiales naturales fueron sustituidos por materiales sintéticos, y las técnicas tradicionales fueron quedando en el olvido.

En la obra del maestro tintorero Raúl Pontón Zúñiga, se menciona el uso de diferentes recursos naturales mexicanos para la tinción de fibras textiles <sup>[5]</sup>, en donde se hace mención de algunos colorantes amarillos.

De la madera del moral o mora (*Maclura tinctoria*) (figura 9) se extrae un colorante amarillo con el que los mayas de Yucatán teñían el henequén y la sansevieria. Este árbol se encuentra desde el sureste mexicano y la península de Yucatán hasta el norte de Panamá<sup>[5]</sup>. Para la extracción del colorante se deben de utilizar árboles viejos, del corazón del tronco o de ramas gruesas. La madera se astilla y se deja remojar en un recipiente de plástico o barro. Se toma la cantidad de madera de acuerdo con la cantidad de fibra que se desea teñir y se deja hervir por quince minutos<sup>[5]</sup>. Morin y kaempferol (figura 9) son dos componentes que se encuentran presentes en el colorante amarillo<sup>[1]</sup>.



**Figura 9.** Madera de palo mora. Estructuras químicas de los flavonoides contenidos en el colorante amarillo.  
 Fotografía: Autora.

La gualda (*Reseda luteola*) (figura 10) es una planta perteneciente a la familia de las resedáceas. Es originaria de Europa en donde es muy apreciada por sus propiedades tintóreas<sup>[5]</sup>, por lo que su uso

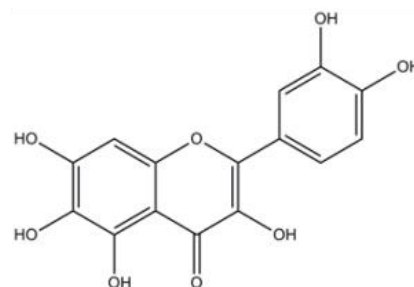
como colorante en América fue posterior a la colonia. Se conoce también con el nombre de acocote, mosquito, cola de zorro, gasparrilla, reseda. En México crece en las partes altas y florece mayoritariamente en invierno<sup>[43]</sup>. El mayor componente del extracto amarillo que se obtiene de la planta entera es la luteolina y en menor cantidad la apigenina<sup>[1]</sup> (figura 10). Toda la planta se corta en trozos, los cuales se ponen a hervir por diez minutos antes del teñido<sup>[5]</sup>.

El pericón (*Tagetes lucida*) (figura 11), pertenece a la familia de las asteráceas. En México es conocida como hierbanís, jericón, pericón vomól, Santa María, cuchrucumín, falso hipericón, hierba añil, periquillo y yerbanís. Originaria de México y Guatemala, se le puede encontrar en zonas templadas del país<sup>[43]</sup>. Además de su uso como colorante, se emplea como remedio estomacal y en la cocción de elote. Por su sabor y olor a anís, se le conoce como anisillo en algunas partes del país. La planta se corta cuando está en plena floración, si está fresca se pone a hervir por 10 minutos y si se encuentra seca, ésta se deja remojar una noche antes de hervirse por 10 minutos<sup>[5]</sup>. Los estudios de las componentes presentes en el extracto, reportan la presencia de quercetagina (figura 11) y algunos de sus glucósidos, así como de un glucósido del 6-hidroxi kaempferol<sup>[47]</sup>.



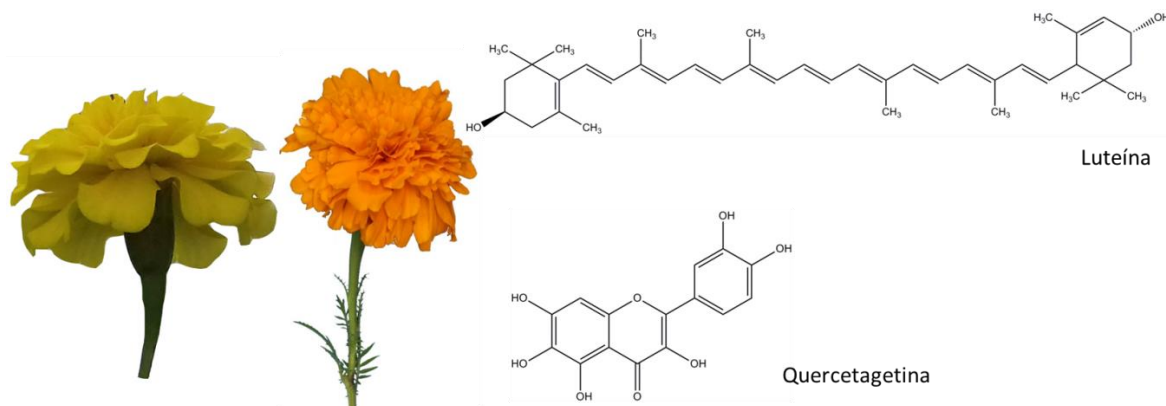
**Figura 10.** Gualda. Luteolina y apigenina, dos moléculas principales del colorante extraído de esta planta.

Fotografía: Autora.



**Figura 11.** Pericón. Quercetagetina, molécula principal del colorante extraído de esta planta. Fotografía de la referencia [43]

El cempasúchil (*Tagetes erecta*) (figura 12), al igual que el pericón, pertenece a la familia de las asteráceas y se origina en México y Centroamérica [43]. En México es conocido como *cempoal*, flor de muerto, *nulibé*, *cempoalxóchitl* o periquillo. El tinte amarillo-naranja que se extrae de los pétalos de esta flor contiene mayoritariamente luteína [48] y quercetagetina [1] (figura 12). Actualmente, se utiliza como colorante para la industria alimenticia [5].



**Figura 12.** Flores de cempasúchil amarillo y naranja. Luteína y quercetagetina, moléculas presentes en el colorante extraído de los pétalos de esta planta. Fotografía: Autora.

Existen otras plantas cuyo uso como colorante en la tintorería tradicional no se encuentra reportado, pero con las que se pueden obtener diversas variedades de amarillo, tales como lo son algunas especies del género *aster*, el acahualillo, las pertenecientes a la familia *bidens*, crisantemos silvestres, dalia de invierno, dalia silvestre, gardenias, girasol, granada, algunas plantas del género *bromus*, asomiate amarillo, salvia, flor de muerto (*Tagetes lunulata*), las pertenecientes al género *viguiera*, etc. [49]





## Capítulo 2. Antecedentes

Los bienes culturales son muestras únicas e irremplazables de la identidad de un pueblo o una cultura, su pérdida representaría el empobrecimiento de una herencia invaluable, excepcional, histórica y artística. Muchas culturas, especialmente las prehispánicas, carecen de relatos o fuentes escritas de la época que faciliten su conocimiento, por ende el estudio de los materiales es fundamental para su comprensión ya que permite obtener información sobre la composición elemental y molecular de la materia prima empleada en estos objetos, lo que resulta útil para los conservadores, historiadores del arte, arqueólogos, entre otros. Por este motivo, hoy en día existen varios grupos de investigación alrededor del mundo dedicados a emplear la más alta tecnología para este fin.

El estudio de bienes culturales puede hacerse desde técnicas analíticas muy precisas en los laboratorios, como lo es la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrómetro de masas (HPLC-MS) la cual es muy útil en el estudio de materiales orgánicos. A pesar de los resultados específicos que este tipo de técnicas aportan, poseen la gran desventaja de que se tiene que tomar y destruir una muestra de patrimonio cultural, lo cual a veces está limitado o no permitido.

A través del desarrollo de nuevas tecnologías, es posible hacer análisis con técnicas no destructivas y no invasivas, las cuales se basan en la interacción controlada de la radiación con la materia, con lo que no cambian las propiedades físicas y químicas de los materiales a estudiar. El uso de estas técnicas permite el análisis directo de los objetos, accediendo a estudiarlos dentro de colecciones en museos, bibliotecas y sitios de interés cultural.

En este capítulo se hace énfasis en el análisis de colorantes amarillos en bienes culturales, comenzando con una descripción de los alcances de estudios con técnicas analíticas destructivas, seguido de algunos ejemplos de lo realizado con técnicas no destructivas y su potencial.

### 2.1. Análisis de colorantes amarillos en bienes culturales mediante técnicas destructivas

Las técnicas analíticas en donde no es posible recuperar la muestra después del estudio, son consideradas técnicas destructivas. Estas técnicas se han utilizado en la caracterización de bienes culturales, en donde se han podido identificar numerosos tipos de colorantes en fibras textiles<sup>[6,7,50,51]</sup> y referencias de pigmentos a base de colorantes<sup>[52, 53]</sup>.

En cuanto al estudio de colorantes amarillos, Wouters *et al.* identificaron mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD) en la región ultravioleta y visible, textiles peruanos precolombinos de las colecciones del Museo Real de Arte e Historia (Bruselas, Bélgica) y del Museo Nacional de Arqueología y Antropología (Lima, Perú), en donde se

encontraron derivados de algunos flavonoides (tabla 1) , así como también cochinilla en algunos textiles con matices amarillos<sup>[51]</sup>.

Mediante cromatografía líquida de alto rendimiento con detección de arreglos de diodos y detección espectrométrica de masas (LC-DAD-MS), Zhang *et al.* analizaron textiles precolombinos amarillos de la región andina, en donde se logró la identificación de dos tipos de colorantes, uno con algunos glucósidos de las chalconas y grandes cantidades de luteolina 7-glucósido, 5-deoxiluteolina. El segundo caracterizado por la presencia exclusiva de sulfato de flavonoides y glucósidos (carbohidratos)<sup>[7]</sup>.

El estudio de referencias de colorantes amarillos ha sido ampliamente utilizado, ejemplo de ello es el análisis mediante voltamperometría, cromatografía líquida acoplada con detección de arreglo de diodos (LC-DAD) y cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS) de los pigmentos híbridos de arcillas manufacturados con *xochipalli*, *zacatlaxcalli*, palo mora y cempasúchil, en donde fue posible observar además de los flavonoides característicos de cada espécimen, productos de su oxidación debido a la reducción asistida por la arcilla<sup>[52]</sup>.

Mediante las técnicas de cromatografía líquida de alta resolución-ionización por electrospray-tiempo de vuelo con cuadrupolo (HPLC-ESI-Q-ToF), análisis directo en tiempo real con espectrómetro de masas (DART-MS) e ionización por atomización en papel acoplada a espectrómetro de masas (paper spray MS) fue posible identificar las moléculas presentes (ver tabla 1) en tres fibras textiles teñidas con *chilca* (*Baccharis floribunda*), chinchanco (*Hypericum larcifolium*) y *lloque* (*Kageneckia lanceolata*), obtenidos de la colección de tintas peruanas de Max Saltzman<sup>[50]</sup>.

**Tabla 1.** Algunos estudios destructivos de bienes culturales y referencias de colorantes amarillos.

Año-Autor	Objeto analizado	Técnicas utilizadas	Identificación colores amarillos
1992-Wouters <i>et al.</i> <sup>[51]</sup>	Textiles peruanos precolombinos	HPLC-DAD	Derivados de luteolina, apigenina, quercetina, kaempferol, ramnetina. Cochinilla
2007-Zhang <i>et al.</i> <sup>[7]</sup>	Textiles Andinos precolombinos	LC-DAD-MS	Glucósidos de chalconas y de luteolina.
2014-Doménech <i>et al.</i> <sup>[52]</sup>	Referencias de colorantes precipitados sobre arcillas “amarillo Maya”	Voltamperometría, LC-DAD, GC-MS	Derivados del ácido benzoico, sulfuretina, buteina, maclurina, kaempferol, isoramnetina, quercetina, morin, quercetagina
2019-Armitae <i>et al.</i> <sup>[50]</sup>	Fibras textiles de la colección de tintes peruanos de Saltzman	HPLC-ESI-Q-ToF, DART-MS, Paper spray MS	Quercetina y derivados, ramnetina, dihydroxy-xanthona, hipercina y derivados. Rutina, ácido ursólico. Luteolina y derivados, ácido O-caffeoyl-feruloylquinico y derivados, derivados de apigenina, kumatakenin, y salvigenina.

## 2.2. Estudios no destructivos de colorantes amarillos en patrimonio cultural

Pese a la gran capacidad que las técnicas analíticas destructivas poseen en la identificación de colorantes naturales, la mayor desventaja en su aplicación es que es necesario tomar una muestra del objeto a estudiar, lo cual limita su uso en el análisis de bienes culturales. Debido a la importancia de estos objetos, es necesario el uso primordial de técnicas de carácter no destructivo y no invasivo, las cuales no alteran las propiedades físicas ni químicas de los materiales analizados.

En particular en los códices, documentos coloniales y pintura mural, las técnicas no destructivas han sido capaces de identificar los materiales colorantes, así como bases de preparación, soportes y tintas<sup>[8,9,10,11,55]</sup>. Debido a su enorme complejidad, la identificación de los colores amarillos en estos objetos se ha limitado a pigmentos inorgánicos, mientras que los de origen orgánico no han podido ser identificados mediante estas técnicas tal y como se muestra en la tabla 2.

En realidad, existen varias problemáticas con los colorantes amarillos por lo cual estas técnicas no son exitosas para su identificación directa en bienes culturales. La principal limitante es el alto poder de tinción que en general los colorantes poseen, lo cual tiene como consecuencia una baja concentración del colorante en los objetos en donde son aplicados. De tal forma que técnicas como FTIR, la cual es buena en la identificación de materiales orgánicos, no es capaz de detectar los colorantes debido a una fuerte interferencia de la información asociada a los soportes (papel, fibras textiles), medios (o vehículos) y barnices.

La espectroscopía de reflectancia por fibra óptica (FORS) es actualmente una poderosa herramienta en la identificación de colorantes. Se ha empleado con éxito en la identificación de palo de Brasil y cochinilla en textiles indígenas pertenecientes a la Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas de México<sup>[54]</sup>. Sin embargo, se ha observado que los colorantes amarillos son difíciles de identificar por esta técnica<sup>[13]</sup>. Tamburini *et al.* han estudiado una amplia colección de referencias de fibras textiles teñidas con colorantes extraídos de plantas asiáticas, en donde algunas de las fibras amarillas resultan difíciles de diferenciar entre ellas en términos de su fluorescencia y su espectro de reflectancia difusa<sup>[14]</sup>.

Adicionalmente, los flavonoides son moléculas fluorescentes, lo que hace que la espectroscopía Raman, (técnica de la que se hablará a detalle en la siguiente sección) sea difícil de aplicar.

Debido a todo lo anterior, es indispensable desarrollar métodos alternativos con técnicas de preferencia no destructivas y no invasivas que sean de utilidad en el estudio de colorantes amarillos en patrimonio cultural. A pesar de sus limitaciones, la espectroscopía Raman y algunas de sus variantes (como SERS) tienen el potencial para ser una opción viable en el estudio de estos materiales.

**Tabla 2.** Estudios mediante técnicas no destructivas de los colores amarillos códices y documentos coloniales.

Año-Autor	Objeto analizado	Técnicas utilizadas	Identificación colores amarillos
2005-Vandenabeele <i>et al.</i> <sup>[10]</sup>	Pintura mural Ek'Balam	Espectroscopía Raman	Fluorescencia
2008-Zetina <i>et al.</i> <sup>[8]</sup>	Códice De la Cruz-Badiano	XRF, Imagen UV e Infrarrojo	Oropimente, ocre amarillo, colorante orgánico
2010-Zetina <i>et al.</i> <sup>[11]</sup>	Códice Azoyu	XRF, Imagen UV e Infrarrojo	Colorante orgánico
	Códice Colombino	XRF, Imagen UV e Infrarrojo	Colorante orgánico
2012-Miliani <i>et al.</i> <sup>[9]</sup>	Códice Cospi	XRF, espectroscopía Infrarroja, espectroscopía Raman, absorción y emisión UV-Vis	Oropimente, híbrido de colorante orgánico y una arcilla
2013-Buti <i>et al.</i> <sup>[12]</sup>	Códice Fejérváry-Mayer	XRF, espectroscopía Infrarroja, espectroscopía Raman, absorción y emisión UV-Vis	Colorante orgánico
2015-García <i>et al.</i> <sup>[55]</sup>	Códice Cuauhtinchan 2	XRF, espectroscopía Raman, FTIR, imagen de falso color	Colorante orgánico
2016-Ruvalcaba <sup>viii</sup>	Códice Sierra-Texupan	XRF, espectroscopía Raman, FTIR, imagen de falso color, FORS	Oropimente, colorante orgánico
2019-Domenici <i>et al.</i> <sup>[56]</sup>	Códice Borgia	XRF, FORS, FTIR, espectroscopía Raman, fluorescencia UV-Vis	Híbrido de colorante orgánico mezclado con una arcilla. Alteraciones con pigmentos amarillos modernos
	Códice Vaticano B	XRF, FORS, FTIR, espectroscopía Raman, fluorescencia UV-Vis	Probable laca preparada con colorante orgánico

<sup>viii</sup> Estudio en proceso, aún sin publicar.

## Capítulo 3. Teoría de la espectroscopía Raman

### 3.1. Efecto Raman

*“Los experimentos que hemos hecho han demostrado en cada caso en donde la luz es dispersada por las moléculas en líquidos o gases libres de polvo, que la radiación difusa de tipo ordinario que tiene la misma longitud de onda que el haz incidente, está acompañada por una radiación dispersada diferente a una frecuencia menor” (C. V. Raman, 1928) <sup>[57]</sup>.*

El efecto Raman fue reportado por primera vez por los físicos hindús C. V. Raman y K. S. Krishnan, al demostrar que una parte de la radiación dispersada por algunas moléculas difiere de la radiación incidente<sup>[58]</sup>. Cuando se trabaja con la técnica de espectroscopía Raman, un haz monocromático de radiación electromagnética (usualmente un láser) es enfocado sobre la muestra en donde la intensidad de la radiación dispersada es medida como función de su longitud de onda. Usualmente, en un espectro Raman la intensidad es graficada como función del número de onda Raman  $\omega$ , expresado en  $\text{cm}^{-1}$ , el cual está relacionado con la diferencia de la frecuencia de la luz dispersada y la radiación electromagnética incidente<sup>[59]</sup>.

La dispersión de la luz puede ser descrita clásicamente como la radiación producida por los dipolos inducidos en la molécula debidos a los campos electromagnéticos de la radiación incidente. El momento dipolar inducido es el resultado de la polarizabilidad de la molécula:  $\alpha$ , donde  $\alpha$  representa la capacidad de deformación de la nube electrónica de la molécula en presencia de un campo externo<sup>[60]</sup>.

Los fotones dispersados por las moléculas pueden ser de la misma energía que la radiación incidente, efecto que se conoce como dispersión Rayleigh (figura 13). Solo uno de un millón de fotones es dispersado inelásticamente (dispersión Raman), en donde la energía del fotón dispersado puede ser menor (dispersión Raman Stokes) o mayor (dispersión Raman anti-Stokes) que la del fotón incidente.

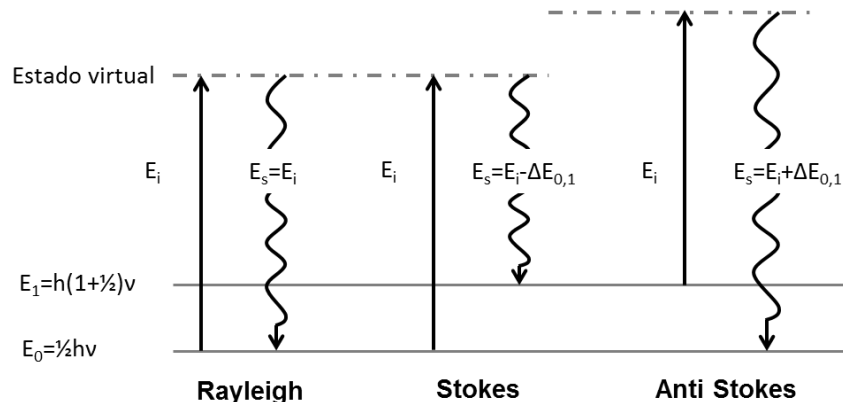
El momento dipolar inducido por un campo eléctrico  $E$  en una molécula viene dado por:

$$p = \alpha E \quad (1.1)$$

Si se considera al campo eléctrico como una onda plana oscilante, se puede demostrar que la polarizabilidad tiene la forma:

$$p = p(\nu_{ext}) + p(\nu_{ext} - \nu_v) + p(\nu_{ext} + \nu_v) \quad (1.2)$$

En donde  $\nu_{ext}$  y  $\nu_v$  son las frecuencias de las radiaciones incidentes y dispersadas respectivamente. El primer término de la ecuación 1.2 representa la radiación Rayleigh. El segundo y tercer término son las contribuciones de la radiación Raman Stokes y anti-Stokes respectivamente<sup>[59]</sup>.



**Figura 13.** Procesos de dispersión Rayleigh, Raman Stokes y anti-Stokes. Un fotón es momentáneamente absorbido a través de la transición de un estado base a uno virtual; un nuevo fotón es creado por la transición desde el estado virtual a un estado vibracional excitado.

En efecto, de acuerdo con las reglas de selección para la dispersión Raman, las transiciones permitidas corresponden a  $\Delta n = \pm 1$  si se considera a la molécula como un oscilador armónico. En condiciones normales, la mayoría de las moléculas se encuentran en un estado base de acuerdo con la distribución de Maxwell-Boltzmann:

$$R = \frac{P(\nu_1)}{P(\nu_0)} = e^{-\Delta E/kT} \quad (1.3)$$

Por lo que las transiciones observadas son *fundamentales*, es decir desde  $n=0$  hasta  $n=1$  <sup>[61]</sup>. De la misma forma la ecuación 1.3, a temperatura ambiente, restringe el número de moléculas en estado vibracional excitado, por lo que el efecto Raman Stokes es más probable que el anti-Stokes.

### 3.2. Instrumentación

Un espectrómetro Raman consiste en una fuente láser, un sistema de iluminación de la muestra y un analizador espectral, ya sea un monocromador (instrumentos dispersivos) o un interferómetro (instrumentos de transformada de Fourier), el cual descompone la luz incidente en función de su longitud de onda, y finalmente un arreglo de detectores. La figura 14 muestra un espectrómetro Raman simple de un solo monocromador. La luz dispersada por la muestra llega al microscopio en donde es dirigida hacia el filtro Rayleigh (FR), el cual elimina toda la radiación de este tipo. Los filtros Rayleigh más utilizados son los de banda dieléctrica y los filtros *notch*. La dispersión Raman restante es descompuesta por la rendija de difracción. La variación periódica de la rendija permite obtener una resolución espacial de la luz en función de su longitud de onda. En la detección, cada pixel del arreglo de fotodiodos o CCD's (charge couple devices) se encarga de registrar una banda espectral. Un dispositivo de multicanal se utiliza para escanear el rango espectral completo <sup>[60]</sup>.

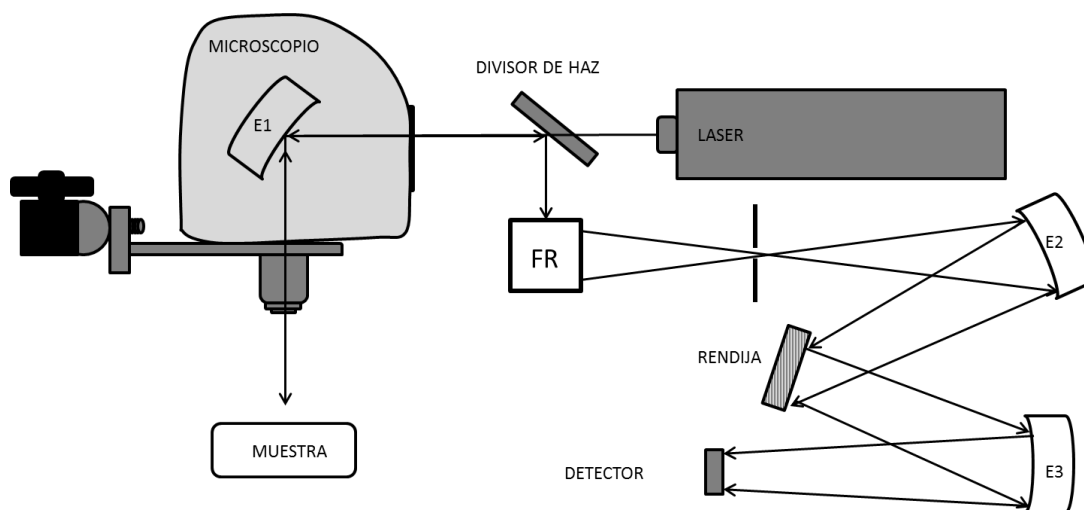


Figura 14. Espectrómetro Raman simple de un solo monocromador, E1, E2 y E3 son espejos

### 3.3. Limitaciones de la espectroscopía Raman

Además de la baja probabilidad de ocurrencia del efecto Raman, la fluorescencia intrínseca del material y la sensibilidad de algunas muestras debido a la energía depositada por el láser son algunas de las limitaciones de esta técnica.

En la interacción de la radiación con la materia pueden ocurrir procesos de absorción y transmisión electromagnética. Si la longitud de onda se corresponde con una banda de absorción del espectro de una molécula, ésta pasa hacia un estado vibracional excitado (absorción infrarroja) o electrónico excitado (absorción UV-Vis). En la absorción UV-Vis la molécula puede seguir dos procesos de relajación: la fluorescencia y la relajación no radiativa. En el segundo de ellos, la relajación no radiativa, la molécula libera energía en forma de calor<sup>[59]</sup>.

En efecto, cualquier proceso de absorción implica una pérdida de la eficiencia de la dispersión Raman, debido a que la intensidad de la luz dispersada se encuentra en función del número de fotones que llegan al analito y no son absorbidos. Por otro lado, el mecanismo de detección utilizado tiene como consecuencia el libre paso de la fluorescencia, con lo que en ocasiones el espectro Raman característico de los materiales queda inmerso en un fondo debido a ésta.

Las especies fluorescentes son aquellas que contienen grupos funcionales aromáticos, compuestos carbonílicos en estructuras alifáticas y alicíclicas, así como estructuras con dobles enlaces conjugados, de tal forma que los materiales orgánicos son de difícil caracterización mediante espectroscopía Raman. Las moléculas rígidas también son especies fluorescentes, debido a que su estructura no permite seguir caminos no radiativos<sup>[58]</sup>.

### 3.4. Técnicas basadas en espectroscopía Raman

Existen diversos trabajos enfocados en la optimización de las condiciones de adquisición de espectros, la mayoría de ellos presentan técnicas basadas en espectroscopía Raman cuyo principal

objetivo es la disminución de la fluorescencia y la amplificación de sus bandas vibracionales. A continuación se presentan ejemplos de técnicas variantes de la espectroscopía Raman, haciendo énfasis en la espectroscopía Raman amplificada por superficie (SERS), la cual será empleada en este trabajo.

#### *Fotobleaching*

El fotoblanqueo (*fotobleaching*) es utilizado cuando el responsable de la fluorescencia es el medio adyacente. El láser del espectrómetro se utiliza para descomponer el grupo fluoróforo a partir de la irradiación de la muestra por tiempos prolongados antes de iniciar la medición <sup>[59]</sup>. Con esta técnica se han elaborado diferentes trabajos en donde se utilizan tiempos de exposición que van desde los 5 a los 30 min <sup>[62, 63, 64]</sup>. Esta técnica es difícilmente empleada en el análisis de bienes culturales, en donde la mayoría de los materiales a identificar son orgánicos y por lo tanto fluorescentes.

#### *Resonance Raman Spectroscopy (RRS)*

La espectroscopía Raman resonante es una técnica en donde la frecuencia del haz láser es modulada hacia una frecuencia cercana a la de una transición electrónica en la molécula, con una amplificación de hasta  $10^6$  ordenes de magnitud en la intensidad de la dispersión Raman <sup>[65]</sup>. Sin embargo, los láseres modulables poseen la desventaja de tener un tiempo de vida de 10,000 h, y suelen ser muy costosos <sup>[66]</sup>.

#### *Espectroscopía Raman con láseres pulsados*

El desarrollo de láseres pulsados ha permitido aprovechar la diferencia entre los tiempos de ocurrencia del efecto Raman y la fluorescencia. El proceso de dispersión Raman es de  $10^{-14}$  s, mientras que la fluorescencia tiene un tiempo de  $10^{-9}$  s. Un obturador programable lo suficientemente rápido, permite el paso de la luz de la dispersión Raman, pero no de la fluorescencia, con lo que ésta no llega al detector. Los obturadores más veloces consisten en puertas ópticas Kerr, con las que ya se han realizado estudios de espectroscopia Raman <sup>[67, 68]</sup>. Sin embargo, los análisis deben ser realizados en laboratorios especializados en donde se cuente con toda la óptica necesaria.

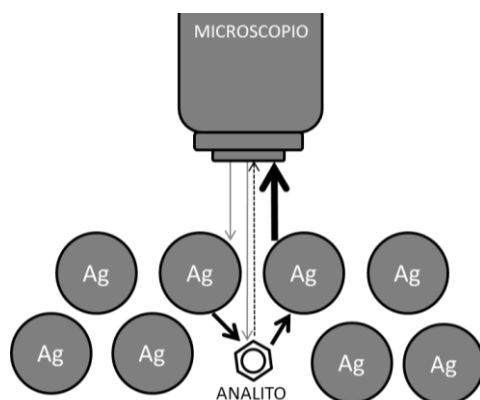
#### *Coherent Anti-Stokes Raman Spectroscopy (CARS)*

De las técnicas de espectroscopía Raman basadas en óptica no lineal destaca en la literatura CARS (coherent anti-Stokes Raman spectroscopy), en donde se aprovecha la región anti-Stokes libre de fluorescencia para caracterizar a los materiales. Dos láseres de alta potencia (generalmente pulsados) de frecuencias angulares  $\omega_1$  y  $\omega_s$  se enfocan hacia la muestra, obteniéndose un haz coherente parecido a un láser de baja potencia de frecuencia  $\omega_{as}$ . La mayor desventaja que esta técnica presenta es la presencia de un fondo debido a la parte no resonante de la susceptibilidad eléctrica <sup>[69]</sup>.



### Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)

Es una técnica en donde se utilizan nanoestructuras metálicas para amplificar la señal de la dispersión Raman (del orden de  $10^6$  veces<sup>[16]</sup>) y disminuir la fluorescencia de los materiales (figura 15).

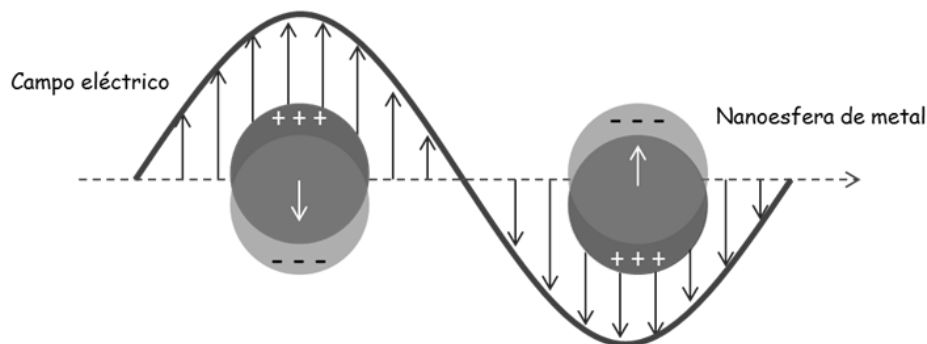


**Figura 15.** Esquematización de la técnica SERS. Las nanopartículas amplifican el campo eléctrico del láser hacia las moléculas. La dispersión Raman es nuevamente amplificada por las nanopartículas metálicas hacia el detector.

La amplificación de la radiación dispersada mediante nanoestructuras metálicas fue observado por Fleischmann y sus colaboradores en 1974 al estudiar el espectro Raman de la piridina adsorbida en un electrodo de plata<sup>[70]</sup>.

La amplificación SERS se puede explicar mediante dos mecanismos: el electromagnético y el químico o adsorción química.

En la amplificación electromagnética los electrones de la superficie del metal nanoestructurado oscilan colectivamente en fase con el campo incidente (figura 16) y a este fenómeno se le conoce como resonancia del plasmón de superficie.



**Figura 16.** Resonancia del plasmón de superficie. Los electrones en la superficie de un metal nanoestructurado oscilan colectivamente en fase con el campo electromagnético incidente.

En una aproximación semiclásica, los electrones en la superficie del metal pueden ser descritos como pequeños osciladores en el modelo de Lorentz. Si se considera que no hay fuerzas restitutivas del sistema, se puede entonces demostrar que la función dieléctrica en función de  $\omega$  para un metal es:

$$\varepsilon(\omega) = 1 + \omega_p^2 \frac{1}{\omega^2 - i\omega\tau^{-1}} \quad (1.4)$$

En donde  $\omega$  es la frecuencia de la radiación incidente,  $\omega_p^2 = Ne^2/m\varepsilon_0$  es la frecuencia de plasma, en donde  $N$  es la densidad de los osciladores,  $m$  la masa del electrón y  $\varepsilon_0$  la constante dieléctrica del medio. Se define  $\tau$  como el tiempo de relajación  $\tau=1/\gamma$ , es decir, el tiempo que le toma a una carga regresar a su posición, en donde  $\gamma$  es el factor de amortiguamiento. La ecuación 1.4 es conocida como el modelo de Drude de gas de electrones libres y describe la respuesta óptica de éstos.

Debido a que las nanopartículas son en principio más pequeñas que la longitud de onda de la radiación incidente, se puede demostrar entonces que el campo electromagnético dentro de una nanoesfera metálica viene dado por:

$$E = \frac{3\varepsilon_m}{\varepsilon(\omega) + 2\varepsilon_m} E_0 \quad (1.5)$$

Donde  $E_0$  es el campo eléctrico incidente. En efecto, la máxima amplificación del campo eléctrico corresponderá a la condición  $\varepsilon(\omega) = -2\varepsilon_m$ . En condiciones normales en donde la constante dieléctrica del medio es  $\varepsilon_m=1$  (aire), y en un intervalo de frecuencias en el visible, la función dieléctrica de los metales corresponde a valores cercanos a  $-2$ <sup>[71]</sup>.

El mecanismo químico consiste en la adsorción del analito sobre la superficie de la nanopartícula, causando una amplificación en la intensidad de la dispersión Raman. Si la entalpía de la adsorción es comparable a la de un enlace químico, el proceso es denominado quimisorción e implica una transferencia de carga entre el metal y el analito, así como una reorientación de la nube electrónica. La transferencia de carga se puede llevar a cabo desde el orbital molecular ocupado de mayor energía (HOMO) al nivel de Fermi del metal, o desde éste al orbital molecular no ocupado de menor energía (LUMO); por lo regular, la transferencia de carga tiene lugar desde el metal hacia el analito.

Esta transferencia de carga tiene como consecuencia la formación de enlaces, como por ejemplo sobre una superficie de plata se forman enlaces Ag-N, Ag-S, Ag-O, ó Ag-X donde X corresponde a un halógeno, los cuales se observan en la región espectral de entre 100-300  $\text{cm}^{-1}$ <sup>[72]</sup>.

#### *Métodos matemáticos*

Adicional a los métodos ya mencionados, se puede realizar un tratamiento matemático de los espectros que disminuya el efecto de la señal debido a la luminiscencia y facilite la interpretación de los espectros Raman, tales como sustraer la primera (o segunda derivada) de los espectros o mediante la sustracción de dos espectros ligeramente diferentes en la técnica de espectroscopía

Raman desplazado (SSRS), en donde la diferencia entre los números de onda debe ser pequeña, de tal forma que las bandas de fluorescencia permanecen en su sitio. El ligero corrimiento de ambos espectros se puede realizar mediante la rotación de la rendija de difracción o mediante el uso de dos láseres distintos en la técnica de Espectroscopía Raman desplazada por diferencia en la excitación (SERDS)<sup>[59]</sup>.

Por todo lo anterior, SERS es una técnica que ha demostrado ser una poderosa herramienta en el análisis de moléculas orgánicas, como por ejemplo los flavonoides, en donde se ha logrado caracterizar moléculas de quercetina, kaempferol, luteolina, apigenina, crisina y morin <sup>[24,18,19,20]</sup>, principales cromóforos encontrados en los colorantes naturales amarillos. También ha sido posible estudiar mediante SERS referencias de lacas amarillas<sup>[21]</sup>, colorantes y fibras textiles <sup>[22,23,24]</sup>.

Es por ello que esta técnica será aplicada en el análisis de los extractos amarillos en la primera fase de este trabajo.



## Capítulo 4. Metodología general

### 4.1. Investigación y selección de especímenes

El estudio de los colorantes amarillos mexicanos comienza con la selección de algunos especímenes que fueron y/o son utilizados para dar color a diferentes objetos, por lo que las plantas usadas en esta investigación se eligieron de acuerdo a lo previamente reportado en las fuentes históricas (capítulo 1), en la investigación realizada por la Mtra. Tatiana Falcón<sup>[37]</sup>, la tesis doctoral de Miguel Ángel Maynez<sup>[73]</sup> y la disponibilidad de los especímenes<sup>ix</sup>.

En total se utilizaron 7 diferentes plantas: *zacatlaxcalli* (*Cuscuta tinctoria*), *gualda* (*Reseda luteola*), *cepasúchil* (*Tagetes erecta*), *palo mora* (*Maclura tinctoria*), *pericón* (*Tagetes lucida*), *achiote* (*Bixa orellana*) y *xochipalli* (*Cosmos sulphureus*), todos ellos recolectados en el país en distintas regiones: ciudad de México, Yucatán y Oaxaca. Algunos especímenes como el *cepasúchil* y *xochipalli* amarillos, fueron cultivados en el invernadero (figura 17) del Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural - sede Instituto de Física (LANCIC-IF). Las cantidades y partes de la planta utilizadas, se reportan en la tabla 3.

**Tabla 3.** Especímenes utilizados en la elaboración de materiales de referencia

Planta	Origen	Partes utilizadas	Cantidad utilizada
<i>Zacatlaxcalli</i> fresco	Árbol de pirúl, Magdalena Contreras, CDMX	Toda la planta excepto flores	26 g
<i>Zacatlaxcalli</i> seco	Árbol, carretera Picacho-Ajusco, CDMX	Toda la planta excepto flores	10 g
Gualda fresca	Zona boscosa, Magdalena Contreras, CDMX	Toda la planta	26 g
Cepasúchil naranja seco	Mercado de Sonora, CDMX	Pétalos	10 g
Cepasúchil amarillo seco	Invernadero LANCIC-IF	Pétalos	10 g
Palo mora	Chocholá, Yucatán	Tronco (en astillas)	20 g
Pericón seco	Mercado de Portales, CDMX	Toda la planta	10 g
<i>Xochipalli</i> naranja seco	Santo Tomás Jalieza, Oaxaca	Flores	5 g
<i>Xochipalli</i> amarillo seco	Invernadero LANCIC-IF	Flores	4.3 g
Achiote	Mercado de Portales, CDMX	Semillas	10 g

<sup>ix</sup> Es el caso del líquen, el cual no fue utilizado en esta investigación debido a que no pudo ser adquirido ni colectado.

El espécimen cultivado a partir de las flores de cempasúchil naranja, obtenidas en el mercado de Sonora, fue identificado por el Biól. Jorge Rojas de la Facultad de Ciencias-UNAM. La colecta e identificación del *xochipalli* naranja fueron realizadas por la Mtra. Lilian García Alonso, estudiante del posgrado en Estudios Mesoamericanos, mientras que las del tronco de palo mora se llevaron a cabo por el estudiante de ingeniería en agronomía Alejandro Ruiz Medina. El *zacatlaxcalli* fue colectado de un árbol de pirúl, pues de acuerdo a la literatura el colorante extraído es más intenso que aquel que crece en los arbustos <sup>[5]</sup>.



**Figura 17.** Algunas de las plantas utilizadas en este trabajo fueron cultivadas en el invernadero del LANCIC-IF. A) Cempasúchil amarillo, B) *xochipalli* naranja C) *xochipalli* amarillo D) pericón. Fotografías: Autora.

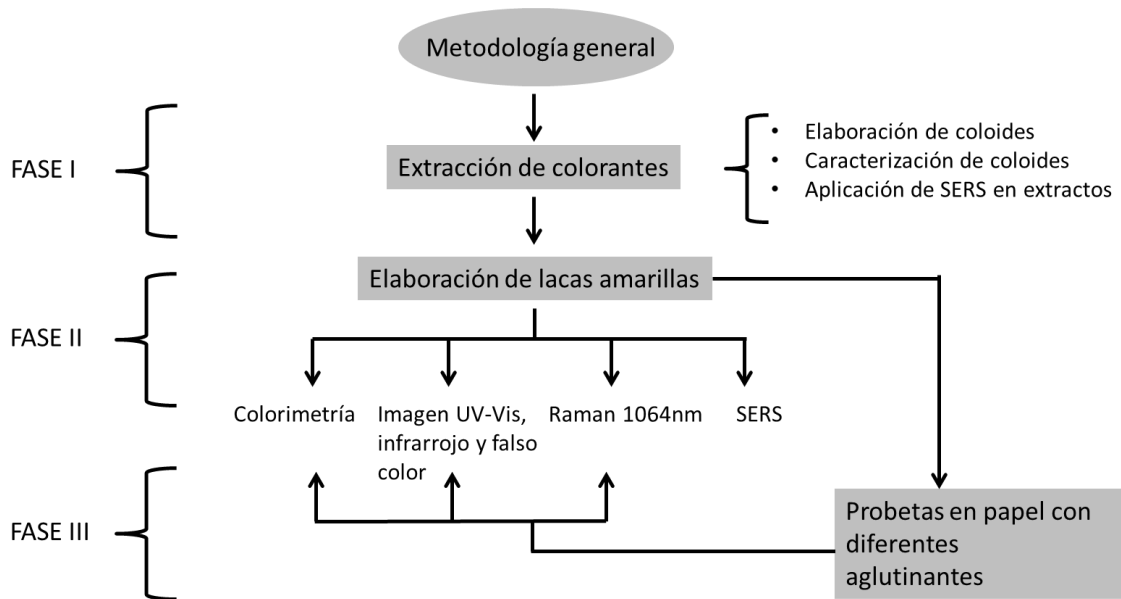
El estudio de colorantes amarillos ha sido dividido en tres fases como se muestra en la figura 18.

La fase I está enfocada en el análisis SERS de extractos de las plantas anteriormente descritas. Para este estudio se sintetizaron coloides de nanopartículas de oro y de plata para ser utilizados como sustratos SERS.

Con el fin de obtener pigmentos insolubles con los cuales se pudiera pintar, en la fase II de este estudio se elaboraron lacas a partir de los extractos de la fase I, a los cuales se les realizó, como técnicas complementarias: colorimetría, técnicas de imagen UV-Vis, imagen infrarrojo y de falso color, así como también espectroscopía Raman convencional con un láser de 1064 nm y SERS.

Para obtener una base de referencia con la cual poder comparar objetos de patrimonio cultural, específicamente códices y documentos coloniales, en la fase III se elaboraron materiales pictóricos

de referencia con las lacas obtenidas en la fase anterior. A estas probetas se les realizaron los mismos análisis, desde colorimetría, hasta SERS.



**Figura 18.** Esquema de la metodología general utilizada en este trabajo.

Finalmente y para ejemplificar la aplicación de esta metodología, se reporta el análisis de una obra original.

Por todo esto, los siguientes capítulos en la tesis han sido estructurados siguiendo el diagrama anterior (figura 18).





## Capítulo 5. Fase I: Extractos naturales

La extracción acuosa de los colorantes naturales era el primer paso en el procedimiento de tinción de textiles y elaboración de pigmentos. Es por ello que en esta sección se hace un estudio de los extractos de las plantas anteriormente descritas, con el fin de identificar las moléculas presentes en éstos y evaluar la capacidad de la técnica de espectroscopía Raman amplificada por superficie (SERS) como una herramienta en la caracterización de colorantes orgánicos amarillos, en particular de aquellos extraídos de plantas mexicanas.

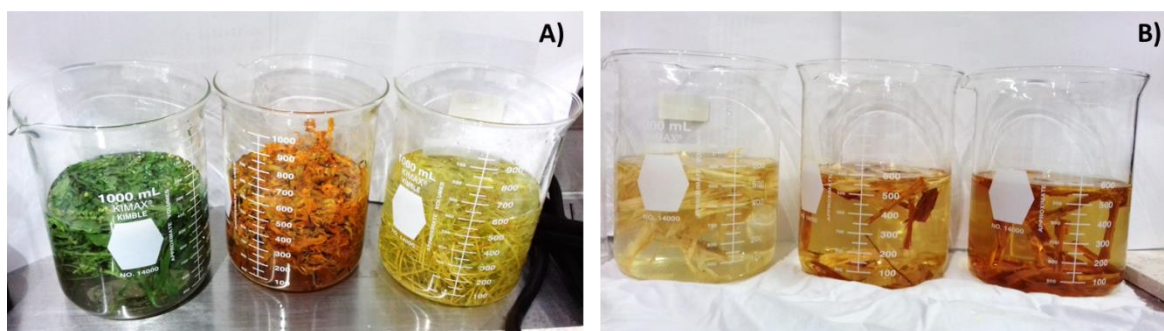
### 5.1. Metodología experimental

#### 5.1.1. Extracción

En general todos los extractos fueron obtenidos de la misma forma. Con base en los métodos utilizados para la extracción de colorantes en la tintorería tradicional mexicana<sup>[5]</sup>, adaptados a condiciones experimentales de laboratorio, los trozos de las plantas fueron colocados en vasos volumétricos con 600 mL de agua destilada (figura 19). Se dejaron macerar varios días (una semana en el caso del palo mora) y se hirvieron durante una hora con agitación constante. Los extractos se colaron con ayuda de trozos de tela.

En particular, del palo mora se obtuvieron tres extractos, uno con el centro de color amarillo del tronco, otro de la orilla del tronco y finalmente una combinación de la orilla y del centro (figura 19b).

En el caso de la gualda y el cempasúchil amarillo fue necesario agregar una alícuota de bicarbonato de sodio para alcalinizar el medio y obtener una mayor cantidad del colorante, tal y como se procedía antiguamente<sup>[26]</sup>.



**Figura 19.** Maceración de: A) gualda, cempasúchil, *zacatlaxcalli* y B) diferentes partes del tronco de palo mora: orilla, centro/orilla y centro.

### 5.1.2. Preparación de nanopartículas metálicas

Los sustratos SERS utilizados se prepararon durante una estancia en el Laboratorio de Análisis e Investigaciones Arqueométricas (LAIA) de la Universidad de Tarapacá en Arica, Chile, como parte la colaboración entre los laboratorios LAIA-Chile y LANCIC-México en el marco del proyecto de Apoyo a la Formación de Redes Internacionales entre Centros de Investigación No. 150136: “Archaeometry in Chile and México: Network for a comparative approximation to archeological cultural heritage research and its conservation”.

Como sustratos SERS se prepararon tres coloides, dos de plata y uno de oro de acuerdo a los métodos de Lee-Meisel<sup>[74]</sup>, Leopold-Lendl<sup>[75]</sup> y Turkevich<sup>[76]</sup>. Todos los reactivos fueron comprados en Sigma Aldrich y el agua utilizada fue tipo 1.

#### *Coloide Ag-Cit. Método de Lee-Meisel*

Este método consistió en la reducción de nitrato de plata con citrato de sodio. Se preparó una solución de  $1 \times 10^{-3}$  M de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) en 250 mL de agua tipo 1. Esta solución se llevó a ebullición con reflujo y agitación constante. Se agregaron 2 mL de una solución al 1% de citrato de sodio ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) y se calentó por una hora. Se dejó enfriar a temperatura ambiente.

#### *Coloide Ag-Hx. Método de Leopold-Lendl*

Esta reacción se realizó a temperatura ambiente, en donde el agente reductor del nitrato de plata fue la hidroxilamina. Se prepararon 90 mL de una solución de hidroxilamina a  $1.5 \times 10^{-2}$  M, a la que se le agregó hidróxido de sodio (NaOH) a una concentración de  $3 \times 10^{-3}$  M. Se agregaron 10 mL de una solución de nitrato de plata ( $1 \times 10^{-3}$  M) en agitación constante. El coloide fue almacenado.

#### *Coloide Au-Cit. Método de Turkevich*

Este procedimiento consistió en reducir el ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) mediante citrato de sodio. Se prepararon 100 mL de una solución de ácido tetracloroáurico ( $5 \times 10^{-4}$  M) y se agregaron 5 mL de la solución de citrato de sodio al 1%. La solución se calentó durante una hora con reflujo y agitación constante.

### 5.1.3. Equipos y procedimientos

#### ***Caracterización de nanopartículas***

Debido al efecto de la oscilación colectiva de los electrones mencionado anteriormente, los coloides que poseen nanopartículas metálicas presentan una banda de absorción característica de su escala nanométrica. Es por eso que este tipo de caracterización es muy importante para conocer las propiedades ópticas de estos coloides.

Los tres coloides de nanopartículas fueron analizados mediante absorción UV-Vis con el equipo Genesys 6, con un rango espectral de 350-700 nm y una resolución espectral de 1.8 nm, el cual se encuentra en la Universidad de Tarapacá, Chile.

Adicionalmente, las nanopartículas fueron observadas con el microscopio electrónico de transmisión del Laboratorio Central de Microscopía del Instituto de Física-UNAM, JEOL JEM-2010 FEG FASTEM (cañón de electrones de emisión de campo) con un voltaje de aceleración de 200 keV y una resolución punto a punto de 0.19 nm. Las imágenes fueron obtenidas en campo claro. Las fotografías adquiridas fueron analizadas con el programa Image-J.

### ***Espectrómetros Raman***

Se utilizaron los espectrómetros Raman portátiles con los que cuenta el laboratorio (LANCIC-IF), cuyas características se encuentran en la siguiente tabla:

**Tabla 4.** Espectrómetros Raman utilizados en esta etapa de investigación

	<b>Inspector Raman</b>	<b>i-Raman EX</b>	<b>i-Raman Plus</b>
<b>Marca</b>	Delta Nu	B&WTEK	B&WTEK
<b>Longitud de onda</b>	785 nm	1064 nm	532 nm
<b>Fuente láser</b>	Diodos	Nd-YAG	Diodos
<b>Potencia</b>	Media: 60mW Baja: 20 mW	Ajustable (<376 mW)	Ajustable (<53 mW)
<b>Rango Espectral</b>	200-2000 cm <sup>-1</sup>	175-2500 cm <sup>-1</sup>	145-4000 cm <sup>-1</sup>
<b>Resolución</b>	Baja: 15 cm <sup>-1</sup>	9.5 cm <sup>-1</sup>	4 cm <sup>-1</sup>
<b>Detector</b>	CCD's	Arreglo InGaAs	CCD's

### ***Preparación de muestras para SERS***

Se colocaron 500 µL de uno de los coloides (Ag-Cit, Ag-Hx y Au-Cit) en un vial de vidrio. Se agregaron 50 µL del extracto, después se agregaron 20 µL de nitrato de potasio (KNO<sub>3</sub>) en una concentración de 0.5 M, con el fin de agregar las nanopartículas. Se decidió utilizar estas cantidades de acuerdo a lo previamente reportado por Jurasekova *et al.* [77] y Casanova *et al.* [23]. Las mediciones se hicieron a través del vidrio del vial. Los espectros con el láser de 785 nm fueron obtenidos con el equipo Delta Nu, con un tiempo de 5 s y 3 promedios a una potencia de 60 mW con la corrección de línea base activada. Aquellos espectros adquiridos con el láser de 532 nm fueron obtenidos con el equipo i-Raman Plus con un tiempo de 5 s y 5 promedios, con una potencia de 37.1 mW. Solamente a los espectros de *xochipalli* adquiridos con este láser, se les aplicó una corrección de línea base con el programa Origin V8.

Debido a que los espectros Raman y (o) SERS de algunos de los cromóforos, contenidos en la plantas a estudiar no se encuentran reportados en la literatura, se adquirieron referencias de quercetagetina y buteina, ambas de Sigma Aldrich. Se preparó una solución de quercetagetina en agua a una concentración de 6.28x10<sup>-4</sup> M y otra de buteina en etanol de 3.3x10<sup>-3</sup>M. Ambas soluciones fueron preparadas para su análisis por SERS como se describió previamente para los extractos.

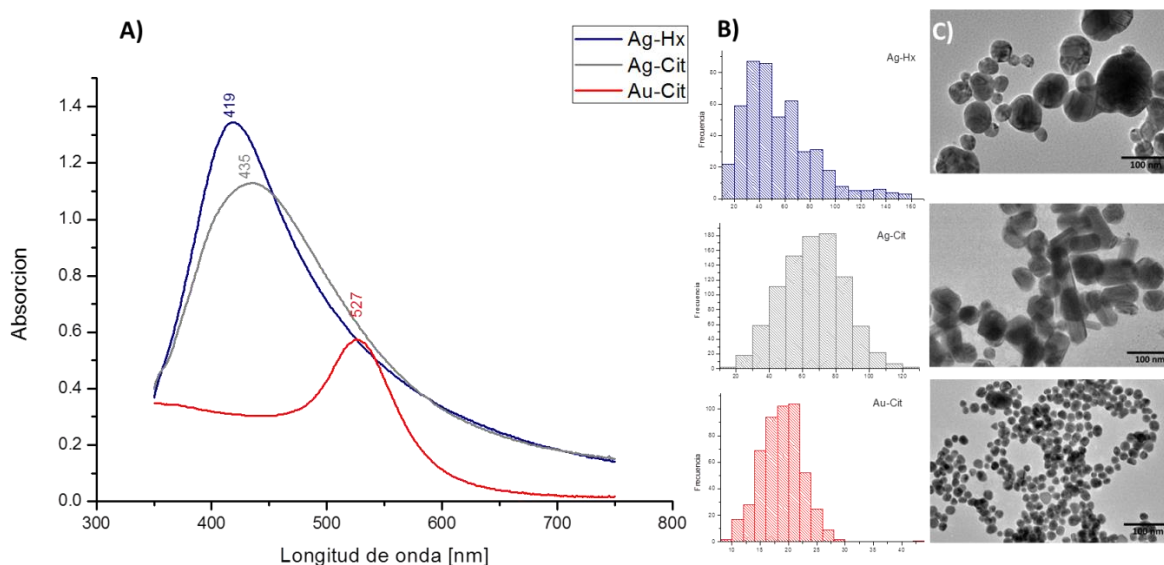
Se realizó una simulación complementaria de buteina y quercetagetina utilizando la teoría del funcional de la densidad (teoría DFT) con el programa Gaussian 9 con el nivel de teoría B3LYP y la base 6-311++G(2d,2p).

## 5.2. Resultados caracterización de nanopartículas

Las nanopartículas de plata reducidas con hidroxilamina (Ag-Hx) presentaron un pico de absorción en 419 nm en la espectroscopía UV-Vis, mientras que las elaboradas con citrato (Ag-Cit) presentan un corrimiento hacia el rojo con un pico de absorción en 435 nm (figura 20a). Estos picos de absorción se corresponden con lo reportado para nanopartículas de plata aisladas<sup>[78]</sup> y de acuerdo con la estadística realizada a las imágenes de microscopía de transmisión (figura 20c), se observa una distribución log-normal para el coloide Ag-Hx y normal para el coloide Ag-Cit, con tamaño promedio de  $47\text{nm} \pm 3\text{ nm}$  y  $66\text{ nm} \pm 37\text{ nm}$  respectivamente a un 95% de confianza, es decir que el 95% de los valores se encuentran a una distancia de dos desviaciones estándar de la media.

Las nanopartículas Ag-Hx resultaron con un tamaño inferior respecto a las de Ag-Cit debido a que la hidroxilamina es quizá un reductor más fuerte que el citrato de sodio. Por otro lado, el corrimiento del pico de absorción y su ligero ensanchamiento respecto al del coloide Ag-Hx, está asociado a las diversas formas tubulares observadas en las imágenes de microscopía, la cual tienden a desplazar la posición del plasmón. Contrario a lo observado para el coloide Ag-Cit, las nanopartículas del coloide Ag-Hx fueron en su mayoría redondas.

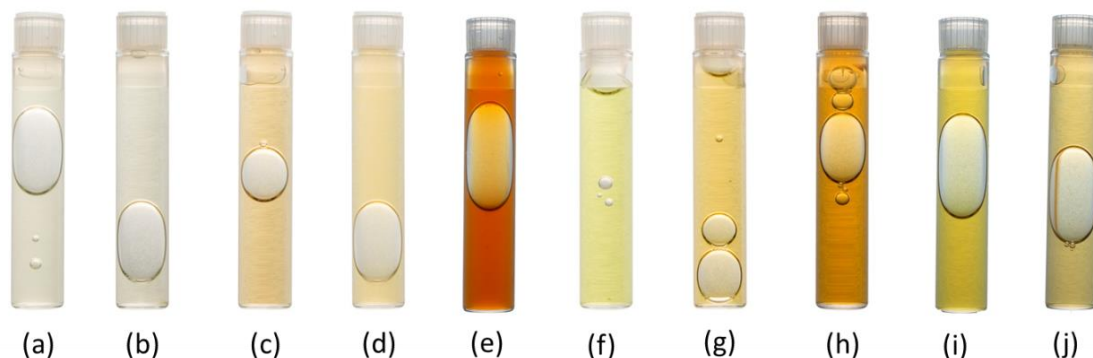
La energía del plasmón está en función de la naturaleza y morfología del metal, así como de su tamaño<sup>[87]</sup>, debido a esto, las nanopartículas de oro (Au-Cit) presentaron un pico de absorción bastante lejano de los de las nanopartículas de plata, en 527 nm. Estas nanopartículas presentaron formas esféricas en su mayoría y debido a que fueron más homogéneas respecto a las de plata, presentan el pico de absorción más estrecho. El tamaño promedio de las nanopartículas de oro se encontró entre  $19\text{ nm} \pm 7\text{ nm}$  a un 95% de confianza (figura 20b).



**Figura 20.** Caracterización de nanopartículas en suspensión coloidal. A) Espectroscopía UV-Vis. B) Estadística del tamaño de nanopartícula. C) Microscopía electrónica de transmisión de arriba hacia abajo: coloides de plata reducidos con hidroxilamina, citrato y coloide de oro. Las barras de escala representan 100 nm

### 5.3. Resultados SERS en extractos

La figura 21 muestra los extractos obtenidos de las diferentes plantas utilizadas en este estudio, la mayoría de ellas en matices amarillos. Debido a que los extractos de palo mora que tenían parte de la orilla del tronco no presentaron espectros exitosos, solamente se presenta la imagen del extracto obtenido de la madera del centro (figura 21g).



**Figura 21.** Extractos amarillos: a) gualda, b) *zacatlaxcalli*, c) *zacatlaxcalli* seco, d) cempasúchil naranja, e) cempasúchil amarillo, f) achiote, g) palo mora, h) *xochipalli* naranja, i) *xochipalli* amarillo y j) pericón.

De forma general, los resultados obtenidos con los diferentes espectrómetros Raman de los extractos fueron no favorables, debido a la fuerte interferencia de la fluorescencia de las moléculas presentes en éstos, con lo que ninguna banda pudo ser observada. Por este motivo, los espectros obtenidos de forma convencional (es decir, sin SERS) de los otros extractos se presentan en el apéndice A, excepto para la gualda, el cual se utiliza a continuación para ejemplificar el efecto SERS observado en este extracto.

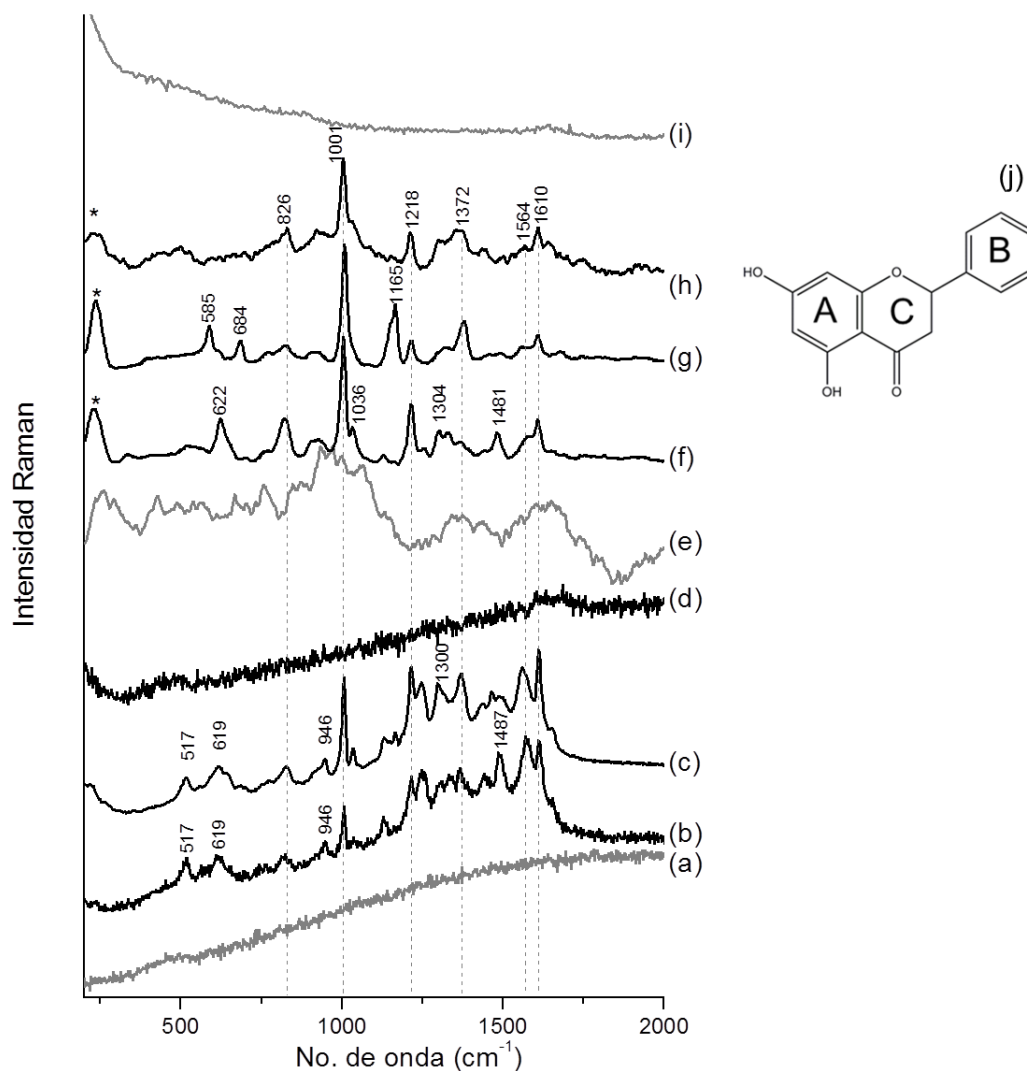
#### **Gualda**

La gualda es posiblemente el colorante amarillo más estudiado, con su espectro SERS característico reportado tanto como para el colorante<sup>[22, 79]</sup> como para sus diferentes cromóforos: luteolina y apigenina<sup>[77]</sup>.

De manera general, la figura 22 muestra el total de medidas adquiridas con diferentes condiciones. Los espectros Raman sin nanopartículas se muestran en gris (figura 22-a, e, i) y no muestran ninguna señal debido a la fuerte fluorescencia de las moléculas orgánicas presentes en este extracto. Por el contrario, en los espectros con nanopartículas (espectros SERS), los cuales son mostrados en color negro (figura 22-b, c, d, f, g, h), se observan bandas bien definidas (a excepción de cuando el láser utilizado fue de 532 nm con el coloide Au-Cit), con lo cual se confirma la observación del efecto SERS para este estudio.

Los espectros SERS, que muestran bandas bien definidas, son muy similares entre sí, con algunas diferencias en intensidad debidas posiblemente al cambio de fuente láser, en donde algunos

grupos funcionales y/o moléculas se ven favorecidas por alguna longitud de onda en particular. Ejemplo de lo anterior son las bandas en  $1564\text{ cm}^{-1}$  (asociada a las vibraciones  $\nu(\text{C}=\text{C})$  de la flavona), y  $1218\text{ cm}^{-1}$  (asociada a las vibraciones  $\nu(\text{C}-\text{O})$ ), las cuales corresponden al espectro SERS de la luteolina<sup>[77]</sup> y son dominantes en los espectros obtenidos con el láser de 532 nm, mientras que en los espectros obtenidos con la fuente de 785 nm estas bandas son de baja intensidad.



**Figura 22.** Espectros Raman (en gris) y SERS (en negro) del extracto de gualda adquiridos con diferentes condiciones experimentales: a)  $\lambda=532\text{ nm}$ , b)  $\lambda=532\text{ nm}$  y coloide Ag-Cit, c)  $\lambda=532\text{ nm}$  y coloide Ag-Hx, d)  $\lambda=532\text{ nm}$  y coloide Au-Cit, e)  $\lambda=785\text{ nm}$ , f)  $\lambda=785\text{ nm}$  y coloide Ag-Cit, g)  $\lambda=785\text{ nm}$  y coloide Ag-Hx, h)  $\lambda=785\text{ nm}$  y coloide Au-Cit, i)  $\lambda=1064\text{ nm}$ , j) Estructura química de la crisina. Los asteriscos representan bandas asociadas al coloide.

Por otro lado, las bandas en  $826$ ,  $1001$ , y  $1610\text{ cm}^{-1}$ , que aparecen de forma predominante en los espectros adquiridos con el láser de  $785\text{ nm}$ , fueron comparadas con lo reportado para apigenina, otra componente de la gualda, sin ninguna coincidencia. Este conjunto de bandas han sido

previamente observadas en el espectro SERS de la molécula de crisina<sup>[19]</sup>, en donde la banda en  $1001\text{ cm}^{-1}$  es atribuida la vibración de estiramiento trigonal del anillo B en ausencia de cualquier sustituyente OH (figura 22-j), mientras que la banda en  $1610\text{ cm}^{-1}$  corresponde a las vibraciones  $\nu(\text{C}=\text{O})$  y a las de estiramiento de los anillos A y C<sup>[19]</sup>.

La molécula de crisina es una flavona presente en algunos productos naturales como la miel de girasol y algunas plantas del género *pasiflora*<sup>[80, 81]</sup>, la cual ha sido investigada debido a sus propiedades médicas<sup>[82]</sup>. La presencia de la molécula de crisina no ha sido reportada antes para la gualda. Los estudios con HPLC de especímenes europeos solamente muestran la presencia de luteolina y algunos de sus glucósidos así como también apigenina<sup>[83, 84]</sup>. Estudios más recientes muestran como componentes minoritarios el crisoeriol<sup>[85]</sup>.

Se requiere de un estudio más profundo de la gualda mexicana (con metodologías cromatográficas) para confirmar la presencia de crisina, o alguna otra molécula con características espectrales similares.

El uso del láser de 532 nm y las nanopartículas de oro no dio ningún resultado favorable, tal y como se muestra en la figura 22-d. Este comportamiento podría deberse a la poca afinidad de los flavonoides a las nanopartículas de oro, así como también a la presencia de iones  $\text{Cl}^-$  (remanentes del proceso de elaboración de los coloides), los cuales están adsorbidos en la superficie de la nanopartícula, previniendo la adsorción de otras moléculas, con lo que se desfavorece la efectividad del coloide de oro<sup>[86]</sup>.

El anterior comportamiento del láser de 532 nm con el coloide de oro fue observado para el resto de las moléculas estudiadas, con lo que los espectros obtenidos con esas condiciones se presentan solamente en el apéndice A.

A pesar de la baja afinidad del tipo de moléculas estudiadas al coloide de oro, se pudo observar un efecto SERS en el espectro de la gualda cuando se utilizó el láser de 785 nm y este coloide (figura 22-h). Esto podría explicarse por la agregación de las nanopartículas al añadir nitrato de potasio, lo cual tiende a correr hacia el rojo el máximo de absorción del coloide<sup>[87]</sup>, favoreciendo así la excitación con el láser de 785 nm.

### ***Zacatlaxcalli***

El espectro SERS de *zacatlaxcalli*, achiote y de una fibra de lana teñida con cempasúchil, han sido reportados en un trabajo previo por Casanova *et al.*<sup>[23]</sup> con condiciones de análisis similares, tales como el coloide de Ag-Cit y el láser de 785 nm, y diferentes como lo son el método de extracción empleado (maceración en el caso del trabajo de Casanova) y el tamaño de nanopartícula: 14 nm en el de Casanova contra 66 nm en este trabajo. Para cada colorante mencionado anteriormente, se realizará una comparación entre los resultados obtenidos y los ya publicados en la literatura.

Los espectros del extracto de *zacatlaxcalli* con el láser de 785 nm y ambos coloides de plata, son muy parecidos entre sí, como se muestra en la figura 23-b y c. Estos espectros son muy parecidos a lo reportado por Casanova *et al.*, confirmando la reproducibilidad del método, sin importar la variación de la extracción empleada y el tamaño de nanopartícula. En efecto, el tamaño de la nanopartícula debe estar entre 5 y 100 nm<sup>[72]</sup> para observar un efecto SERS. Por debajo de este rango, la conductividad efectiva de la nanopartícula decrecerá dramáticamente<sup>[16]</sup>, mientras que por encima de éste hay una pérdida de energía del plasmón, debido al decaimiento radiativo (conversión de los modos colectivos en fotones) y no radiativo (fonones, pares electrón-agujero) e incluso desfasamiento debido al retardamiento del efecto y excitaciones multipolares<sup>[88]</sup>. Si las nanopartículas se encuentran en este rango, la amplificación SERS observada estará en función del tamaño de la nanopartícula<sup>[89,90]</sup>. Sin embargo, la agregación de las nanopartículas tendrá un mayor grado de amplificación SERS debido a la formación de “hot-spots”. Debido a esto, los espectros SERS obtenidos del extracto de *zacatlaxcalli* presentan semejanzas en ambos trabajos ya que las nanopartículas fueron agregadas de la misma forma (con KNO<sub>3</sub>), por lo que el espectro característico es el resultado de la interacción de las moléculas con clusters de nanopartículas.

Así mismo, los espectros obtenidos son también similares a los adquiridos para la quercetina pura, componente principal del colorante de *zacatlaxcalli*, bajo condiciones similares<sup>[77, 18]</sup>. Jurasekova *et al.* han reportado un cambio en la estructura química de la quercetina en presencia de nanopartículas metálicas, por lo que las bandas en 592, 489 y 429 cm<sup>-1</sup> del espectro SERS del extracto *zacatlaxcalli* aparecen también en el reportado para quercetina y están relacionadas a una posible oligomerización de esta molécula<sup>[18]</sup>.

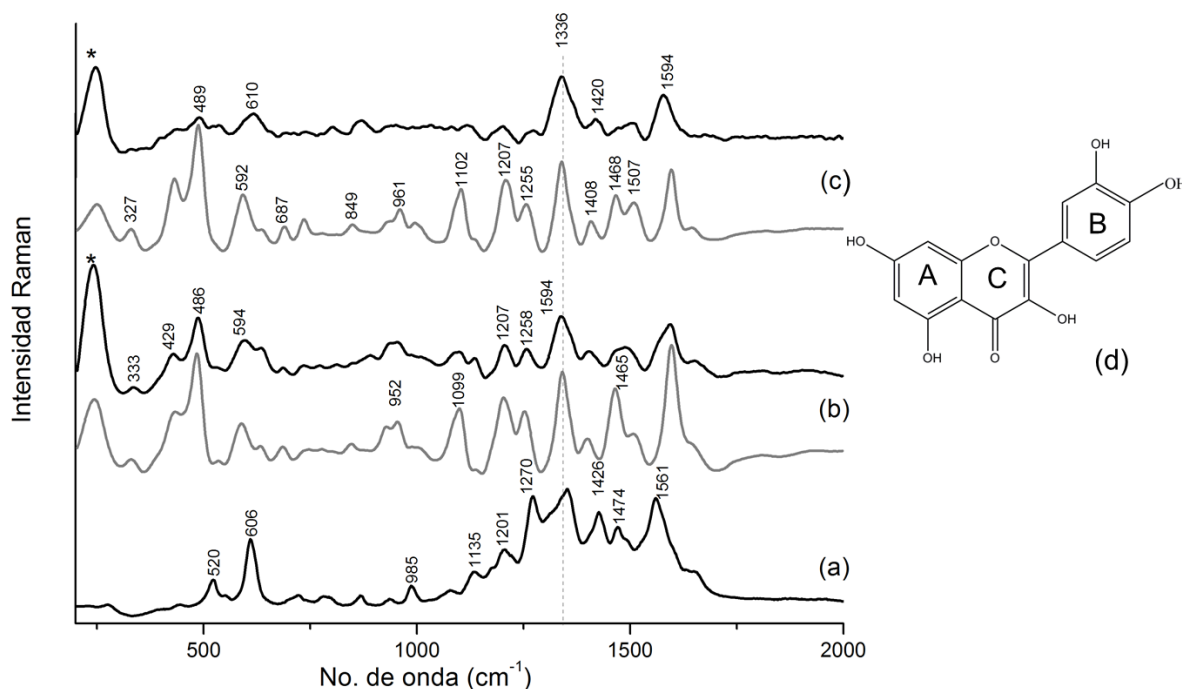
Otras bandas características del espectro de quercetina pura se corresponden a las encontradas en el espectro SERS del extracto de *zacatlaxcalli*, en donde la banda en 1594 cm<sup>-1</sup> corresponde a las vibraciones  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , las bandas en 1408, 1336 y 1102 cm<sup>-1</sup> son vibraciones del anillo A (figura 23-d).

Por otro lado, los espectros del extracto obtenidos con el láser de 532 nm y los dos coloides de plata despliegan las mismas bandas, por lo que solamente se muestra el obtenido con el coloide Ag-Hx (figura 23-a). Este espectro muestra bandas que no coinciden con los espectros adquiridos con el láser de 785 nm, ni tampoco con lo reportado por Casanova *et al.* Sin embargo, existen espectros de quercetina pura obtenidos con estas mismas condiciones<sup>[22]</sup> con características muy similares a las presentadas en la figura 23-a.

Los espectros obtenidos con los láseres de 532 nm y 785 nm son completamente diferentes. Esta diferencia no puede explicarse solamente como una consecuencia de utilizar dos fuentes distintas, tal y como se vio en el caso de la gualda. Jurasekova *et al.* han propuesto que la diferencia entre ambos espectros es resultado del cambio estructural de la molécula de quercetina, en donde algunos productos de su condensación son visibles con el láser de 785 nm, mientras que solamente las especies que tienen un efecto Raman resonante a la longitud de onda de 532 nm muestran una fuerte amplificación con este el láser<sup>[18]</sup>.



Adicionalmente, los espectros SERS de los extractos del *zacatlaxcalli* seco y fresco son similares para el caso en el que se utilizó el láser de 532 nm, por lo que en la figura 23-a solamente se muestra el espectro de la planta fresca. En el caso del láser de 785 nm, los espectros de la planta fresca mostraron simplemente una fluorescencia mayor.



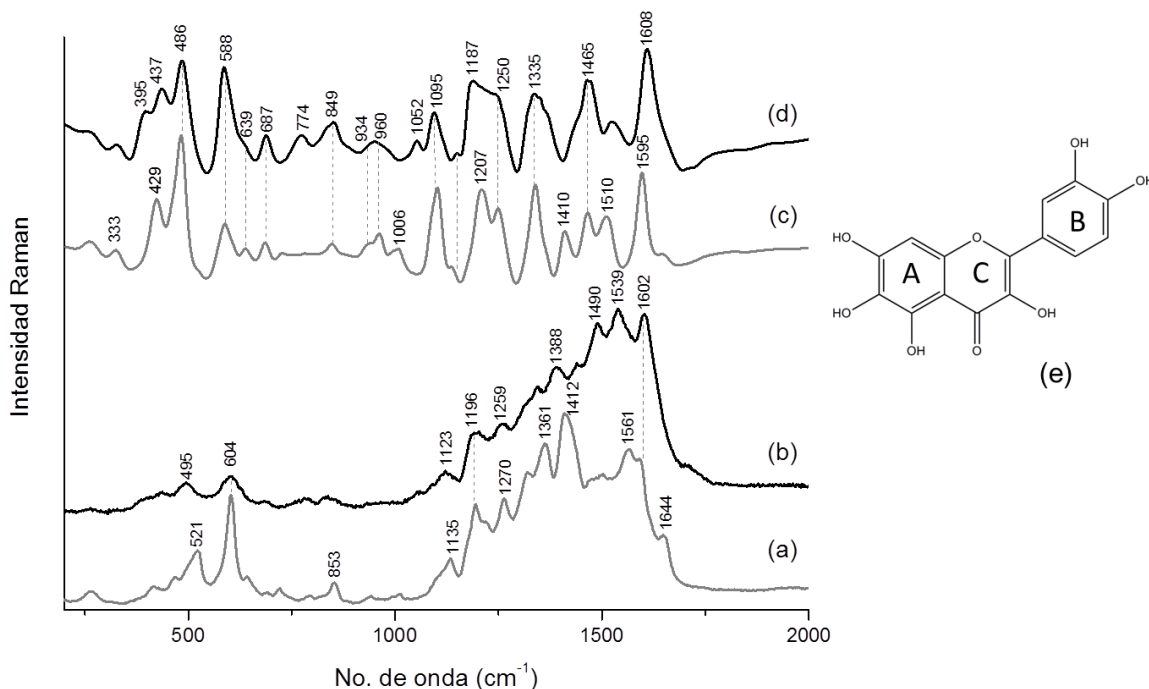
**Figura 23.** Espectros SERS del extracto de *zacatlaxcalli*: a) coloide Ag-Hx y  $\lambda=532$  nm, b) coloide Ag-Cit y  $\lambda=785$  nm, c) coloide Ag-Hx y  $\lambda=785$  nm. Los espectros en negro son del extracto de la planta fresca, mientras que en gris se muestran los de la planta seca, d) estructura química de la quercetina, componente principal del colorante extraído del *zacatlaxcalli*. Los asteriscos denotan las bandas asociadas al coloide.

A diferencia de la gualda, ningún resultado favorable fue obtenido con el láser de 785 nm y el coloide de oro. El resto de los espectros del *zacatlaxcalli*, fresco y seco, se muestran en el apéndice A.

### **Cempasúchil**

El único espectro Raman de cempasúchil encontrado en la literatura corresponde al estudio de una fibra de lana teñida con este colorante, reportado por Casanova et al.<sup>[23]</sup>, el cual no fue posible asociar directamente con los resultados de esta parte del estudio, debido a que el espectro es diferente, probablemente por la interacción de la fibra y el mordiente con la molécula. Adicionalmente, no se encontró ningún espectro Raman/SERS de la molécula de quercetina, una de las componentes del colorante extraído del cempasúchil, por lo que se procedió a obtener los espectros SERS de la referencia pura.

La figura 24 muestra una comparación entre los espectros SERS de las moléculas de quercetina (en gris) y quercetagetina (en negro), obtenidos con el coloide Ag-Cit. Debido a que la quercetagetina presenta una estructura similar a la quercetina y que los espectros obtenidos con el láser de 785 nm de ambas moléculas (figura 24-c y d) son muy similares entre sí, se puede proponer, que al igual que la quercetina estudiada por Jurasekova *et al.*<sup>[18]</sup>, la quercetagetina (estudiada por primera vez en este trabajo) cambia su estructura química en presencia de las nanoestructuras de plata. Lo anterior se podría confirmar observando la existencia de algunas especies resultantes de la reacción de la quercetagetina con la plata mediante otras técnicas, tales como RMN, HPLC-MS, etc.



**Figura 24.** Espectros SERS con el coloide Ag-Cit de las referencias de quercetina (en gris) y quercetagetina (en negro) con los láseres de: a), b)  $\lambda=532$  nm y c), d)  $\lambda=785$  nm. e) estructura química de la quercetagetina.

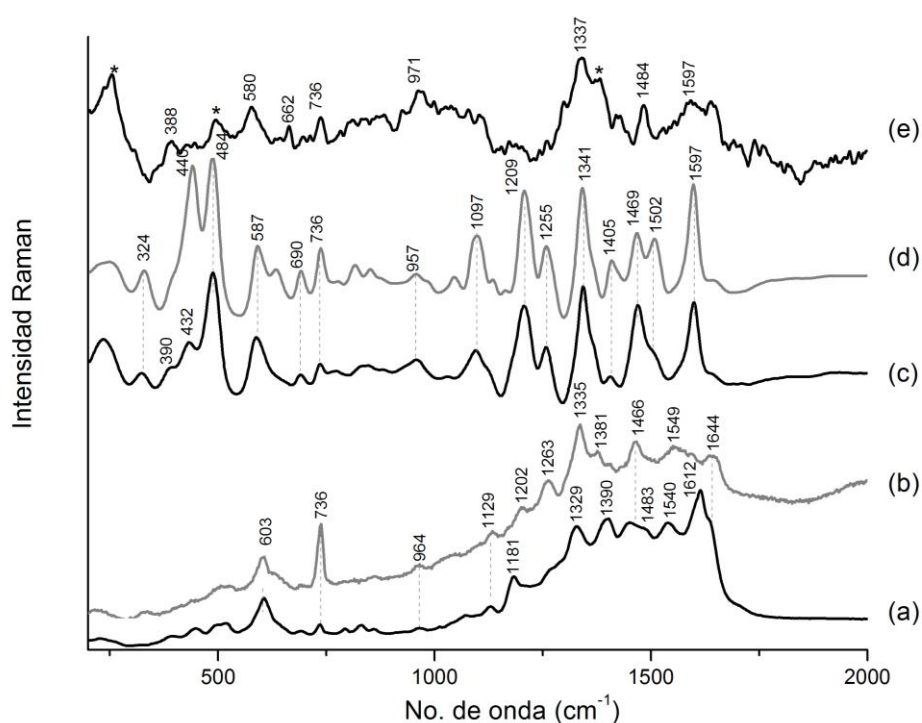
A pesar de la gran similitud entre los espectros SERS de quercetina y quercetagetina con el láser de 785 nm, existen algunas diferencias. Por ejemplo, la banda en  $395 \text{ cm}^{-1}$  en el espectro de quercetagetina (figura 24-d), la cual probablemente está asociada a la posible oligomerización de la molécula, reportada por Jurasekova para la quercetina<sup>[18]</sup>. Nuevas bandas asociadas a los movimientos  $\delta(\text{OH})$ ,  $\delta(\text{CH})$  y a las vibraciones fuera del plano del enlace carbono-hidrógeno aparecen en  $774$  y  $1052 \text{ cm}^{-1}$  (figura 24-d). También se puede observar la banda en  $1410 \text{ cm}^{-1}$  en el espectro de quercetina (figura 24-c), la cual no aparece en el espectro de quercetagetina y podría estar asociada a las vibraciones del anillo A de esta molécula.

Por otro lado, los espectros SERS obtenidos con el láser de 532 nm (figura 24-a y b) muestran espectros muy diferentes, lo cual podría ser debido a que los productos obtenidos del cambio estructural de la quercetina y quercetagetina que son Raman resonantes a esta longitud de onda, son diferentes entre sí, o bien que la quercetagetina y (o) sus productos interaccionen de forma

diferente con la nanoestructura metálica, favoreciendo alguno de los modos vibracionales de la molécula con esta longitud de onda, lo cual tendría que comprobarse mediante un estudio teórico.

Los espectros obtenidos con el coloide Ag-Hx mostraron los mismos resultados que Ag-Cit, mientras que ningún resultado favorable se obtuvo con el coloide Au-Cit. Estos espectros se muestran en el apéndice A, figura A3.

El estudio de las referencias de quercetina y quercetagetina fue de gran utilidad para entender las observaciones en los espectros SERS de cempasúchil naranja y amarillo (figura 25). Los espectros del extracto naranja obtenidos con los coloides de plata y el láser de 532 nm son muy similares entre sí, por lo que solamente se muestra el adquirido con el coloide Ag-Hx (figura 25-a). En este espectro la mayoría de las bandas se corresponden con el de quercetagetina, a excepción de la banda en  $736\text{ cm}^{-1}$ , la cual es cercana al modo vibracional 4 en la notación de Wilson para las vibraciones del anillo de benceno<sup>[60]</sup>, asociada posiblemente a una molécula adicional a la quercetina y quercetagetina, la cual aparece en todos los extractos de cempasúchil.



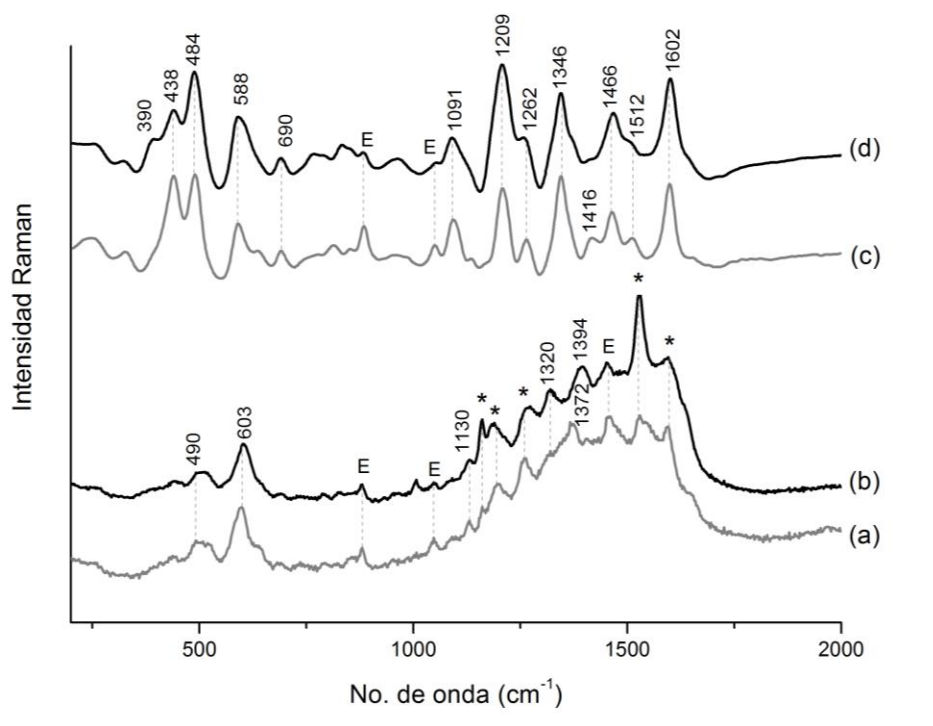
**Figura 25.** Espectros SERS de los extractos de cempasúchil naranja (en negro) y amarillo (en gris): a) y b) espectros con  $\lambda=532\text{ nm}$  y coloide Ag-Hx, c) y d) espectros con  $\lambda=785\text{ nm}$  y coloide Ag-Cit, e) espectro con  $\lambda=785\text{ nm}$  y coloide Au-Cit. Los asteriscos denotan las bandas asociadas al coloide.

El espectro SERS del extracto naranja, obtenido con el láser de 785 nm (figura 25-c), mantiene la misma estructura del de la referencia de quercetinetin adquirido con las mismas condiciones ( $\lambda=785\text{ nm}$ , coloide Ag-Cit). Adicionalmente la banda en  $1407\text{ cm}^{-1}$  sugiere la presencia de quercetina en una cantidad menor. El espectro obtenido con el coloide Au-Cit y el láser de 785 nm de este

extracto naranja (figura 25-e), reproduce algunas bandas que fueron observadas en el espectro del extracto obtenido con el coloide Ag-Cit.

El espectro SERS del extracto de cempasúchil amarillo obtenido con el láser de 532 nm y las nanopartículas de plata (figura 25-b) muestra un espectro parecido al obtenido de la referencia de quercetagina con bandas adicionales, en donde la de  $736\text{ cm}^{-1}$  es más sobresaliente respecto al extracto naranja, lo que podría sugerir que en el extracto amarillo además de quercetagina, hay una mayor cantidad de la molécula no identificada. Por el contrario, el espectro obtenido con el láser de 785 nm (figura 25-d), muestra un espectro que se corresponde con la referencia de quercetagina con algunas bandas que corresponden a la molécula de quercetina.

Por otro lado, se conoce que los pétalos del cempasúchil contienen principalmente carotenoides (mayoritariamente luteína)<sup>[48, 91, 92]</sup> y flavonoides, en donde la molécula de quercetagina se presenta como el flavonoide mayoritario<sup>[93, 94, 95]</sup>. Sin embargo, con SERS solamente fue posible observar el espectro del flavonoide, quizá debido a que los flavonoides, en este caso quercetagina y/o quercetina, son más afines a las nanoestructuras de plata que los carotenoides, debido principalmente a las propiedades reductoras del grupo catecol<sup>[18, 96, 97]</sup>.



**Figura 26.** Espectros SERS con coloide Ag-Cit de los extractos de cempasúchil: a) amarillo y  $\lambda=532\text{ nm}$ , b) naranja y  $\lambda=532\text{ nm}$ , c) amarillo y  $\lambda=785\text{ nm}$ , d) naranja y  $\lambda=785\text{ nm}$ . Los asteriscos están asociados a las bandas atribuidas a los carotenoides y "E" está referida a las bandas del solvente (etanol).

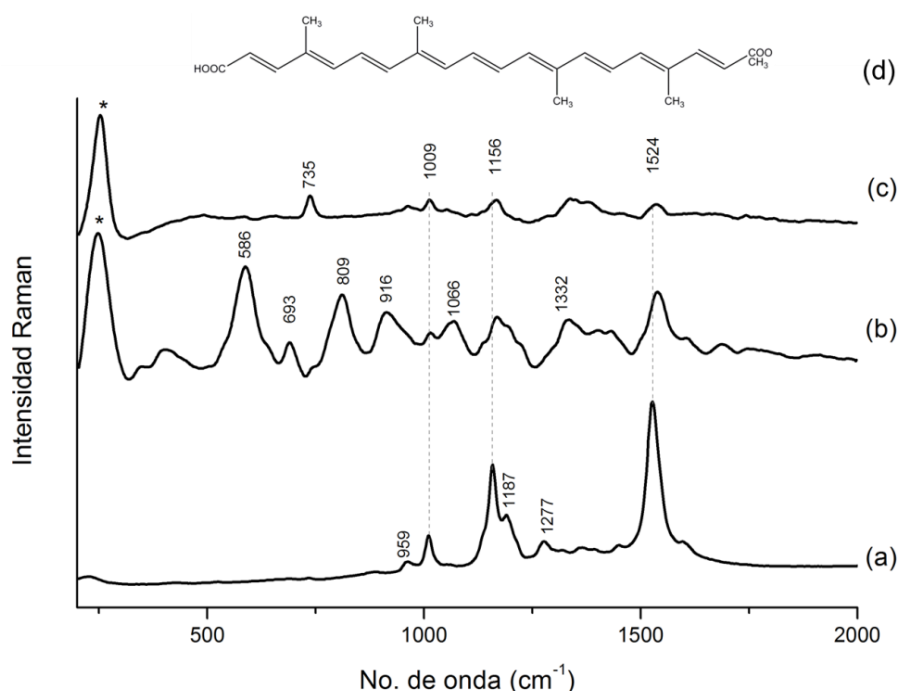
Otro motivo por el cual se observan flavonoides en lugar del carotenoide podría ser el método de extracción, por lo que adicionalmente se hicieron extracciones con etanol del cempasúchil naranja y amarillo. La figura 26 muestra los espectros SERS de estas extracciones, las cuales fueron

adquiridas con el coloide Ag-Cit. En efecto, es posible observar la contribución del carotenoide en los espectros adquiridos con el láser de 532 nm (asteriscos en figura 26-a y b), cuyas bandas son más intensas para el extracto naranja, mientras que los espectros adquiridos con el láser de 785 nm (figura 26-c y d) muestran nuevamente espectros de quercetina y quercetagetina.

Lo anterior sugiere que la observación de los flavonoides en los espectros SERS del cempasúchil está asociado tanto con el proceso de extracción (el etanol extrae una mayor cantidad de carotenoides) como con una mayor afinidad de los flavonoides a las nanoestructuras de plata. En particular las vibraciones de aquellos carotenoides adsorbidos en la superficie de la nanoestructura son mayores al utilizar 532 nm como longitud de onda de excitación.

### Achiote

Los espectros SERS del extracto de achiote adquiridos con el láser de 532 nm y ambos coloides de plata son muy similares entre sí, con lo que solo se muestra el obtenido con el coloide Ag-Cit (figura 27-a), el cual despliega bandas bien definidas que coinciden con las de un espectro típico de un carotenoide<sup>[98]</sup>, específicamente a la molécula de *trans*-bixina, en donde la banda en 1009  $\text{cm}^{-1}$  corresponde al acoplamiento de los modos vibracionales  $\nu(\text{C-C})$  con  $\delta(\text{CH}_3)$ ; la banda en 1156  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a las vibraciones  $\nu(\text{C-C})$  y aquella en 1524  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a las vibraciones de  $\nu(\text{C=C})$ <sup>[22]</sup>.



**Figura 27.** Espectros SERS del extracto de achiote: a) Coloide Ag-Cit y  $\lambda=532$  nm, b) coloide Ag-Cit y  $\lambda=785$  nm y c) coloide Ag-Hx y  $\lambda=785$  nm. d) Estructura química de la molécula de *trans*-bixina. Los asteriscos denotan las bandas asociadas al colide.

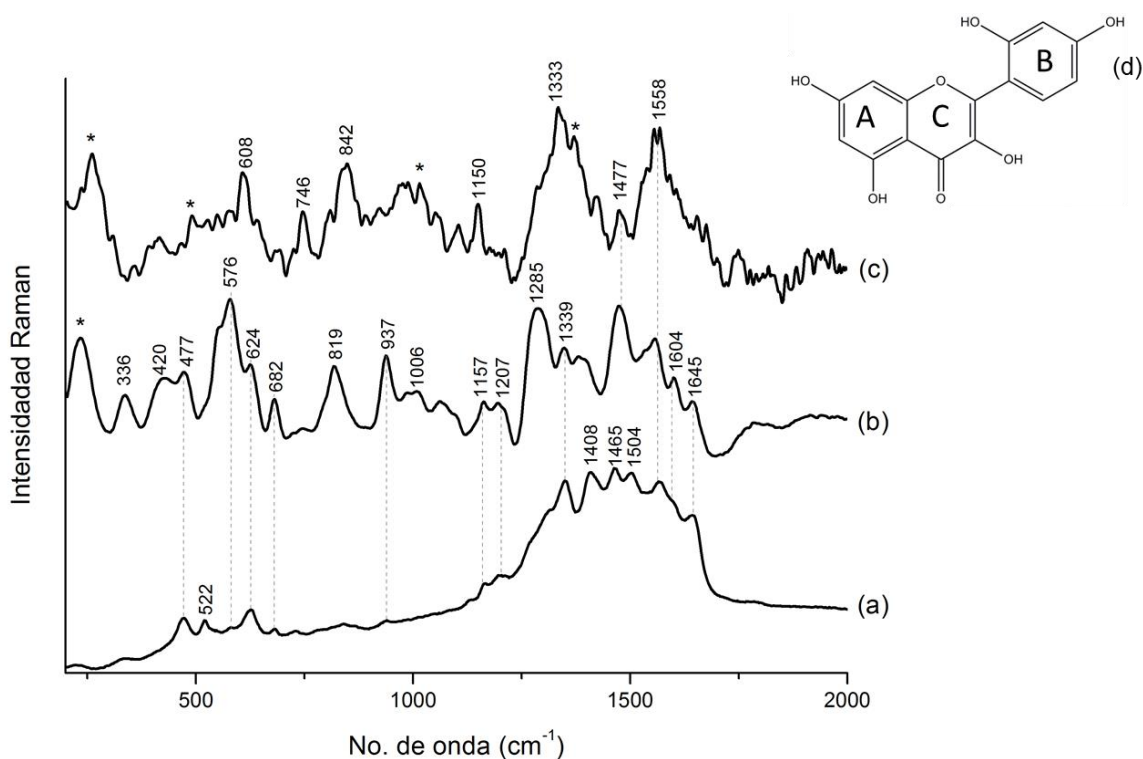
Los espectros adquiridos con el láser de 785 nm son diferentes a los anteriormente descritos, los cuales son similares a lo reportado por Casanova *et al.*, en donde se aprecian algunas de las bandas del carotenoide más otras adicionales (figura 27-b y c) que no fueron encontradas en la literatura. La condición de resonancia de la molécula *trans*-bixina se encuentra más cerca de los 532 nm que de los 785 nm, por lo que estas bandas están amplificadas fuertemente cuando se utilizó el láser verde, mientras que con el láser rojo se pueden observar débilmente.

Ningún resultado favorable fue obtenido con el coloide de oro, estos espectros se muestran en el apéndice A.

### **Palo mora**

Los espectros de palo mora SERS-activos fueron aquellos obtenidos del centro del tronco, con lo que se confirma la presencia de la mayor cantidad de colorante en esta zona.

Los espectros SERS obtenidos del extracto de palo mora presentaron bandas mejor definidas con el coloide Ag-Cit (figura 28) que aquellos obtenidos con el de Ag-Hx (apéndice A), los cuales presentaron una mayor fluorescencia, esto debido quizá a una mejor adsorción de las moléculas presentes en el extracto sobre las nanopartículas reducidas con citrato.



**Figura 28.** Espectros SERS del extracto de palo mora: a)  $\lambda=532$  nm con coloide Ag-Cit, b)  $\lambda=785$  nm con coloide Ag-Cit, c)  $\lambda=785$  nm con coloide Au-Cit, d) estructura química de la molécula morin. Los asteriscos indican las bandas asociadas al coloide.

El espectro Raman del palo mora y del morin (su principal cromóforo), han sido reportados por Mayhew<sup>[79]</sup>, Zaffino<sup>[99]</sup>, Dimitric<sup>[20]</sup> y Bruni<sup>[22]</sup>, utilizando una amplia variedad de condiciones analíticas (diferentes láseres, Raman y/o SERS). Los espectros obtenidos por aquellos investigadores no son completamente coincidentes entre ellos y también difieren de los obtenidos en este trabajo.

El espectro de palo mora obtenido con el láser de 785 nm (figura 28-b) es similar a aquel obtenido por Mayhew con el láser de 632.8 nm, en donde las vibraciones principales corresponden a la molécula de morin. Por el contrario, los resultados de Mayhew no son del todo coincidentes con las bandas presentadas en el espectro del extracto obtenido con el láser de 532 nm (figura 28-a). Este espectro está más cercano al reportado por Zaffino con un láser de 1064 nm, e inesperadamente difiere de los resultados obtenidos por Bruni y Dimitric con el mismo láser de 532 nm. Sin embargo, algunas de las bandas en la figura 28 coinciden con aquellas encontradas en la simulación DFT del morin<sup>[19]</sup>, con lo cual fue posible asignar algunos modos vibracionales. Las bandas más notables están en  $1504\text{ cm}^{-1}$ , la cual corresponde a las vibraciones  $\nu(\text{C}=\text{O})$   $\delta(\text{CCC})$  y  $\delta(\text{HCC})$ , en  $1465\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a las vibraciones  $\nu(\text{C}-\text{C})$ ,  $\delta(\text{COH})$  y  $\delta(\text{CCC})$ , en  $1339\text{ cm}^{-1}$  (vibraciones  $\delta(\text{C}-\text{OH})$ ) y la banda en  $624\text{ cm}^{-1}$  que está relacionada con las vibraciones  $\delta(\text{CCO})$  y  $\delta(\text{COC})$ .

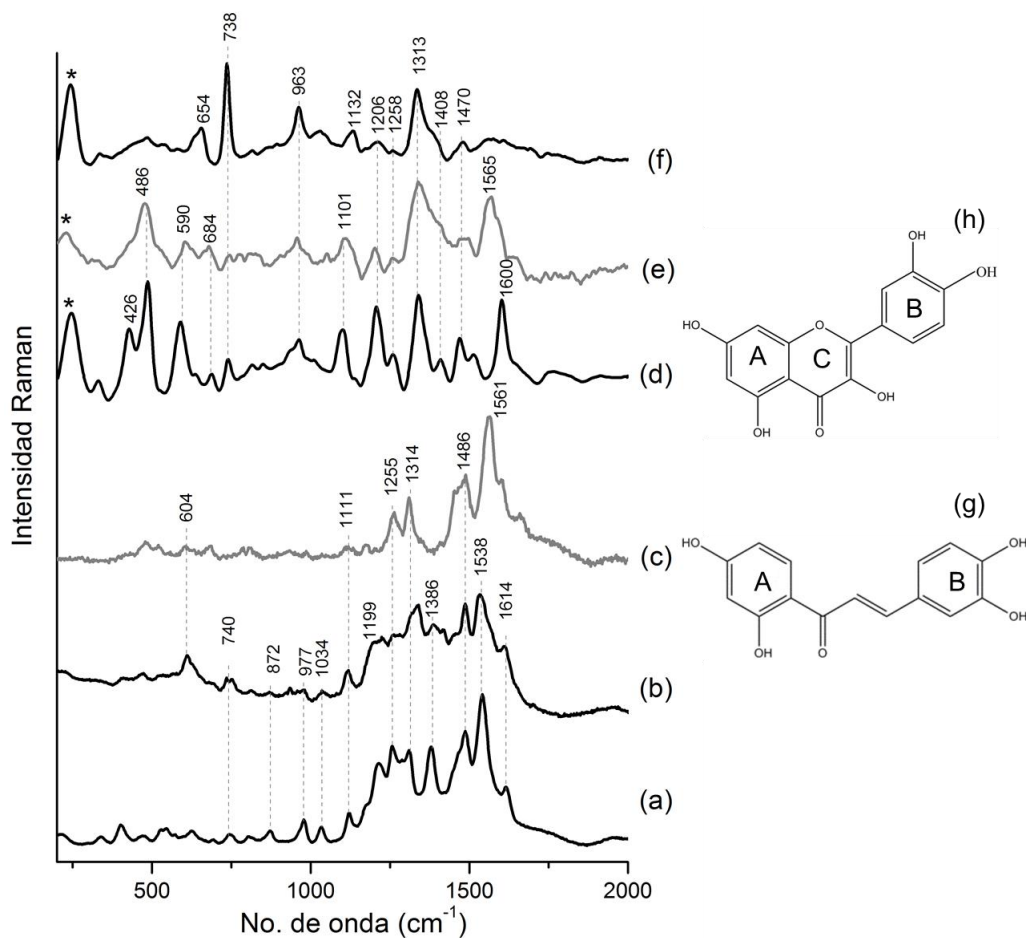
La dispersión observada en los resultados reportados por aquellos grupos de investigación y ahora en este estudio, enfatiza la importancia de la aplicación de diferentes condiciones experimentales para proporcionar información adicional, la cual podría ayudar a entender las ventajas y limitaciones de la aplicación de Raman y SERS en el análisis de mezclas complejas, como lo es el caso de los colorantes. En el particular caso del palo mora, la presencia de otras moléculas en el extracto podría explicar las diferencias observadas respecto a cuándo se analiza la molécula de morin pura.

### ***Xochipalli***

Los espectros SERS del extracto de *xochipalli* se muestran en la figura 29, en gris del extracto amarillo y en negro del extracto naranja. El espectro del extracto naranja obtenido con el láser de 785 nm y el coloide Ag-Cit (figura 29-d) es similar al adquirido para el extracto de *zacatlaxcalli*, lo cual indica que las bandas podrían corresponder a los productos de la condensación de la quercetina, ya que esta molécula es una de las componentes que están presentes en las flores de *xochipalli*, con lo que la asignación de las bandas es similar a las del *zacatlaxcalli*.

El uso de nanopartículas de plata (Ag-Cit y Ag-Hx) y el láser de 532 nm, mostró un espectro bien definido (figura 29-b). que no está asociado a la quercetina, lo cual se habría esperado debido a los resultados obtenidos con el láser de 785 nm. Algunos glucósidos de la sulfuretina y de la buteina han sido previamente encontrados en los pétalos del *xochipalli*<sup>[44]</sup> y sin embargo, no se encontró en la literatura algún espectro Raman/SERS de referencia de estas moléculas. Para este estudio no fue posible adquirir la referencia de sulfuretina, pero sí de buteina. El espectro SERS de esta

referencia adquirido con el láser de 532 nm y el coloide Ag-Hx (figura 29-a), despliega las mismas bandas que el extracto naranja adquirido con estas mismas condiciones, con lo que se confirma la observación de la molécula de buteina en el extracto.



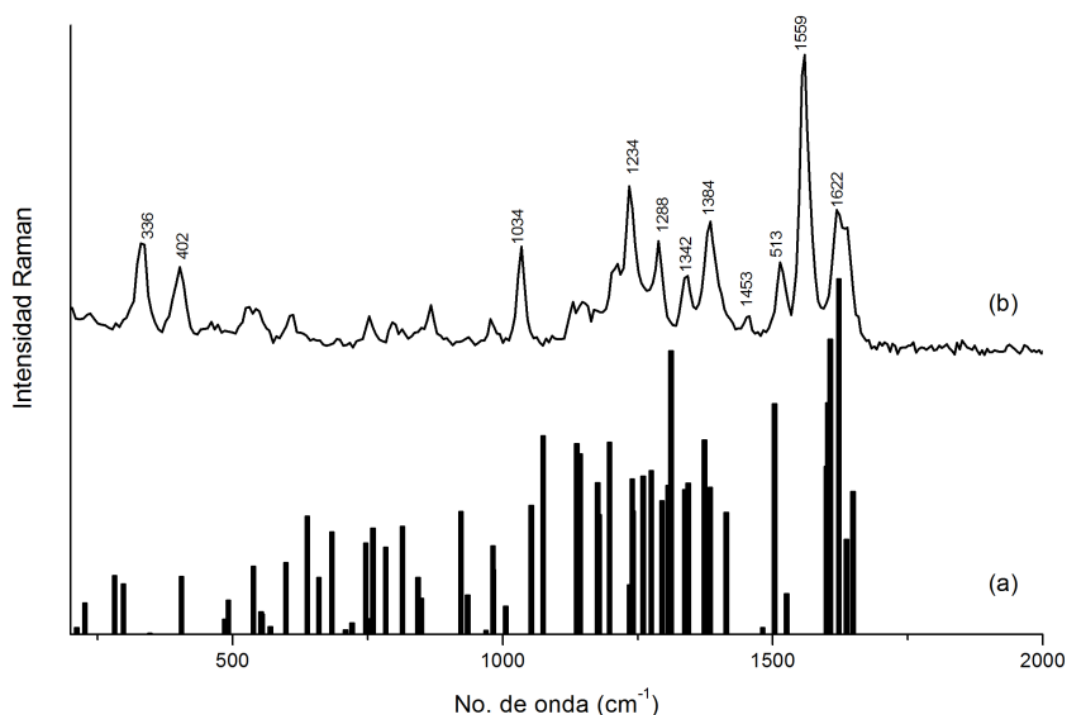
**Figura 29.** Espectros SERS de: a) referencia de buteina con  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Hx, b) extracto de *xochipalli* naranja con  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Hx, c) extracto de *xochipalli* amarillo con  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Cit, d) extracto de *xochipalli* naranja con  $\lambda=785$  nm y coloide Ag-Cit e) extracto de *xochipalli* amarillo con  $\lambda=785$  nm y coloide Ag-Cit, f) extracto de *xochipalli* naranja con  $\lambda=785$  nm y coloide Ag-Hx. Estructuras químicas de las moléculas de: g) buteina y h) quercetina. Los asteriscos denotan las bandas asociadas al coloide.

Se utilizó la simulación DFT de la molécula de buteina utilizando el nivel de teoría B3LYP y la base 6-311++G(2d, 2p), para poder obtener las asignaciones de algunos de los modos vibracionales de las bandas principales del espectro Raman de esta molécula (figura 30), en donde la banda en  $1622$  y  $1559$   $\text{cm}^{-1}$  corresponden a las vibraciones  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 8a y 8b (notación de Wilson para las vibraciones del anillo de benceno) del anillo B, así como  $\delta(\text{C}-\text{OH})$  del anillo B. La banda en  $1234$   $\text{cm}^{-1}$  corresponde a las vibraciones  $\delta(\text{CH})$  y  $\delta(\text{C}-\text{OH})$ .



El espectro SERS del extracto naranja obtenido con el láser de 785 nm y el coloide Ag-Hx (figura 29-f) no coincide con el del coloide Ag-Cit, ni tampoco con el de la referencia de buteína adquirido con estas mismas condiciones. Este espectro cuenta con algunas bandas que fueron encontradas en el cempasúchil amarillo, en donde la banda de  $738\text{ cm}^{-1}$  es la más intensa y no ha podido ser adjudicada a ninguna molécula. Ningún resultado favorable con el coloide Au-Cit fue obtenido para el extracto naranja (apéndice A).

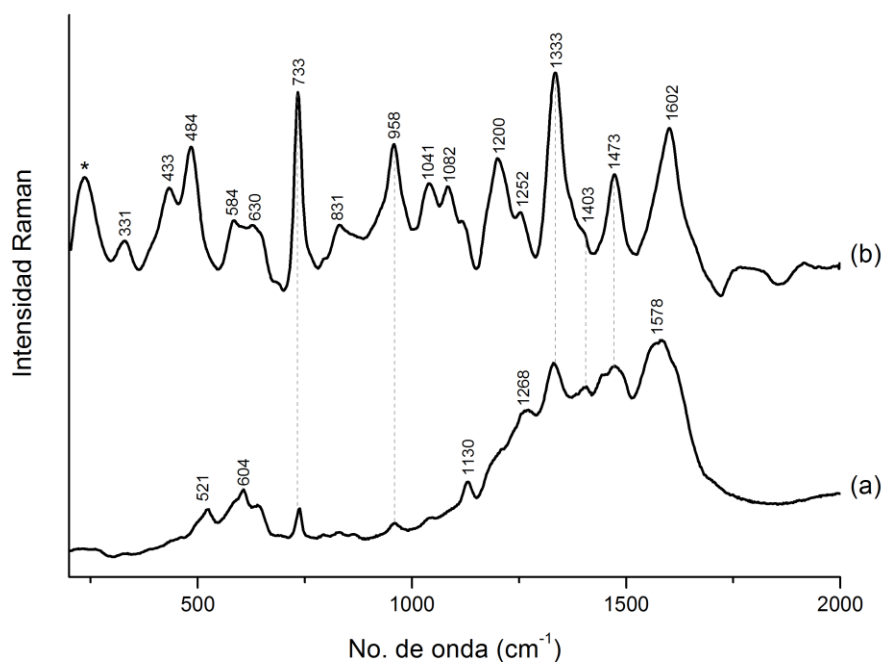
Por otro lado, los únicos espectros SERS con bandas bien definidas del extracto amarillo se muestran en la figura 29-c y e, los cuales fueron obtenidos con el coloide Ag-Cit y los láseres de 532 y 785 nm respectivamente. Algunas de las bandas observadas coinciden con la referencia de buteína para el espectro adquirido con el láser de 532 nm y con quercetina para el obtenido con 785 nm, con la diferencia (en ambos casos) de la banda en  $1561/1565\text{ cm}^{-1}$  la cual es muy intensa y no se ha podido identificar para este estudio. No se descarta la posibilidad de que pueda tratarse de la molécula de sulfuretina.



**Figura 30.** a) Bandas vibracionales de la molécula de buteína y b) Espectro Raman  $\lambda=1064\text{ nm}$  de la referencia de buteína. La intensidad en las barras de la simulación está en escala  $\log_{10}$ .

### Pericón

Los espectros SERS del extracto de pericón se muestran en la figura 31. A pesar de que una de las componentes mayoritarias reportada para este extracto es la quercetina<sup>[47]</sup>, los espectros adquiridos con ambos láseres muestran bandas que se corresponden a las obtenidas para la quercetina, lo que coincide con lo reportado por Bonilla *et al.* para el HPLC del extracto acuoso<sup>[100]</sup>. Por otro lado, los espectros adquiridos con los coloides de Ag-Hx resultaron con una cantidad mayor de fluorescencia respecto a los de Ag-Cit, mientras que los Au-Cit no dieron resultados favorables con ningún láser (apéndice A).



**Figura 31.** Espectros SERS del extracto de pericón adquiridos con el coloide Ag-Cit : a)  $\lambda=532$  nm y b)  $\lambda=785$  nm. Los asteriscos denotan las bandas asociadas al coloide.

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos con los tres coloides y las dos longitudes de onda utilizadas en el análisis con SERS de todos los extractos estudiados.

**Tabla 5a.** Asignación de bandas a las moléculas observadas en los extractos de gualda y zacatlaxcalli.

	Coloide	Molécula observada	$\lambda=532$ nm	$\lambda=785$ nm
			Bandas asociadas a la molécula ( $\text{cm}^{-1}$ )	Bandas asociadas a la molécula ( $\text{cm}^{-1}$ )
Gualda	Ag-Cit	Luteolina	1218s, 1304m, 1376sh, 1481m, 1564sh	622m, 1218s, 1256w, 1304m, 1372sh, 1481m, 1564sh,
		Apigenina	1256w	---
		Crisina*	622s, 1001vs, 1036m, 1610m	1001vs, 1036w, 1610s
		Sin identificar	826s	826m, 1129w, 1331m
	Ag-Hx	Luteolina	517m, 619m, 946w, 1218s, 1246s, 1300m, 1372s, 465w, 1564s	1218m, 1372m, 1564w,
		Apigenina	1168w	585m, 1165s
		Crisina*	1001vs, 1036w, 1487w, 1610vs,	1001vs, 1610w
		Sin identificar	1655s, 826w	684m, 826w
Au-Cit	Luteolina	---	1218m, 1300sh, 1372m, 1564w	
	Crisina*	---	1001vs, 1610m	
	Sin identificar	---	826w, 921w	
Zacatlaxcalli seco**	Ag-Cit	Quercetina	520w, 606m, 720w, 779w, 868w, 931vw, 1135m, 1198m, 1270m, 1326s, 1404m, 1474m, 1561vs, 1600sh, 1644m,	329vw, 432sh, 484vs, 589m, 634w, 686w, 846w, 927sh, 952m, 1099m, 1253m, 1336s, 1401w, 1465s, 1509w, 1507vs
		Sin identificar	985w, 1079w	---
	Ag-Hx	Quercetina	520m, 606vs, 723vw, 787vw, 868vw 936vw, 1135m, 1201m, 1270vs, 1356vs, 1426s, 1474s, 1561vs, 1653sh	327vw, 429s, 489vs, 592m, 640sh, 687w, 735w, 849vw, 931vw, 961w, 1102s, 1207s, 1255s, 1336vs, 1408m, 1468m, 1507m, 1594vs, 1652vs
		Sin identificar	985m, 1079vw	---
Au-Cit	---	---	---	

--- Bandas no observadas, vs=very strong, s=strong, m=medium, sh=shoulder, w=weak, vw=very weak.

\*Posible identificación. \*\*La planta fresca presentó las mismas bandas

**Tabla 5b.** Asignación de bandas a las moléculas observadas en los extractos de cempasúchil y *achiote*.

	Coloide	Molécula observada	$\lambda=532$ nm	$\lambda=785$ nm
			Bandas asociadas a la molécula ( $\text{cm}^{-1}$ )	Bandas asociadas a la molécula ( $\text{cm}^{-1}$ )
Cempasúchil naranja	Ag-Cit	Quercetagetina	603m, 1129m, 1181m, 1329s, 1390s, 1445sh, 1489s, 1544sh, 1603vs	324w, 390sh, 432sh, 484vs, 587m, 690vw, 957w, 1097m, 1209vs, 1255s, 1341vs, 1469vs
		Quercetina	---	1589vs, 1407vw
		Sin identificar	736w, 1073w, 1267sh	736vw, 1502sh
	Ag-Hx	Quercetagetina	603m, 792vw, 830vw, 861vw, 1129w, 1181s, 1390m, 1483sh, 1540m, 1612vs,	324vw, 390m, 432m, 484s, 597s, 687w, 831m, 960w, 1085m, 1334vs, 1379sh, 1469m, 1540w, 1608vs
		Sin identificar	736w, 1329m	736m, 1199s
	Au-Cit	Quercetagetina	---	388w, 580m, 971s, 1337vs, 1597m
	Sin identificar	---	735m, 662m, 1484m	
Cempasúchil amarillo	Ag-Cit	Quercetagetina	506w, 603m, 690vw, 860vw, 1046vw, 1129w, 1202m, 1263s, 1343vs, 1373vs, 1466vs,	324w, 440vs, 484 vs, 587m, 634w, 690w, 852w, 957w, 1097m, 1209s, 1255m, 1341s, 1469m,
		Quercetina	640sh, 1552s, 1640sh	1405w, 1502m, 1597s
		Sin identificar	736w, 964vw	736m, 817w, 1134w
	Ag-Hx	Quercetagetina	603w, 1129m, 1202m, 1263s, 1335vs, 1381s, 1549s	324w, 440m, 484m, 593w, 1049w, 1093w, 1206m, 1338vs, 1465sh,
		Quercetina	1644s	634w, 1599m
		Sin identificar	736m, 964w, 1466vs	734s, 1373sh
Au-Cit	Sin identificar	---	662w, 1565w	
Achiote	Ag-Cit	<i>Trans</i> -bixina	1009w, 1156s, 1187m, 1524vs	1009m, 1169m, 1538s
		Sin identificar	959vw, 1277w	402s, 586vs, 693w, 809s, 916m, 1066m, 1332m
	Ag-Hx	<i>Trans</i> -bixina	1009w, 1156s, 1178sh, 1524vs	1009vs, 1166s, 1536s
		Sin identificar	732vw, 959vw, 1277w	735vs, 962s
	Au-Cit	---	---	---

--- Bandas no observadas, vs=very strong, s=strong, m=medium, sh=shoulder, w=weak, vw=very weak.

**Tabla 5c.** Asignación de bandas a las moléculas observadas en los extractos de palo mora y *xochipalli*.

	Coloide	Molécula observada	$\lambda=532$ nm	$\lambda=785$ nm
			Bandas asociadas a la molécula ( $\text{cm}^{-1}$ )	Bandas asociadas a la molécula ( $\text{cm}^{-1}$ )
Palo mora	Ag-Cit	Morin	477m, 522w, 624m, 682vw, 1157sh, 1207sh, 1339m, 1408m, 1465m, 1504s, 1570w, 1604sh, 1645w	420m, 477m, 576vs, 624m, 682w, 937s, 1006w, 1157m 1207m, 1383m, 1477vs, 1558s, 1604sh, 1645sh
		Sin identificar	---	336m, 552sh, 819s, 985w, 1285vs, 1339m
	Ag-Hx	Morin	477w, 532w, 615w, 682w, 1207m, 1339s, 1504vs, 1572s, 1645sh	477m, 576sh, 628sh,
		Sin identificar	779w, 1277sh	548s, 819s, 970m, 1278vs, 1339s, 1492vs
	Au-Cit	Morin	---	1477m, 1558vs
		Sin identificar	---	608s, 746m, 842s, 1150m, 1333vs,
Xochipalli naranja	Ag-Cit	Buteina	740w, 1034w, 1329s, 1111m, 1486vs, 1538vs	---
		Quercetina	604m, 1199sh, 1407s, 1614m	331w, 426s, 486vs, 590s, 638vw, 688vw, 740w, 963m, 1101s, 1206s, 1258w, 1339vs, 1408w, 1470m, 1515w, 1600vs
		Sin identificar	931w,	---
	Ag-Hx	Buteina	740w, 1034, 1111s, 1386vw, 1486s, 1531s, 1614s	---
		Quercetina	604s	---
		Sin identificar	736w, 1199sh, 1339s	654m, 738vs, 963m, 1132w, 1206w, 1258vw, 1313s, 1388sh, 1470w
Au-Cit	---	---	---	
Xochipalli amarillo	Ag-Cit	Buteina	1111vw, 1255m, 1314m, 1455sh, 1486m, 1603sh, 1659sh	1565s, 1203w, 1313vs
		Quercetina	---	486s, 590m, 684m, 963m, 1110m, 1258w, 1408sh
		Sulfuretina*	479vw, 604vw, 684vw, 1561vs	---
	Ag-Hx	---	---	---
	Au-Cit	---	---	---

--- Bandas no observadas, vs=very strong, s=strong, m=medium, sh=shoulder, w=weak, vw=very weak.

\*Posible identificación.

**Tabla 5d.** Asignación de bandas a las moléculas observadas en el extracto de pericón.

	Coloide	Molécula observada	$\lambda=532$ nm	$\lambda=785$ nm
			Bandas asociadas a la molécula ( $\text{cm}^{-1}$ )	Bandas asociadas a la molécula ( $\text{cm}^{-1}$ )
Pericón	Ag-Cit	Quercetina	521w, 604w, 1130m, 1268sh, 1333vs, 1403s, 1578vs	331w, 433m, 484s, 584w, 630sh, 958s, 1114sh, 1200m, 1252m, 1333vs, 1403sh, 1602s
		Sin identificar	733w, 958w, 1443sh, 1473s	733vs, 831w, 1041m, 1082m, 1473m
	Ag-Hx	Quercetina	1331w, 1578w	443m, 488sh, 1610m
		Sin identificar	735w, 1475vw	733m
	Au-Cit	Quercetina	---	1570m
		Sin identificar	---	658w

--- Bandas no observadas, vs=very strong, s=strong, m=medium, sh=shoulder, w=weak, vw=very weak.

#### 5.4. Consideraciones finales

La aplicación de la metodología SERS en el estudio de extractos de colorantes amarillos de diversos especímenes recolectados en territorio nacional, permitió obtener espectros característicos y bien definidos, lo cual no se pudo lograr utilizando solamente la espectroscopía Raman convencional (sin nanopartículas).

Los mejores resultados se obtuvieron utilizando los coloides de plata, debido a la enorme afinidad que existe entre los flavonoides y estas moléculas, en donde el elaborado con citrato de sodio como agente reductor, suministró una mayor cantidad de medidas exitosas.

La combinación del coloide de oro con el espectrómetro Raman de 785 nm raramente proporcionó resultados favorables, mientras que el uso de este coloide y el espectrómetro de 532 nm no mostró ningún resultado. Esto podría ser debido a la poca afinidad de los flavonoides a las nanopartículas de oro y también a la presencia de iones  $\text{Cl}^-$  adsorbidos en la superficie de la nanopartícula, previniendo la adsorción de otras moléculas.

La técnica SERS resultó ser muy sensible y altamente específica. Ejemplo de ello fue encontrar una molécula con características espectrales similares a la crisina, en el extracto de gualda, lo cual además demuestra la necesidad de trabajar con referencias elaboradas con especímenes locales.

Los resultados reportados en la literatura del estudio de la quercetina y su interacción con nanopartículas de plata fueron reproducidos en los espectros del extracto de *zacatlaxcalli*, evidenciando la alta reproducibilidad de la metodología y la necesidad de utilizar dos longitudes de onda distintas, debido a que se observaron dos tipos de productos de la condensación de la quercetina: los SERS activos y los Raman resonantes, lo cual podría permitir una identificación más precisa. En este sentido, la diferencia más notable entre los extractos de *zacatlaxcalli* y *compasúchil* radica en el espectro obtenido con el láser de 532 nm, en donde se encuentran sus

productos Raman resonantes. Así mismo, esta metodología permitió encontrar diferencias entre el cempasúchil naranja y amarillo.

Los espectros Raman de achiote coinciden con los resultados obtenidos para la *trans*-bixina reportados por otros grupos de investigación, no siendo así el caso del palo mora, en donde todos los trabajos citados presentan bastantes diferencias entre ellos y los obtenidos en este trabajo, quizá debido a la complejidad de este extracto consecuencia de su heterogeneidad.

De manera similar al cempasúchil, el extracto de *xochipalli* no había sido estudiado mediante espectroscopía Raman y/o SERS. No habiendo referencias de espectros de sus moléculas principales, se adquirió la referencia pura de buteína y se realizó una simulación de esta molécula para tratar de entender las observaciones en el espectro Raman de este extracto, siendo el primer estudio de espectroscopía Raman y SERS del *xochipalli*.

Así mismo, en este trabajo se presentan los primeros espectros SERS del extracto de pericón, resultando bastante parecidos a la quercetina con una banda adicional encontrada también en los extractos de cempasúchil.

Este estudio permitió obtener una base de datos de espectros Raman de extractos de colorantes naturales amarillos que será de utilidad en la identificación de éstos en patrimonio cultural.





## Capítulo 6. Fase II: Pigmentos laca

La identificación de los colorantes naturales presentes, ya sea en forma de pigmentos o en fibras coloreadas en patrimonio cultural, está generalmente basada en la comparación de los resultados obtenidos entre el objeto estudiado y los materiales de referencia. Es por ello que en esta sección se describe el procedimiento utilizado en la elaboración de pigmentos amarillos de los extractos de la sección anterior y su caracterización mediante espectroscopía Raman y SERS complementada con análisis colorimétrico y técnicas de imagen.

### 6.1. Metodología experimental

#### 6.1.1. Elaboración de lacas

Con el objetivo de obtener un pigmento insoluble, el cual pudiera ser aplicado en combinación con diferentes aglutinantes en algún soporte, se elaboraron pigmentos laca.

El procedimiento utilizado en la producción de estos pigmentos es el descrito por Jo Kirby<sup>[28]</sup> para la gualda, en el cual se utilizan dos recetas para su elaboración. Idealmente se trató de trabajar con el peso propuesto de 13 g para esta planta, sin embargo, en algunos casos fue insuficiente y se agregó más, o no fue posible el completarlo.

Los carbonatos de potasio y de calcio utilizados en la fabricación de estas lacas fueron adquiridos en la farmacia París y la droguería Cosmopolita respectivamente. La piedra de alumbre potásico fue adquirida de un comerciante local en Oaxaca y caracterizada mediante espectroscopía Raman (Apéndice D).

Con fines comparativos, se elaboraron dos lacas de quercetina utilizando 0.3 g de ésta en 300 mL de agua destilada.

Procedimiento 1. El extracto natural (obtenido en la sección 5.1.1) se llevó a un pH básico mediante la adición de 10 g de carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ) a 80°C y agitación constante. Se agregaron 30 g de alumbre en 180 mL de agua destilada y se calentó a 80°C. La disolución de alumbre se agregó poco a poco al extracto (pues esta reacción causa efervescencia) hasta que el pH de la solución se encontrara entre 6 y 7 (no se añadió toda la disolución de alumbre). La laca se dejó reposar por 24 horas para permitir que precipitara, posteriormente se decantó y filtró con papel filtro. La laca se dejó secar a la sombra y se molió con un mortero de ágata para su posterior almacenamiento.

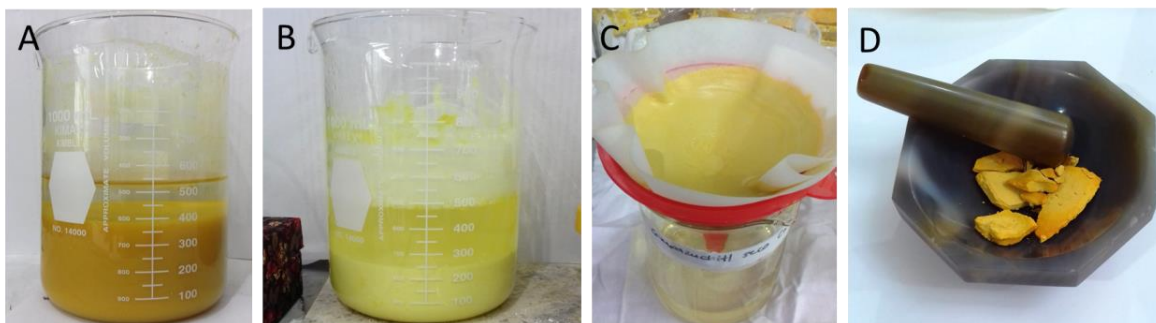
Procedimiento 2. Se diluyeron 10 g de alumbre en el extracto natural (Ver tabla 6) a 80° C y agitación constante. Se agregaron cuidadosamente 30 g de carbonato de calcio ( $CaCO_3$ ) pues esta reacción causa efervescencia. Este procedimiento se siguió para el *zacatlaxcalli* fresco (se utilizaron 18 g de  $CaCO_3$ ) y el palo mora (se utilizaron 20 g de  $CaCO_3$ ). Sin embargo, para las demás

lacas se observó que no precipitaban por completo (pues se observó un sobrenadante del extracto), con lo que se hizo una variante de la receta original. Se agregaron inicialmente los 10 g de alumbre de la receta original y se añadió  $\text{CaCO}_3$  hasta obtener un pH entre 6 y 7. Esto se repitió hasta no observar un sobrenadante en el vaso de precipitado.

La siguiente tabla muestra las cantidades de alumbre y  $\text{CaCO}_3$  utilizadas en cada caso.

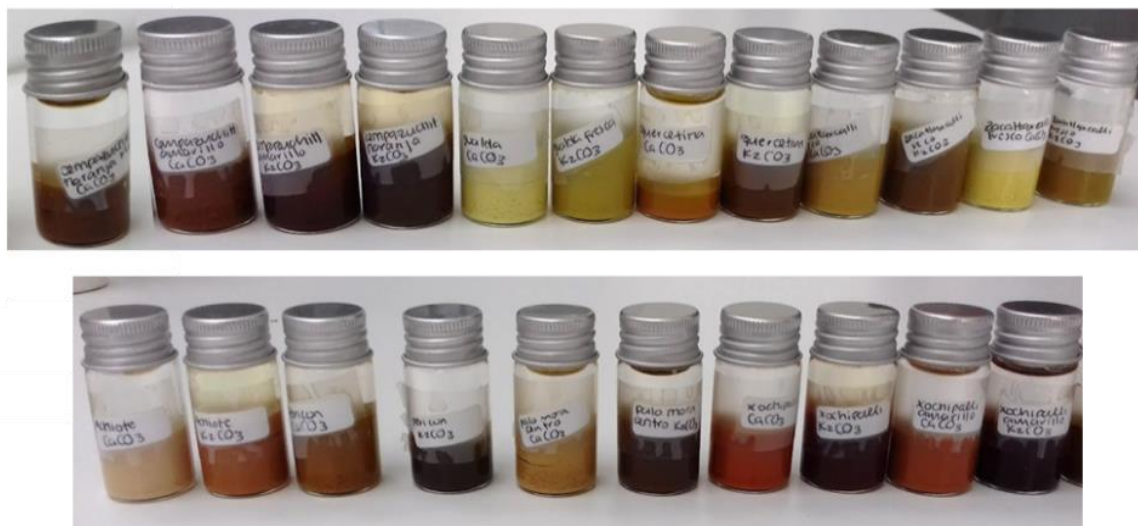
**Tabla 6.** Cantidades de alumbre y  $\text{CaCO}_3$  utilizadas en la elaboración de las lacas de carbonato de calcio de la variante del método 2.

Planta	Cantidad de planta utilizada	Cantidad Inicial alumbre/ $\text{CaCO}_3$	Cantidad 2 alumbre/ $\text{CaCO}_3$	Cantidad 3 alumbre/ $\text{CaCO}_3$
Gualda	10 g	10 g / 17 g	10g / 13 g	No fue necesario
Xochipalli naranja	5 g	10 g / 4 g	10 g / 4g	10g / 1g
Xochipalli amarillo	1.3 g	3 g / 3 g	3 g / 0.4 g	No fue necesario
Pericón	10 g	10 g / 6 g	10 g / ---	No fue necesario
Achiote	10 g	10 g / 4g	10g / 3 g	10 g / 3g
Zacatlaxcalli seco	5 g	10g / 4g	10 g / 4 g	10 g / 2 g
Cempasúchil amarillo	7.1 g	7 g / 5.8 g	7 g / ---	No fue necesario
Cempasúchil naranja	7.1 g	10 g / 4 g	4 g / 0.4 g	No fue necesario
quercetina	0.3 g	5 g / 4.1 g	5 g / ---	No fue necesario



**Figura 32.** Proceso de elaboración de lacas: a) zacatlaxcalli seco con  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , b) gualda con  $\text{CaCO}_3$  observación de sobrenadante, c) filtrado de la laca de cempasúchil naranja y d) molido de la laca de palo mora. Fotografía: autora.

Las lacas se lavaron en frascos de cristal con agua destilada. El proceso de decantación fue efectuado un total de diez veces por laca (figura 33).



**Figura 33.** Total de 22 lacas elaboradas con las distintas recetas durante el proceso de lavado. Fotografía: Autora.

### 6.1.2. Equipos y procedimiento

#### *Colorimetría sin contacto*

Las lacas fueron estudiadas con el espectro-colorímetro RUBY (de la compañía STYL), el cual cuenta con una lámpara halógena de tungsteno como fuente de iluminación. El rango espectral fue de 400-800 nm con una resolución de 0.6 nm/pixel. El tamaño del spot utilizado fue de 4 mm y la distancia de trabajo de 8 cm. La calibración del equipo se realizó con la referencia blanca White-USRS-99-010 AS-01158-060. Así mismo, se adquirieron los valores colorimétricos de las referencias “white, yellow, green, red y blue”.

Se adquirieron 5 medidas por muestra, los cuales fueron promediados y graficados con el programa origin V 8.0.

#### *Espectroscopía Raman*

Todas las lacas elaboradas fueron estudiadas con el espectrómetro Raman portátil de 1064 nm descrito en la sección anterior (tabla 4).

Las condiciones de adquisición fueron variables debido a que las lacas resultaron ser sensibles a altas potencias y tiempos prolongados de exposición al láser, por lo que también se realizó solamente una adquisición por punto en la muestra, analizándose en total 20 puntos. Los espectros fueron promediados con el programa Origin V 8.0, en donde se corrigió la línea base con la función “auto-create” a 20 puntos. A los espectros resultantes se les aplicó la opción de “smoothing” con el método de Savitzky-Golay con un polinomio de orden 3, en donde se consideraron 5 puntos por ventana en el intervalo 200-1200  $\text{cm}^{-1}$  y 8 puntos por ventana en el

intervalo de 1200-2000  $\text{cm}^{-1}$ . En el caso del achiote se utilizaron 8 puntos por ventana para el espectro entero de achiote elaborado con carbonato de potasio y 5 para el elaborado con carbonato de calcio. Todos los espectros fueron normalizados a la banda más intensa.

**Tabla 7.** Condiciones experimentales para la adquisición de los espectros Raman de las lacas.

Condiciones (tiempo, potencia)	Lacas
60s, 75.2 mW	Quercetina elaborada con carbonato de potasio
60s, 150.4 mW	Pericón (ambas)
60s, 188 mW	Zacatlaxcalli (todas), palo mora elaborada con carbonato de calcio, gualda (ambas), achiote (ambas), <i>xochipalli</i> naranja (ambas)
60s, 263.2 mW	Palo mora elaborada con carbonato de potasio
120s, 18.8 mW	Quercetina elaborada con carbonato de calcio
120s, 75.2 mW	Cempasúchil (todas excepto naranja elaborada con carbonato de potasio), <i>xochipalli</i> amarillo (ambas)
120s, 112.8 mW	Cempasúchil-naranja elaborada con carbonato de potasio

### **SERS en lacas**

Debido a los resultados de SERS en extractos, en esta sección solamente se utilizó el coloide Ag-Cit. Se colocó una pequeña cantidad de laca sobre papel aluminio (menor que 0.5 mg) y se agregaron 50  $\mu\text{L}$  de coloide. Inmediatamente después se agregaron 2  $\mu\text{L}$  de nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ). Se procedió con la adquisición de los espectros con los equipos de B&WTEK (láser de 532 nm) e Inspector Raman (785 nm) descritos en la sección anterior. Las condiciones utilizadas fueron similares a las de la sección anterior para el estudio SERS de los extractos.

En general todos los espectros adquiridos fueron graficados con el programa Origin V 8.0. En particular a los adquiridos con el equipo de B&WTEK se les hizo una corrección de línea base, con la función “auto-create” a 20 puntos. Estos espectros fueron normalizados respecto a la banda más intensa.

### **Técnicas de imagen**

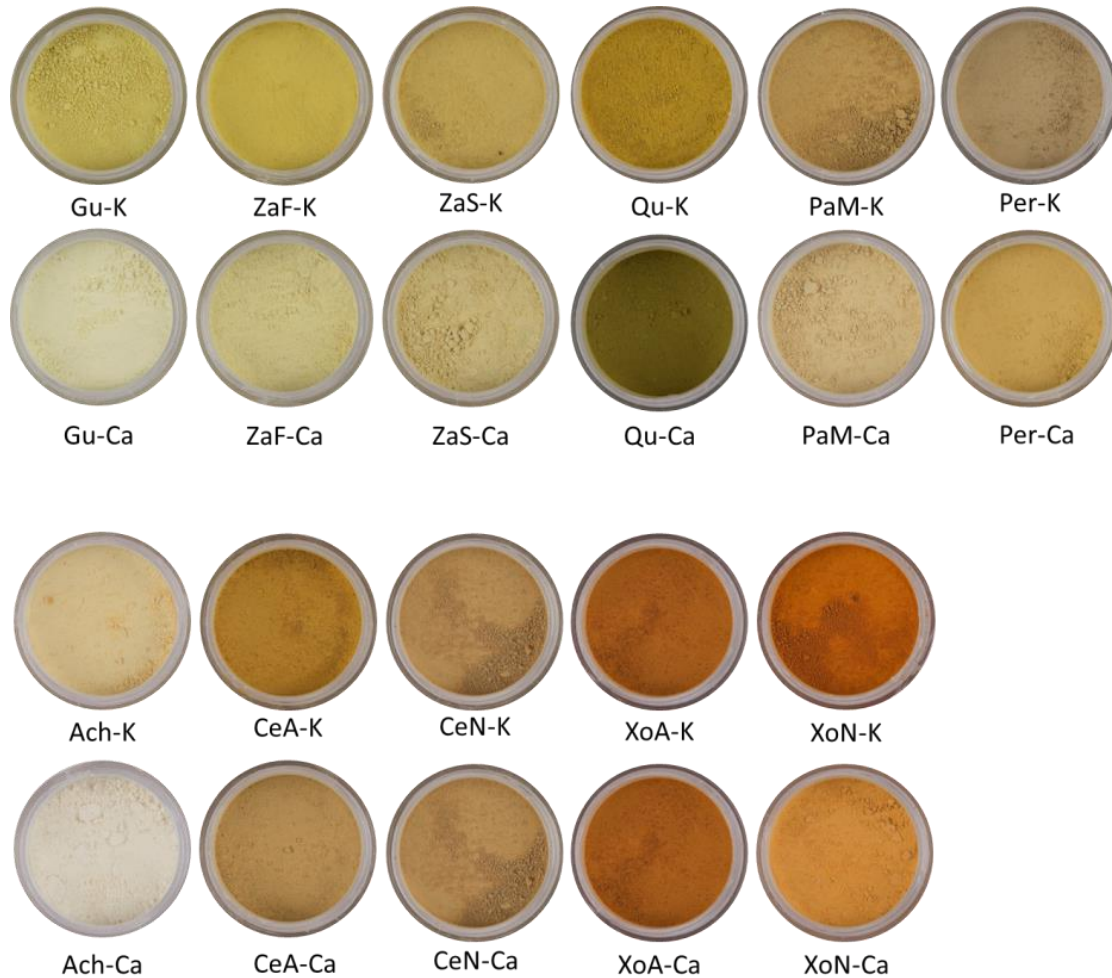
Las lacas fueron fotografiadas bajo fluorescencia UV, utilizando dos longitudes de onda: corta (280 nm) y larga (366 nm). Se utilizó la cámara NIKON D7100 con una velocidad ISO-1000 y una apertura de diafragma f/16, un tiempo de exposición de 13 segundos y una distancia focal de 34 mm.

Así mismo, se tomaron imágenes infrarrojas con la cámara de video Sony Handycam HDR-PJ760 que cuenta con un sensor Exmor-R™ CMOS de 24 pixeles, en modo visión nocturna y con un filtro IR de 760 nm. Se utilizó para la iluminación las lámparas de la marca Lowel Tota con bulbos de halógeno de 750 W, con una emisión de energía en el intervalo de 400-2500 nm. Las imágenes fueron procesadas mediante el programa Photoshop mediante el desplazamiento de los canales verde y rojo de la imagen visible a los canales verde y azul de la nueva imagen de falso color. En el canal disponible de esta nueva imagen se coloca la información de canal rojo de la imagen infrarroja. Las imágenes de falso color fueron procesadas con el programa Photoshop para

obtener un promedio representativo en coordenadas colorimétricas HSB (hue-saturation-brightness).

## 6.2. Resultados

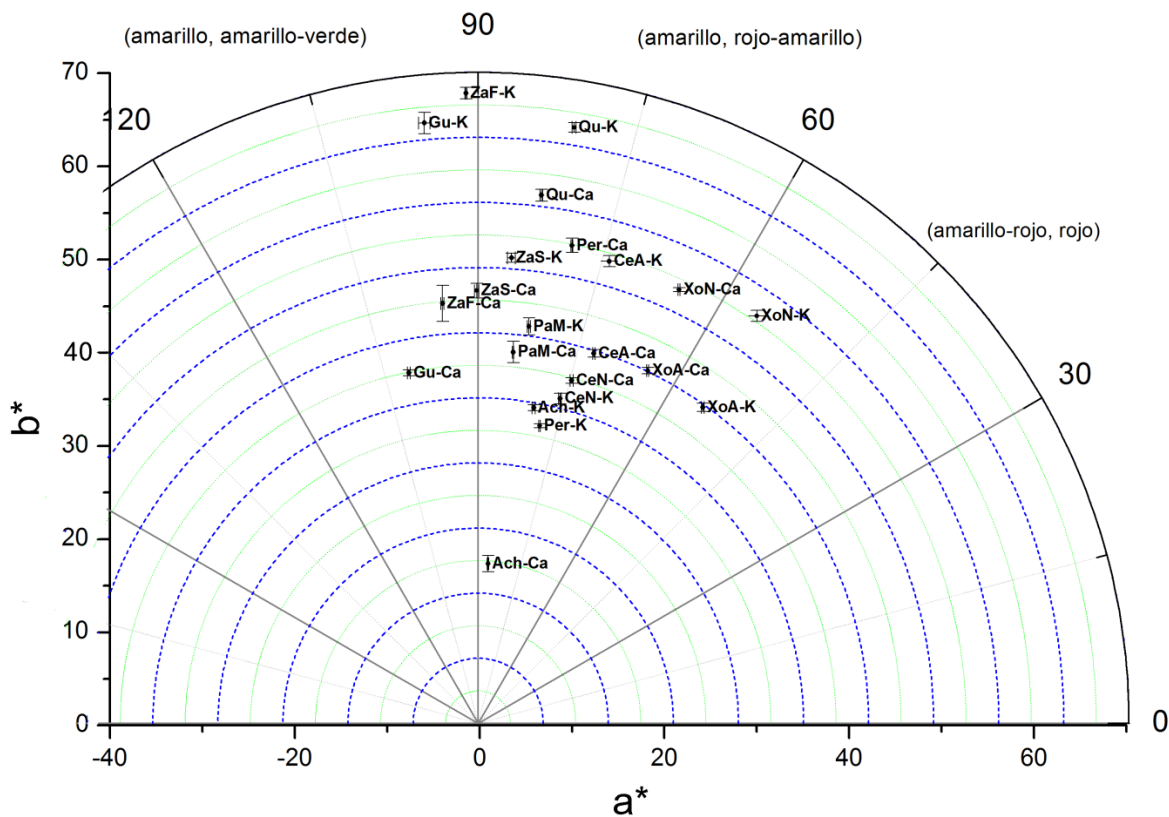
En total se elaboraron 22 lacas con diferentes tonalidades que van desde amarillo brillante, naranja y rojo (figura 34). De aquí en adelante se utilizará en el texto la notación para las lacas mostrada en la imagen.



**Figura 34.** Lacas elaboradas con carbonato de potasio (receta 1): gualda (Gu-K), *zacatlaxcalli* fresco (ZaF-K) y seco (ZaS-K), quercetina (Qu-K), palo mora (PaM-K), pericón (Per-K), achiote (Ach-K), cempasúchil amarillo (CeA-K), cempasúchil naranja (CeN-K), *xochipalli* amarillo (XoA-K) y *xochipalli* naranja (XoN-K). También se muestran las lacas elaboradas con carbonato de calcio (receta 2): gualda (Gu-Ca), *zacatlaxcalli* fresco (ZaF-Ca) y seco (ZaS-Ca), quercetina (Qu-Ca), palo mora (PaM-Ca), pericón (Per-Ca), achiote (Ach-Ca), cempasúchil amarillo (CeA-Ca), cempasúchil naranja (CeN-Ca), *xochipalli* amarillo (XoA-Ca) y *xochipalli* naranja (XoN-Ca)

### 6.2.1. Colorimetría en lacas

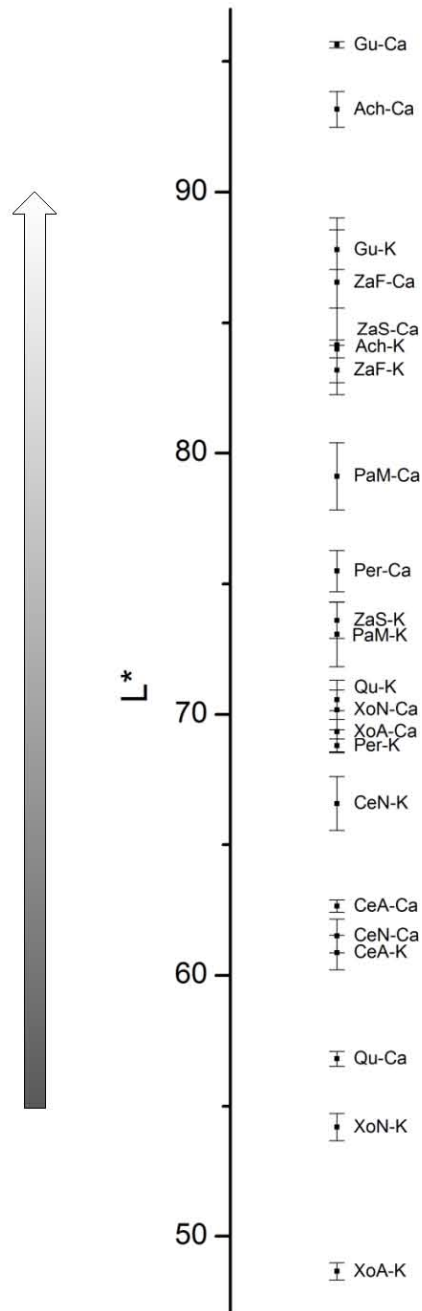
Los resultados colorimétricos en los valores de la cromaticidad  $a^*$  y  $b^*$  (que se muestran en la figura 35) poseen una dispersión sin una clara tendencia. Sin embargo, es posible identificar las zonas en donde se encuentran las lacas con matices específicos, las cuales se definieron en función de los valores de  $a^*$  y  $b^*$  de las referencias rojo, amarillo y verde (apéndice B). De acuerdo a esto, se dividió un círculo en intervalos de  $30^\circ$ . En el intervalo de  $30^\circ$ - $60^\circ$ , fue definido como AR-R (amarillo-rojo, rojo) se encuentran solamente las lacas de XoN-K y XoN-Ca. El intervalo entre  $60^\circ$  y  $90^\circ$  fue definido como AR-A (amarillo, rojo-amarillo), en éste se encuentran, en la primera mitad (AR-A1), las lacas de CeN-Ca, CeA-Ca, CeA-K, XoA-K y XoA-Ca. En la segunda mitad (AR-A2) se encuentran las lacas de CeN-K, Qu-K, Qu-Ca, PaM-K, PaM-Ca, Ach-K, Ach-Ca, Per-K, Per-Ca y ZaS-K. Por último, en el intervalo de  $90^\circ$ - $120^\circ$ , definido como AA-V (amarillo, amarillo-verde), se encuentran las lacas de Gu-K, Gu-Ca, ZaF-K, ZaF-Ca, ZaS-Ca, las cuales resultaron tener una coordenada  $a^*$  negativa, implicando un débil matiz verde, característica que ha sido reportada por Tamburini *et al.* en el estudio colorimétrico de fibras teñidas con algunos especímenes de colorantes amarillos extraídos de plantas asiáticas<sup>[14]</sup>.



**Figura 35.** Resultados de colorimetría. Coordenada  $a^*$  vs  $b^*$ . Los valores colorimétricos y sus respectivas desviaciones estándar se encuentran apéndice B.

La figura 36 muestra los valores de luminosidad para cada una de las lacas, en donde las de gualda, zacatlaxcalli, palo mora y achiote fueron las más luminosas a pesar de la cantidad de planta

utilizada (de 10 a 30 g), mientras que las de cempasúchil, pericón y *xochipalli* presentaron un color más saturado a pesar de que se utilizó una cantidad de planta menor.



**Figura 36.** Coordenada colorimétrica de luminosidad ( $L^*$ ) para cada una de las lacas estudiadas. Los valores colorimétricos y sus desviaciones se encuentran en el apéndice B.

Lo anterior implica que hay una mayor concentración de colorante en estos últimos especímenes, sobre todo en los de *xochipalli* amarillo y naranja, en donde se alcanzó una mayor saturación con solamente 4.3 y 5 g respectivamente, con lo que se puede observar que de las plantas estudiadas,

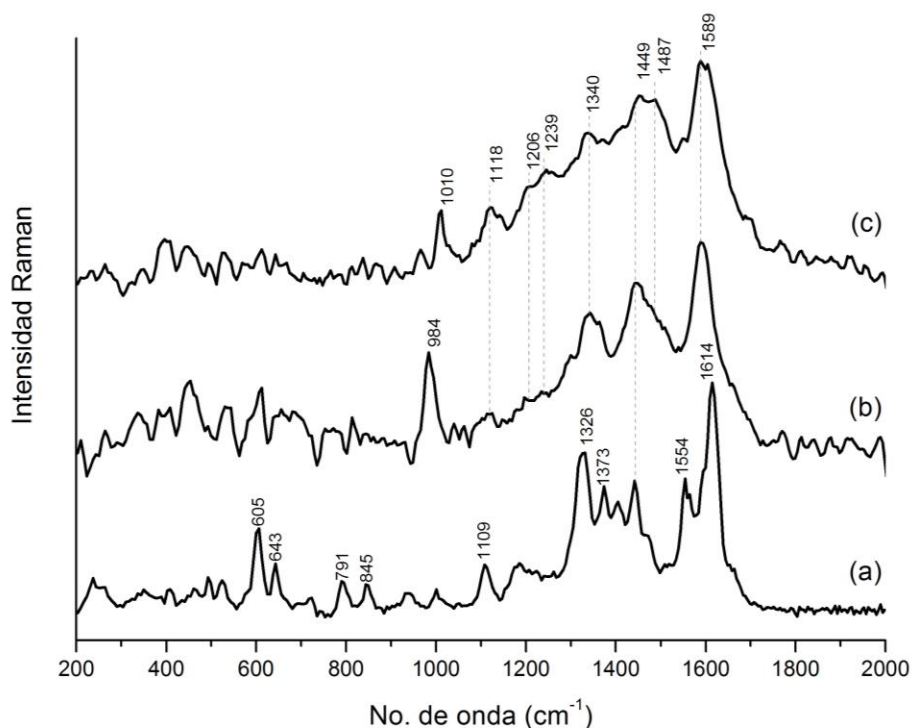


la que presentó una mayor capacidad de tinción fue el *xochipalli*, mientras que de la gualda se pudo extraer solamente una pequeña parte del colorante. Por otro lado, la mayor contribución de la luminosidad en las lacas de carbonato de calcio fue este último, mientras más  $\text{CaCO}_3$  se utilizó, más luminosidad hay en la muestra.

## 6.2.2. Resultados Raman de lacas

### Lacas de quercetina

Los espectros de las lacas elaboradas a partir de la referencia de quercetina se muestran en la figura 37. Se pueden observar tres bandas en ambos espectros (fig. 37-b, c) en 1340, 1449 y 1589  $\text{cm}^{-1}$ , las cuales corresponden a los modos vibracionales  $\nu(\text{C-OH})$ , 19a(A) en la notación de Wilson para las vibraciones del anillo de benceno, así como también a las vibraciones  $\nu(\text{C=C})$  de la molécula de quercetina<sup>[101]</sup>. Las bandas en 1373, 1403 and 1554  $\text{cm}^{-1}$  presentes en el espectro Raman de la referencia de quercetina (fig. 37-a), corresponden a las vibraciones  $\delta(\text{C-OH})$ ,  $\nu(\text{O-C})$ ,  $\nu(\text{C-C})$ , 19a(A), y 8a(B) de esta molécula<sup>[101]</sup>, las cuales no se distinguen en el espectro de las lacas, lo que sugiere una modificación en sus modos vibracionales. De acuerdo con Cornard *et al.*<sup>[102]</sup> existen tres posibles sitios en donde se puede llevar a cabo la quelación en la molécula de quercetina: el grupo 3-hidroxi-4-cetona, el grupo 5-hidroxi-4-cetona y el grupo 3',4'-*o*-difenólico, en donde la formación del complejo en el primer grupo es más dominante .



**Figura 37.** Espectro Raman  $\lambda=1064$  nm de: a) quercetina, b) Qu-K y c) Qu-Ca.

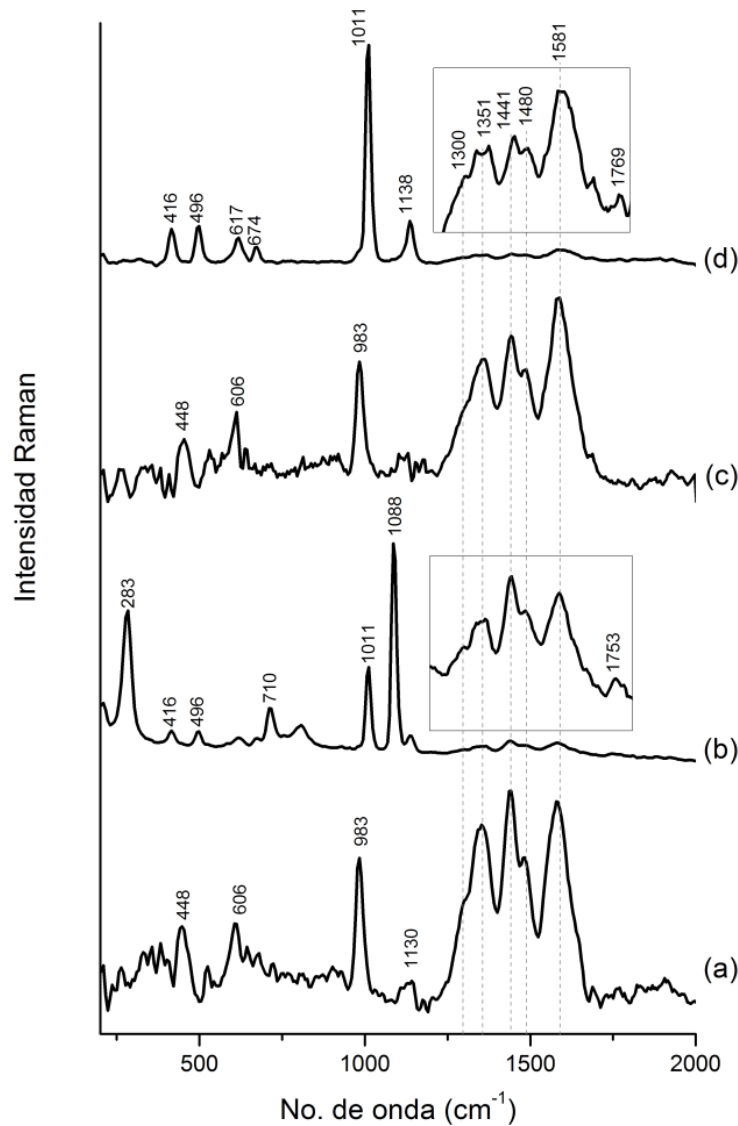
Las bandas de los espectros Raman del complejo quercetina-Al(III) reportados por Cornard *et al.*<sup>[103]</sup> son reproducidas en gran medida por las lacas de quercetina elaboradas con ambas recetas,



indicando la formación de este tipo de complejo. Sin embargo, con base en los espectros Raman no es posible identificar en cuáles de los tres sitios propuestos en la molécula de quercetina se llevó a cabo la quelación.

**Lacas de zacatlaxcalli**

Los espectros Raman de las lacas de *zacatlaxcalli* se muestran en la figura 38, en donde con fines comparativos se ha hecho una amplificación en el intervalo de 1200-1800  $\text{cm}^{-1}$  a las lacas preparadas con carbonato de calcio.



**Figura 38.** Espectros Raman de lacas de *zacatlaxcalli* con  $\lambda=1064$  nm de: a) ZaF-K b) ZaF-Ca, c) ZaS-K y d) ZaS-Ca.

Como se puede apreciar, todos los espectros poseen las mismas bandas en esta región a excepción de las bandas en  $1753$  y  $1769\text{ cm}^{-1}$ , las cuales no se han podido identificar, pero están asociadas de forma general a vibraciones de  $\nu(\text{C}=\text{O})$  y solo aparecen en el espectro de las lacas que fueron preparadas con este carbonato. Clementi *et al.* han reportado una banda característica en el espectro UV-Vis de lacas de gualda que fueron extraídas en un medio alcalino (condiciones similares al procedimiento 2), la cual atribuyen como fluorescencia característica de la clorofila tipo a<sup>[32]</sup>.

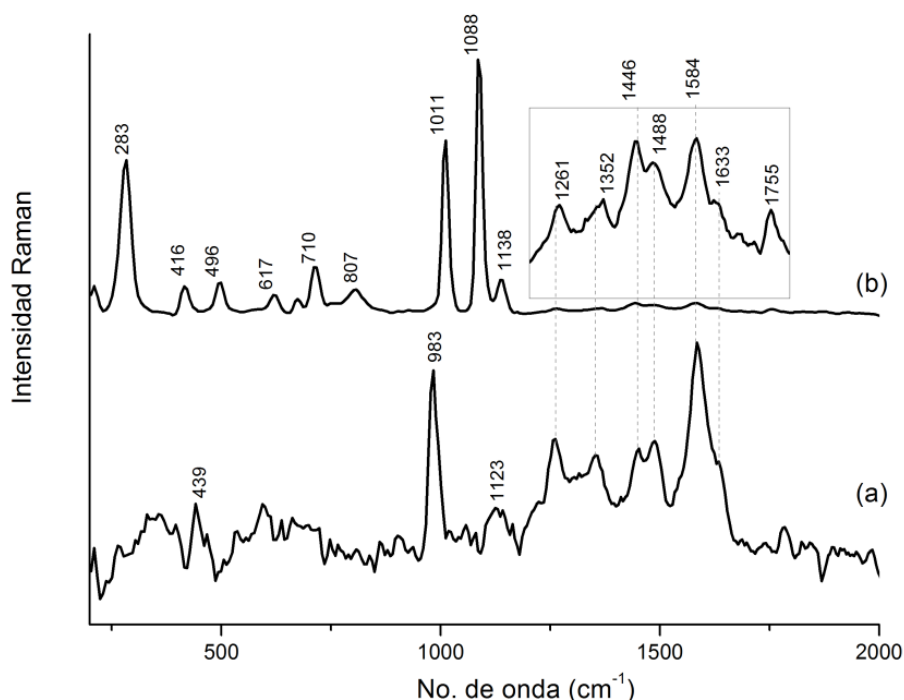
Las tres bandas mencionadas anteriormente para las lacas de quercetina, son nuevamente reproducidas en los espectros Raman de las de *zacatlaxcalli*, confirmando la formación del complejo quercetina-Al(III). Sin embargo, la intensidad de las bandas en  $1441$  y  $1581\text{ cm}^{-1}$  son similares para los espectros de la planta fresca, mientras que para la planta seca la banda en  $1581\text{ cm}^{-1}$  es mayor, lo cual ocurrió también en el caso de las lacas de quercetina.

En el intervalo de  $200\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  se pueden observar las principales diferencias entre las dos recetas. Las lacas en donde se utilizó carbonato de calcio presentan bandas en  $416$ ,  $496$ ,  $617$ ,  $674$ ,  $1011$  y  $1138\text{ cm}^{-1}$  en sus espectros Raman, las cuales son características de sulfato de calcio, figura 38-b y d), el cual se formó como producto de la reacción entre el alumbre y el  $\text{CaCO}_3$  utilizados en esta receta (procedimiento 2). Adicionalmente en la laca de *zacatlaxcalli* fresco se observaron bandas en  $283$ ,  $710$ ,  $808$  y  $1088\text{ cm}^{-1}$  que son de carbonato de calcio, debido a que en esta laca se utilizó una mayor cantidad de  $\text{CaCO}_3$  ( $18\text{ g}$ ) comparada con la de *zacatlaxcalli* seco ( $15\text{ g}$ ), lo que sugiere que el exceso de carbonato de calcio ha precipitado junto con la laca. Por el contrario, en las lacas elaboradas con carbonato de potasio se observan bandas en  $448$ ,  $606$ ,  $983$  y  $1130\text{ cm}^{-1}$  que podrían deberse a la mezcla del alumbre remanente y el sulfato de aluminio como producto de la reacción en la elaboración de la laca, en donde sus espectros Raman característicos presentan bandas bastante similares entre sí. En ningún caso el hidróxido de aluminio, reportado como sustrato en la preparación de este tipo de lacas<sup>[32]</sup>, fue observado en los espectros Raman, aunque no se descarta la posibilidad de que este compuesto se encuentre presente

### Lacas de gualda

Los espectros de las lacas de gualda se muestran en la figura 39. Los espectros obtenidos en ambas recetas son muy similares entre sí en el intervalo de  $1200\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$  (a excepción de la banda en  $1755\text{ cm}^{-1}$  descrita anteriormente) y corresponden a los complejos de luteolina y los iones de Al(III) reportados por Rygula *et al.*<sup>[104]</sup>, en donde la banda en  $1261\text{ cm}^{-1}$  está relacionada con las vibraciones del anillo B de la molécula de luteolina, el cual ha sido modificado por la formación del enlace coordinado del ion Al(III) en los sitios 3' y 4' de la estructura del flavonoide<sup>[104]</sup>. Adicionalmente las bandas en  $1584$  y  $1633\text{ cm}^{-1}$  son descritas como bandas características de la quelación en las posiciones 5 y 4 de la estructura de la luteolina, las cuales corresponden a las vibraciones  $\nu(\text{C}=\text{C})$ ,  $\nu(\text{C}-\text{C})$  and  $\nu(\text{C}=\text{O})$ <sup>[104]</sup>. El grupo de bandas anteriormente descritas son más intensas en el espectro Raman de la laca de gualda elaborada con  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , posiblemente debido a la desprotonación del flavonoide al agregar esta sal, lo cual implicaría una mayor reactividad de los sitios en donde ocurre la formación del complejo.

Debido a que los espectros de las lacas de gualda corresponden a los complejos de luteolina y aluminio, es notable que las otras moléculas presentes en el extracto de gualda (apigenina y posiblemente crisina) no contribuyan de manera significativa al espectro ya sea por la cantidad presente en la planta o porque no forman complejos estables con Al(III).

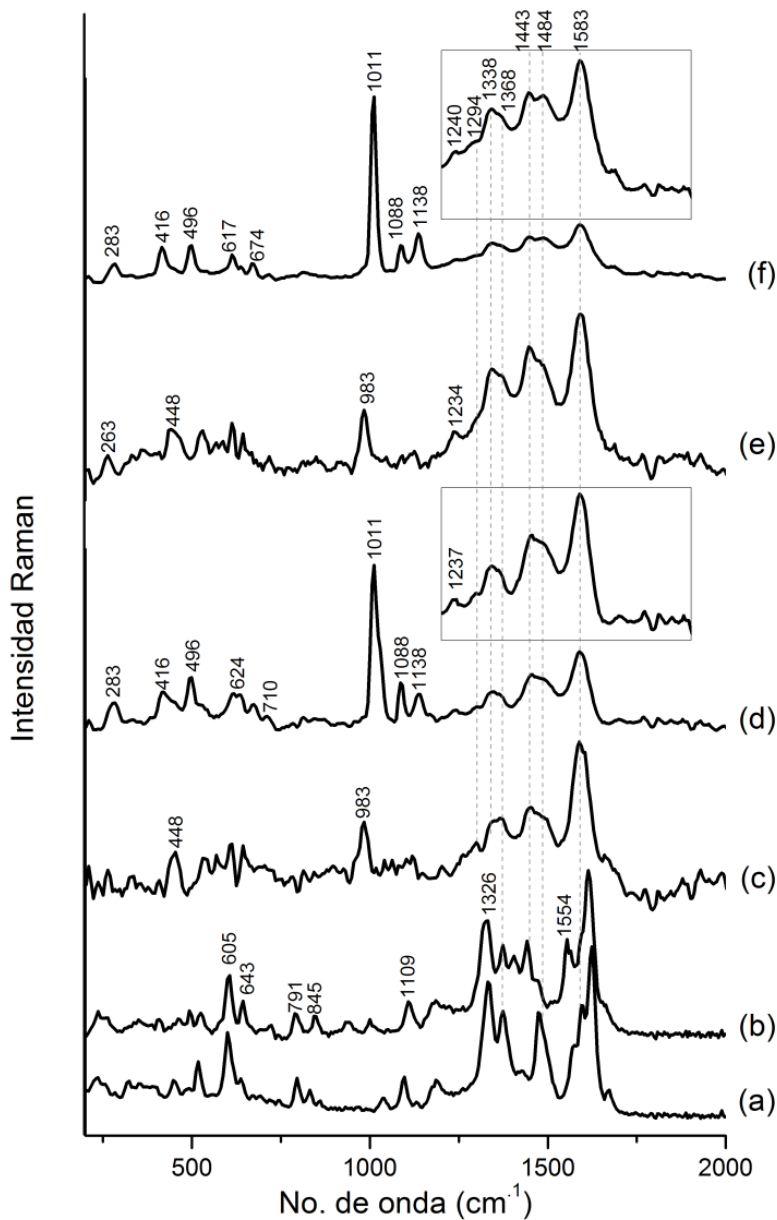


**Figura 39.** Espectros Raman de las lacas de gualda con  $\lambda = 1064$  nm de: a) Gu-K y b) Gu-Ca.

### ***Lacas de cempasúchil***

Los espectros Raman de las lacas de cempasúchil amarillo y naranja muestran las mismas bandas en la región de  $1200-1800$   $\text{cm}^{-1}$  (figura 40), siendo la intensidad de la banda en  $1583$   $\text{cm}^{-1}$  quizá la diferencia más notable. De acuerdo a los estudios SERS de la sección anterior, la quercetagetina es el flavonoide que se encuentra mayoritariamente en el cempasúchil naranja, mientras que en el amarillo existe una mezcla entre quercetina y quercetagetina. Un grupo hidroxilo adicional en el C(6) de la estructura molecular de la quercetagetina podría abrir la posibilidad de tener un sitio quelante adicional comparado con la molécula de quercetina, y por lo tanto un aumento de intensidad en alguna de las bandas características del complejo. De acuerdo con la simulación de quercetagetina, las bandas en  $1626$ ,  $1597$  y  $1577$   $\text{cm}^{-1}$  corresponden principalmente a las vibraciones de  $19a$  y  $8a$  de los anillos A y B, a las vibraciones  $\nu(\text{C}2=\text{C}3)$ , así como también a algunas vibraciones  $\delta(\text{CH})$  y  $\delta(\text{C-OH})$ . Lo anterior implicaría que los iones Al(III) podrían estar modificando la estructura molecular de la quercetagetina de tal forma que estas vibraciones se modifican para

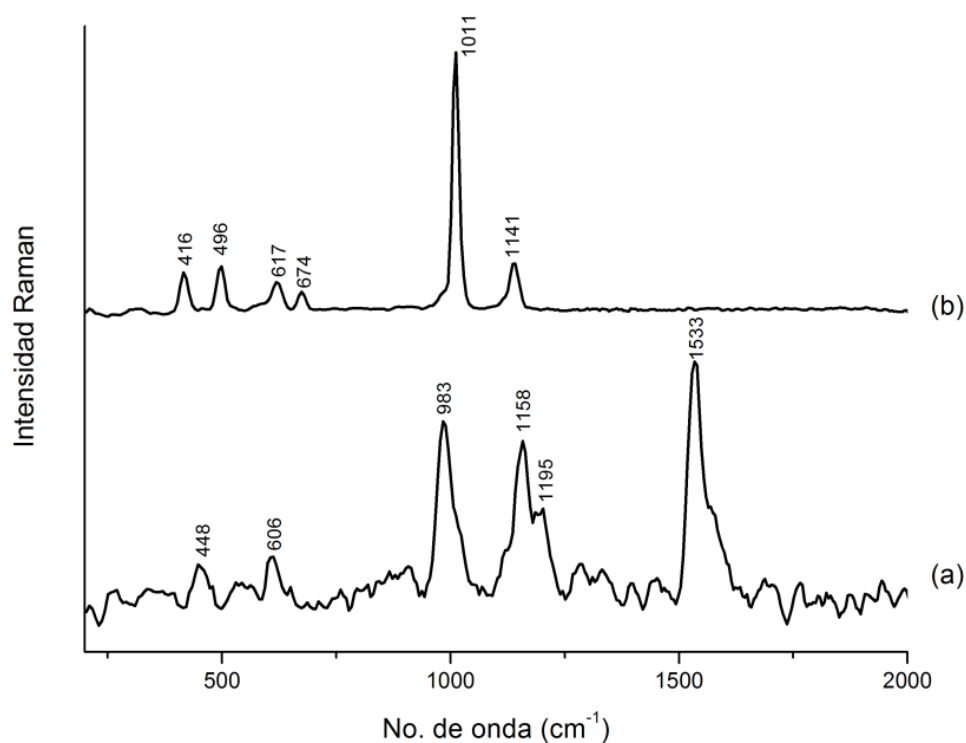
dar lugar a la banda más intensa en  $1583\text{ cm}^{-1}$  del espectro de la laca de cempasúchil naranja. Por otro lado, las bandas observadas en los espectros de cempasúchil amarillo son bastante similares a las obtenidas en los espectros de las lacas de quercetina, por lo que los modos vibracionales en principio serían los mismos discutidos anteriormente para el caso de esta laca.



**Figura 40.** Espectros Raman de  $\lambda=1064\text{ nm}$  de: a) referencia de quercetina, b) referencia de quercetina. Espectros Raman de lacas de cempasúchil con  $\lambda=1064\text{ nm}$ : c) CeN-K, d) CeN-Ca, e) CeA-K y f) CeA-Ca.

### **Lacas de achiote**

Los espectros Raman de las lacas de achiote se muestran en la figura 41, en donde el espectro de aquella preparada con la receta 1, es decir Ach-K (fig. 41-a), reproduce las bandas características de la *trans*-bixina (discutidas en la sección anterior) y sulfato de aluminio/alumbre. Lo anterior sugiere que no existe una formación de un complejo con el Al(III) de la *trans*-bixina como tal, sino una probable adsorción de esta molécula en el sustrato, ya que ambos precipitaron por completo. La laca preparada con la receta 2 (Ach-Ca) también precipitó en su totalidad. Sin embargo durante el proceso de filtrado la mayoría del colorante quedó impregnado en el papel, obteniendo como resultado una laca blanquecina (como se observó en los resultados de colorimetría) conformada esencialmente de sulfato de calcio, como lo muestra el espectro Raman de esta laca (fig. 41-b).

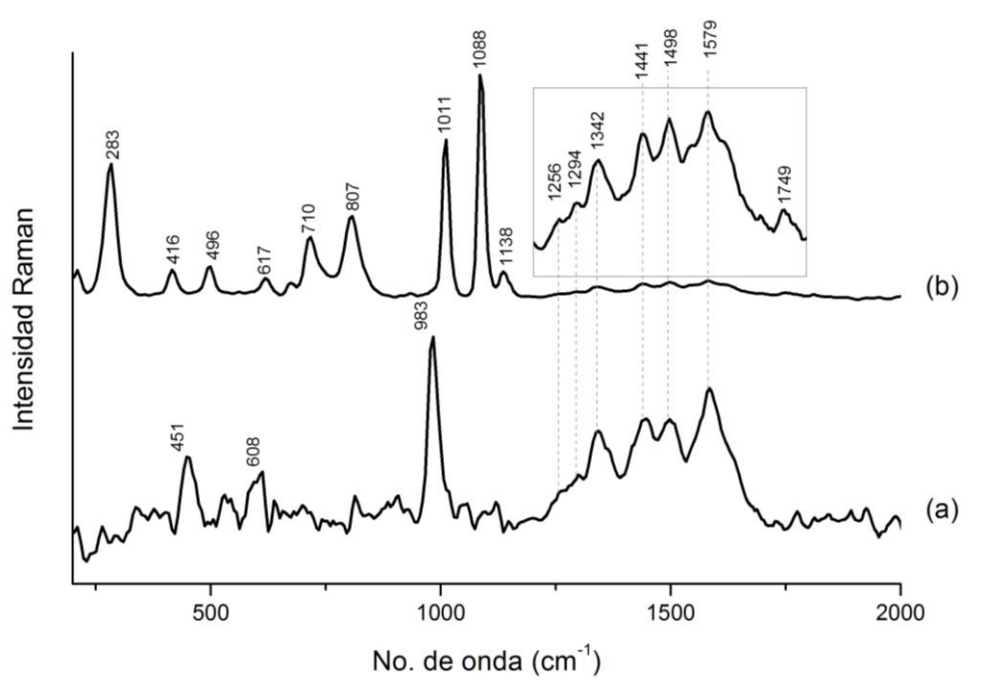


**Figura 41.** Espectros Raman  $\lambda=1064$  nm de las lacas de achiote: a) Ach-K y b) Ach-Ca.

### **Lacas de palo mora**

La figura 42 muestra los espectros Raman de las lacas elaboradas con el extracto de palo mora, en donde ambos espectros son muy similares en el intervalo  $1200-1800$   $\text{cm}^{-1}$  a excepción de la banda en  $1749$   $\text{cm}^{-1}$  que aparece solamente en el espectro de la laca elaborada con la receta 2 (PaM-Ca).

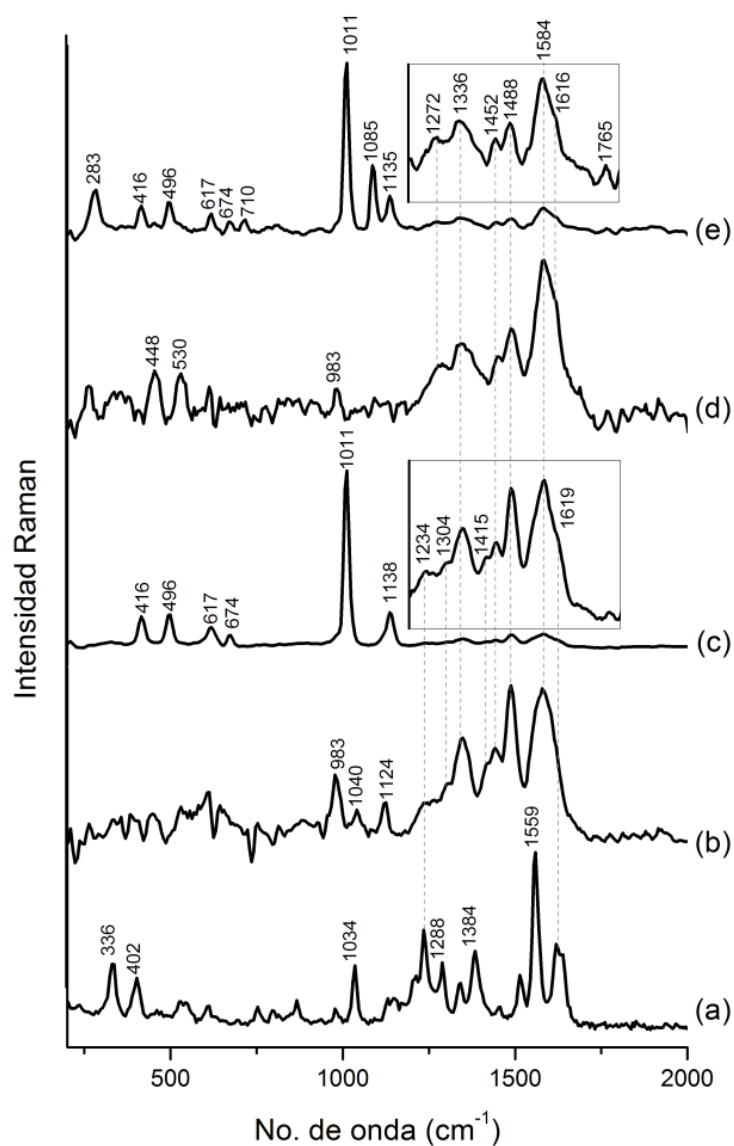
De acuerdo con los resultados SERS de la sección anterior, la molécula de morin está presente en este extracto. Si bien no se encontró referencia en la literatura de la interacción de esta molécula con Al(III) y la técnica de espectroscopía Raman no es la más adecuada para inferir la forma en la que se está formando este complejo, es posible que debido a su estructura molecular sea poco probable la formación de complejos en los sitios 2' y 4' en el anillo B de la molécula de morin, pues se encuentran muy distantes entre sí, y que al igual que la quercetina es más probable la formación de estos enlaces en el grupo 3-hidroxi-4-cetona.



**Figura 42.** Espectros Raman de las lacas de palo mora con  $\lambda=1064$  nm de: a) PaM-K y b) PaM-Ca.

### ***Lacas de xochipalli***

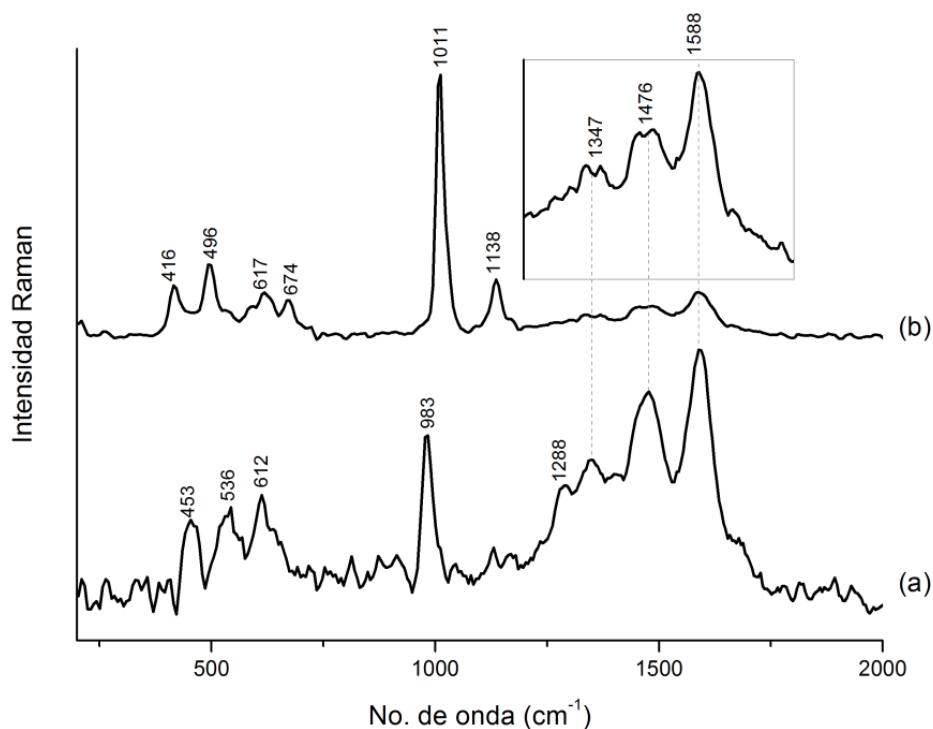
Los espectros Raman de las lacas de *xochipalli* naranja son similares a los espectros SERS de la flor amarilla (figura 43). De los resultados SERS de los extractos se pudo observar buteína y quercetina en ambas plantas. Sin embargo, la posible presencia de la molécula de sulfuretina en la flor amarilla, podría explicar las diferencias en los espectros de ambas lacas, así como diferencias en el colorante extraído de *xochipalli*, el cual es bastante complejo ya que, como se ha visto, al menos tres moléculas se encuentran presentes. Es por eso que tratar de identificar los quelatos entre estas moléculas y el Al(III) resulta difícil solamente con espectroscopía Raman.



**Figura 43.** Espectros Raman de las lacas de *xochipalli* con  $\lambda=1064$  nm de: a) referencia de buteína, b) XoN-K, c) XoN-Ca, d) XoA-K y e) XoA-Ca.

### Lacas de pericón

Los espectros Raman de las lacas de pericón presentan bandas bastante similares a las obtenidas en las lacas de cempasúchil naranja y se muestra en la figura 44, con una banda adicional en 536 cm<sup>-1</sup> en la elaborada con carbonato de potasio, la cual no se había observado en las otras plantas con la misma preparación.



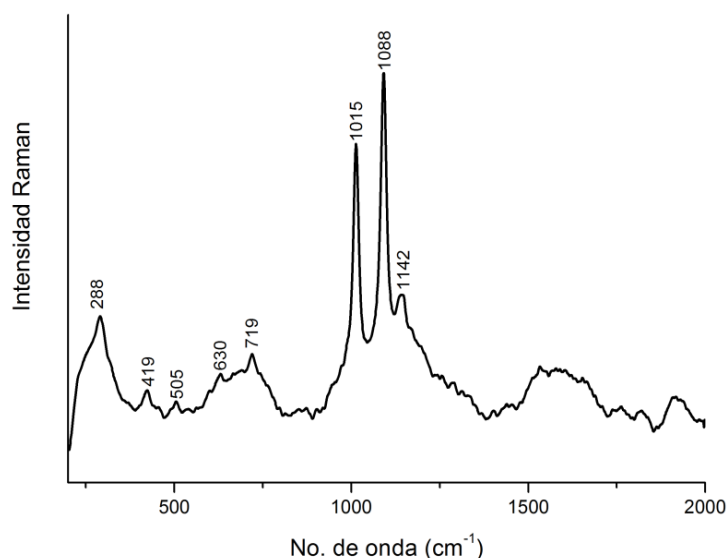
**Figura 44.** Espectros Raman de las lacas de pericón con  $\lambda=1064$  nm de: a) Per-K y b) Per-Ca.

### 6.2.3. Resultados SERS en lacas

Algunos de los espectros adquiridos con el láser de 785 nm (sin nanopartículas) de las lacas elaboradas con  $\text{CaCO}_3$  mostraron solamente bandas características de éste y de sulfato de potasio, tal y como se muestra en el espectro de la laca de palo mora (figura 45). Los correspondientes espectros adquiridos con estas condiciones se muestran en el apéndice B (figura B-2).

Los espectros de las lacas elaboradas con  $\text{K}_2\text{CO}_3$  obtenidos de manera convencional no mostraron ninguna señal, así como tampoco los adquiridos con el láser de 532 nm para ambas recetas. Estos espectros no se muestran en este trabajo.





**Figura 45.** Espectro Raman convencional  $\lambda=785$  nm de la laca PaM-Ca

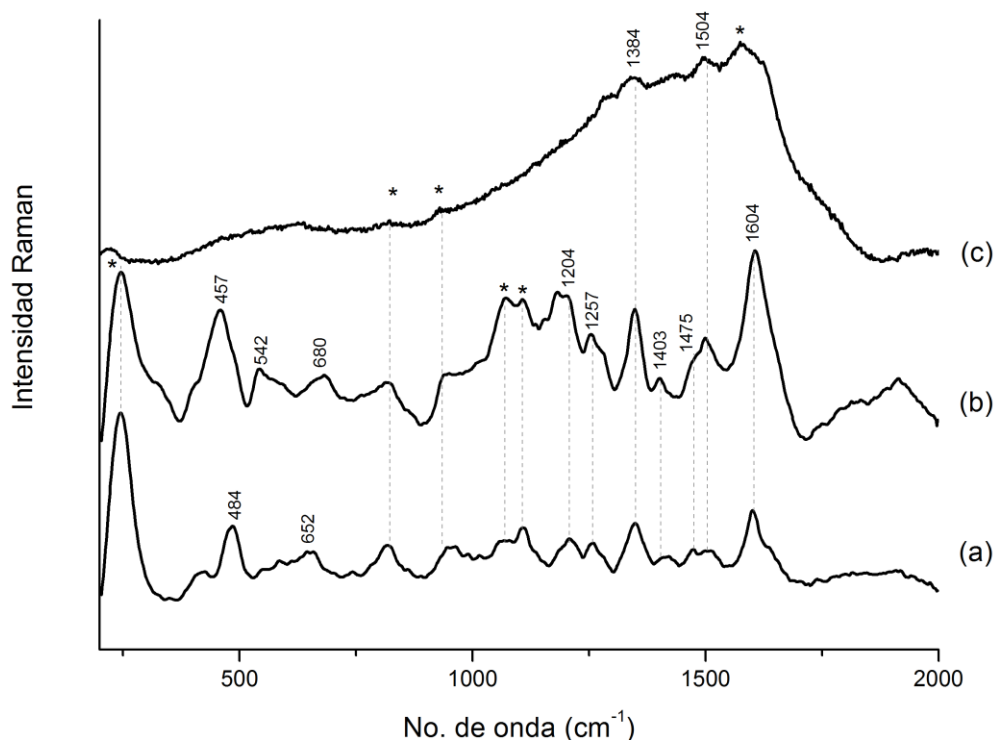
Los espectros SERS de las lacas de quercetina se muestran en la figura 46. Los espectros obtenidos con el láser de 785 nm son muy similares entre sí a excepción de algunas bandas por debajo de  $750\text{ cm}^{-1}$ , lo cual posiblemente sea debido a la diferencia entre ambas preparaciones. A pesar de ello, ambos espectros despliegan bandas similares al espectro SERS de la referencia de quercetina, el cual se trató en la primera parte de este trabajo, con algunas diferencias como la intensidad de bandas y algunos corrimientos, lo que posiblemente sea debido a la presencia del complejo quercetina-aluminio.

A diferencia del estudio SERS de la molécula libre de quercetina, los espectros adquiridos con el láser de 532 nm no fueron exitosos. El espectro SERS de la laca Qu-Ca adquirido con este láser (figura 46-c) presenta bastante ruido y bandas asociadas al coloide, con solamente dos bandas que coinciden con el espectro de Qu-Ca adquirido con el otro láser. El correspondiente espectro de Qu-K no presentó ninguna actividad SERS.

Estos resultados parecen indicar una baja probabilidad de adsorción de la molécula en la nanopartícula de Ag, ya que los sitios de la molécula en donde se forma el enlace Ag-O ahora se encuentran ocupados por el aluminio, dificultando, como se observó para la laca de quercetina, el análisis con SERS.

Los resultados anteriormente obtenidos son similares para las lacas de *zacatlaxcalli* fresco y seco (figura 47-b, c), en donde los espectros del fresco presentan bandas mejor definidas a números de onda altos, y bandas en  $426$ ,  $487$  y  $612\text{ cm}^{-1}$  que coinciden con el espectro SERS del extracto y están relacionadas a un cambio de estructura la molécula de quercetina, debido a su interacción con las nanopartículas metálicas<sup>[18]</sup>, mismo efecto que ya se ha discutido en la fase I. Debido a lo anterior se podría proponer que a diferencia de las lacas de *zacatlaxcalli* seco y de quercetina, la

laca de *zacatlaxcalli* fresco aún tenía sitios disponibles en la molécula, permitiendo la interacción con las nanopartículas, o bien que había moléculas adsorbidas sobre el sustrato de la laca que precipitaron con ésta



**Figura 46.** Espectros SERS de las lacas de quercetina con el coloide Ag-Cit y  $\lambda=785$  nm de: a) Qu-K y b) Qu-Ca. c) Espectro SERS de Qu-Ca con  $\lambda=532$  nm. Los asteriscos denotan las bandas asociadas al coloide.

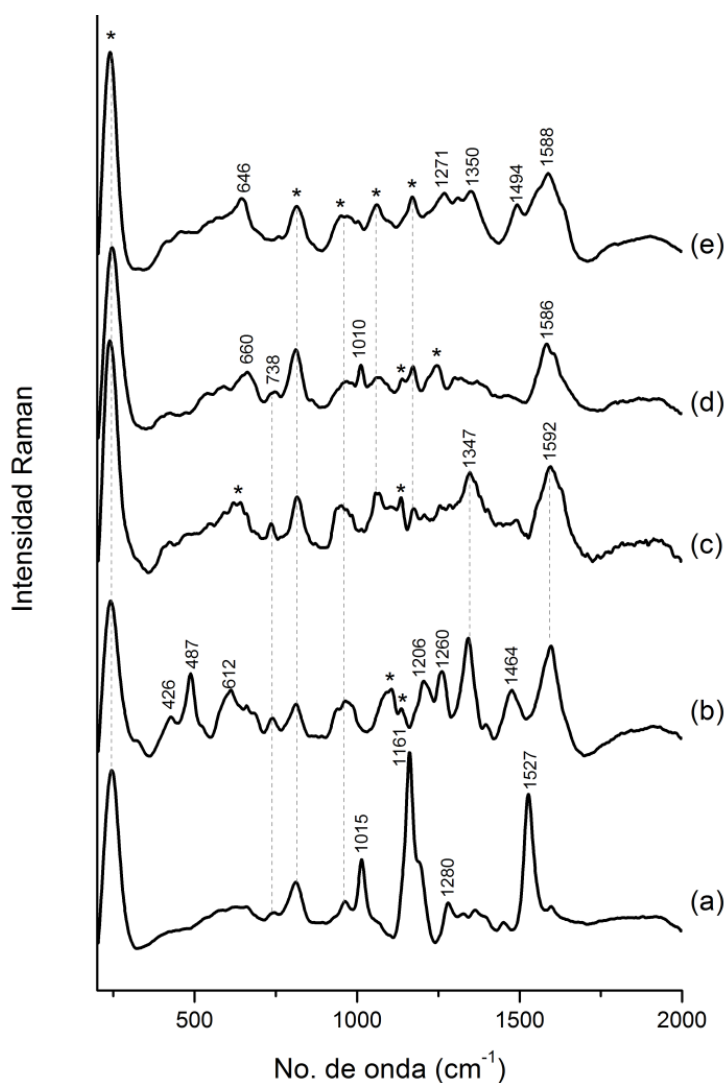
Por otro lado en el espectro de la laca de Gu-K (figura 47-d) se pueden observar bandas en 660, 738, 1010 y 1586  $\text{cm}^{-1}$  que podrían corresponder a las vibraciones del complejo luteolina-aluminio, pues no coinciden con el espectro del extracto de gualda, y solamente la banda en 1586  $\text{cm}^{-1}$  está presente en el espectro Raman de la laca de la sección anterior. Este caso es bastante similar a la laca de palo mora (figura 47-e), en donde las bandas podrían estar asociadas a las vibraciones de algunas de las moléculas presentes en el extracto.

Los espectros SERS con láser de 785 nm de las lacas de *zacatlaxcalli* fresco y seco, gualda y palo mora elaboradas con  $\text{CaCO}_3$  mostraron bandas bastante similares a los obtenidos con la receta 1 y se muestran en la figura B-3 del apéndice B. Los respectivos espectros obtenidos con el láser de 532 nm dieron como resultado espectros ruidosos y se muestran en el apéndice B (figura B-4).

Los espectros SERS de la laca de Ach-K (figura 47-a) y Ach-Ca (figura B-3, apéndice B) reproducen las mismas bandas del espectro de la *trans*-bixina anteriormente mencionado, incluso los espectros adquiridos con el láser de 532 nm (figura B-4 apéndice B), los cuales muestran estas bandas muy intensas. De aquí la siguientes dos observaciones:

- La molécula no identificada observada en el espectro SERS con el láser de 785 nm del extracto de achiote no precipitó con el sustrato, por lo que en el espectro SERS de las lacas de achiote no se observan sus vibraciones.
- La molécula de *trans*-bixina se encuentra probablemente adsorbida con el sustrato lo que permitió observar la señal SERS.

En el caso de las lacas de cempasúchil naranja y amarillo, *xochipalli* naranja y amarillo así como pericón, no se obtuvieron señales SERS con ninguna de las dos longitudes de onda, debido a que quizá las moléculas de estos colorantes no se adsorbieron sobre la nanopartícula metálica debido al complejo molécula-aluminio. Estos espectros no se presentan en este trabajo.



**Figura 47.** Espectros SERS exitosos de las lacas con  $\lambda=785$  nm y coloide Ag-Cit de: a) Ach-K, b) ZaF-K, c) ZaS-K, d) Gu-K y e) PaM-K. Los asteriscos denotan las bandas asociadas al coloide.

Como se ha observado, la técnica SERS brindó una cantidad limitada de medidas exitosas de las lacas amarillas, probablemente debido a la competencia que se tiene entre el aluminio y la nanopartícula de plata por aquellos sitios quelantes en los flavonoides. Mayhew *et al.* proponen una extracción del colorante por hidrólisis para el estudio SERS de lacas, utilizando 1:3 HCl/metanol a temperatura ambiente<sup>[79]</sup>. A pesar de que este procedimiento es completamente destructivo, esta técnica resulta interesante debido a la pequeña cantidad de muestra necesaria, lo cual representa una ventaja sobre algunas técnicas analíticas destructivas.

#### **6.2.4. Resultados con técnicas de imagen**


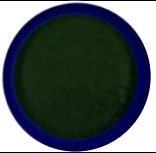


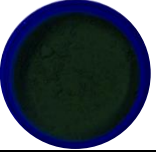

##### ***Imagen UV-Vis***

En la tabla 8 se muestran las imágenes obtenidas en el visible, así como también mediante la iluminación ultravioleta con dos longitudes de onda: 280 nm (onda corta) y 366 nm (onda larga).

**Tabla 8.** Imágenes de visible y fluorescencia UV de longitud de onda corta (UVSW) y larga (UVLW).

		Vis	UVSW-280 nm	UVLW-366 nm			Vis	UVSW-280 nm	UVLW-366 nm
Achiote	Ach-K				Xochipalli amarillo	XoA-K			
	Ach-Ca					XoA-Ca			
Pericón	Per-K				Xochipalli naranja	XoN-K			
	Per-Ca					XoN-Ca			
Cempasúchil amarillo	CeA-K				Quercetina	Qu-K			
	CeA-Ca					Qu-Ca			
Cempasúchil naranja	CeN-K				Zacatlaxcalli-seco	ZaS-K			
	CeN-Ca					ZaS-Ca			
Gualda	Gu-K				Zacatlaxcalli-fresco	ZaF-K			
	Gu-Ca					ZaF-Ca			

**Tabla 8.** Continuación

		Vis	UVSW-280 nm	UVLW-366 nm
Palo mora	PaM-K			
	PaM-Ca			

De forma general, se pueden agrupar en tres conjuntos de lacas de acuerdo a su respuesta a la radiación UV:

-Fluorescente en ambas longitudes de onda: Gu-Ca, Gu-K, ZaF-Ca, ZaF-K, Per-K, Ach-Ca, Ach-K y ZaS-Ca.

-Fluorescente en una longitud de onda (280 nm): ZaS-K, Qu-K, PaM-K, PaM-Ca y Per-Ca.

-Opaco a la radiación UV: CeN-Ca, CeN-K, CeA-Ca, CeA-K, Qu-Ca, XoN-K, XoN-Ca, XoA-K y XoA-Ca.

### ***Imagen IR y de falso color***

Las imágenes IR y de falso color se muestran en la tabla 9. La combinación de la información de las imágenes infrarrojas con la información en el visible, dio como resultado imágenes en donde las lacas aparecen en distintos tonos de naranja, efecto que ya se ha visto anteriormente para algunos documentos coloniales<sup>[55]</sup>.

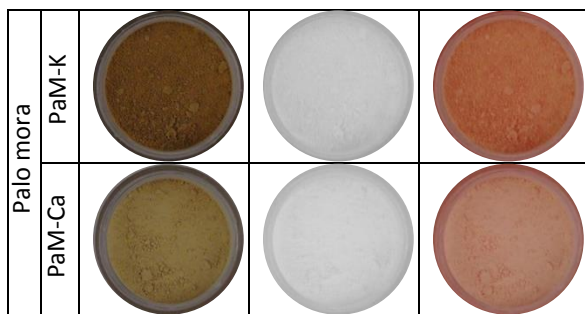
Las imágenes en el visible mostradas en la tabla 9 fueron adquiridas con la cámara de video, misma que fue utilizada en la toma de las imágenes IR.



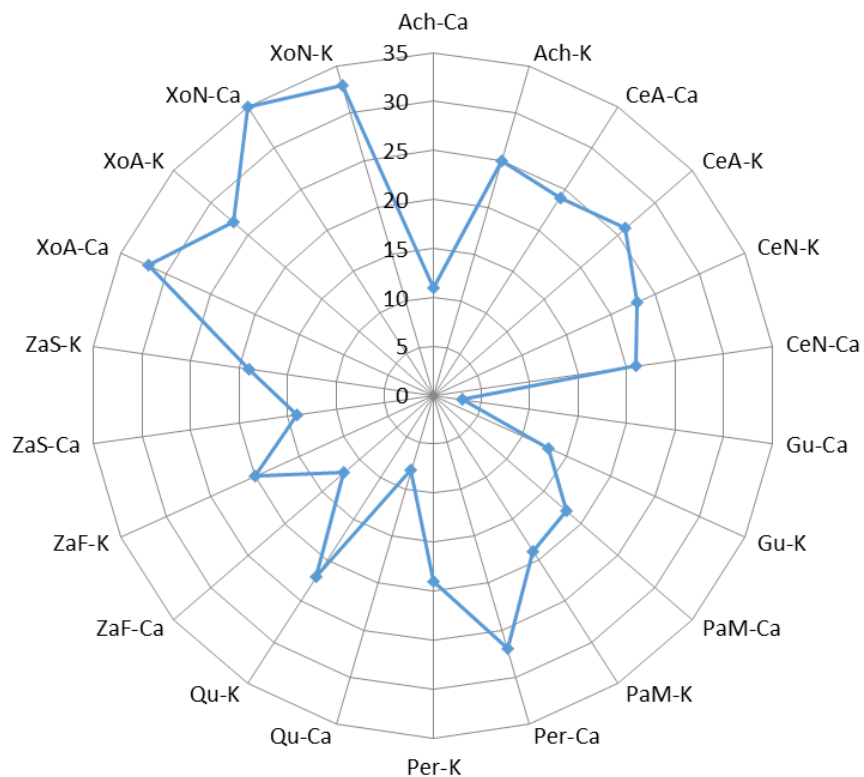
**Tabla 9.** Imágenes Vis e IR con el filtro de 760 nm e Infrarrojo de falso color.

			IR 760	FCIR
Achiote	Ach-K			
	Ach-Ca			
Pericón	Per-K			
	Per-Ca			
Cempasúchil amarillo	CeA-K			
	CeA-Ca			
Cempasúchil naranja	CeN-K			
	CeN-Ca			
Gualda	Gu-K			
	Gu-Ca			
Xochipalli amarillo	XoA-K			
	XoA-Ca			
Xochipalli naranja	XoN-K			
	XoN-Ca			
Zacatlaxcalli-seco	ZaS-K			
	ZaS-Ca			
Quercetina	Qu-K			
	Qu-Ca			
Zacatlaxcalli-fresco	ZaF-K			
	ZaF-Ca			

**Tabla 9.** Continuación



Con el objetivo de tener una comparación más clara entre las diferentes tonalidades de naranja en las imágenes de falso color, un promedio digital de éstas se realizó con el programa Photoshop, de donde se obtuvieron valores colorimétricos HSB, de acuerdo con la metodología propuesta en la tesis de licenciatura de Isaac Rangel<sup>[105]</sup>. En el gráfico de la figura 48 están representados los valores del matiz (H) para las 22 lacas.



**Figura 48.** Comparación del valor del matiz (H) de las fotografías de falso color entre las 22 lacas.

Las lacas de cempasúchil son quizá las lacas en donde el matiz se mantiene relativamente constante sin importar la preparación o la planta extraída. En este sentido, el matiz de las lacas de Ach-K, Per-Ca y XoA-K son similares a los del grupo del cempasúchil, y formarían parte del grupo 1



(GPO 1). Las lacas de *xochipalli* forman otro grupo (GPO 2) en la parte superior del gráfico (sin considerar la laca XoA-K). Otro grupo (GPO 3) lo forman las lacas de palo mora (PaM-K y PaM-Ca), pericon, quercetina, *zacatlaxcalli* fresco y seco, todas ellas preparadas con carbonato de potasio (Per-K, Qu-K, ZaF-K, y ZaS-K).

Finalmente las lacas de Gu-K, ZaF-Ca, ZaS-Ca y Ach-Ca, forman otro grupo con matices similares (GPO 4).

La laca de Gu-Ca presenta el valor de matiz más bajo, siendo diferente al de todas las demás.

La tabla 10 muestra un resumen con los principales resultados al aplicar esta metodología en el estudio de las referencias de lacas amarillas.

**Tabla 10.** Principales resultados obtenidos en el estudio de referencia de lacas amarillas

Intervalo colorimétrico	Laca	Respuesta UV-Vis	IRFC	Raman 200-1200 cm <sup>-1</sup>	Raman 1200-1800 cm <sup>-1</sup>	SERS λ=785 nm
AA-V	Gu-Ca	Fluorescente ambas λ	GPO 4	Carbonato y sulfato de calcio	Luteolina-Al	Luteolina-Al*
	Gu-K	“	GPO 5	Alumbre/sulfato de aluminio	“	“
	ZaF-Ca	“	“	Carbonato y sulfato de calcio	Quercetina-Al con 1441 y 1581 cm <sup>-1</sup> de igual intensidad	Quercetina
	ZaF-K	“	GPO 3	Alumbre/sulfato de aluminio	“	“
	ZaS-Ca	“	GPO 4	Sulfato de calcio	Quercetina-Al	“
AR-A2	ZaS-K	Fluorescente a una λ	GPO 3	Alumbre/sulfato de aluminio	“	“
	Qu-Ca	Opaco		Sulfato de calcio	“	“
	Qu-K	Fluorescente a una λ	GPO 3	Alumbre	“	“
	PaM-Ca	“	“	Carbonato y sulfato de calcio	Morin-Al*	Morin-Al*
	PaM-K	“	“	Alumbre/sulfato de aluminio	“	Morin-Al*
	Per-Ca	“	GPO 1	Carbonato de calcio	Quercetina/quercetagina-Al*	---
	Per-K	Fluorescente ambas λ	GPO 3	Alumbre/sulfato de aluminio	“	---
	Ach-Ca	“	GPO 4	Carbonato de calcio	---	<i>Trans</i> -bixina
	Ach-K	“	GPO 1	Alumbre/sulfato de aluminio	<i>Trans</i> -bixina	“
CeN-K	Opaco	“	“	Quercetina/quercetagina-Al*	---	
AR-A1	CeN-Ca	“	“	Carbonato y sulfato de calcio	“	---
	CeA-Ca	“	“	“	“	---
	CeA-K	“	“	Alumbre/sulfato de aluminio	“	---
	XoA-Ca	“	GPO 2	Carbonato y sulfato de calcio	Sulfuretina-Al*	---
	XoA-K	“	GPO 1	Alumbre/sulfato de aluminio	“	---
AR-R	XoN-Ca	“	GPO 2	Sulfato de calcio	Buteina-Al*	---
	XoN-K	“	GPO 2	Alumbre/sulfato de aluminio	“	---

Notación: \* posible identificación, ---el espectro no brindó información

### 6.2.5. Consideraciones finales

En total se obtuvieron 22 lacas, 11 de ellas elaboradas con el primer procedimiento y 11 con el procedimiento 2. Gracias al estudio colorimétrico en las lacas, fue posible cuantificar las diferencias en torno a las tonalidades observadas, las cuales dependieron en gran medida del espécimen utilizado. De forma general, fue posible agrupar las lacas en 4 conjuntos de acuerdo a sus coordenadas colorimétricas  $a^*$  y  $b^*$ : el intervalo AR-R en donde se encuentran las lacas de *xochipalli* elaboradas con carbonato de potasio, intervalo AR-A1 conformado por todas las lacas de cempasúchil (menos CeN-K) y solamente aquellas lacas de *xochipalli* elaboradas con carbonato de calcio, el intervalo AR-A2 en donde se encuentran todas las lacas de quercetina, palo mora, achiote y pericón así como la laca de *zacatlaxcalli*-seco y carbonato de potasio y cempasúchil naranja elaborada con el procedimiento 1. Finalmente en el intervalo AA-V se encuentran todas las lacas de gualda y *zacatlaxcalli* fresco así como también la laca de *zacatlaxcalli* seco elaborada con carbonato de calcio.

El valor de la luminosidad (L) de las lacas elaboradas con carbonato de potasio (procedimiento 1) está directamente relacionado con la cantidad de colorante extraído de las plantas. El *xochipalli* resultó ser el recurso natural tintóreo de donde se pudo obtener la mayor cantidad de colorante, mientras que de la gualda solo se pudo extraer una pequeña parte. Por otro lado, la luminosidad de las lacas elaboradas con el procedimiento 2 es directamente proporcional a la cantidad de carbonato de calcio empleado en el proceso.

El estudio mediante espectroscopía Raman con un láser de 1064 nm permitió obtener información tanto de lo que podría ser el sustrato de la laca en el intervalo de  $200-1200\text{ cm}^{-1}$ , así como del colorante en el intervalo de  $1200-1800\text{ cm}^{-1}$ . En aquellas lacas elaboradas con el procedimiento 1 se observó sulfato de calcio y el exceso de carbonato de calcio que no reaccionó. Por su parte, una combinación de sulfato de aluminio y alumbre fue observada en las lacas elaboradas en el procedimiento 2. Por otro lado, en el intervalo de  $1800-2000\text{ cm}^{-1}$  se observaron señales características de los complejos formados entre el flavonoide-molécula, caracterizados por bandas principales alrededor de  $1580, 1480, 1440$  y  $1340\text{ cm}^{-1}$ , asociadas principalmente a las vibraciones  $\nu(\text{C}=\text{C})$  y vibraciones de los anillos A y B del flavonoide. Algunos cambios de intensidad y otras bandas adicionales hacen que los espectros asociados a cada laca sean relativamente distintos entre sí, siendo los espectros más parecidos los de las lacas de cempasúchil, pericón, *zacatlaxcalli* seco y quercetina.

A diferencia de la primera parte de este trabajo, las medidas con SERS no brindaron buenos resultados para todas las lacas, esto quizá debido a la competencia que se tiene entre el aluminio y la nanopartícula de plata por aquellos sitios quelantes en los flavonoides. De las pocas medidas exitosas, las lacas de *zacatlaxcalli* fresco resultaron tener un espectro bien definido, con algunas bandas similares obtenidas en el extracto. Por el contrario, el cempasúchil, el pericón y el *xochipalli* no presentaron ninguna señal SERS.

Finalmente las técnicas de imagen permitieron hacer conjuntos de lacas de acuerdo a su actividad UV y a su matiz, en la fluorescencia UV y el infrarrojo de falso color.

## Capítulo 7. Fase III: Materiales pictóricos de referencia

Uno de los grandes retos en el estudio de pigmentos y colorantes en patrimonio cultural, es sin duda alguna el análisis directo del objeto, es decir, el estudio del pigmento (o colorante) dentro del conjunto heterogéneo que conforma una pintura. Es por eso que en esta sección se evalúa la forma en que el soporte, la base de preparación y los aglutinantes afectan la identificación de los pigmentos laca (de la sección anterior) presentes en los materiales pictóricos de referencia.

### 7.1. Metodología experimental

#### 7.1.2. Elaboración de materiales pictóricos

Para la elaboración de estos materiales se utilizaron solamente las lacas de *zacatlaxcalli* fresco (ZaF-K y ZaF-Ca), pues en general presentó los espectros más definidos con Raman de 1064 nm y actividad SERS.

Se pintaron círculos de 3 cm de radio en papel 100% algodón con reserva alcalina, libre de ácido y sin blanqueadores, marca Arches. Las lacas utilizadas fueron aplicadas con tres proporciones distintas de aglutinante/laca, es decir 300mL/0.03g (P1), 300mL/0.06g (P2) y 300mL/0.09g (P3). Los aglutinantes utilizados fueron aceite de linaza Atl (Rodin), yema y clara de huevo así como goma arábiga en polvo (casa Serra), tal y como se muestra en el esquema de la figura 49. Estos Aglutinantes fueron elegidos con base en un proyecto previo<sup>x</sup> y lo discutido en el capítulo 1.

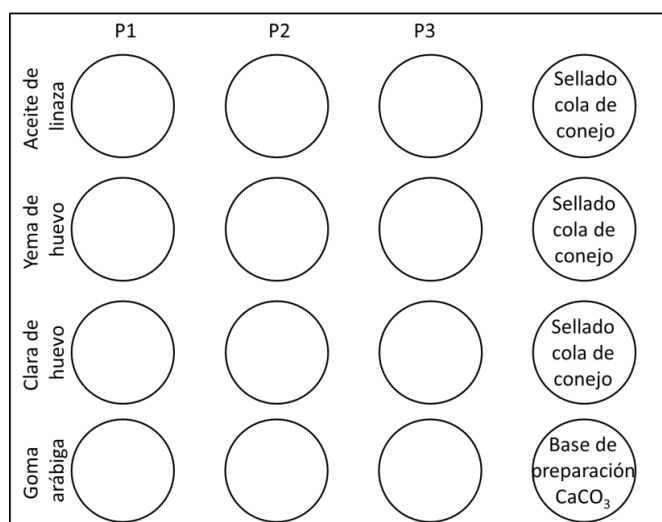


Figura 49. Elaboración de los materiales pictóricos de referencia

<sup>x</sup> Proyecto interdisciplinario PAPIIT UNAM IN402007 sobre el Estudio científico de patrones de referencia de materiales y técnicas de ejecución de la Pintura novohispana.

En la última columna se colocó un sellado con cola de conejo (casa Serra) previo a la aplicación de la capa pictórica en la proporción P1, P2 o P3 elegida<sup>xi</sup>, con el uso de los aglutinantes: aceite de linaza, yema y clara de huevo, con la finalidad de reproducir las recetas tradicionales de elaboración de documentos antiguos iluminados, de acuerdo a lo descrito en el capítulo 1. En este sentido, una base de preparación de  $\text{CaCO}_3$  y goma arábiga fue aplicada en la última fila y columna de la referencia pictórica, con el objetivo de tratar de reproducir la base de preparación observada en algunos códices<sup>[12]</sup>.

Finalmente se elaboraron dos referencias utilizando una base de preparación de  $\text{CaCO}_3$  y *tzauhtli* como aglutinante, según lo visto en el capítulo 1. El bulbo joven del espécimen de la orquídea *Prosthechea citrina*, proveniente de Morelos, fue recolectado<sup>xii</sup> y previamente lavado. Se le retiró la capa superior para después ser cortado en pequeños pedazos, los cuales fueron triturados en un mortero de ágata. La pasta resultante se coló con ayuda de un paño, teniendo como resultado el mucílago, el cual fue depositado en una hoja de acetato, en donde se dejó secar (figura 50). Para su uso como aglutinante, el mucílago fue hidratado con algunas gotas de agua destilada.



**Figura 50.** A) Algunos materiales utilizados en la preparación de las referencias pictóricas. B) Preparación del *tzauhtli*. C) Moleta de vidrio utilizada en el proceso de mezcla de la laca con el aglutinante.

### 7.1.3. Instrumentación

Para esta parte se utilizó el mismo espectro-colorímetro de la sección anterior con las mismas condiciones experimentales. Se adquirieron 5 espectros por cada círculo, los cuales fueron promediados.

La espectroscopía Raman de 1064 nm se realizó con el espectrómetro portátil i-Raman EX anteriormente descrito, para esta parte se utilizó un tiempo de adquisición de 60 s y una potencia de 188 mW.

<sup>xi</sup> Tomando en cuenta la laca que mejor saturación y miscibilidad presentó

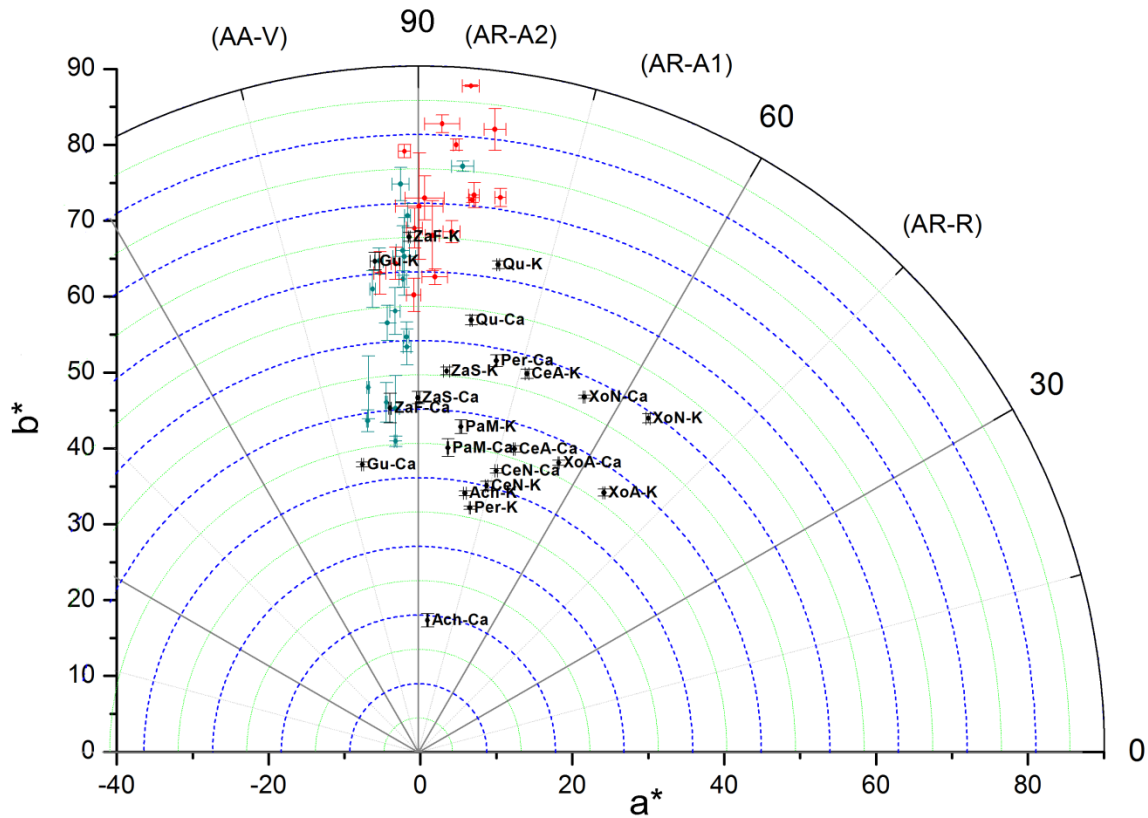
<sup>xii</sup> La recolección e identificación de este espécimen estuvo a cargo de la Mtra. Lilian García, como parte de su tesis de doctorado en estudios mesoamericanos.

Adicionalmente se tomaron fotografías UV-Vis, IR y de falso color con los equipos descritos en el análisis de lacas, siguiendo la misma metodología.

## 7.2. Resultados

### 7.2.1. Colorimetría

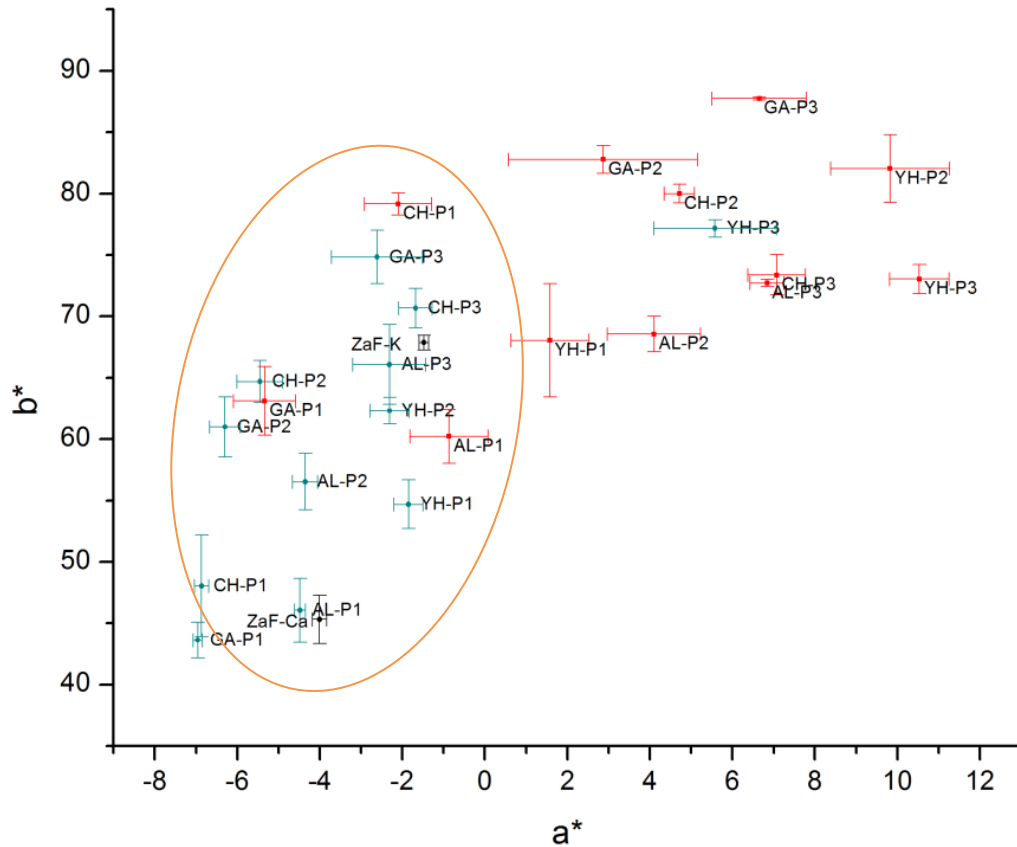
La información colorimétrica  $a^*$  y  $b^*$  de las medidas realizadas a los materiales pictóricos se encuentra graficada en la figura 51. Considerando que las lacas son pigmentos translúcidos, estas medidas representan una combinación de estas lacas con el papel, el sellado, la base de preparación y el aglutinante. De manera general, la mayoría de las medidas para la laca de ZaF-Ca (figura 51 puntos verdes) se encuentran en el mismo intervalo de la laca pura (intervalo AA-V), mientras que la mayoría de las medidas correspondientes a los materiales de la laca de ZaF-K se encuentran en el intervalo adyacente (AR-A2).



**Figura 51.** Comparación entre las lacas de *zacatlaxcalli* fresco aplicadas en los materiales pictóricos y las lacas puras. En rojo las lacas de ZaF-K y en verde las de ZaF-Ca con distintos aglutinantes, base y sellado. Los valores y sus desviaciones se muestran en el apéndice C, tabla C-1.

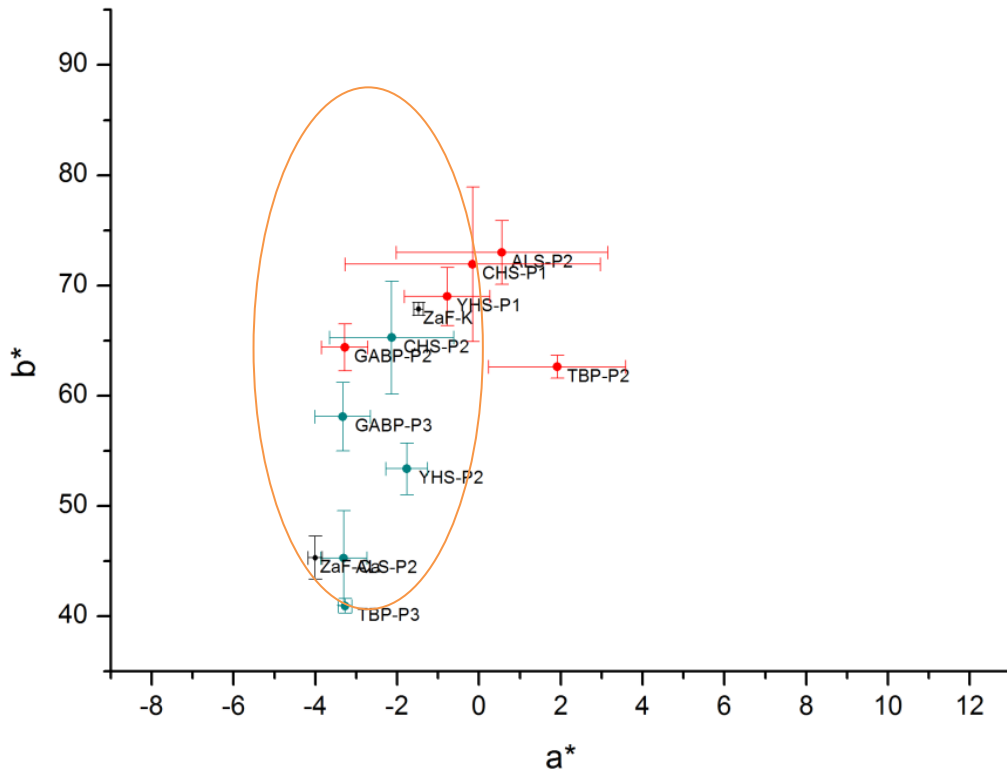
La presencia de los aglutinantes y el soporte hacen que las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$  de las medidas de las lacas en los materiales pictóricos se modifique en mayor o menor medida, siendo de forma

general, las correspondientes a la yema de huevo (YH) las más dispersas para ambas lacas como se muestra en la figura 52. También se puede observar un aumento del valor de ambas coordenadas al incrementar la cantidad de laca aplicada (el aglutinante se mantuvo fijo). La base de preparación hace que los valores  $a^*$  y  $b^*$  disminuyan respecto a los de la aplicación directa sobre papel para la misma proporción aglutinante/laca. Por otro lado, el sellado con cola de conejo modifica estos valores sin una tendencia clara (figura 53). Finalmente la aplicación de la laca con *tzauhtli* y una base de preparación resultó en valores  $a^*$  por debajo a la laca pura y  $b^*$  por encima de ésta.



**Figura 52.** Medidas colorimétricas  $a^*$  y  $b^*$  de los materiales pictóricos de las lacas de ZaF-Ca (puntos verdes) y ZaF-K (puntos rojos), aglutinados con aceite de linaza (AL), yema de huevo (YH), clara de huevo (CH) y goma arábica (GA), para distintas proporciones aglutinante/laca (P1, P2 o P3). Las lacas puras se encuentran en color negro. El círculo naranja indica las medidas colorimétricas que se encuentran en el intervalo AA-V, al cual pertenecen las lacas puras.





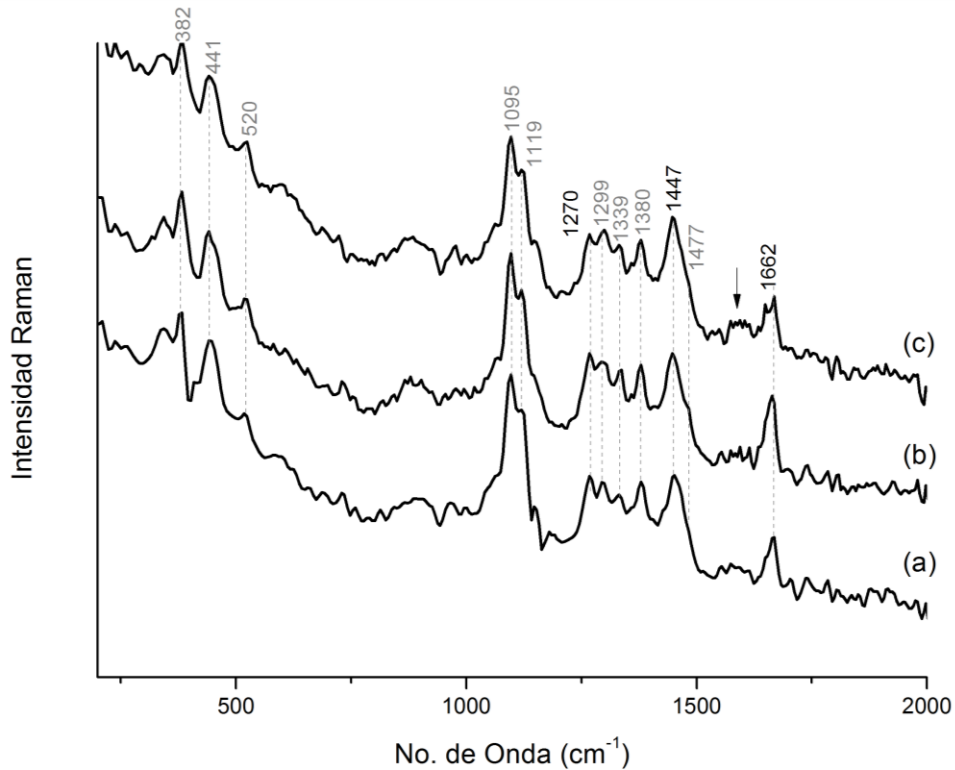
**Figura 53.** Comparación entre los valores  $a^*$  y  $b^*$  de las lacas de ZaF-Ca y ZaF-K, aglutinados con aceite de linaza (AL), yema de huevo (YH), clara de huevo (CH) así como con goma arábica (GA) y *tzauhtli* (T) con sellado con cola de conejo (S) o base de preparación de carbonato de calcio (BP), a la misma proporción aglutinante/laca. El círculo naranja muestra los valores colorimétricos que caen dentro del intervalo AA-V, al cual pertenecen las lacas puras.

### 7.2.2. Espectroscopía Raman

Los espectros Raman obtenidos con el láser de 1064 nm de la laca ZaF-K aplicado con aceite de lianza se muestran en la figura 54. La mayoría de las bandas observadas corresponden al papel, siendo 382, 441, y 520  $\text{cm}^{-1}$  vibraciones  $\delta(\text{CCH})$ ,  $\delta(\text{COH})$  y vibraciones de los grupos CC y CO las bandas en 1095, 1119  $\text{cm}^{-1}$  son vibraciones  $\nu(\text{COC})$ , bandas en 1299, 1339 y 1380  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a vibraciones  $\omega(\text{HCH})$ ,  $\delta(\text{HCC})$ ,  $\delta(\text{HOC})$  y  $\rho(\text{COH})$ , y finalmente las bandas en 1447 y 1477  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a vibraciones  $\delta(\text{HCH})$ , todas ellas correspondientes vibraciones reportadas para la celulosa<sup>[106]</sup>.

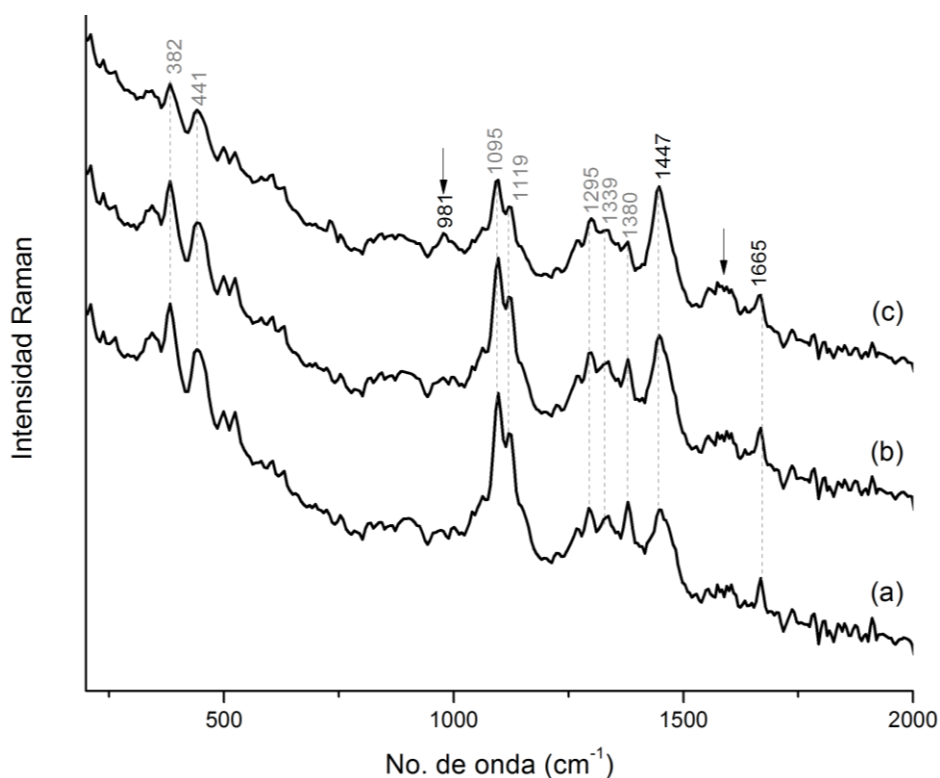
Dos de las vibraciones más intensas correspondientes al aceite de linaza, se pueden observar en los espectros en 1270  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a  $\delta(=\text{CH})$ , 1447  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a  $\delta(\text{CH}_2)$  y la banda en 1662  $\text{cm}^{-1}$  atribuida a  $\nu(\text{C}=\text{C})$  de las vibraciones moleculares del ácido graso<sup>[107]</sup>.

En las tres proporciones (aglutinante/laca) empleadas, se puede observar la señal más intensa de la laca de ZaF-K, siendo mayor cuando se utilizó la proporción 3, como lo indica la flecha en la figura 54.



**Figura 54.** Espectro Raman  $\lambda = 1064$  nm de la laca de ZaF-K aglutinada con aceite de linaza y aplicada sobre papel: a) proporción P1, b) proporción P2 y c) proporción P3. En gris se encuentran los números de onda de las bandas asociadas al papel. Las flechas corresponden a bandas asociadas a la laca

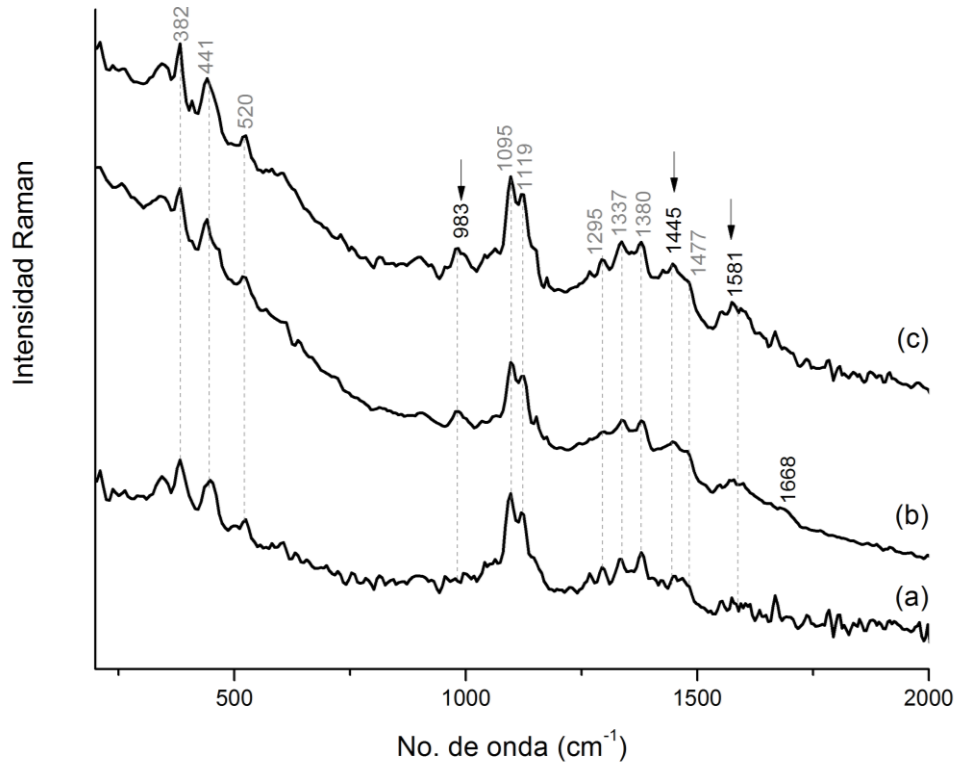
La figura 55 muestra la laca aglutinada con yema de huevo. Similar a lo anterior, la mayor contribución al espectro Raman es la información de las bandas de la celulosa del papel. En el espectro también se pueden observar dos de las bandas más intensas relacionadas con la yema de huevo:  $1447$  y  $1665$   $\text{cm}^{-1}$  que corresponden a las vibraciones de los lípidos contenidos en ésta<sup>[108]</sup>. La preparación tres (P3) nuevamente muestra una señal en el sitio en donde se esperaría observar la banda más intensa de la laca, pero a diferencia del caso anterior, esta contribución es mayor. Adicionalmente se observa, para esta misma preparación, la banda en  $981$   $\text{cm}^{-1}$  del sulfato asociado al sustrato de la laca. Lo anterior implica que a pesar de haber utilizado la misma proporción P3 que en el caso del aceite de linaza, una cantidad mayor de la mezcla de la yema de huevo con el pigmento fue aplicada.



**Figura 55.** Espectro Raman  $\lambda = 1064$  nm de la laca de ZaF-K aglutinada con yema de huevo y aplicada sobre papel: a) proporción P1, b) proporción P2 y c) proporción P3. En gris se encuentran los números de onda de las bandas de papel. Las flechas corresponden a bandas asociadas a la laca.

Los espectros de la laca aglutinada con clara de huevo (figura 56) muestran bandas características de papel y son quizá los espectros con mayor ruido debido a la fluorescencia. A pesar de ello, es posible observar a partir de la preparación 2 (P2) las bandas de  $983 \text{ cm}^{-1}$  del sustrato, así como la banda en  $1581$  y  $1441 \text{ cm}^{-1}$  de la laca. Adicional a esto, solamente se observa la banda en  $1668 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a  $\nu(\text{C}=\text{O})$  de los enlaces peptídicos de la amida I de la clara de huevo<sup>[108]</sup>.

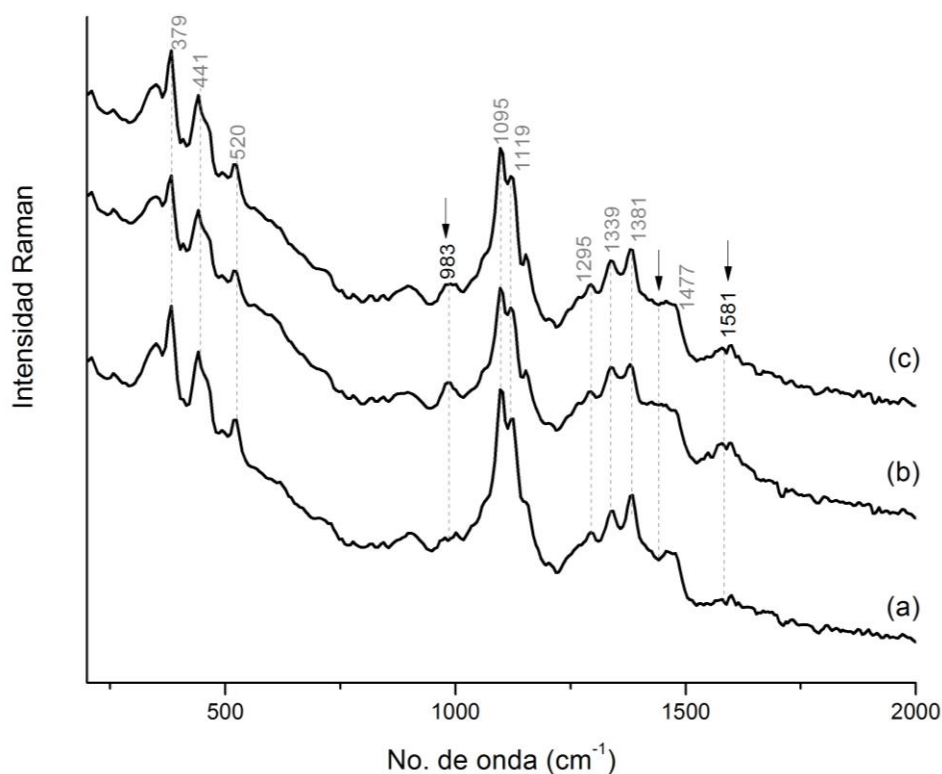
Es probable que la observación de las bandas del pigmento a partir de la preparación 2 se deba a que una mayor cantidad de la mezcla de aglutinante con pigmento fue necesaria para poder cubrir el círculo en la probeta, quizá porque el papel en este caso absorbió más que en los casos en los que se utilizó aceite de linaza o yema de huevo.



**Figura 56.** Espectro Raman  $\lambda = 1064$  nm de la laca ZnF-K aglutinada con clara de huevo y aplicada sobre papel: a) proporción P1, b) proporción P2 y c) proporción P3. En gris se encuentran los números de onda de las bandas de papel. Las flechas corresponden a bandas asociadas a la laca.

En los espectros Raman de la laca aglutinada con goma arábiga se observan algunas de las bandas asociadas a ésta, siendo más evidentes a partir de la preparación dos (P2), en donde es posible apreciar la banda del sustrato de la laca en  $983\text{ cm}^{-1}$  así como la banda en  $1581\text{ cm}^{-1}$  y la señal de la banda en  $1441\text{ cm}^{-1}$  de la laca de ZnF-K (figura 57).

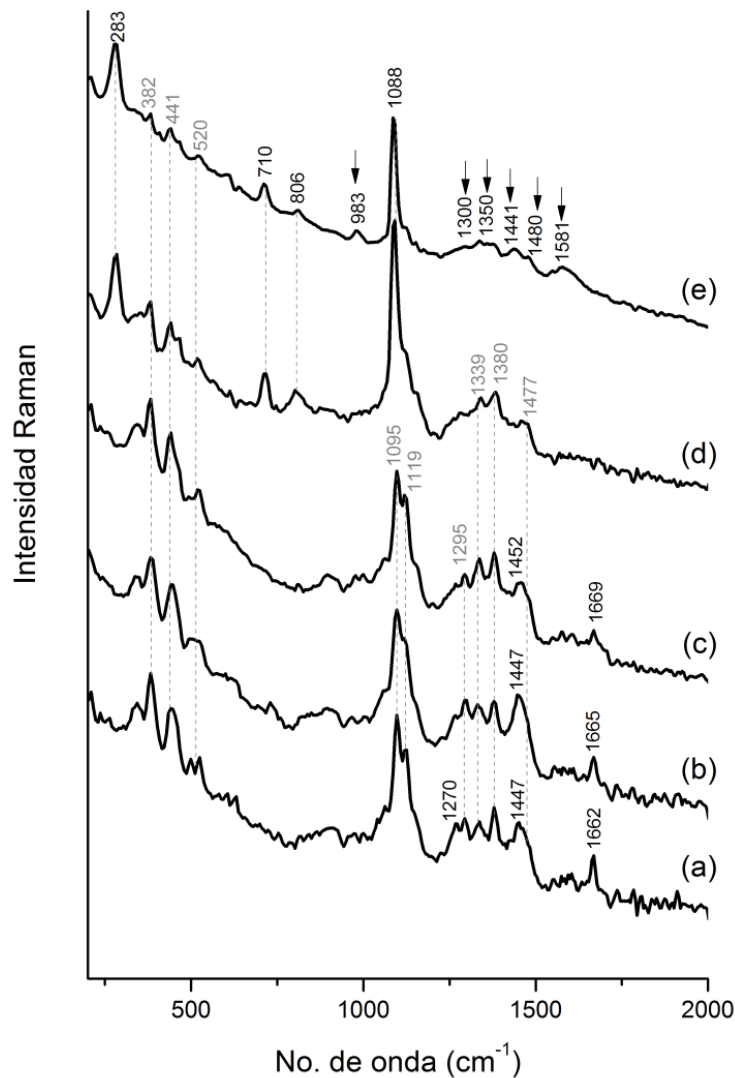
Este caso es similar al de la clara de huevo, es decir, se utilizó una mayor cantidad de mezcla aglutinante/pigmento, probablemente por la capacidad de absorción del papel.



**Figura 57.** Espectro Raman  $\lambda = 1064$  nm de la laca de ZaF-K aglutinada con goma arábica y aplicada sobre papel: a) proporción P1, b) proporción P2 y c) proporción P3. En gris se encuentran los números de onda de las bandas de papel. Las flechas corresponden a bandas asociadas a la laca.

El sellado del papel con cola de conejo, previo a la aplicación de la capa pictórica, no modificó los espectros obtenidos anteriormente para el caso en el que se utilizó el aceite de linaza (P2) y yema de huevo (P1), como se muestra en la figura 58 a y b respectivamente. Contrario a lo anterior, las bandas en  $1452$  y  $1665$   $\text{cm}^{-1}$  observadas en el espectro de la laca aglutinada con clara de huevo (P1) (figura 58 c) son vibraciones características del colágeno<sup>[109]</sup>. En todos los casos anteriores no fue posible observar las bandas asociadas a la laca, debido a que se utilizaron preparaciones en donde no se detecta este pigmento, tal y como anteriormente se discutió.

En el caso de la base de preparación de  $\text{CaCO}_3$  elaborada con goma arábica, no fue posible observar la señal de la laca a pesar de haber utilizado la preparación dos (P2) (figura 59-d), la cual ya había dado algunas bandas anteriormente. Esto puede ser debido a que la base de preparación no permitió que el papel absorbiera el pigmento con el aglutinante, de tal forma que se utilizó una cantidad menor de la preparación, lo que hace más difícil la detección de la laca por esta técnica.

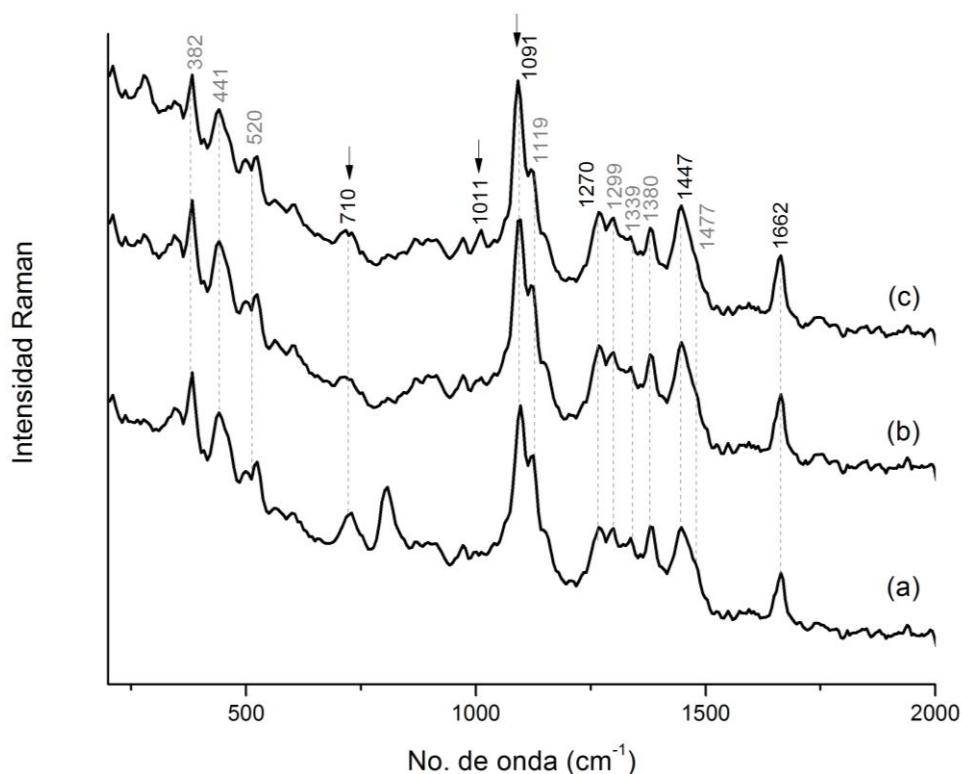


**Figura 58.** Laca de ZnF-K aglutinado con: a) aceite de linaza P2, b) yema de huevo P1, c) clara de huevo P1, aplicada sobre papel sellado con cola de conejo. Laca de *zacatlaxcalli* fresco-K aglutinado con: d) goma arábica y e) *tzauhtli* aplicada sobre una base de preparación de carbonato de calcio aglutinado con goma arábica y *tzauhtli* respectivamente, con preparación P2.

Las bandas de carbonato de calcio se pueden observar en ambas bases de preparación, siendo más intensas en aquella preparada con *tzauhtli*, debido a que probablemente esta capa resultó tener un mayor grosor. La consecuencia directa es una baja intensidad en las bandas de papel observadas en este espectro (figura 58-e). En este caso si es posible distinguir las bandas de la laca para una preparación (P2).

El espectro de la laca de ZnF-Ca aglutinado con aceite de linaza se muestra en la figura 59. Al igual que el caso de la laca de carbonato de potasio, en este espectro se pueden observar bandas de papel y aceite de linaza. Adicional a esto, también las bandas asociadas al sustrato de esta laca se

muestran en 710, 1011 y 1091  $\text{cm}^{-1}$ , las cuales corresponden a carbonato y sulfato de calcio. No se observaron bandas de la laca.



**Figura 59.** Espectro Raman  $\lambda = 1064 \text{ nm}$  de la laca de ZaF-Ca aglutinada con aceite de linaza y aplicada sobre papel: a) proporción P1, b) proporción P2 y c) proporción P3. En gris se encuentran los números de onda de las bandas de papel. Las flechas corresponden a bandas asociadas a la laca.

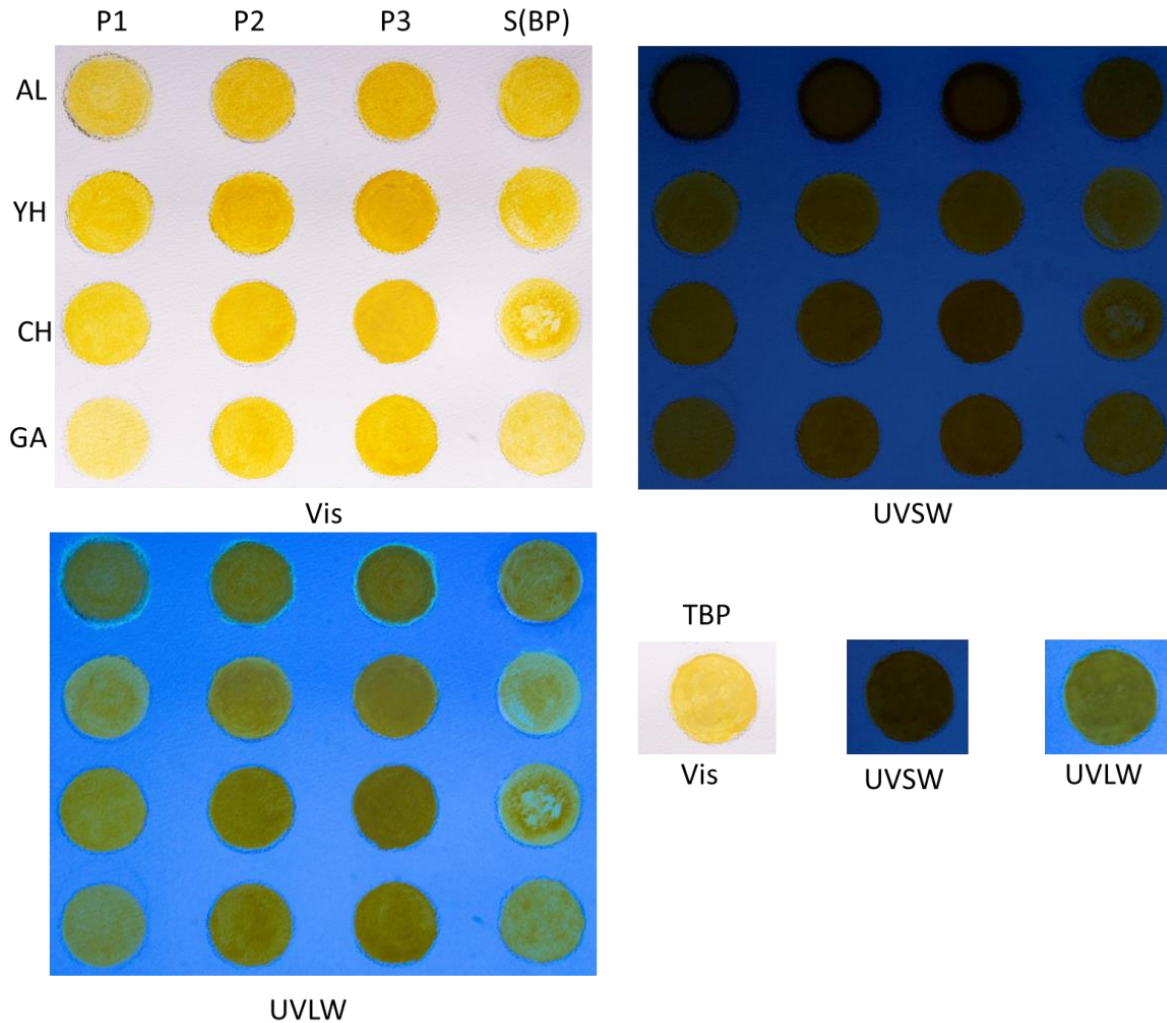
Los resultados obtenidos de ZaF-Ca para los correspondientes aglutinantes y bases de preparación son similares a los obtenidos con la laca de carbonato de potasio anteriormente discutida, con la diferencia de la presencia en los espectros de las bandas asociadas al carbonato y sulfato de calcio. Estos espectros se muestran en el apéndice C.

### 7.2.3. Técnicas de imagen

#### *Fotografía UV-vis*

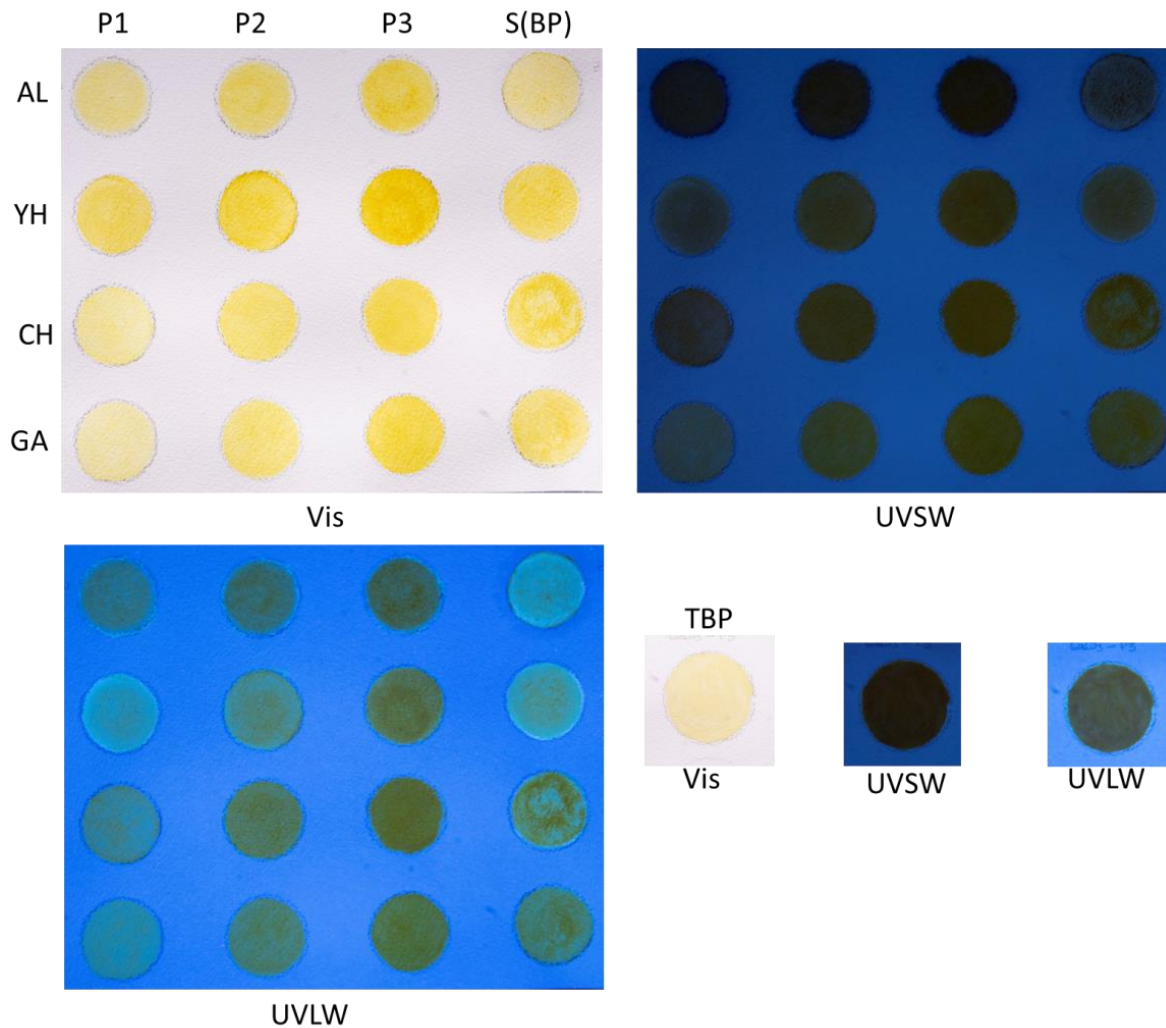
La figura 60 muestra las imágenes Vis y UV obtenidas de los materiales pictóricos elaborados con la laca de ZaF-K, en donde se puede observar que la fluorescencia es mayor para la longitud de onda larga, debido a que el papel y los aglutinantes presentan una fuerte fluorescencia para esta radiación (figura en apéndice D-1). Caso contrario es el de las imágenes obtenidas para la longitud de onda corta, en donde la mayor contribución a la fluorescencia es la laca por sí misma, ya que bajo esta radiación el papel y los aglutinantes presentan una fluorescencia menor, sobre todo el

aceite de linaza que se observa opaco para esta radiación (figura en apéndice D-1). Adicionalmente se presentan las imágenes correspondientes de los materiales pictóricos elaborados con la laca *de* ZaF-Ca (figura 61), en donde la respuesta a la radiación UV es similar a la laca anterior.



**Figura 60.** Fotografías Vis, UV de longitud de onda corta (UVSW (280 nm)) y longitud de onda larga (UVLW (366 nm)) de los materiales pictóricos elaborados con la laca ZaF-K, aglutinadas con aceite de linaza (AL), yema de huevo (YH), clara de huevo (CH), y goma arábica (GA), con distintas preparaciones (P1, P2, P3) y sellado con cola de conejo (S) o base de preparación (BP), así como también laca aglutinada con *tzauhtli* y base de preparación (T-BP).



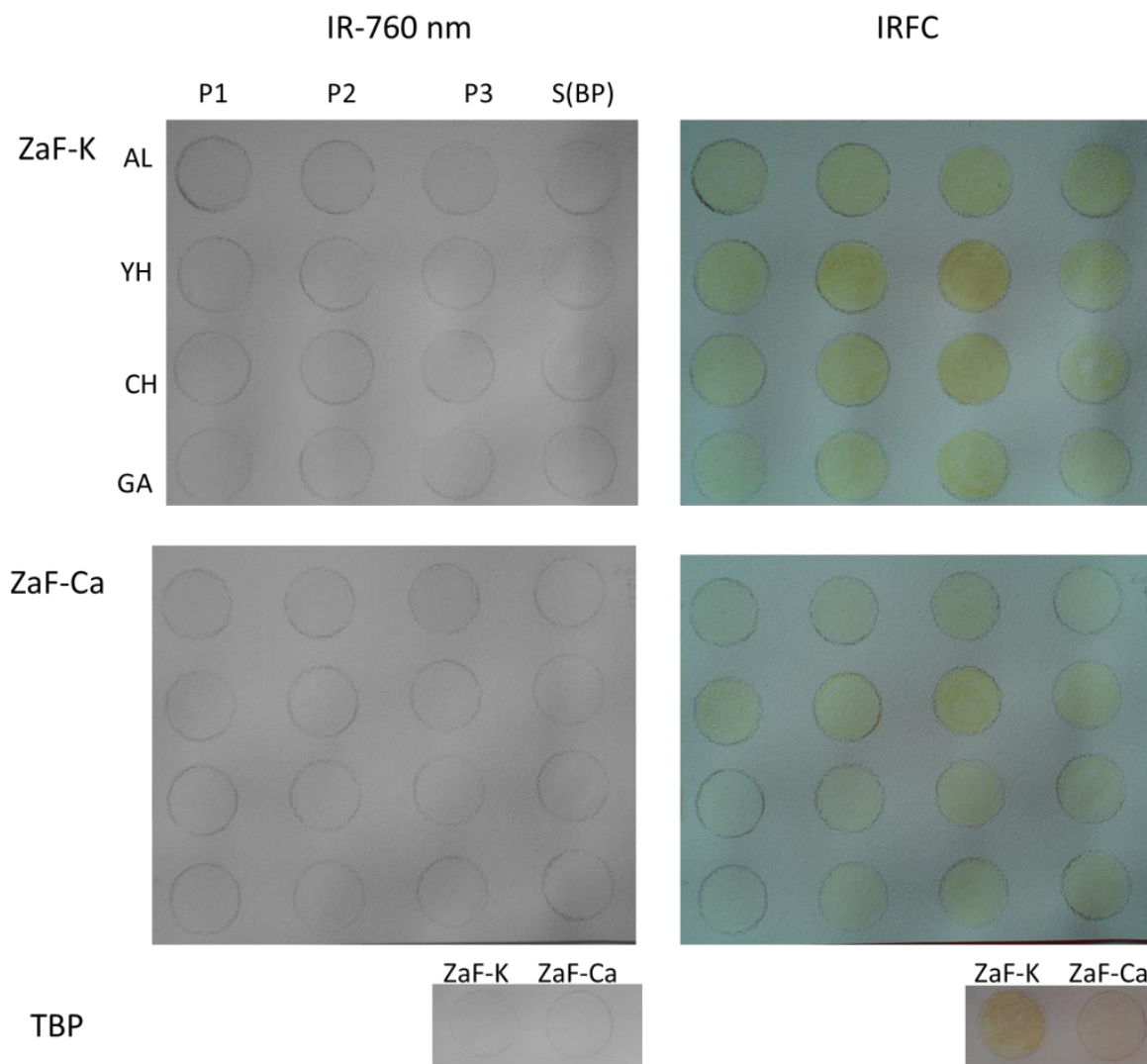


**Figura 61.** Fotografías Vis, UV de longitud de onda corta (UVSW (280 nm)) y longitud de onda larga (UVLW (366 nm)) de los materiales pictóricos elaborados con la laca de *ZaF-Ca*, aglutinadas con aceite de linaza (AL), yema de huevo (YH), clara de huevo (CH), y goma arábica (GA), con distintas preparaciones (P1, P2, P3) y sellado con cola de conejo (S) o base de preparación (BP), así como también laca aglutinada con *tzauhtli* y base de preparación (T-BP).

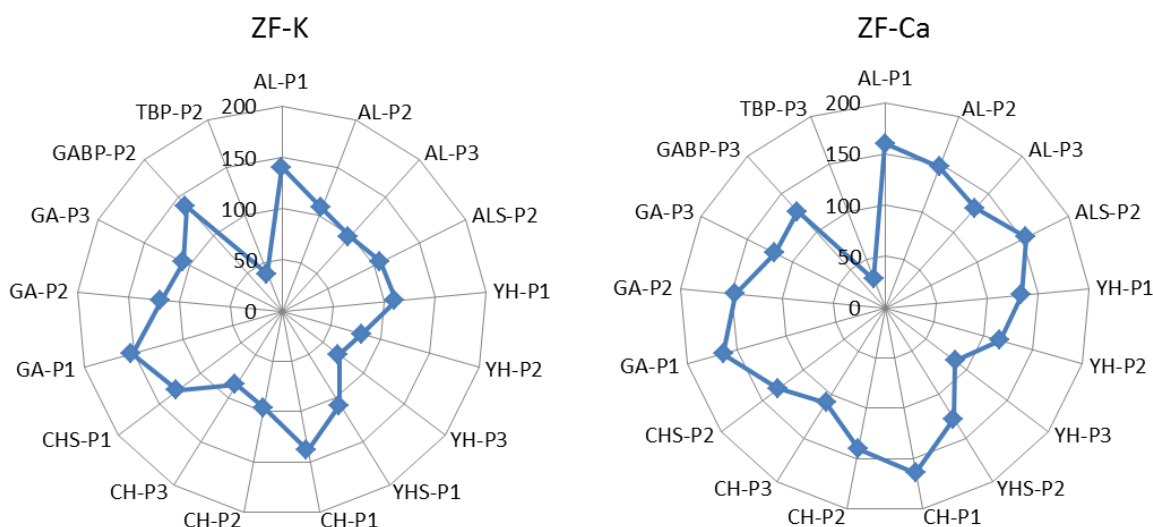
### ***Imagen IR y falso color***

Las capas pictóricas formadas por las lacas de *zacatlaxcalli* fresco son transparentes en IR, tal y como se observa en algunas zonas amarillas en los estudios de algunos códices<sup>[8, 11]</sup>. A diferencia de las lacas puras, el falso color aparece en una tonalidad amarilla brillante, lo que recuerda a lo observado en las imágenes tomadas con esta técnica del código Cuauhtinchan II<sup>[55]</sup>. Esta diferencia en los tonos observados podría ser debida a la presencia de los aglutinantes y el papel. En este sentido, las figuras 62 y 63 muestran la variación del matiz en las imágenes de falso color en función de las distintas proporciones y bases de preparación (o sellado) empleadas, para las lacas de *zacatlaxcalli*, en donde es posible apreciar que la mayor variación ocurre cuando se utiliza

yema de huevo como aglutinante, así como también *tzauhtli* y una base de preparación de carbonato de calcio, debido quizá al grosor de la base, tal y como se muestra en los gráficos de la figura 63.



**Figura 62.** Imágenes IR e infrarrojo de falso color (IRFC) de los materiales pictóricos elaborados con las lacas de ZaF-K y ZaF-Ca, aglutinadas con aceite de linaza (AL), yema de huevo (YH), clara de huevo (CH) y goma arábica (GA), con distintas preparaciones (P1, P2 y P3) y sellado con cola de conejo (S) o base de preparación (BP), así como también laca aglutinada con *tzauhtli* y base de preparación (TBP).



**Figura 63.** Comparación del valor de matiz de las imágenes de falso color de los materiales pictóricos elaborados con la laca de ZaF-K y ZaF-Ca, aglutinada con aceite de linaza (AL), yema de huevo (YH), clara de huevo (CH), goma arábiga (GA) y *tzaughtli* (T), con distintas preparaciones (P1, P2 y P3) y sellado con cola de conejo (S) o base de preparación de  $\text{CaCO}_3$ (BP).

Debido a que las gráficas de la figura 63 son muy similares entre sí, se puede concluir que el cambio en el matiz es el mismo respecto a las dos probetas.

#### 7.2.4. Consideraciones finales

De forma general, la aplicación de las lacas de *zacatlaxcalli* fresco modifican sus valores colorimétricos  $a^*$  y  $b^*$ , posicionándolos en el mismo intervalo (intervalo AA-V) que la laca pura para el caso de *zacatlaxcalli* fresco elaborada con carbonato de calcio (ZaF-Ca) y en el intervalo adyacente (AR-R2) para el caso de la misma laca elaborada con carbonato de potasio (ZaF-K).

La presencia de distintos aglutinantes y el papel, así como distintas preparaciones laca/aglutinante, hizo que la mayoría de los valores colorimétricos en las probetas incrementara la coordenada  $a^*$  y  $b^*$ , es decir, un incremento de color rojo y amarillo. Caso contrario es la presencia de una base de preparación, la cual hace que el valor  $a^*$  sea menor. La modificación en estas coordenadas debido al sellado no presentó una tendencia clara.

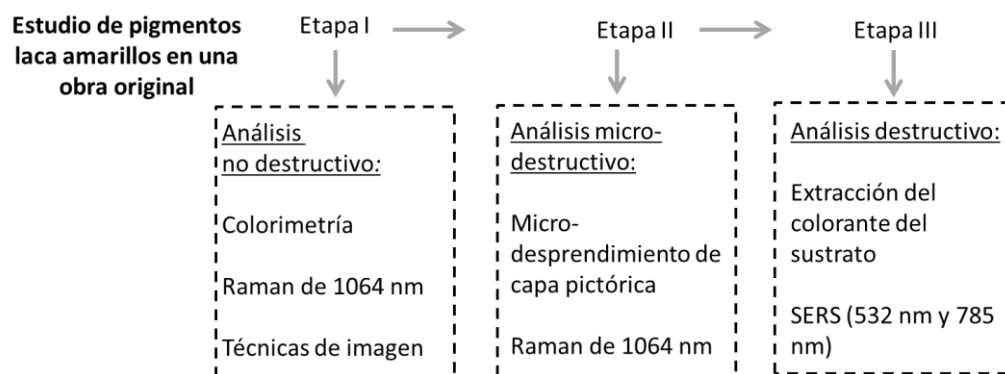
Los resultados anteriormente descritos no son concluyentes debido a que la cantidad de mezcla empleada en cada caso no fue monitoreada, pudiendo aplicar una capa pictórica más ligera en los casos del aceite de linaza y yema de huevo, así como en el sellado y de la base de preparación, lo cual se evidenció en el análisis con espectroscopía Raman, donde las preparaciones en donde se podían observar bandas asociadas a la laca aplicadas directamente sobre papel, no se aprecian en el sellado. En este sentido, la mayor contribución al espectro Raman son bandas de la celulosa del papel. Algunas bandas de los aglutinantes y papel se encuentran en la zona en donde las lacas podían ser diferenciadas entre sí, observándose solamente las bandas de la laca en 983, 1445 y

1581  $\text{cm}^{-1}$ . Idealmente la combinación de una base de preparación lo suficientemente gruesa podría minimizar la intensidad de las bandas del papel y un aglutinante que no sea Raman activo permitirían la observación de la mayoría de las bandas de la laca, tal y como se observó en el *tzauhtli* y la base de preparación de carbonato de calcio. A partir de este trabajo se ha evidenciado la dificultad del análisis directo de las lacas amarillas mediante espectroscopía Raman para las preparaciones utilizadas.

Por otro lado, y a diferencia de las lacas puras, la mayor contribución a la fluorescencia de los materiales pictóricos es el papel y los aglutinantes en la longitud de onda larga (366 nm), mientras que para la longitud de onda corta (280 nm) la fluorescencia observada podría ser la de la laca. Por otro lado, la mayor variación de entre todos los aglutinantes empleados en la imagen infrarroja de falso color es la yema de huevo. La combinación de una base de carbonato de calcio y *tzauhtli* muestran los resultados más dispersos en ambas lacas, asociándose esto al grosor de la capa de preparación o quizá al mismo *tzauhtli*.

## Capítulo 8. Aplicación de la metodología en el estudio de una obra original

En el estudio de un códice o un documento colonial, un primer análisis con técnicas no destructivas y no invasivas es preferible. Debido a esto, la metodología idónea se muestra en siguiente esquema:



La primera etapa del estudio comprende el análisis no destructivo con colorimetría, espectroscopía Raman de 1064 nm y técnicas de imagen, teniendo en cuenta las limitaciones ya discutidas anteriormente de estas técnicas.

Debido a que el soporte influye fuertemente en el estudio de los pigmentos, en una segunda etapa un micro-desprendimiento de la capa pictórica podría permitir un análisis por espectroscopía Raman de 1064 nm, tal y como se hizo en la fase II de este trabajo. Platania *et al.*<sup>[110]</sup> han evaluado la micro-extracción de colorantes rojos en el estudio SERS de éstos en diferentes soportes, y proponen el uso de pequeños cubos de gel de agar para este fin.

Considerando que solamente de las lacas de *zacatlaxcalli* fresco se pudieron obtener espectros SERS bien definidos, tal y como se observó en la fase II de este trabajo, se propone como última etapa, una extracción por hidrólisis, la cual podría desprender la molécula colorante de su sustrato, permitiendo así un análisis SERS con los láseres de 532 nm y 785 nm, siguiendo la metodología empleada en la fase I de este trabajo. Este proceso es completamente destructivo y por eso se propone en el caso de que la etapa previa no proporcione ningún resultado.

### 8.1. Estudio del Códice Sierra-Texupan

Como un ejemplo de la aplicación, no destructiva y no invasiva, además de *in situ* de la metodología anteriormente descrita, se presentan algunos de los resultados obtenidos para las zonas amarillas del códice Sierra-Texupan.



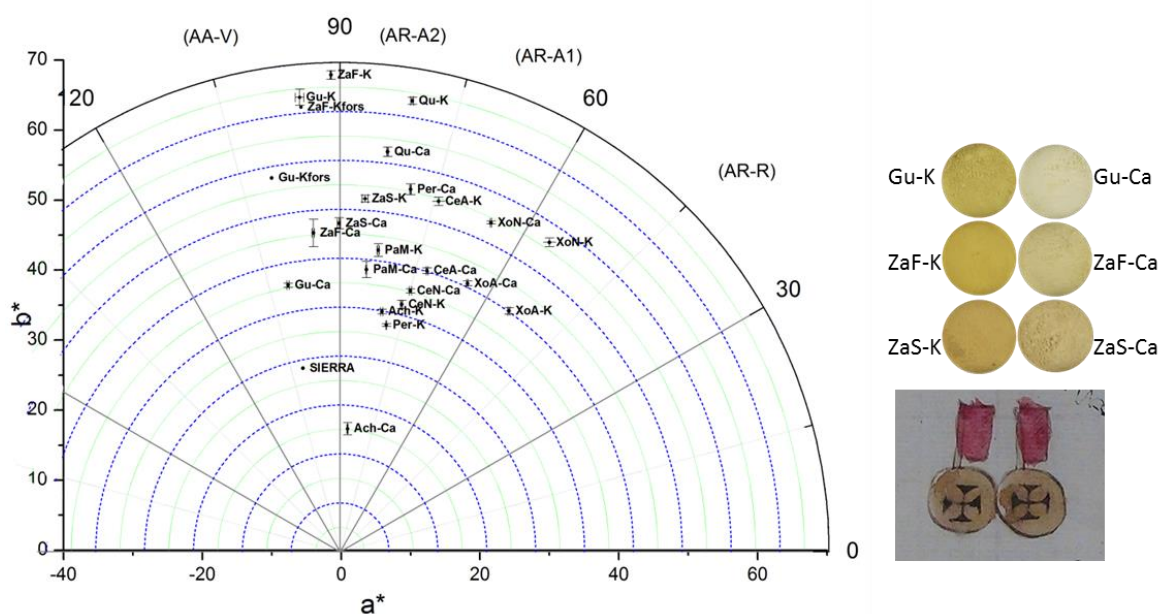
El códice Sierra-Texupan es un libro del registro de los gastos entre los años 1551-1564 de la comunidad de Santa Catalina Texupan en la Mixteca alta de Oaxaca<sup>[111]</sup>. Actualmente se encuentra resguardado por la Biblioteca Histórica José María Lafragua de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.



Figura 64. Imagen del folio 33 del códice Sierra-Texupan. Fotografía Isaac Rangel

Para este estudio se utilizó el espectrómetro Raman portátil de 1064 nm y las cámaras fotográficas y de video descritas anteriormente. El análisis colorimétrico se consiguió de manera indirecta al convertir los valores obtenidos del espectrómetro FORS.

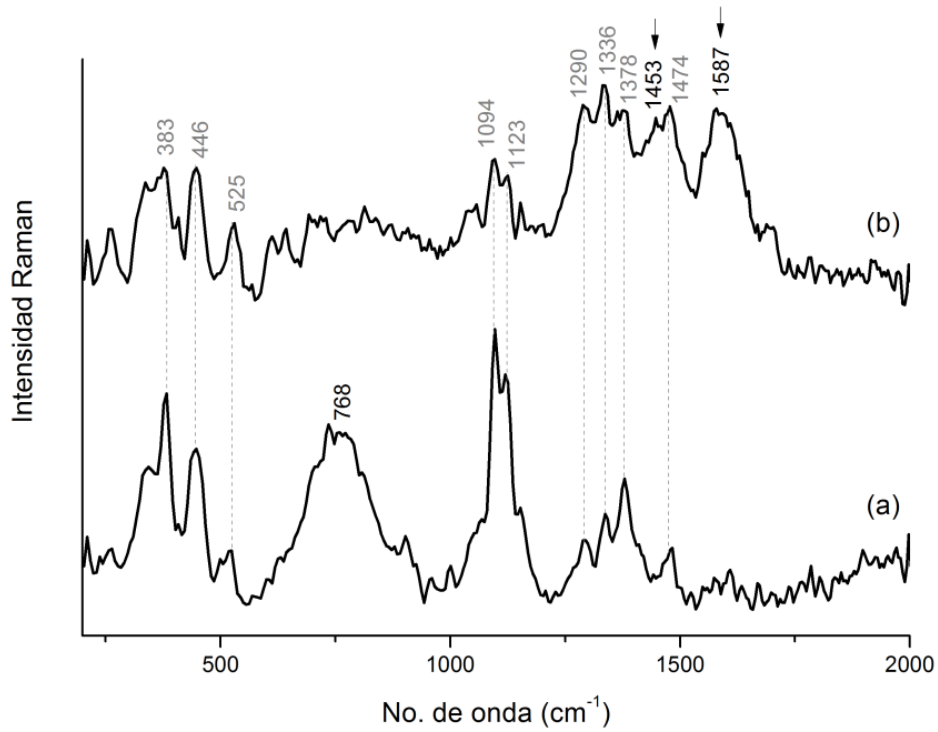
Una consecuencia directa del uso de FORS, es el desplazamiento de las coordenadas colorimétricas respecto a las obtenidas de forma convencional con el colorímetro, tal y como se muestra para las lacas de ZaF-K y Gu-K (figura 65), las cuales fueron obtenidas indirectamente por el equipo FORS. A pesar de ello, se observa que la medida del amarillo en el folio 33 se encuentra en el intervalo de estas lacas (AA-V). En el entendido de que, de acuerdo a los resultados obtenidos en la segunda fase de esta tesis, las únicas lacas que pueden dar coordenadas colorimétricas en esta zona son las de gualda y *zacatluxcalli*, se sugiere que, a partir de esta técnica, el amarillo utilizado en las monedas de este folio podría provenir de alguna de estas dos plantas.



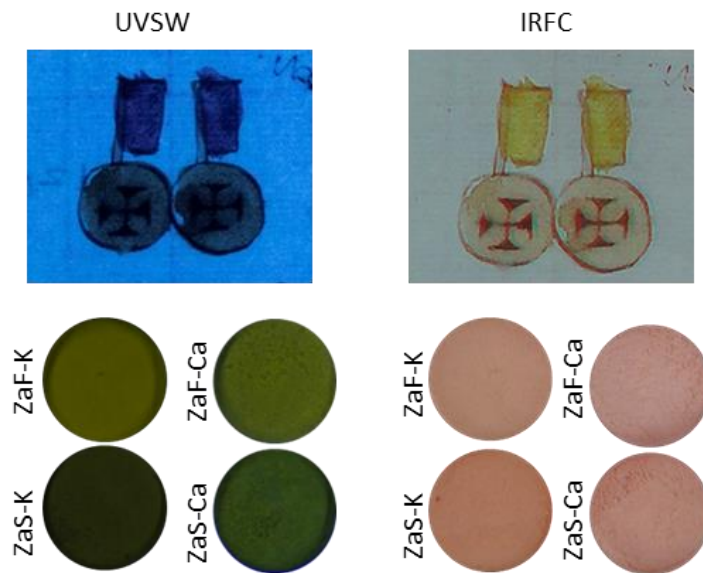
**Figura 65.** Izquierda: comparación entre las medidas de las lacas puras con la zona amarilla en el folio 33 del códice Sierra. Derecha, comparación entre las imágenes de las lacas puras de *zacatluxcalli* y gualda con el amarillo en las monedas del códice Sierra-Texupan.

Por otro lado, el espectro Raman de este amarillo (figura 66-b), muestra una combinación de bandas asociadas a las vibraciones de la celulosa del papel, las cuales se confirman en el espectro tomado del papel de este mismo folio (figura 66-a). El perfil espectral observado en el intervalo de  $1200-1800\text{cm}^{-1}$  es bastante parecido al observado en las lacas puras. Comparado con las lacas del intervalo colorimétrico AA-V, es posible asociar las bandas en  $1453$  y  $1587\text{cm}^{-1}$  a las bandas más intensas del espectro de las lacas de *zacatluxcalli*, en donde es probable que la banda restante en  $1531\text{cm}^{-1}$  esté por debajo de la señal de papel. Por otro lado, las bandas de las lacas de gualda se asemejan en menor medida, sobre todo debido a la ausencia de la banda en  $1261\text{cm}^{-1}$ , la cual es la segunda más intensa en este pigmento.

La señal espectral relacionada al aglutinante no fue observado, pudiendo ser un polisacárido como la goma arábiga o el *tzauhtli*.



**Figura 66.** Espectros Raman  $\lambda=1064$  nm del folio 33 del códice Sierra-Texupan: a) papel, b) zona amarilla.

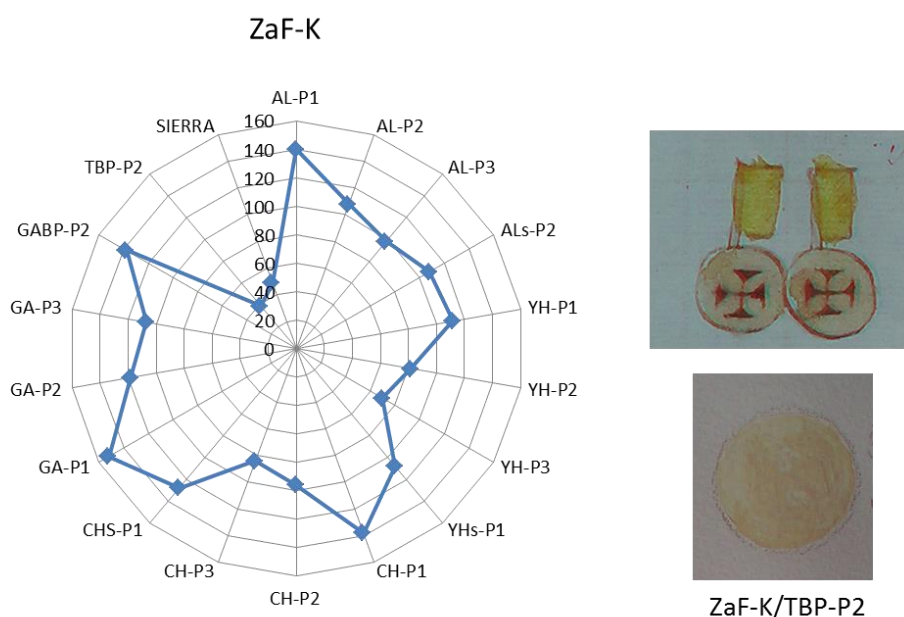


**Figura 67.** Comparación entre las imágenes UV y falso color de la zona amarilla del folio 33 del códice Sierra-Texupan con las lacas puras de *zacatlaxcalli* fresco y seco.



Tal y como se observó en la Fase III de este trabajo, la mayor contribución a la fluorescencia de los materiales pictóricos bajo la longitud de onda larga (UVLW) son el soporte y los aglutinantes, mientras que en la longitud de onda corta (UVSW) se puede observar la fluorescencia asociada a la laca pura. Por tal razón en la figura 67 se comparan las imágenes de estas lacas con la zona amarilla del folio 33, obtenidas con la longitud de onda corta, en donde se observa una fluorescencia similar. Por otro lado no existe alguna coincidencia entre la comparación con las imágenes de falso color para estas mismas lacas.

Al aplicar la metodología para el análisis de imágenes de falso color se observa que en efecto, el matiz de la zona amarilla en el códice no es comparable con el de las lacas puras. En este sentido el valor más cercano se obtiene al confrontar éste con la información de la referencia de ZaF-K aplicada con *tzauhtli* sobre una base de preparación de carbonato de calcio (figura 68).



**Figura 68.** Izquierda: comparación del matiz (H) en las imágenes de falso color de la zona amarilla del códice Sierra-Tezupán (SIERRA) con la información de los materiales pictóricos de referencia elaborados con la laca de ZaF-K. Derecha: comparación de la imagen de falso color de la zona amarilla del códice con la referencia de esta misma laca aplicada con *tzauhtli* sobre una base de preparación de carbonato de calcio.

## 8.2. Consideraciones finales

La primera parte de la metodología propuesta para el estudio de lacas amarillas en una obra original, la cual se basa en estudios no destructivos y no invasivos, fue ejemplificada con el caso de estudio del códice Sierra-Tezupán. El análisis colorimétrico permitió delimitar el número de lacas con el cual se compararon los demás estudios, siendo *zacatlaxcalli* y gualda los recursos naturales que dieron tonalidades en las lacas en el mismo intervalo del amarillo del folio 33 del códice.

Con la espectroscopía Raman fue posible identificar un espectro característico de una laca amarilla, el cual resultó ser más similar al espectro de las lacas de *zacatlaxcalli* que las de gualda.

El estudio de las imágenes UV con longitud de onda corta permitió observar una fluorescencia similar entre las lacas puras de *zacatlaxcalli* y el amarillo del códice. Por otro lado, el matiz obtenido de las imágenes de falso color más parecido a esta zona, es el de la laca aplicada con *tzauhtli* sobre una base de preparación de carbonato de calcio.

Por todo lo anterior se propone que el pigmento con el que fue pintada la zona amarilla del folio 33 del códice Sierra-Texupan es una laca de *zacatlaxcalli*. Se debe considerar que este estudio es una primera aproximación a los materiales presentes en el códice y de ninguna manera es concluyente. Primeramente hay que considerar un nuevo análisis con el colorímetro y no con FORS, ya que la diferencia en las medidas colorimétricas podrían estar asociadas al cambio de espacio de color o a condiciones del mismo equipo.

Un siguiente estudio (estudios micro-destructivos) con las fases faltantes a esta metodología podría ser propuesto para asegurar la presencia de este pigmento laca.

## Conclusiones

En este trabajo se propuso una metodología para el estudio de colorantes amarillos extraídos de plantas mexicanas que fueron utilizadas en época prehispánica y periodo colonial, mediante espectroscopía Raman y SERS complementada con análisis colorimétrico y técnicas de imagen.

En la primera fase de este trabajo se estudiaron los extractos acuosos obtenidos de siete diferentes especímenes: *zacatlaxcalli*, cempasúchil, achiote, palo mora, *xochipalli*, pericón y gualda. El análisis con la espectroscopía Raman amplificada por superficie (SERS) de los extractos permitió obtener espectros característicos y bien definidos, que no pudieron ser obtenidos con Raman convencional, los cuales resultaron útiles para entender las moléculas presentes.

Tras la evaluación de tres distintos coloides como sustrato SERS, se observó que los mejores resultados se obtuvieron con el de plata reducido con citrato de sodio, mientras que con el coloide de oro raramente se pudieron obtener espectros con el láser de 785 nm y ningún resultado en el caso del láser de 532 nm.

El uso de dos longitudes de onda distintas para las mediciones SERS permitió obtener espectros distintos y complementarios para algunas de las moléculas colorantes, como el caso del extracto de *zacatlaxcalli*, obteniendo así una primera caracterización Raman de los extractos.

De la misma forma, la necesidad de hacer estudios con especímenes locales se evidenció tras el análisis del extracto de gualda, en donde fue posible observar una molécula con características espectrales similares a la crisina, molécula que no se había reportado antes para los especímenes europeos.

Así mismo, el análisis SERS resultó ser reproducible (a pesar de las diferencias en tamaños y formas de nanopartículas empleadas) para ciertos especímenes como el achiote y *zacatlaxcalli*, mientras que para otros como el palo mora, los resultados fueron diferentes a los obtenidos por otros grupos de investigación.

En este trabajo se presentan por primera vez los estudios Raman y SERS de los extractos de cempasúchil, pericón y *xochipalli*, así como de sus constituyentes principales: las moléculas de quercetagina y buteína, de las cuales se tuvieron que realizar simulaciones para tratar de entender las bandas observadas en sus respectivos espectros.

Debido a que la identificación de los colorantes en patrimonio cultural generalmente está basada en la comparación de los estudios realizados a los objetos con aquellos obtenidos en materiales de referencia, en una segunda etapa (fase II) y siguiendo recetas antiguas adaptadas a condiciones de laboratorio, se elaboraron 22 pigmentos laca con los extractos anteriormente estudiados. De forma general, en la receta 1 el alumbre potásico se agregó al extracto en condiciones neutras,

mientras que en el procedimiento 2 se parte de un extracto en condiciones alcalinas, obteniéndose dos diferentes lacas para cada espécimen utilizado.

La metodología propuesta para el estudio de lacas amarillas consistió en un análisis colorimétrico, espectroscopía Raman de 1064 nm, SERS e imagen UV-Vis, IR e infrarrojo de falso color (IRFC). La colorimetría permitió agrupar a las lacas de acuerdo a sus valores cromáticos  $a^*$  y  $b^*$  en cuatro intervalos específicos. La luminosidad (L) resultó estar relacionada con la cantidad de colorante extraído de la planta en la receta 1, mientras que en la receta 2, la cantidad de carbonato de calcio modificó la magnitud de esta coordenada colorimétrica.

Por otro lado, la espectroscopía Raman con un láser de 1064 nm dió como resultado espectros de las lacas en donde se pudieron identificar los sustratos y residuos inorgánicos presentes en éstas, así como también las bandas asociadas al complejo flavonoide-aluminio alrededor de 1580, 1480, 1440 y 1340  $\text{cm}^{-1}$ , asociadas principalmente a las vibraciones  $\nu(\text{C}=\text{C})$  y vibraciones de los anillos A y B del flavonoide. Si bien los espectros son similares entre sí, algunos cambios en intensidad y bandas adicionales hacen que se pueda identificar a cada espécimen y receta empleados, a excepción de las lacas de pericón, cuyos espectros resultaron ser bastantes similares al de las lacas de cempasúchil y *zacatlaxcalli* seco.

El estudio SERS de lacas fue exitoso solamente en algunos casos como el de la laca de *zacatlaxcalli* fresco. En particular, el cempasúchil, el pericón y el *xochipalli* fueron SERS inactivos, probablemente debido a la competencia entre las nanopartículas y el aluminio.

Las técnicas de imagen permitieron hacer conjuntos de lacas de acuerdo a su actividad UV y a su matiz, en la fluorescencia UV y el infrarrojo de falso color, respectivamente.

Uno de los mayores retos en el estudio de colorantes amarillos es su identificación directa en objetos, lo cual se evidencia en la tercera parte de esta metodología (fase III), en donde los aglutinantes, el soporte y la base de preparación o sellado de los materiales pictóricos de referencia, hacen que los resultados obtenidos varíen con respecto a los obtenidos en las lacas puras.

En el caso de las probetas de pigmentos laca, la mayoría de las bandas observadas en el espectro Raman de estos materiales están asociadas a vibraciones moleculares de la celulosa del papel, superponiéndose éstas a las bandas características de las lacas. La presencia de algunos aglutinantes y el sellado con cola de conejo hace que la identificación de las lacas por esta técnica sea más difícil. Fue posible, sin embargo, observar para concentraciones altas de laca, y ciertos aglutinantes basados en polisacáridos (como la goma arábiga y el *tzauhtli*) cuya respuesta Raman no es detectable, que algunas bandas asociadas a la laca puedan ser observadas, definiéndose más el espectro cuando se tiene una base de preparación lo suficientemente gruesa para no observar el espectro de papel. Esto evidenció que la aplicación del análisis por Raman se encuentra limitada a ciertas condiciones experimentales.

El uso de la longitud de onda corta UV permitió observar la fluorescencia intrínseca de la laca, mientras que la mayor contribución a la fluorescencia de los materiales pictóricos es el papel y los aglutinantes en la longitud de onda larga. Por otro lado, la mayor variación de entre todos los aglutinantes empleados en la imagen infrarroja de falso color es la yema de huevo. La combinación de una base de carbonato de calcio y *tzauhtli* muestran los resultados más dispersos en el matiz para ambas lacas, asociándose esto al grosor de la capa de preparación o al mismo *tzauhtli*.

Finalmente en el estudio de una obra original, es preciso comenzar por una metodología no destructiva y no invasiva, tal y como la mostrada en la fase III de este trabajo. Esta metodología permitió proponer que el pigmento amarillo del folio 33 del códice Sierra-Texupan podría corresponder a una laca de *zacatlaxcalli*. Este análisis es sólo preliminar y no es concluyente. En principio se propone para esta identificación una micro-extracción de la capa pictórica para su estudio con SERS, utilizando la metodología propuesta en la primera parte de esta tesis.

Por todo lo anterior, en esta tesis se demostró que aunque el estudio de colorantes amarillos presentes en patrimonio cultural es difícil mediante técnicas no destructivas y no invasivas, fue posible desarrollar una metodología con espectroscopía Raman complementada con técnicas de imagen y colorimetría para la identificación de estos colorantes en pigmentos laca, gracias a la elaboración de nuevos materiales de referencia, lo cual fue parte también del objetivo de este trabajo.

Si bien SERS resulta una técnica micro-destructiva, se ha concluido que es una poderosa herramienta en la identificación de los recursos naturales de donde los colorantes orgánicos amarillos eran extraídos en época prehispánica y periodo colonial.

Esta tesis permitió obtener bases de datos de espectros Raman de colorantes amarillos, lacas y materiales pictóricos con el fin de emplearlos en la identificación de una obra original. De esta manera se alcanzaron todos los objetivos planteados en esta investigación.



## Trabajo a futuro

A continuación se mencionan algunos puntos que pueden complementar este estudio, los cuales no pudieron ser desarrollados en el tiempo que duró la presente investigación.

En principio, se propone realizar los correspondientes estudios sobre *cuapascle* o *cuappachtli* (*Usnea florida*) que es una especie de líquen del que también se sabe se extraía un color amarillo, pues para este estudio no fue posible conseguirlo ni colectarlo.

Se debe completar los materiales pictóricos de referencia con las lacas faltantes, esta vez considerando monitorear la cantidad de mezcla de laca y aglutinante utilizado, representando una mejora a la presente metodología.

La micro-extracción de la capa pictórica para su análisis Raman/SERS debe ser implementada primero en los materiales pictóricos de referencia, con el fin de evaluar la pertinencia de su aplicación en obras de patrimonio cultural únicas.

El envejecimiento es una variable que no fue considerada en este trabajo debido al tiempo del que se disponía. Resulta necesario evaluar la capacidad que tiene esta metodología en materiales envejecidos, con el fin de acercarse lo más posible a las condiciones de estudio de un objeto original.

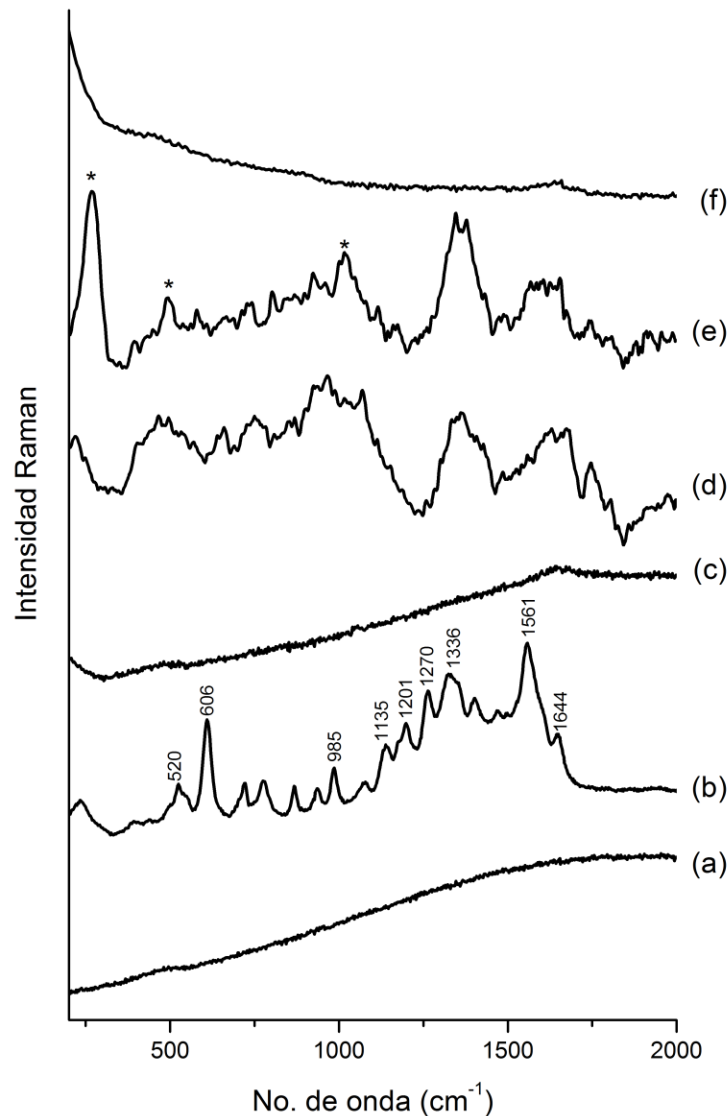
Finalmente, habría que aplicar esta metodología no sólo en lacas amarillas, sino también en colorantes amarillos en diferentes soportes. En este sentido, se propone el estudio de fibras teñidas con estos recursos naturales las cuales fueron elaboradas en el transcurso de este trabajo.



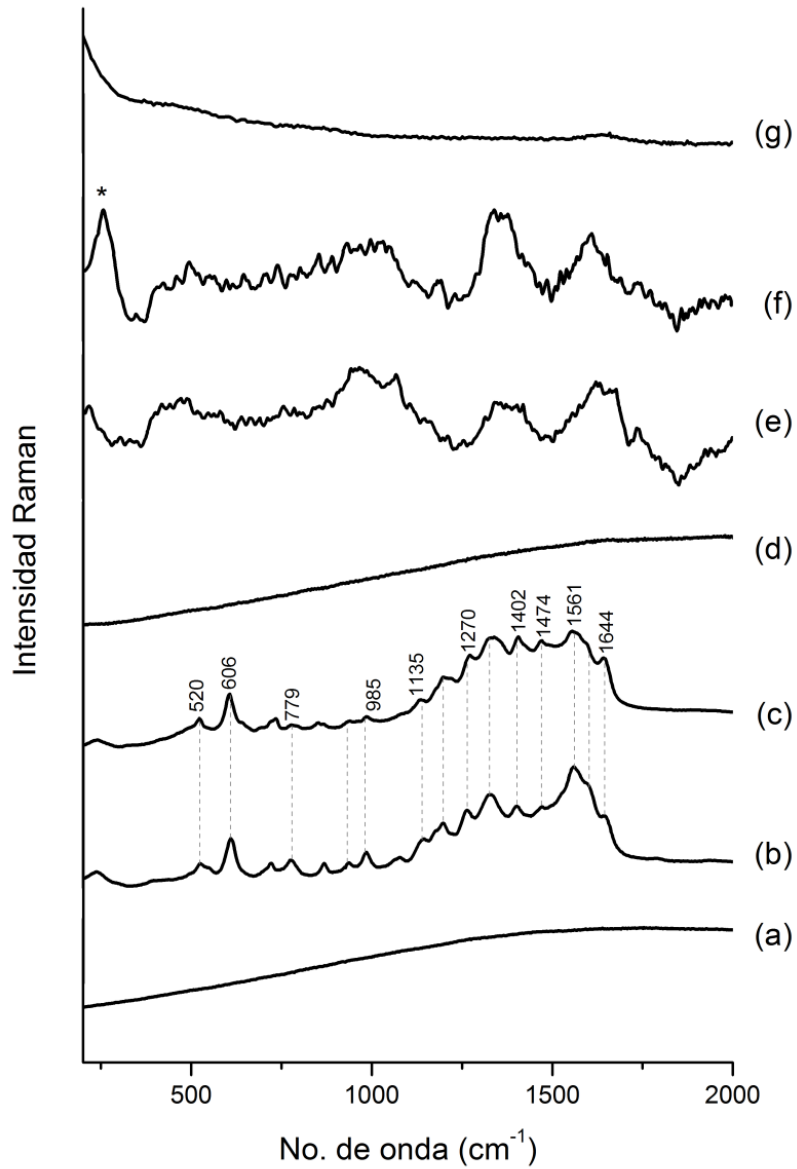


## Apéndice A

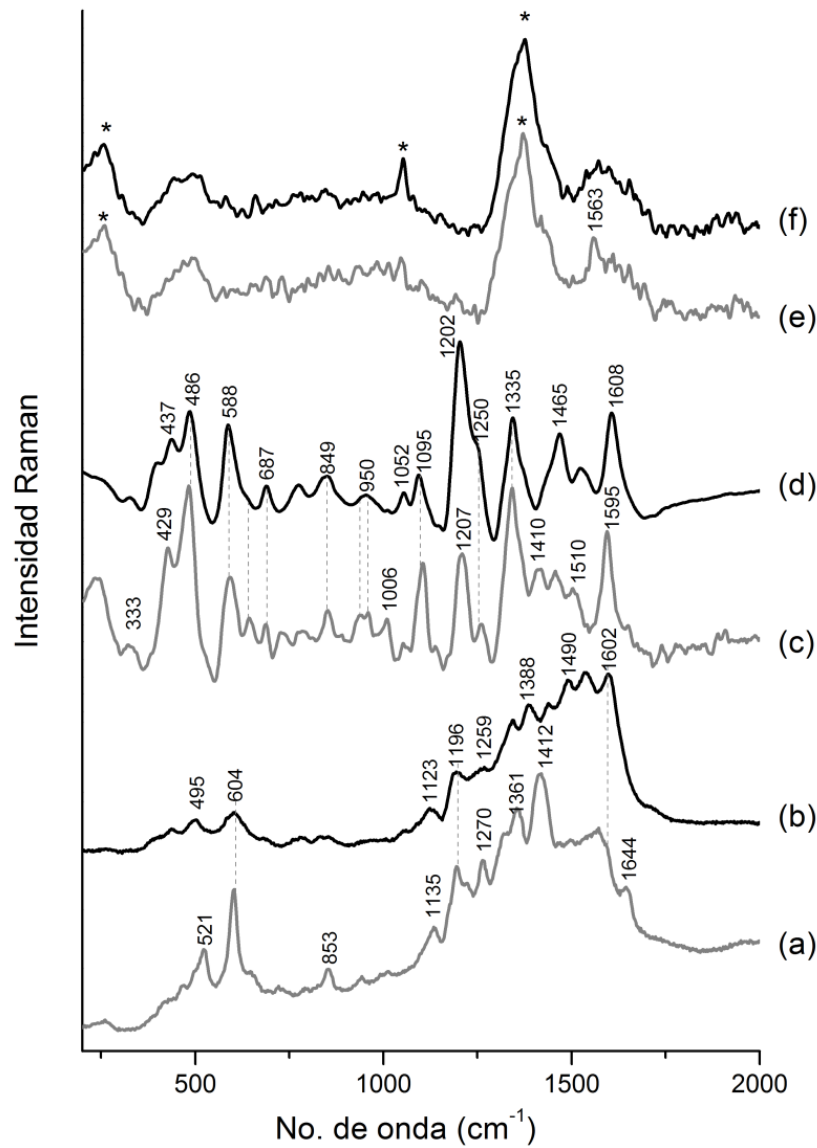
Debido a que no todos los resultados fueron presentados en el texto principal de esta tesis, y con el fin de que futuros lectores cuenten con todos los datos obtenidos para fines comparativos, en éste y los siguientes apéndices se muestran dicha información. En particular en esta sección se muestran todos los espectros obtenidos del estudio de extractos amarillos que no fueron presentados en el capítulo 5.



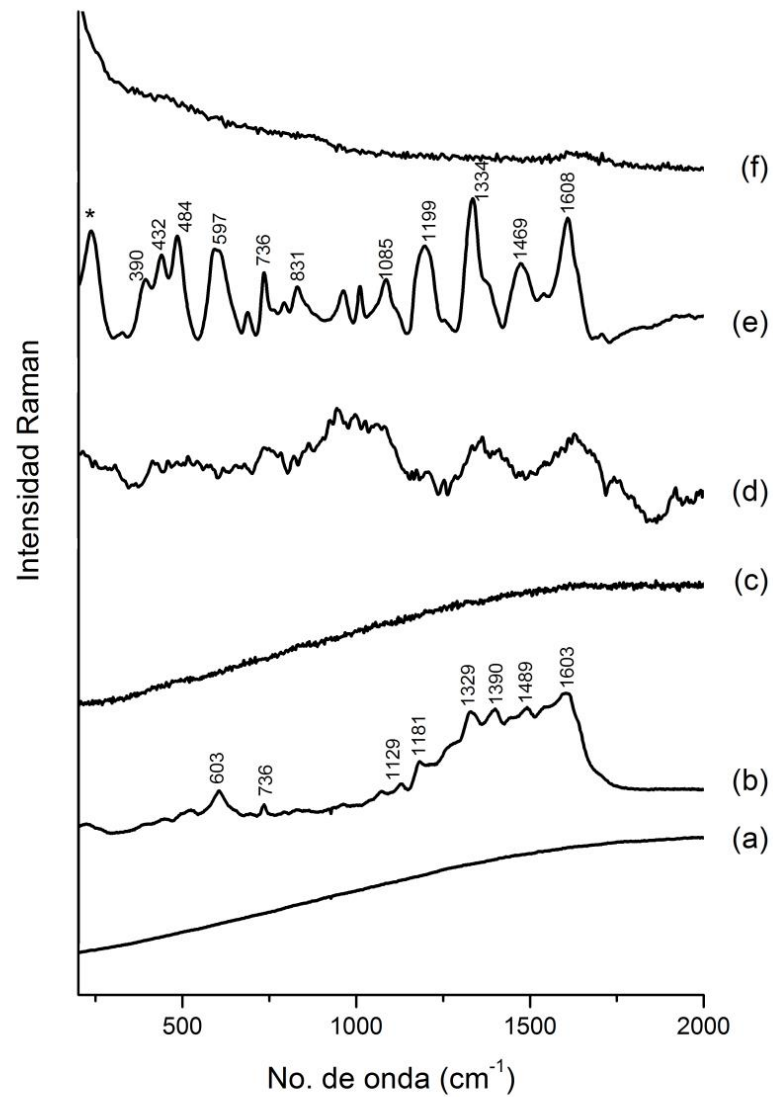
**Figura A-1.** Espectros Raman/SERS del extracto de *zacatlaxcalli* fresco: a) Raman con  $\lambda=532$  nm, b) SERS con  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Cit, c) SERS con  $\lambda=532$  nm y coloide Au-Cit, d) Raman  $\lambda=785$  nm, e) SERS con  $\lambda=785$  nm y coloide Au-Cit y f) Raman con  $\lambda=1064$  nm. Los asteriscos corresponden a las bandas asociadas al coloide.



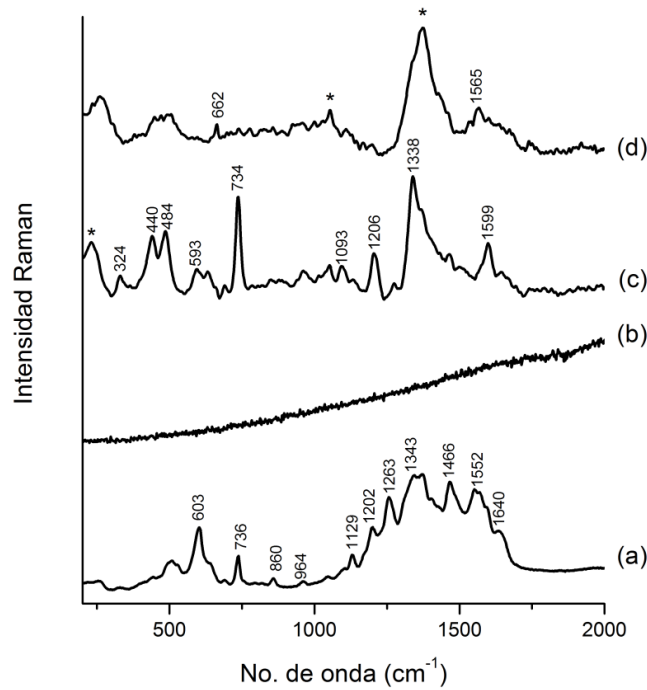
**Figura A-2.** Espectros Raman/SERS del extracto de *zacatlaxcalli* seco: a) Raman con  $\lambda=532$  nm, b) SERS con  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Cit, c) SERS con  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Hx, d) SERS con  $\lambda=532$  nm y coloide Au-Cit, e) Raman  $\lambda=785$  nm, f) SERS con  $\lambda=785$  nm y coloide Au-Cit y g) Raman con  $\lambda=1064$  nm. Los asteriscos corresponden a las bandas asociadas al coloide.



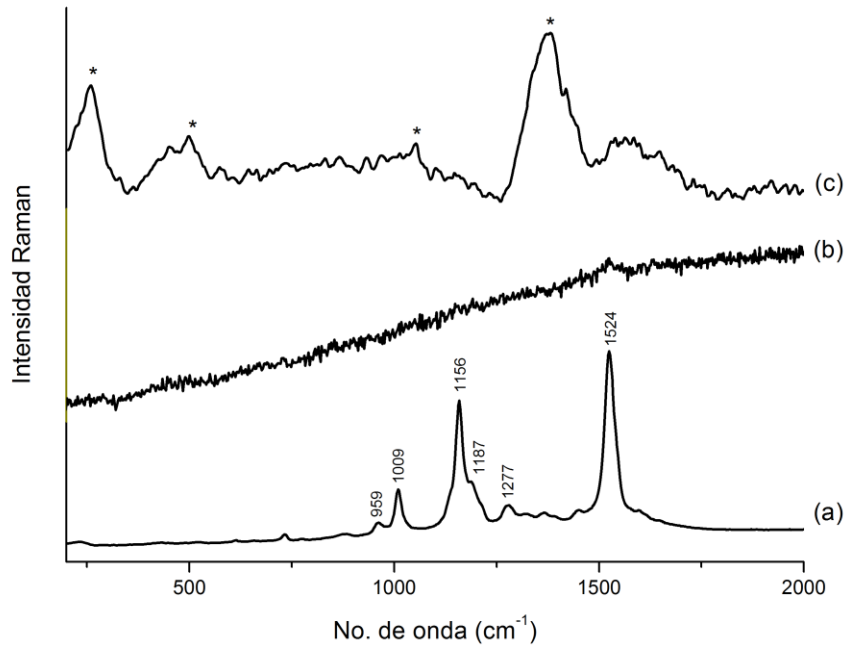
**Figura A-3.** Espectros SERS de las referencias de quercetina (en gris) y quercetagetina (en negro) con: a) y b)  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Hx; c) y d)  $\lambda=785$  nm y coloide Ag-Hx; e) y f)  $\lambda=785$  nm y coloide Au-Cit. Los asteriscos indican las bandas asociadas al coloide.



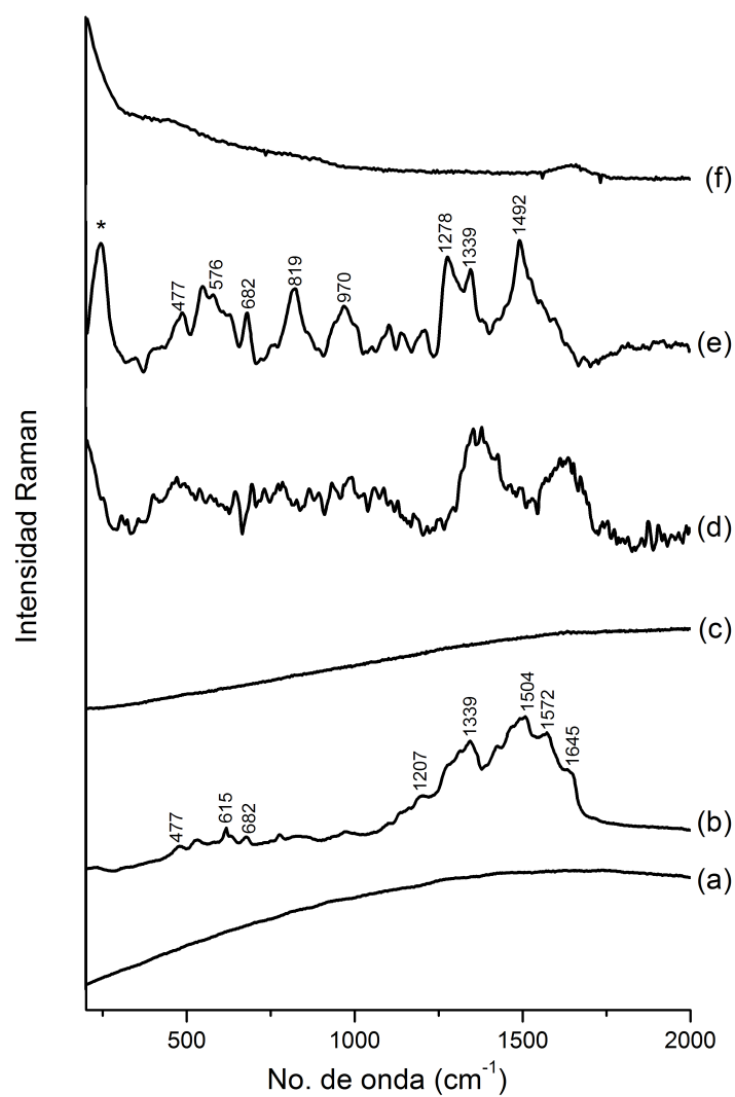
**Figura A-4.** Espectros Raman/SERS del extracto de cempasúchil naranja: a) Raman con  $\lambda=532$  nm, b) SERS con  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Cit, c) SERS  $\lambda=532$  nm y coloide Au-Cit, d) Raman  $\lambda=785$  nm, e) SERS  $\lambda=785$  nm y coloide Ag-Hx, f) Raman  $\lambda=1064$  nm. Los asteriscos denotan las bandas asociadas al coloide.



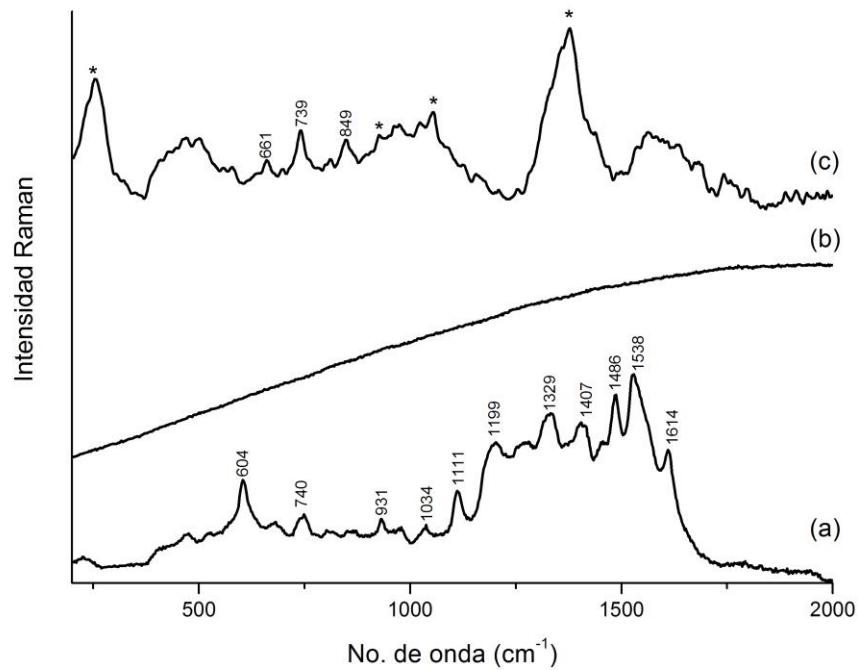
**Figura A-5.** Espectros Raman/SERS del extracto de cempasúchil amarillo: a) SERS con  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Cit, b) SERS con  $\lambda=532$  nm y coloide Au-Cit, c) SERS con  $\lambda=785$  nm y coloide Ag-Hx, d) SERS con  $\lambda=785$  nm y coloide Au-Cit. Los asteriscos denotan las bandas asociadas al coloide.



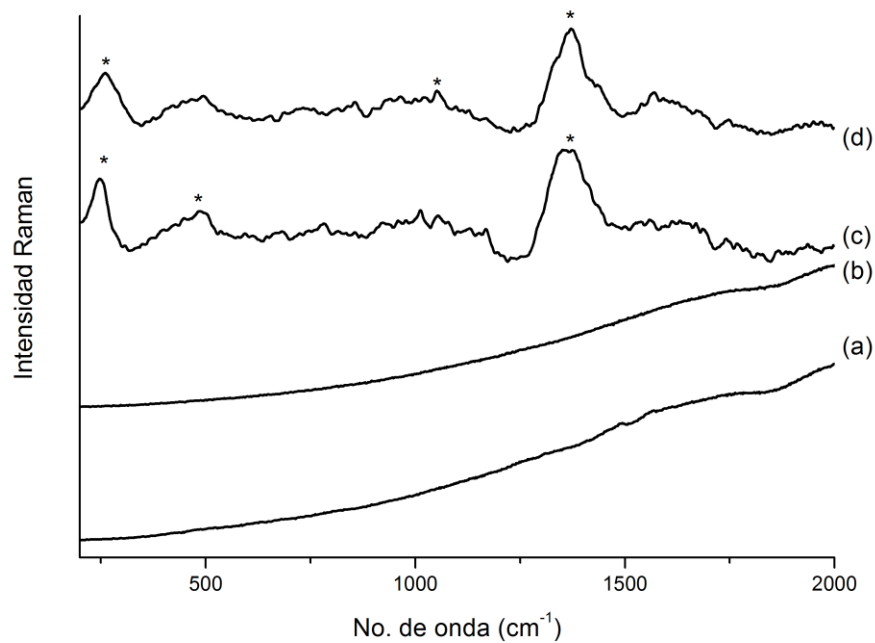
**Figura A-6.** Espectros SERS de extracto de achiote: a)  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Hx, b)  $\lambda=532$  nm y coloide Au-Cit, c)  $\lambda=785$  nm y coloide Au-Cit



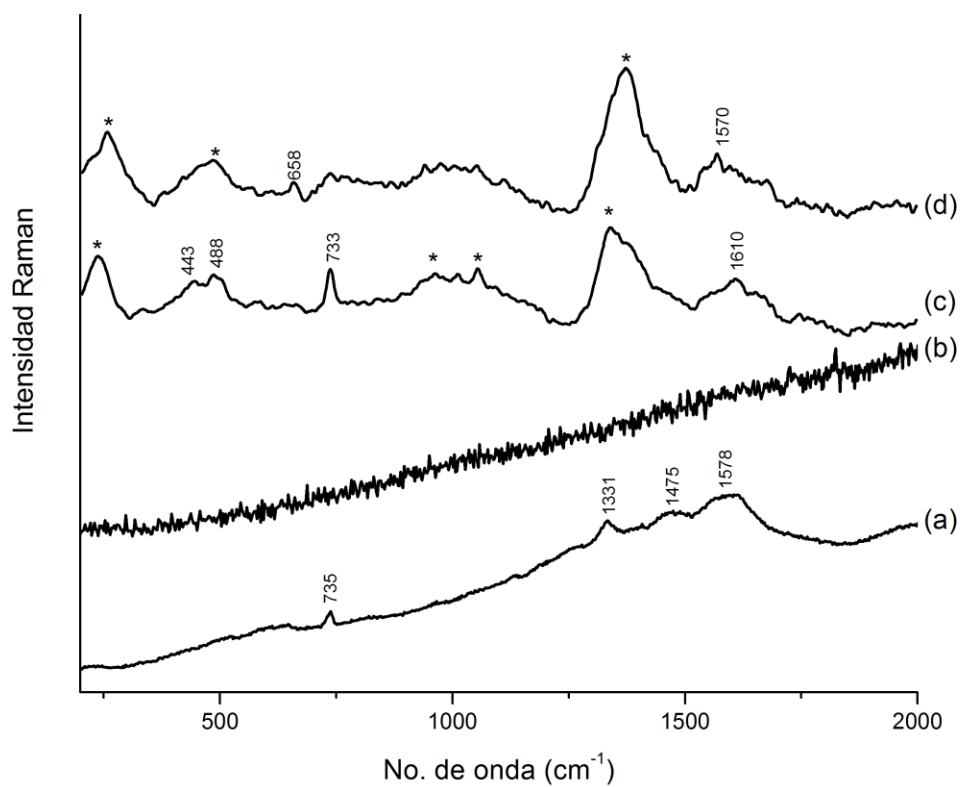
**Figura A-7.** Espectros Raman/SERS de extracto de palo mora: a) Raman con  $\lambda=532$  nm, b) SERS con  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Hx, c) SERS con  $\lambda=532$  nm y coloide Au-Cit, d) Raman con  $\lambda=785$  nm, e) SERS con  $\lambda=785$  nm y coloide Ag-Hx y f) Raman con  $\lambda=1064$  nm.



**Figura A-8.** Espectros SERS del extracto de *xochipalli* naranja: a)  $\lambda = 532$  nm y coloide Ag-Cit, b)  $\lambda = 532$  nm y coloide Au-Cit, c)  $\lambda = 785$  nm y coloide Au-Cit. Los asteriscos indican las bandas asociadas al coloide.



**Figura A-9.** Espectros SERS del extracto de *xochipalli* amarillo: a)  $\lambda = 532$  nm y coloide Ag-Hx, b)  $\lambda = 532$  nm y coloide Au-Cit, c)  $\lambda = 785$  nm y coloide Ag-Hx, d)  $\lambda = 785$  nm y coloide Au-Cit. Los asteriscos indican las bandas asociadas al coloide.



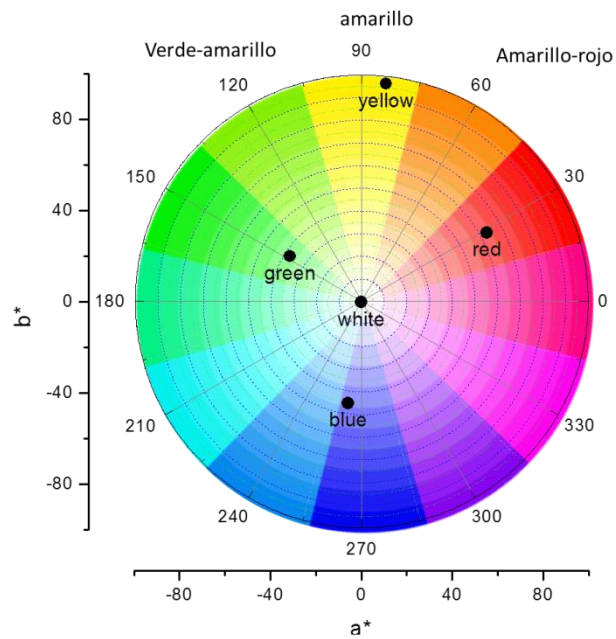
**Figura A-10.** Espectros SERS del extracto de pericón: a)  $\lambda=532$  nm y coloide Ag-Hx, b)  $\lambda=532$  nm y coloide Au-Cit, c)  $\lambda=785$  nm y coloide Ag-Hx, d)  $\lambda=785$  nm y coloide Au-Cit. Los asteriscos indican las bandas asociadas al coloide.



## Apéndice B

En este apartado se muestran algunos resultados referidos en el capítulo 6.

La asignación de los intervalos cromáticos fue de acuerdo a las referencias adquiridas, en donde se buscó una división en donde cada referencia estuviera en la zona correspondiente del círculo cromático, tal y como se muestra en la figura A-1.



**Figura B-1.** Asignación de intervalos de coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ . Círculo cromático: Eduardo García.

A continuación se muestran las coordenadas colorimétricas de las lacas puras.

**Tabla B-1.** Medidas colorimétricas con desviación estándar de las lacas amarillas

Laca	L	a*	b*
ZaF-K	83.17 ± 0.94	-1.48 ± 0.12	67.87 ± 0.60
ZaF-Ca	86.56 ± 2.45	-4.01 ± 0.17	45.31 ± 1.95
ZaS-K	73.60 ± 0.69	3.47 ± 0.42	50.20 ± 0.49
ZaS-Ca	84.13 ± 1.44	-0.31 ± 0.23	46.68 ± 0.80
Qu-K	70.57 ± 0.74	10.23 ± 0.21	64.19 ± 0.50
Qu-Ca	56.81 ± 0.29	6.70 ± 0.16	56.90 ± 0.65
PaM-K	73.07 ± 1.24	5.34 ± 0.16	42.84 ± 0.91
PaM-Ca	79.11 ± 1.29	3.64 ± 0.09	40.07 ± 1.16
Gu-K	87.81 ± 0.76	-5.98 ± 0.62	64.67 ± 1.15
Gu-Ca	95.63 ± 0.12	-7.64 ± 0.14	37.86 ± 0.31
Per-K	68.78 ± 0.26	6.52 ± 0.09	32.16 ± 0.22
Per-Ca	75.49 ± 0.79	10.01 ± 0.10	51.53 ± 0.79
Ach-K	83.97 ± 0.34	5.87 ± 0.18	34.08 ± 0.31
Ach-Ca	93.17 ± 0.68	0.93 ± 0.10	17.35 ± 0.87
XoA-K	48.66 ± 0.52	24.18 ± 0.25	34.16 ± 0.61
XoA-Ca	69.35 ± 0.76	18.20 ± 0.12	38.10 ± 0.21
XoN-K	42.92 ± 0.33	30.64 ± 0.14	38.45 ± 0.45
XoN-Ca	66.57 ± 0.80	8.71 ± 0.10	35.09 ± 0.34
CeN-K	61.51 ± 1.02	9.97 ± 0.16	37.04 ± 0.57
CeN-Ca	60.88 ± 0.64	14.04 ± 0.16	49.83 ± 0.30
CeA-K	88.74 ± 0.66	1.05 ± 0.25	24.94 ± 0.60
CeA-Ca	62.65 ± 0.24	12.36 ± 0.13	39.93 ± 0.40

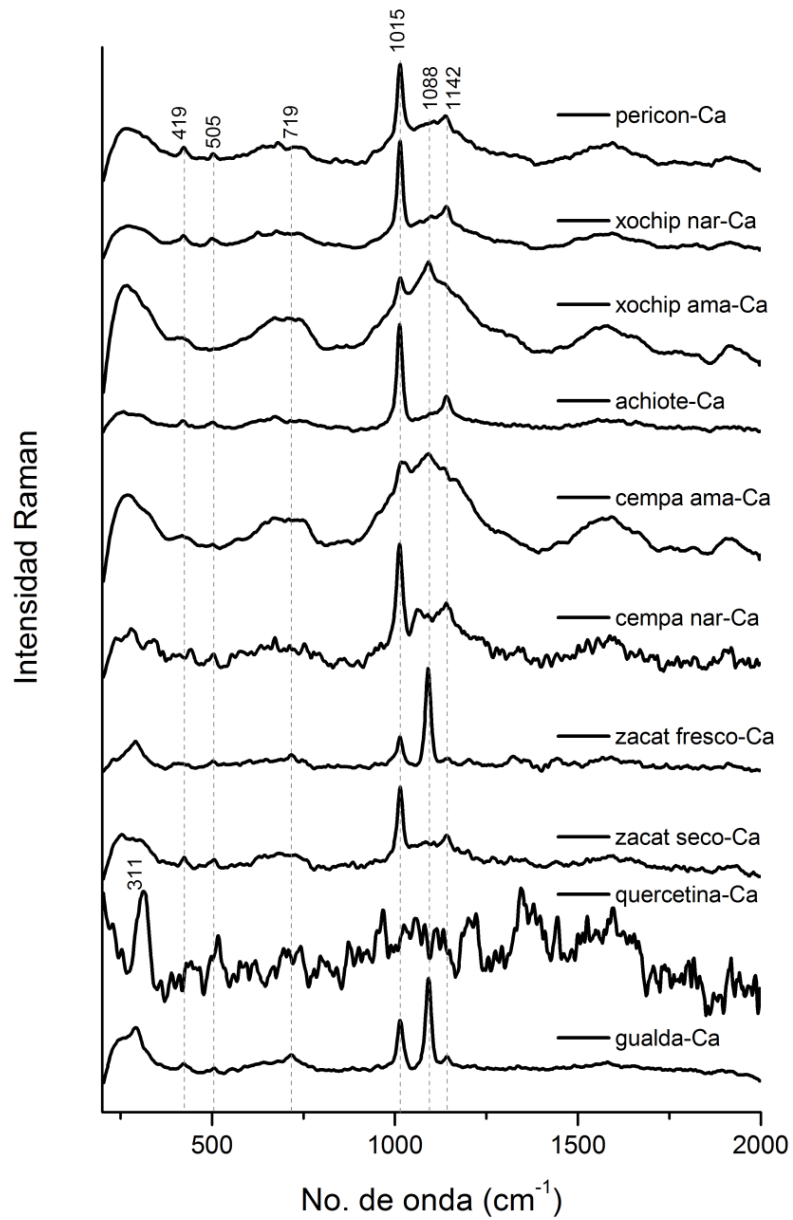
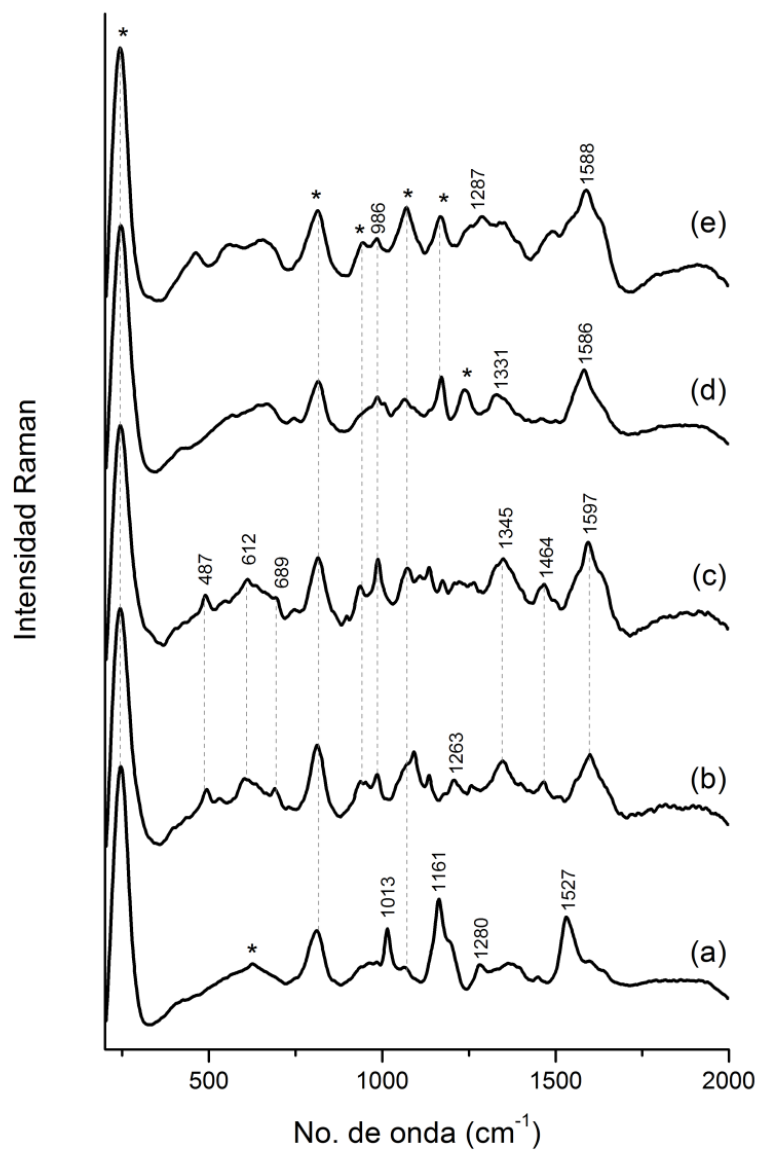
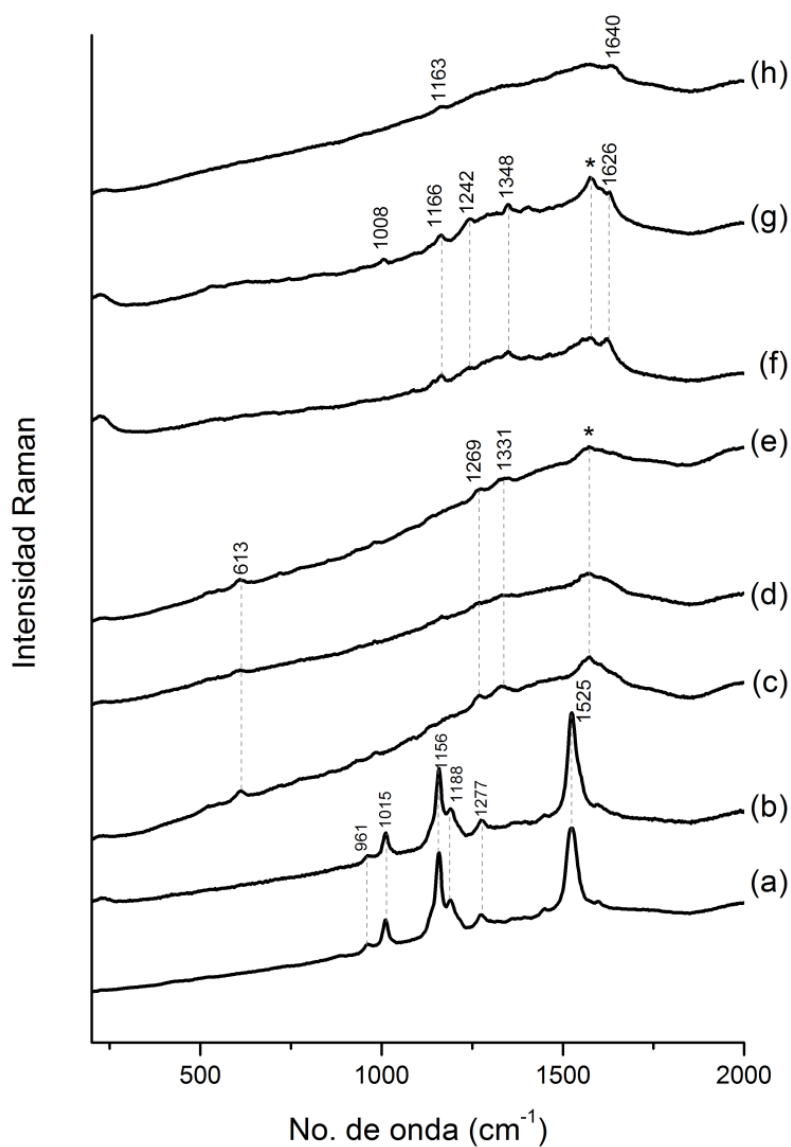


Figura B-2. Espectros Raman  $\lambda=785$  nm de las lacas elaboradas con el procedimiento 2.



**Figura B-3.** Espectros SERS con coloide Ag-Cit y  $\lambda=785$  nm de las lacas elaboradas con el procedimiento 2: a) Ach-Ca, b) ZaF-Ca, c) ZaS-Ca, d) Gu-Ca y e) PaM-Ca.



**Figura B-4.** Espectros SERS con coloide Ag-Cit y  $\lambda=532$  nm de las lacas de: a) Ach-K b) Ach-Ca, c) ZaF-Ca, d) ZaS-Ca, e) ZaS-K, f) Gu-Ca, g) Gu-K, h) PaM-Ca.

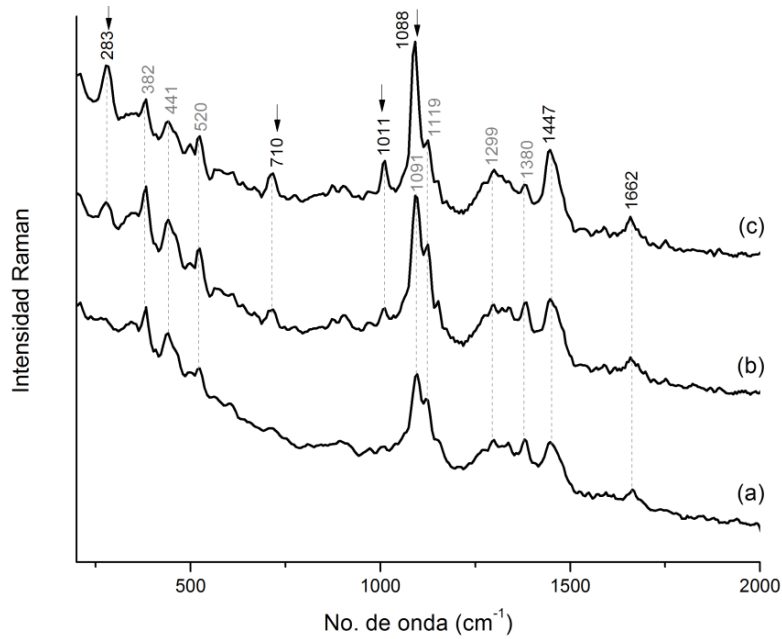


## Apéndice C

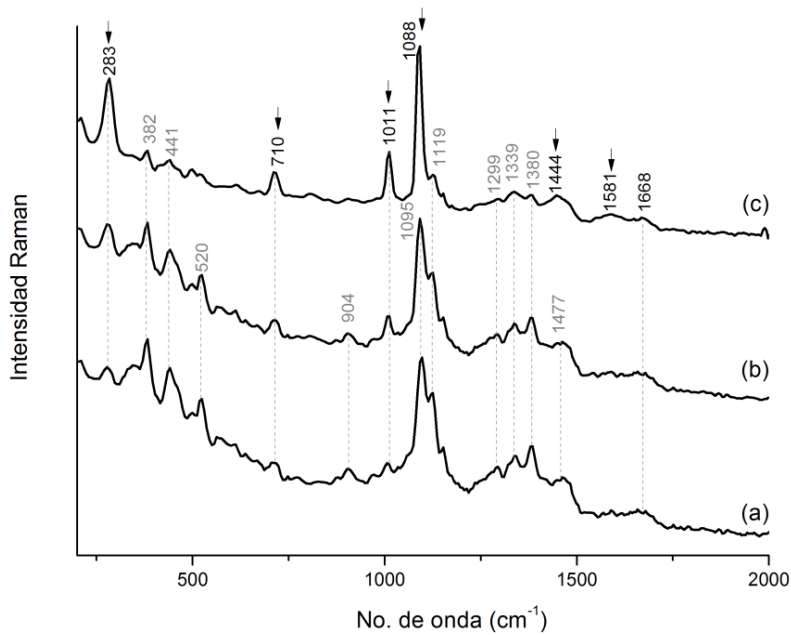
En esta sección se muestran los resultados mencionados en el capítulo 7.

**Tabla C-1.** Medidas colorimétricas de los materiales pictóricos de referencia

	Clave de la zona	L*	a*	b*
ZaF-Ca	TBP-P3	90.18 ± 0.68	-3.27 ± 0.17	40.93 ± 0.68
	GABP-P3	87.03 ± 1.15	-3.33 ± 0.68	58.10 ± 3.09
	GA-P3	87.25 ± 0.96	-2.61 ± 1.10	74.82 ± 2.18
	GA-P2	91.87 ± 0.48	-6.30 ± 0.37	60.99 ± 2.43
	GA-P1	94.47 ± 0.18	-6.96 ± 0.11	43.62 ± 1.44
	CHS-P2	84.51 ± 1.37	-2.13 ± 1.52	65.27 ± 5.12
	CH-P3	86.73 ± 0.57	-1.68 ± 0.40	70.67 ± 1.59
	CH-P2	90.49 ± 0.48	-5.45 ± 0.55	64.69 ± 1.72
	CH-P1	91.82 ± 1.01	-6.86 ± 0.17	48.04 ± 4.15
	YHS-P2	89.58 ± 1.52	-1.76 ± 0.51	53.37 ± 2.35
	YH-P3	83.56 ± 0.89	5.58 ± 1.49	77.16 ± 0.69
	YH-P2	92.19 ± 0.53	-2.31 ± 0.47	62.31 ± 1.09
	YH-P1	90.03 ± 1.09	-1.85 ± 0.35	54.68 ± 1.98
	ALS-P2	87.40 ± 0.91	-3.30 ± 0.57	45.28 ± 4.30
	AL-P3	85.31 ± 0.84	-2.31 ± 0.88	66.08 ± 3.27
	AL-P2	87.75 ± 0.64	-4.36 ± 0.31	56.52 ± 2.30
	AL-P1	87.48 ± 0.23	-4.48 ± 0.13	46.06 ± 2.61
ZaF-K	TBP-P2	82.58 ± 2.12	1.91 ± 1.68	62.62 ± 1.04
	GABP-P2	87.26 ± 0.54	-3.28 ± 0.56	64.38 ± 2.13
	GA-P3	83.25 ± 1.03	6.65 ± 1.14	87.76 ± 0.12
	GA-P2	83.52 ± 1.92	2.87 ± 2.29	82.78 ± 1.14
	GA-P1	89.13 ± 0.92	-5.34 ± 0.76	63.11 ± 2.78
	CHS-P1	87.45 ± 1.90	-0.15 ± 3.12	71.93 ± 7.01
	CH-P3	81.22 ± 1.22	7.08 ± 0.70	73.38 ± 1.64
	CH-P2	84.12 ± 0.34	4.72 ± 0.37	80.00 ± 0.76
	CH-P1	87.04 ± 0.89	-2.10 ± 0.82	79.15 ± 0.89
	YHS-P1	90.24 ± 0.47	-0.78 ± 1.04	69.01 ± 2.63
	YH-P3	75.19 ± 0.55	10.53 ± 0.72	73.05 ± 1.18
	YH-P2	78.21 ± 2.30	9.82 ± 1.44	82.04 ± 2.75
	YH-P1	88.64 ± 2.30	1.58 ± 0.94	68.05 ± 4.61
	ALS-P2	86.20 ± 1.32	0.56 ± 2.59	72.99 ± 2.89
	AL-P3	76.56 ± 0.36	6.84 ± 0.41	72.72 ± 0.32
	AL-P2	78.61 ± 0.80	4.10 ± 1.13	68.56 ± 1.46
	AL-P1	83.63 ± 0.96	-0.87 ± 0.94	60.22 ± 2.20

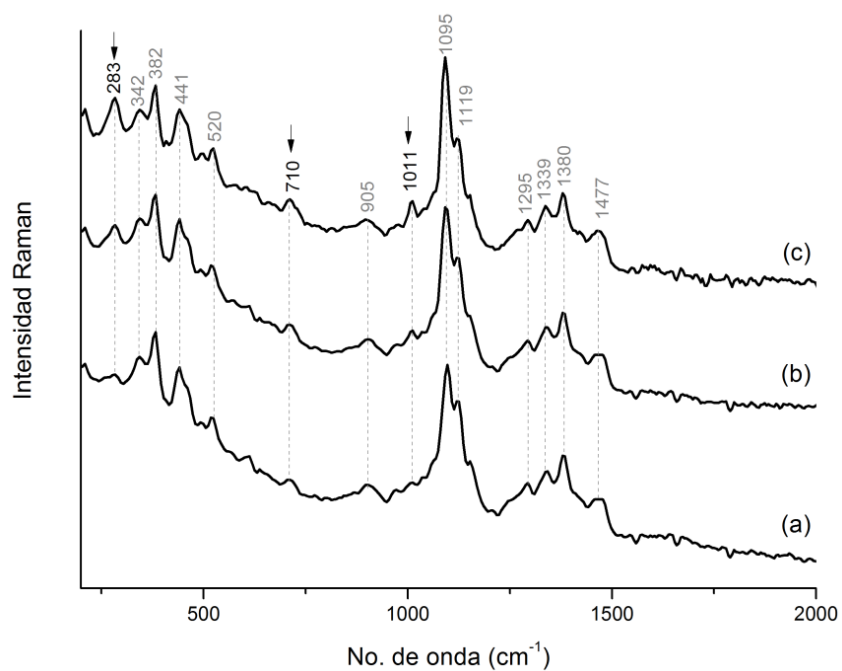


**Figura C-1.** Espectro Raman  $\lambda= 1064$  nm de la laca de ZnF-Ca aglutinada con yema de huevo y aplicada sobre papel: a) proporción P1, b) proporción P2 y c) proporción P3. En gris se encuentran los números de onda de las bandas de papel. Las flechas corresponden a bandas asociadas a la laca.

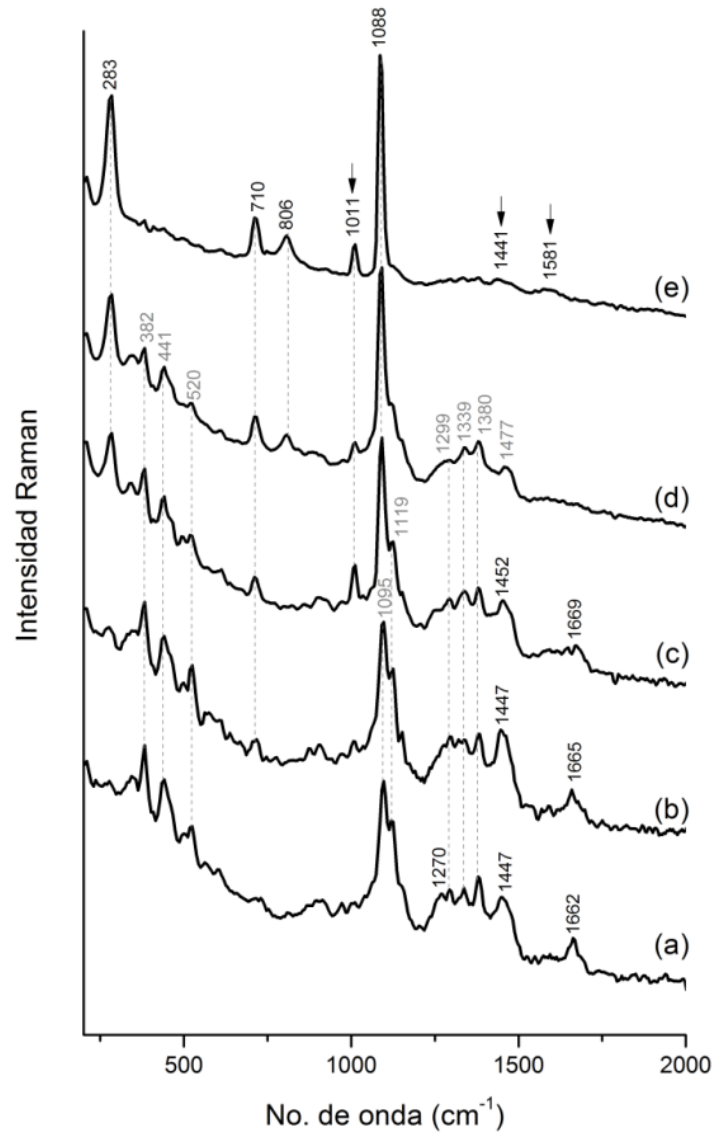


**Figura C-2.** Espectro Raman  $\lambda= 1064$  nm de la laca de ZnF-Ca aglutinada con clara de huevo y aplicada sobre papel: a) proporción P1, b) proporción P2 y c) proporción P3. En gris se encuentran los números de onda de las bandas de papel. Las flechas corresponden a bandas asociadas a la laca





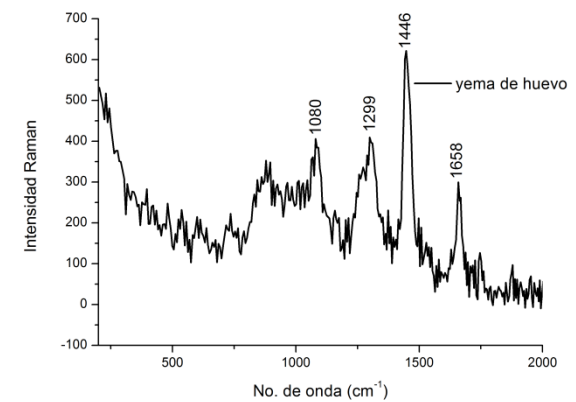
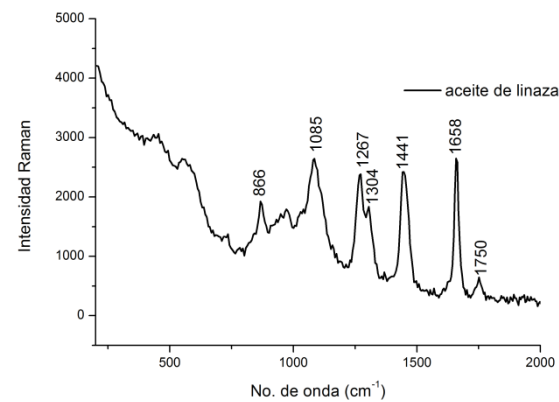
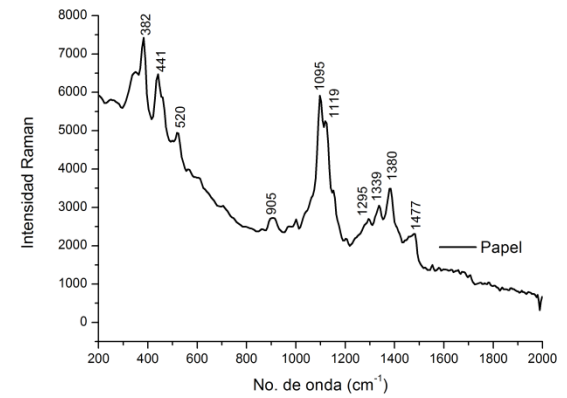
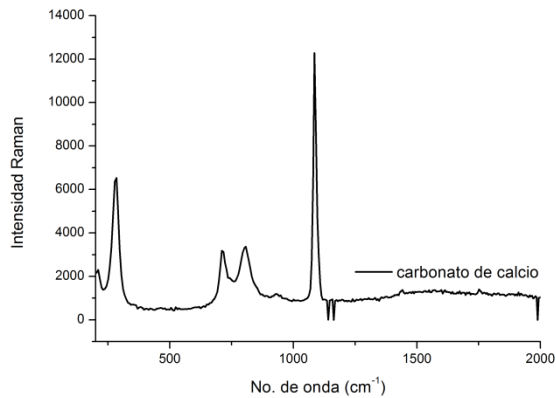
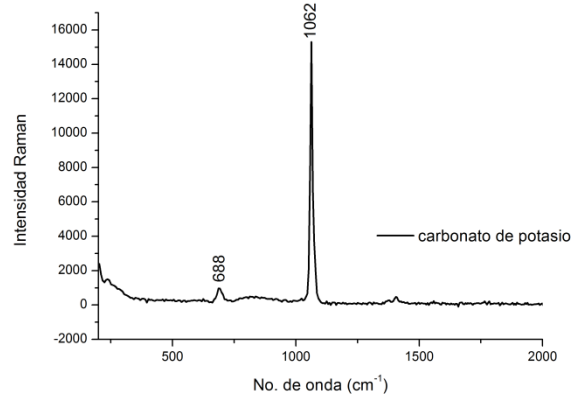
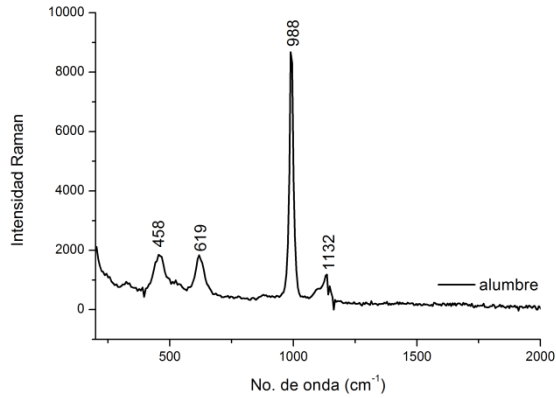
**Figura C-3.** Espectro Raman  $\lambda = 1064$  nm de la laca de ZnF-Ca aglutinada con goma arábica y aplicada sobre papel: a) proporción P1, b) proporción P2 y c) proporción P3. En gris se encuentran los números de onda de las bandas de papel. Las flechas corresponden a bandas asociadas a la laca

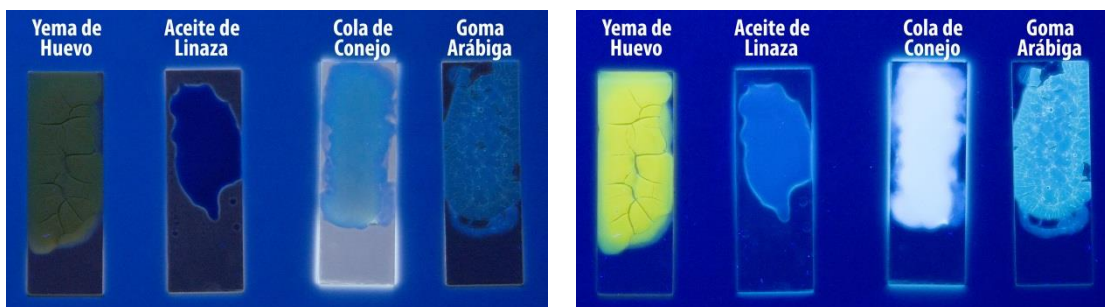
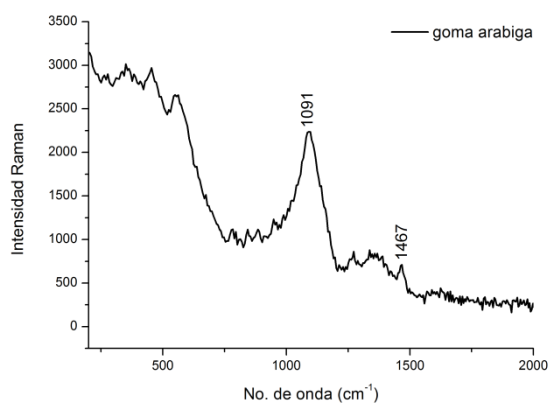


**Figura C-4.** Laca de ZaF-Ca aglutinado con: a) aceite de linaza P2, b) yema de huevo P2, c) clara de huevo P2, aplicada sobre papel sellado con cola de conejo. Laca de *zacatlaxcalli* fresco-Ca aglutinado con: d) goma arábica y e) *tzauhtli* aplicada sobre una base de preparación de carbonato de calcio aglutinado con goma arábica y *tzauhtli* respectivamente, con preparación P3.

## Apéndice D

Los espectros Raman de 1064 nm de los materiales empleados en la elaboración de lacas y materiales pictóricos de referencia se presentan a continuación.





**Figura D-1.** Fluorescencia UV con longitud de onda corta (izquierda) y longitud de onda larga (derecha) de algunos de los materiales empleados en la elaboración de referencias pictóricas.

# Artículo de investigación


Received: 9 February 2018 | Revised: 1 March 2019 | Accepted: 2 August 2019

DOI: 10.1002/jrs.5729

SPECIAL ISSUE - RESEARCH ARTICLE

WILEY **Journal of  
RAMAN  
SPECTROSCOPY**

## Raman and surface-enhanced Raman spectroscopy for the analysis of Mexican yellow dyestuff

María Angélica García-Bucio<sup>1</sup>  | Miguel Ángel Maynez-Rojas<sup>1</sup> |  
Edgar Casanova-González<sup>2</sup> | José Javier Cárcamo-Vega<sup>3</sup> | José Luis Ruvalcaba-Sil<sup>1</sup> |  
Alejandro Mitrani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito de la Investigación s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 Mexico City, Mexico

<sup>2</sup>CONACyT-Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito de la Investigación s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 Mexico City, Mexico

<sup>3</sup>Laboratorio de Análisis e Investigaciones Arqueométricas (LAIA), Instituto de Alta Investigación (IAI), Universidad de Tarapacá, Arica, Chile

### Correspondence

José Luis Ruvalcaba-Sil, Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito de la Investigación s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, Mexico City, Mexico.  
Email: sil@fisica.unam.mx

### Funding information

Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica, Grant/Award Number: REDES 150136; Universidad Nacional Autónoma de México, Grant/Award Numbers: PAPIIT IN110416 and IN112018; CONACYT, Grant/Award Numbers: CB 239609, LN293904, LN279740 LN299076

### Abstract

In pre-Hispanic Mesoamerica, pigments and dyes were used in the elaboration of a large variety of colored objects. Obtaining information regarding the objects' material composition is useful in restoration and preservation processes, as well as for recovering knowledge of its production technology and the context and history of the object. Yellow colors have been obtained from a large variety of Mexican natural resources. Although mineral yellow pigments, such as orpiment and oxides, are relatively easy to identify by nondestructive and noninvasive techniques (X-ray fluorescence, Raman spectroscopy, fiber optics reflectance spectroscopy, and Fourier transform infrared spectroscopy), organic yellow colorants are difficult to analyze by these techniques. Therefore, most works dealing with the identification of yellow dyes use destructive methods such as liquid chromatography–mass spectrometry. The aim of this work is to elaborate a methodology based on Raman spectroscopy and surface-enhanced Raman spectroscopy for the study of yellow colorants used in pre-Hispanic and colonial Mexico, in order to aid in their identification by spectroscopic techniques. The yellow colorants selected for this work were extracted from local plants: *zacatlaxcalli* (*Cuscuta tinctoria*), old fustic (*Maclura tinctoria*), weld (*Reseda luteola*), marigold (*Tagetes erecta*), and *xochipalli* (*Cosmos sulphureus*).

### KEYWORDS

Mexican dyestuff, Raman, SERS, yellow dye

## 1 | INTRODUCTION

Until the discovery of synthetic dyes in the second half of the 19th century, several natural dyes have been used for coloring textile fibers.<sup>[1]</sup> In Mexico, the local plants used in textile dyeing were also sometimes applied as colorants in codices (and other documents), mural paintings, and other colored objects. The use of natural yellow colorants was mentioned by the Spanish

Franciscan friar Bernardino de Sahagún in the Florentine Codex,<sup>[2]</sup> a 16th-century document. In particular, *zacatlaxcalli* (*Cuscuta tinctoria*), *xochipalli* (*Cosmos sulphureus*), and annatto (*Bixa orellana*) were mentioned as natural sources of yellow used in the pre-Hispanic period.<sup>[2]</sup>

After the conquest of the Mesoamerican territory by the Spanish, some materials and pictorial techniques were lost or modified. For this reason, there is a lack of



information regarding the materials and methods used in pre-Hispanic and colonial periods, particularly with regard to yellow colorants. Natural yellow dyes have been used in textile dyeing following traditional Mexican recipes, with different contemporary Mexican dyers employing plants such as old fustic (*Maclura tinctoria*), marigold (*Tagetes erecta*), and even weld (*Reseda luteola*), a plant originally from Europe.<sup>[3]</sup>

The study of the materials that compose an artwork is useful in restoration and preservation processes, as well as for recovering technological knowledge and the context and history of the object. In this sense, there are many techniques available for analytical purposes, where high-performance liquid chromatography–mass spectrometry is the most commonly used for the identification of dyes,<sup>[4]</sup> including the analysis of those with yellow hues.<sup>[5]</sup> Although this technique gives complete information about the main chromophores that are present in the dyes, the experimental procedure requires sampling, a practice that is often limited or even forbidden when dealing with unique cultural heritage objects.

With the development of new detectors, it is now possible to perform in situ analysis with portable spectrometers in museums and other sites, allowing a nondestructive analysis of a myriad of cultural heritage objects. The combination of different spectroscopic techniques such as X-ray fluorescence, Raman spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, fiber optics reflectance spectroscopy, and ultraviolet–visible fluorescence, as well as imaging techniques such as ultraviolet–infrared reflectography, have allowed a suitable in situ characterization of pigments, binders, ground layers, supports, and dyes, with no damage to the object. Nevertheless, the identification of yellow pigments by these techniques is often limited to inorganic compounds, such as yellow ochres in codices,<sup>[6,7]</sup> whereas yellow organic colors are almost impossible to identify.<sup>[8–10]</sup>

Problems regarding the detection of yellow colorants include the low concentration of the dye present in the object (due to its high tinting power), its degradation over time, and the similarity of the chemical structure of the different organic molecules that produce yellow hues. The majority of the chromophores are flavonoids, which makes them very difficult to differentiate by fiber optics reflectance spectroscopy (a powerful noninvasive and nondestructive tool used in cultural heritage studies<sup>[11]</sup>). Another problem is the high sensitivity of flavonoids to light and its fast degradation. Besides, the strong fluorescence of organic molecules—particularly flavonoids—prevents the observation of the characteristic bands in the spectra when working with Raman spectroscopy. In Fourier transform infrared

spectroscopy, the presence of binders and different supports, such as paper and some textiles, causes a strong interference in the bands associated with the colorants during in situ analysis. For these reasons, in situ analysis of yellow colorants is a difficult task to perform.

Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) uses metallic nanostructures in order to quench the fluorescence of the organic molecules and to amplify the Raman signal by approximately  $10^6$  times.<sup>[12]</sup> SERS constitutes a unique technique for the identification of organic yellow dyes that has been applied for the study of yellow lakes,<sup>[13]</sup> colorants, and dyed fibers.<sup>[14–17]</sup> Despite the advantages of using SERS, it has been reported that some flavonoids tend to change their chemical structure in the presence of silver nanoparticles, with those containing a hydroxyl group in position 3 being the most reactive.<sup>[18]</sup> SERS characterization has been applied in the study of quercetin, kaempferol, luteolin, apigenin, chrysin, and morin flavonoids.<sup>[16,19–21]</sup>

In this paper, we present Raman and SERS spectra of yellow dyes used in pre-Hispanic and colonial Mexico and report the best analytical conditions for the SERS acquisitions in order to aid in their laboratory and in situ characterization.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 | Plants

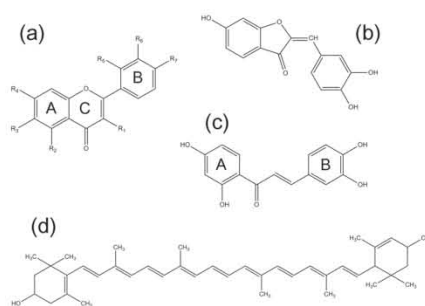
Five plants were selected for this work: two that are reported to have been used since pre-Hispanic and colonial periods and three that are known to be used in traditional Mexican dyeing (Table 1). All of the plants were collected in the Mexican territory.

*Zacatlaxcalli* (*Cuscuta tinctoria*) is a parasite plant that grows over the Peruvian pepper (*Schinus molle*) and some scrubs in the center of Mexico.<sup>[3]</sup> It is popularly known as *mata palo*, *sopa*, *fideo*, *barbas de viejo*, *zacapale*, and *cocoxtle*.<sup>[3]</sup> The main chromophore in the colorant extracted for this plant is quercetin (Figure 1a) and some of its glucosides.<sup>[22]</sup> The specimen used was collected from the surrounding area of Mexico City. The whole plant (excluding flowers) was used, with extractions made from dry plants.

*Xochipalli* plant (*Cosmos sulphureus*), also known as *mirasol amarillo*, *chochopalli*, *girasol Amarillo*, *San Miguel*, *suchipate*, *cempual*, and *sumpual* is a decorative species found in tropical areas.<sup>[23]</sup> The colorant extracted from *xochipalli* can be orange or yellow, depending on the additional materials with which it is mixed.<sup>[2]</sup> Butein, quercetin, luteolin, and sulphuretin (Figure 1a–c) are the

**TABLE 1** Plants selected for this study, traditionally used since the pre-Hispanic and colonial periods in Mexico

Used in	Common name	Botanical name	Origin <sup>[22]</sup>
Pre-Hispanic period	Zacatlaxcalli, zacatlascal	<i>Cuscuta tinctoria</i>	Mexico
	Xochipalli, sochipal	<i>Cosmos sulphureus</i>	Subtropical areas of Central and Southern Mexico
	Annato, achiote, <i>achiote</i>	<i>Bixa Orellana</i>	Tropical America
Traditional dyeing	Old fustic, <i>palo mora</i> , <i>mora</i>	<i>Maclura tinctoria</i>	Mexican southeast
	Marigold, <i>cempazuchitl</i>	<i>Tagetes erecta</i>	Mexico and Central America
	Weld, <i>gualda</i>	<i>Reseda luteola</i>	Europe



**FIGURE 1** Main chromophores of some yellow colorants. (a) Molecules of the flavone group: Quercetin if  $R_1=R_2=R_4=R_6=R_7=OH$ ,  $R_3=R_5=H$ ; kaempferol if  $R_1=R_2=R_4=R_7=OH$ ,  $R_3=R_5=R_6=H$ ; morin if  $R_1=R_2=R_4=R_5=R_7=OH$ ,  $R_3=R_6=H$ ; quercetagenin if  $R_1=R_2=R_3=R_4=R_6=R_7=OH$ ,  $R_5=H$ ; luteolin if  $R_2=R_4=R_6=R_7=OH$ ,  $R_1=R_3=R_5=H$ ; and apigenin if  $R_2=R_4=R_7=OH$ ,  $R_1=R_3=R_5=R_6=H$ . (b) Sulphuretin. (c) Butein. (d) Lutein

main chromophores of the *Cosmos sulphureus*'s flower.<sup>[24]</sup> In the case of *xochipalli*, the dried flowers used were collected in Santo Tomás Jalieza, Oaxaca.

Old fustic (*Maclura tinctoria*) is a tree that grows from the Mexican southeast to northern Panama.<sup>[3]</sup> From its wood, a yellow colorant is extracted, which the Mayan people of Yucatan used to dye henequen and sansevieria fibers. Morin and kaempferol (Figure 1a) are the two main molecules present in this colorant. The specimen used was collected in Chochola, Yucatan, where chips from the center of the tree trunk were used in agreement with traditional recipes.<sup>[3]</sup>

Marigold (*Tagetes erecta*) is a well-known plant due to the use of its flowers during the Day of the Dead festivity in Mexico. The plant is known as *cempazuchitl*, *cempoal*, *flor de muerto*, *nulibé*, *cempoaxóchitl*, or *periquillo*. It belongs to the Asteraceae family and is mainly distributed in Mexico and Central America.<sup>[3]</sup> The yellow-orange colorant extracted from marigold petals is rich in quercetagenin<sup>[1]</sup> and lutein<sup>[25]</sup> (Figure 1a,d). Dried petals were acquired from a local

supplier in Mexico City. Additionally, a quercetagenin standard from Sigma Aldrich was also analyzed for comparison purposes.

Weld (*Reseda luteola*) is a member of the Resedaceae family. It is originally from Europe, where it is appreciated for its dyeing properties<sup>[3]</sup>; therefore, its use as a colorant in America started after the Spanish conquest. Weld is known as *acocote*, *mosquito*, *cola de zorro*, *gasparilla*, and *reseda*. In Mexico, it grows in areas with high altitude and blooms in winter.<sup>[23]</sup> The main component of the colorant extracted from weld is luteolin, and apigenin is also present in lower concentrations<sup>[1]</sup> (Figure 1a). It was collected from the surrounding area of Mexico City, and the whole fresh plant was used. This dye was used for comparative purposes.

Annatto was also studied, with the results obtained being similar to those reported by other authors.<sup>[14,15,26]</sup> For this reason, annatto is not discussed in this work.

## 2.2 | Colorant extraction

The colorant extraction process was based on traditional Mexican recipes,<sup>[3]</sup> adapted to laboratory procedures. All the plants were washed with distilled water and some of them cut into small pieces. An amount of 26 g of weld and old fustic and 13 g of dried *zacatlaxcalli*, marigold, and *xochipalli* were left to soak at room temperature in 600 ml of distilled water for a period of 2 days. The containers were sporadically shaken in order to increase the amount of colorant extracted. According to the recipe, the process for old fustic lasted 1 week. Each plant was subsequently boiled during 1 hr under magnetic stirring and filtered with a piece of clean cloth. A final volume of 500 ml was obtained.

## 2.3 | Synthesis of nanoparticles for SERS

All the reagents used were purchased from Sigma Aldrich, and the water employed was ultrapure water (Type 1). Two silver and one gold nanoparticle colloids were prepared according to the Lee–Meisel<sup>[27]</sup> method (reduction of silver nitrate with sodium citrate [Ag-Cit



colloid]), the Leopold–Lendl<sup>[28]</sup> method (reduction of silver nitrate with hydroxylamine [Ag-Hx colloid]), and the Turquevich<sup>[29]</sup> method (reduction of tetracholoauric acid with sodium citrate [Au-Cit]).

The nanoparticle colloids were characterized by ultraviolet–visible absorption and by transmission electronic microscopy; microscopy images were analyzed with the Image-J software (developed by the National Institutes of Health, USA). The colloids presented the following characteristics: a maxima in the extinction spectra and nanoparticle size of 435 and 66 nm for the Ag-Cit colloid, 419 and 47 nm for the Ag-Hx colloid, and 527 and 19 nm for the Au-Cit colloid, respectively. After months of storage, the Ag-Hx colloid was found to be more stable than the Ag-Cit colloid.

## 2.4 | Raman equipment

Raman measurements were carried out with two portable spectrometers. The first was an Inspector Raman from Delta Nu, with a 785-nm laser diode, a 200–2,000  $\text{cm}^{-1}$  spectral range, and a 15  $\text{cm}^{-1}$  resolution. The laser power was set to medium excitation (60 mW) and the acquisition time to 5 s with three averages per point and with baseline correction. The second was an i-Raman Plus from B&W Tek, with a 532-nm laser source, a 145–4,000  $\text{cm}^{-1}$  spectral range, and a 4  $\text{cm}^{-1}$  resolution. The laser power was set to 37 mW and the acquisition time to 5 s with five averages per point. Both spectrometers' detectors employ an array of charge-coupled devices.

Complementary measurements were carried out using a portable i-Raman EX B&W Tek, with a 1,064-nm laser source. The laser power was set at 113 mW, with a 175–2,500  $\text{cm}^{-1}$  spectral range, a 9.5  $\text{cm}^{-1}$  resolution, and an InGaAs detector.

For comparison purposes, the spectra were normalized, dividing the whole spectrum by the value of the most intense band (for each case), with the Origin V8 graphics and data analysis software. Only *xochipalli*'s SERS measurement with the 532-nm laser and Ag-Hx colloid was baseline corrected with the same program.

## 2.5 | SERS measurements

To perform the SERS measurements, a volume of 0.5 mL of each nanoparticle colloid was placed in a glass vial. The colloid was activated by the addition and mixing of 20  $\mu\text{L}$  of  $\text{KNO}_3$  (0.5 M). Immediately after, 50  $\mu\text{L}$  of the extract (after filtration) was added.

## 2.6 | Density functional theory calculations

Complementary simulations of butein, sulphuretin, and quercetagenin were carried out using density functional theory (DFT) calculations employing Gaussian 09 at the B3LYP level of theory and a 6-311++G(2d,2p) basis set.<sup>[30–32]</sup>

## 3 | RESULTS

Raman spectra from the extracts did not provide good results due to the high fluorescence of the organic molecules (see Figures S1–S5), preventing the observation of clear bands.

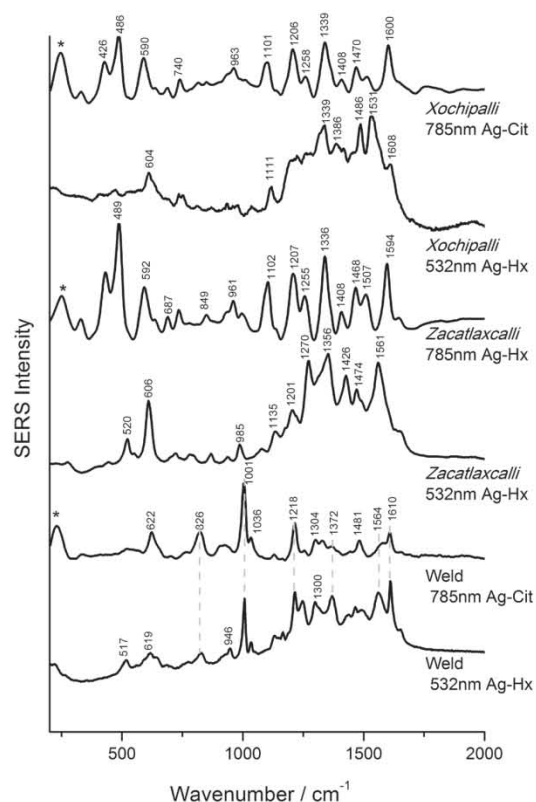
### 3.1 | SERS measurements of the extracts

Weld is the most studied yellow colorant by SERS, with characteristic spectra reported for both the colorant<sup>[14,33]</sup> and its main chromophores luteolin and apigenin.<sup>[18]</sup> SERS spectra of our weld extract, obtained with the different colloids and laser wavelengths (Figure 2), display similar characteristics with bands at 1,564  $\text{cm}^{-1}$  (associated to  $\nu(\text{C}=\text{C})$  flavone vibrations) and 1,218  $\text{cm}^{-1}$  (associated to  $\nu(\text{C}-\text{O})$  vibrations), which correspond to those reported for SERS spectra of luteolin.<sup>[18]</sup>

Both 532-nm SERS spectra of the weld extract with Ag-Hx (Figure 2) and Ag-Cit colloids (Figure S1) are very similar to those reported for luteolin analyzed under similar conditions,<sup>[14]</sup> except for bands at 826, 1,001, and 1,610  $\text{cm}^{-1}$ , which do not correspond to apigenin either. These bands are also present in the 785-nm SERS spectra obtained with the three colloids, where the band at 1,001  $\text{cm}^{-1}$  is the most intense. These bands are similar to those observed in the SERS spectra of the chrysin molecule reported by Corredor et al.<sup>[20]</sup> The band at 1,001  $\text{cm}^{-1}$  is attributed to the ring B trigonal stretching vibration without an OH substituent,<sup>[20]</sup> and the band at 1,610  $\text{cm}^{-1}$  corresponds to  $\nu(\text{C}=\text{O})$  vibrations and both ring A and C quinoid stretching vibrations.

Chrysin is a flavone present in some natural products such as sunflower honey, propolis,<sup>[34]</sup> and some specimens of the *Passiflora* gender,<sup>[35,36]</sup> which has been investigated due to its medical properties.<sup>[37]</sup> The presence of the chrysin molecule has not been reported before in a weld extract. High-performance liquid chromatography studies of European specimens only show the presence of luteolin and some of its glucosides, apigenin,<sup>[38,39]</sup> and minor compounds such as chrysoeriol.<sup>[40]</sup> A deeper analytical study (chromatographic methodologies) is required to confirm the presence of chrysin or another





**FIGURE 2** Best surface-enhance Raman spectroscopy (SERS) measurements obtained for weld, *zacatlaxcalli*, and *xochipalli* extracts (532- and 785-nm wavelengths). Ag-Cit, citrate-reduced silver colloid; Ag-Hx, hydroxylamine-reduced silver colloid. Asterisks denote the band associated with the colloid. Dashed gray lines indicate main coincidences between spectra

related molecule with similar spectral features in Mexican-grown weld.

With the 532-nm laser and the gold colloid, no useful results were obtained. This is due to the low affinity of flavonoids to gold nanoparticles and to the presence of  $\text{Cl}^-$  ions (remanent from the gold colloid elaboration process) that are adsorbed on the nanoparticle surface, preventing the adsorption of other molecules and thus lowering the effectiveness of the gold colloid.<sup>[41]</sup> This behavior of the 532-nm laser with the gold colloid was observed in all the studied extracts.

Regardless of the low affinity of the studied molecule to the gold colloid, a SERS effect is noticed when the 785-nm laser line is combined with this gold colloid in weld measurements (Figure S1). This could be explained by the nanoparticle aggregation with  $\text{KNO}_3$ , which tends to redshift the plasmon of the colloid,<sup>[42]</sup> thus favoring the excitation with the 785-nm laser line. Apart from this

case, the use of the gold colloid was rarely successful. For this reason, the results presented in the following pages are focused on the use of the silver colloids. The results obtained with the gold colloid are presented in Figures S1–S5).

In a previous work, Casanova-González et al.<sup>[15]</sup> reported the SERS spectra of *zacatlaxcalli* extract, as well as that of a wool fiber dyed with marigold using Ag-Cit nanoparticles and a 785-nm wavelength. In that work, they employed maceration as an extraction method and a 14-nm nanoparticle size (compared with 66 nm used in this work). A comparison with their results is made for each of these dyes.

The best *zacatlaxcalli* spectra were acquired using Ag-Hx nanoparticles (Figure 2). The spectra obtained for *zacatlaxcalli* with the 785-nm laser and with both Ag nanoparticles—Ag-Cit and Ag-Hx—were very similar to those obtained by Casanova-González et al.,<sup>[15]</sup> confirming the reproducibility of the method despite the difference in nanoparticle size. These spectra are also similar to those reported for pure quercetin under similar conditions.<sup>[18,19]</sup> Jurasekova et al.<sup>[19]</sup> reported that this molecule changes its structure in the presence of silver nanostructures: the bands at 592, 489, and 429  $\text{cm}^{-1}$  (Figure 2) of the *zacatlaxcalli* extract appear as new bands in the reported SERS spectra of quercetin, and they are related to a possible oligomerization of the molecule.

Some features from the SERS spectra of quercetin, which are present in the SERS spectra of the *zacatlaxcalli* extract, are observed in catechol-containing compounds, so it is possible that catechol-like polymers are formed on the surface of the nanostructure.<sup>[18]</sup> The band at 1,594  $\text{cm}^{-1}$  corresponds to  $\nu(\text{C}=\text{O})$  vibrations; the bands at 1,507, 1,468, 1,255, and 1,207  $\text{cm}^{-1}$  are associated to ring B vibrations; and the bands at 1,408, 1,336, and 1,102  $\text{cm}^{-1}$  are ring A vibrations.<sup>[18]</sup>

The results of Casanova-González et al.<sup>[15]</sup> with the 785-nm laser are completely different to our SERS spectra of *zacatlaxcalli* obtained with the 532-nm laser (Figure 2). Although we have not found other SERS studies on *zacatlaxcalli*, most of the bands correspond to those reported for pure quercetin,<sup>[14,19]</sup> the main colorant in *zacatlaxcalli*, with additional bands at 868, 985, and 1,079  $\text{cm}^{-1}$  (Table 2). According to Jurasekova et al.,<sup>[19]</sup> the difference in the 785- and 532-nm spectra is a direct consequence of the structural changing in the quercetin molecule, where some condensation products are visible with the 785-nm laser line, whereas only the species that have a resonance effect with the 532-nm laser will display a strong enhancement.

*Xochipalli* spectra obtained with the 532-nm laser were also different to those obtained with the 785-nm laser (Figure 2). The spectrum obtained with the citrate-

**TABLE 2** SERS band positions from the best spectra obtained with all the extracts, using silver colloids (Ag-Hx or Ag-Cit) and the two laser wavelengths (532 and 785 nm)

Extract	532 nm		785 nm	
	Observed molecule	Band wavenumber/cm <sup>-1</sup>	Observed molecule	Band wavenumber/cm <sup>-1</sup>
Weld	Luteolin	Ag-Hx colloid	Luteolin	Ag-Cit colloid
		517m, 619m, 946w, 1218s, 1246s, 1300m, 1372s, 465w, 1564s		1218s, 1304m, 1376sh, 1481m, 1564sh
	Apigenin	1168w	Apigenin	1256w
	Chrysin <sup>a</sup>	1001vs, 1036w, 1487w, 1610vs,	Chrysin <sup>a</sup>	622s, 1001vs, 1036m, 1610m
Unassigned	1655s, 826w	Unassigned	826s	
Zacatlaxcalli	Quercetin	Ag-Hx colloid	Quercetin	Ag-Hx colloid
		520m, 606vs, 723vw, 787vw, 936vw, 1135m, 1201m, 1270vs, 1356vs, 1426s, 1474s, 1561vs, 1653sh		327vw, 429s, 489vs, 592m, 640sh, 687w, 735w, 849vw, 931vw, 961w, 1102s, 1207s, 1255s, 1336vs, 1408m, 1468m, 1507m, 1594vs, 1652vs
Unassigned	868vw, 985m, 1079vw			
Xochipalli	Butein <sup>a</sup>	Ag-Hx colloid	Quercetin	Ag-Cit colloid
		604s, 750w, 1199sh, 1339s, 1386vw, 1410vw, 1486s, 1531s, 1608s		331w, 426s, 486vs, 590s, 638vw, 688vw, 740w, 963m, 1101s, 1206s, 1258w, 1339vs, 1408w, 1470m, 1515w, 1600vs
Unassigned	736w, 1111s			
Old fustic	Morin	Ag-Cit colloid	Morin	Ag-Cit colloid
		522w, 624m, 682vw, 1157sh, 1207sh, 1339m, 1408m, 1465m, 1504s, 1570w, 1604sh, 1645w		420m, 477m, 576vs, 624m, 682w, 937s, 1006w, 1157m, 1207m, 1383m, 1477vs, 1558s, 1604sh, 1645sh
Unassigned	477m	Unassigned	336m, 552sh, 819s, 985w, 1285vs, 1339m	
Marigold	Quercetagenin	Ag-Hx colloid	Quercetagenin	Ag-Cit colloid
		603m, 792vw, 830vw, 861vw, 1129w, 1181s, 1329m, 1390m, 1483sh, 1540m, 1612vs		324w, 390sh, 432sh, 484vs, 587m, 690vw, 957w, 1097m, 1209vs, 1255s, 1341vs, 1469vs, 1589vs
Unassigned	736w	Unassigned	736vw, 1405vw, 1502sh	

Abbreviations: SERS, surface-enhanced Raman spectroscopy. Raman intensity—m, medium; s, strong; sh, shoulder; vs, very strong; vw, very weak; w, weak.

<sup>a</sup>Possible molecular assignment.

reduced silver nanoparticles and 785-nm laser (Figure 2) is similar to those obtained for *zacatlaxcalli*, indicating that the bands may also correspond to quercetin condensation products, as the quercetin molecule is one of the components that are present in *xochipalli*'s flower and the band assignments could be similar to *zacatlaxcalli*. The use of silver nanoparticles and the 532-nm laser wavelength produced well-defined spectra that do not correspond to the Raman resonant products of quercetin, as could be expected from the results of the *zacatlaxcalli* extract under the same conditions, probably due to the presence of another molecule. These spectra were compared with that of lutein (another component from *xochipalli*'s extract) without finding any coincidence.

Sulphuretin and butein have been reported as the main compounds in *xochipalli*'s flower,<sup>[24]</sup> but so far there are no available Raman reference spectra for these molecules.

In order to shed some light on this subject, 1,064-nm Raman measurements of *xochipalli*'s dried extract were performed. Moreover, butein and sulphuretin simulations were carried out using DFT calculations (Figure S6). The two main bands (1,531 and 1,608 cm<sup>-1</sup>) found in the 1,064-nm measurements of the extract were also observed in the SERS spectra. These same bands were obtained in both the butein and sulphuretin simulations, with sulphuretin presenting an additional band at 1,690 cm<sup>-1</sup>. As this last band was not observed in our Raman and SERS spectra, they may correspond to butein, with



main bands at 1,531 and 1,608  $\text{cm}^{-1}$ , associated to Ring B stretching,  $\rho$  (OH) vibrations, and  $\nu(\text{C}=\text{O})$  and  $\nu(\text{C}=\text{C})$  vibrations, respectively. On the basis of our simulation, the other main bands in the 532-nm SERS spectrum—at 604 and 1,486  $\text{cm}^{-1}$ —correspond to  $\rho$  (OH), ring B deformation,  $\rho$  (CH) vibrations, and ring A stretching and  $\rho$  (OH) vibrations, respectively.

The Raman spectra of old fustic and morin—its main colorant—have been reported by Mayhew et al.,<sup>[33]</sup> Zaffino et al.,<sup>[43]</sup> Dimitric Markovic et al.,<sup>[21]</sup> and Bruni et al.<sup>[14]</sup> using a wide range of analytical conditions (different lasers, Raman, and/or SERS). The spectra obtained by these researchers do not completely agree among them and also differ from our results.

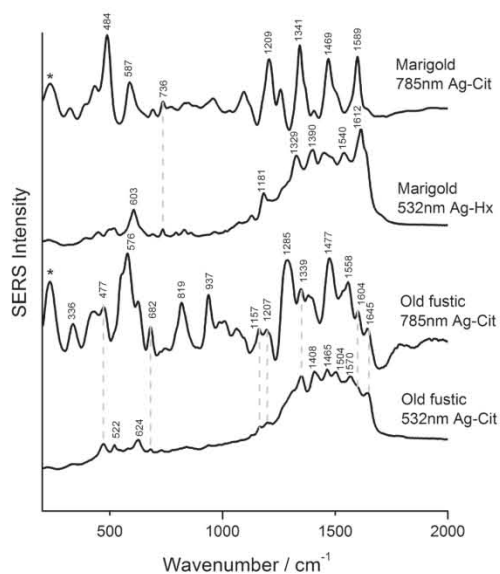
The SERS spectra for the old fustic extract acquired with the 532- and 785-nm lasers are presented in Figure 3. The spectra obtained with the 785-nm laser, using both silver colloids, are similar to those obtained by Mayhew et al.<sup>[33]</sup> with a 632.8-nm laser line, whose main vibrations correspond to the morin molecule. On the contrary, the results of Mayhew et al.<sup>[33]</sup> are not in agreement with the bands present in our 532-nm SERS spectra because the only coincidences were found in the low-wavenumber section of the spectra. Our 532-nm SERS spectra are closer to those reported by Zaffino et al.,<sup>[43]</sup> but using a

1,064-nm laser, and, unexpectedly, differ from the results of Bruni et al.<sup>[14]</sup> and Dimitric et al.<sup>[21]</sup> with the same 532-nm laser. Nevertheless, some of our bands are in agreement with those found by DFT simulation,<sup>[20]</sup> which allowed us to assign them. The most noteworthy bands are at 1,504  $\text{cm}^{-1}$ , which corresponds to  $\nu(\text{C}=\text{O})$   $\delta$  (CCC) and  $\delta$  (HCC) vibrations; at 1,465  $\text{cm}^{-1}$ , corresponding to  $\nu(\text{C}-\text{C})$ ,  $\delta$  (COH), and  $\delta$  (CCC) vibrations; at 1,339  $\text{cm}^{-1}$ , ( $\delta(\text{C}-\text{OH})$  vibrations); and at 624  $\text{cm}^{-1}$ , related to  $\delta(\text{CCO})$  and  $\delta(\text{COC})$  vibrations. The dispersion observed in the results reported by these four groups, and now our study, highlights the importance of applying different experimental conditions in order to provide additional information, which may help to understand the advantages and limitations of the application of Raman and SERS for the analysis of complex mixtures, as in the case of dyes and dyestuffs. In the particular case of old fustic, the presence of other molecules in the extract may explain the difference observed when the pure morin molecule is analyzed.

The SERS spectra from marigold extract are presented in Figure 3. The sole SERS spectrum available in the literature was reported by Casanova-González et al.,<sup>[15]</sup> using a wool fiber dyed with marigold. The bands reported in this work cannot be directly associated with our current study, probably due to the interaction between the mordant and the dye. To the best of our knowledge, no Raman or SERS spectra of quercetagenin—the main flavonoid present in marigold petals—have been reported so far. Thus, SERS spectra of pure quercetagenin were also acquired and compared with those of the marigold extract, showing great similarity (Figure S7).

The bands from the 785-nm SERS spectra of the marigold extract are also similar to those obtained for *zacatlaxcalli* with the same laser, so it is possible that the quercetagenin molecule changes its structure in the same way that quercetin does in the presence of a metallic nanostructure, as discussed before for *zacatlaxcalli*. Then, an association can be made between the vibrations from quercetin and those from quercetagenin for this excitation wavelength, making the identification of these two colorants—*zacatlaxcalli* and marigold—difficult.

The issue of discriminating between *zacatlaxcalli* and marigold can be solved with the use of a 532-nm laser line. The spectra obtained with this excitation wavelength show clear differences between the two extracts, specifically in the quercetagenin bands at 1,612 and 1,540  $\text{cm}^{-1}$  corresponding to  $\nu(\text{C}=\text{C})$  and  $\nu(\text{C}=\text{O})$  vibrations, respectively (according to the quercetagenin simulation); in ring B vibrations at 1,390  $\text{cm}^{-1}$ ; and in  $\delta(\text{O}-\text{H})$  vibrations at 1,329  $\text{cm}^{-1}$  in the marigold spectrum. Another characteristic feature of marigold's SERS spectrum is the absence of a shoulder at 1,270  $\text{cm}^{-1}$  which is present in the



**FIGURE 3** Best surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) measurements obtained for old fustic and marigold extracts (532- and 785-nm wavelengths). Ag-Cit, citrate-reduced silver colloid; Ag-Hx, hydroxylamine-reduced silver colloid. Asterisks denote the band associated with the colloid. Dashed gray lines indicate the main coincidences between spectra

spectrum from *zacatlaxcalli* extract. On the basis of the work of Jurasekova et al.<sup>[19]</sup> for the quercetin molecule and the fact that both molecules differ only by a hydroxyl group (Figure 1), the 785-nm SERS spectra of both *zacatlaxcalli* and marigold may show the same quercetagenin/quercetin condensation products, whereas the Raman resonant products of these two molecules, visible with the 532-nm laser, are different.

It is known that marigold petals contain both carotenoids (lutein)<sup>[25]</sup> and flavonoids (quercetagenin).<sup>[1]</sup> With SERS, we have observed only the flavonoid's spectrum. Flavonoids—in this case, quercetagenin—are more akin to silver nanostructures than are carotenoids, mainly due to the reductive properties of the catechol group.<sup>[19,44,45]</sup> Additionally, ethanolic extractions were made for both orange and yellow marigold petals, which displayed clear differences in their Raman spectra (Figure S8). Orange marigold shows a characteristic carotenoid spectrum, whereas yellow marigold displays a combination of the carotenoid and flavonoid spectra.

Table 2 summarizes the results of our study. We report the bands observed in the best spectrum acquired for every extract with each laser line and relate them to the possible compounds present.

#### 4 | CONCLUSIONS

Well-defined and characteristic SERS spectra of *zacatlaxcalli*, old fustic, and weld extracts were obtained, and particularly, spectra for *xochipalli* and marigold extracts are reported for the first time. The presence of quercetin was identified in *xochipalli* employing the 785-nm laser line, whereas the 532-nm SERS spectra displayed bands probably related with butein. Additionally, quercetagenin and lutein molecules were identified in the marigold extract. Raman and SERS spectra of quercetagenin are also reported for the first time.

The best analytical results correspond to the use of silver nanoparticles, with the Ag-Hx colloid being more stable. Spectra acquired with gold nanoparticles combined with the 532-nm laser did not provide good results, and those recorded using the 785-nm laser line were rarely successful. Different spectra were collected when employing two different wavelengths. In particular, some molecules were resonant when they were irradiated with the 532-nm laser line. For this reason, it is important to use at least two wavelengths for the identification of yellow colorants, as was the case for marigold and *zacatlaxcalli* extracts.

The results presented in this study imply that SERS is a suitable technique for the study of yellow dyes, especially when compared with other nondestructive

spectroscopies. Although this work was performed on plant extracts, the application of SERS for direct and in situ analysis of cultural heritage collections remains challenging, mainly due to concerns regarding the safety and limited sampling of the artworks and the heterogeneous composition of cultural heritage objects.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

María Angelica Garcia Bucio would like to thank CONACYT for the PhD grant and the Material Science and Engineering PhD program of UNAM. Authors thank I. Rangel for the photographic work, as well as S. Ortiz Ruiz and L. García Alonso for their support to collect the old fustic and *xochipalli* plants used in this research. This work has been financed by Mexican grants from CONACYT LN279740, LN293904 and LN299076, as well as PAPIIT UNAM IN110416 and IN112018, and CONACYT CB 239609, and by Chile from project REDES 150136 of CONICYT.

#### ORCID

María Angélica Garcia-Bucio  <https://orcid.org/0000-0001-8880-0739>

#### REFERENCES

- [1] D. Cardon, *Natural Dyes. Sources, Traditions, Technology and Science*, Archetype Publications, London **2007**.
- [2] A. J. Anderson, *Estudios de la cultura nahuatl*, **1963**, 73.
- [3] R. Pontón-Zúñiga, *Tintorería mexicana*, Gobierno del estado de México, Toluca **2007**.
- [4] J. Wouters, *Stud. Conserv.* **1985**, 3, 119.
- [5] X. Zhang, R. Boytner, J. L. Cabrera, R. Laursen, *Anal. Chem.* **2007**, 79, 1575.
- [6] S. Zetina, J. Ruvalcaba, T. Falcón, E. Hernández, C. González, E. Arroyo, M. López, *Painting syncretism: A non-destructive analysis of the Badiano codex. 9th International Conference on NTD of Art*. Jerusalem, Israel, **2008**.
- [7] C. Miliani, D. Domenici, C. Clementi, F. Presciutti, F. Rosi, D. Buti, A. Romani, L. Laurencich Minelli, A. Sgamellotti, *J. Archaeol. Sci.* **2012**, 39, 672.
- [8] P. Vandenabeele, S. Bodé, A. Alonso, L. Moensa, *Spectrochim. Acta, Part A* **2005**, 61, 2349.
- [9] S. Zetina, J. Ruvalcaba, M. López, T. Falcón, E. Hernández, *Non Destructive In Situ Study of Mexican Codices: Methodology and First Results of Material Analysis for the Colombino and Azoyu Codices in Proceedings of the 37th International Symposium of Archaeometry*, Springer, Siena **2008** 349.
- [10] D. Domenici, D. Buti, C. Miliani, B. G. Brunetti, A. Sgamellotti, *The colours of indigenous memory: non-invasive analyses of pre-Hispanic Mesoamerican codices in science and art: the painted surface*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge **2014** 94.



- [11] M. Gulmini, A. Idone, E. Diana, D. Gastaldi, D. Vaudan, M. Aceto, *Dyes Pigment*. **2013**, *98*, 136.
- [12] M. Moskovits, *Rev. Mod. Phys.* **1985**, *57*, 783.
- [13] A. Cesaratto, P. Londerob, N. Shibayama, J. R. Lombardi, M. Leona, *Microchem. J.* **2016**, *126*, 237.
- [14] S. Bruni, V. Guglielmi, F. Pozzi, *J. Raman Spectrosc.* **2011**, *42*, 1267.
- [15] E. Casanova-González, A. García-Bucio, J. L. Ruvalcaba-Sil, V. Santos-Vasquez, B. Esquivel, T. Falcón, E. Arroyo, S. Zetina, M. L. Roldán, C. Domingo, *J. Raman Spectrosc.* **2012**, *43*, 1551.
- [16] Z. Jurasekova, C. Domingo, J. V. Garcia-Ramos, S. Sanchez-Cortes, *J. Raman Spectrosc.* **2008**, *39*, 1309.
- [17] Z. Jurasekova, E. del Puerto, G. Bruno, J. V. Garcia-Ramos, S. Sanchez-Cortes, C. Domingo, *J. Raman Spectrosc.* **2010**, *41*, 1455.
- [18] Z. Jurasekova, J. V. Garcia-Ramos, C. Domingo, S. Sanchez-Cortes, *J. Raman Spectrosc.* **2006**, *37*, 1239.
- [19] Z. Jurasekova, A. Torreggiani, M. Tamba, S. Sanchez-Cortes, J. V. Garcia-Ramos, *J. Mol. Struct.* **2009**, *918*, 129.
- [20] C. Corredor, T. Teslova, M. V. Cañamares, Z. Chen, J. Zhang, J. R. Lombardi, M. Leona, *Vib. Spectrosc.* **2009**, *49*, 190.
- [21] J. M. Dimitric Markovic, Z. S. Markovic, J. B. Krstic, D. Milenkovic, B. Lucic, D. Amic, *Vib. Spectrosc.* **2013**, *64*, 1.
- [22] T. C. Soto-Ruiz, (2015), *Aislamiento y caracterización del colorante derivado del zacatallaxalli (Cuscuta tinctoria Martius)* (Master Thesis). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- [23] *Malezas de México*. (16 de Febrero de 2017). Obtained of <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>
- [24] A. Doménech-Carbó, M. T. Doménech-Carbó, L. Osete-Cortina, F. M. Valle-Algarra, D. Buti, *Microporous Mesoporous Mater.* **2014**, *194*, 135.
- [25] R. Piccaglia, M. Marotti, S. Grandi, *Ind. Crop Prod.* **1998**, *8*, 45.
- [26] L. F. C. de Oliveira, S. O. Dantas, E. S.VELOZO, P. S. Santos, M. C. C. Ribeiro, *J. Mol. Struct.* **1997**, *435*, 101.
- [27] P. C. Lee, D. Meisel, *J. Phys. Chem.* **1982**, *86*, 3391.
- [28] N. Leopold, B. Lendl, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 5723.
- [29] J. Turkevich, P. Cooper, J. Hillier, *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, *11*, 55.
- [30] M. Alcolea Palafox, G. Tardajos, A. Guerrero-Martinez, V. K. Rastogi, D. Mishra, S. P. Ojha, W. Kiefer, *Chem. Phys.* **2007**, *340*, 17.
- [31] G. I. Csonka, *J. Mol. Struct.* **2002**, *584*, 1.
- [32] L. Shen, H.-F. Ji, *Spectrochim. Acta A* **2007**, *67*, 619.
- [33] H. E. Mayhew, D. M. Fabian, S. A. Svobodab, K. L. Wustholz, *Analyst* **2013**, *138*, 4493.
- [34] M.-H. Siess, A.-M. Le Bon, M.-C. Canivenc-Lavier, M.-J. Amiot, S. Sabatier, S. Y. Aubert, M. Suschetet, *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 2297.
- [35] J. H. Medina, A. C. Paladini, C. Wolfman, M. Levi de Stein, D. Calvo, L. E. Diaz, C. Peña, *Biochem. Pharmacol.* **1990**, *40*, 2227.
- [36] P. Zanolli, R. Avallone, M. Baraldi, *Fitoterapia* **2000**, *71*, 117.
- [37] X. Zheng, W.-D. Meng, Y.-Y. Xu, J.-G. Caob, F.-L. Qin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *13*, 881.
- [38] D. Cristea, I. Bareau, G. Vilarem, *Dyes Pigments*. **2003**, *57*, 267.
- [39] C. Moiteiro, H. Gaspar, A. I. Rodrigues, J. F. Lopes, V. Carnide, *J. Sep. Sci.* **2008**, *31*, 3683.
- [40] D. A. Peggie, A. N. Hulme, H. McNab, A. Quye, *Microchim. Acta.* **2008**, *162*, 371.
- [41] Z. Jurasekova, C. Domingo, J. V. Garcia-Ramos, S. Sanchez-Cortes, *J. Raman Spectrosc.* **2012**, *43*, 1913.
- [42] S. Sanchez-Cortes, *Opt. Pur. y Apl.* **2004**, *37*, 33.
- [43] C. Zaffino, S. Bruni, V. Guglielmi, E. De Luca, *J. Raman Spectrosc.* **2014**, *45*, 211.
- [44] R. Han, J. Zhang, L. H. Skibsted, *Molecules* **2012**, *17*, 2140.
- [45] M. M. Kasprzak, A. Erxlebenb, J. Ochockia, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 45853.

#### SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

**How to cite this article:** Garcia-Bucio MA, Maynez-Rojas MÁ, Casanova-González E, Cárcamo-Vega JJ, Ruvalcaba-Sil JL, Mitrani A. Raman and surface-enhanced Raman spectroscopy for the analysis of Mexican yellow dyestuff. *J Raman Spectrosc.* 2019;1–9. <https://doi.org/10.1002/jrs.5729>



## Bibliografía

- <sup>1</sup> Cardon, D. (2007). *Natural Dyes. Sources, Traditions, Technology and Science*. Londres: Archetype Publications.
- <sup>2</sup> Guirola, C. (8 de Octubre de 2018). *Maya-Archaeology*. Obtenido de [http://www.maya-archaeology.org/FLAAR\\_Reports\\_on\\_Mayan\\_archaeology\\_Iconography\\_publications\\_books\\_articles/12\\_tintes\\_naturales\\_maya\\_mesoamerica\\_etnobotanica\\_codice\\_artesania\\_prehispanico\\_colonial\\_tzutujil\\_mam.pdf](http://www.maya-archaeology.org/FLAAR_Reports_on_Mayan_archaeology_Iconography_publications_books_articles/12_tintes_naturales_maya_mesoamerica_etnobotanica_codice_artesania_prehispanico_colonial_tzutujil_mam.pdf)
- <sup>3</sup> Anderson, A. J. (1963). Materiales colorantes prehispánicos. *Estudios de cultura nahuatl*, 73-83.
- <sup>4</sup> Sahagun, F. B. (1830). Capítulo XI. De las colores de todas las maneras. En *Historia general de las cosas de Nueva España* (págs. 306-309). México.
- <sup>5</sup> Zúñiga, R. P. (2007). *Tintorería mexicana*. Toluca: Gobierno del Estado de México.
- <sup>6</sup> Wouters, J. (1985). High performance liquid chromatography of anthraquinones: analysis of plant and insect extracts and dyed textiles. *Studies in Conservation*, 119-128.
- <sup>7</sup> Zhang, X., Boytner, R., Cabrera, J., & Laursen, R. (2007). Identification of yellow dye types in pre-columbian andean textiles. *Analytical Chemistry*, 1575-1582.
- <sup>8</sup> Zetina, S., Ruvalcaba, J., Falcón, T., Hernández, E., González, C., Arroyo, E., y otros. (2008). Painting syncretism: A non-destructive analysis of the Badiano codex. *9th International Conference on NTD of Art*. Jerusalem, Israel.
- <sup>9</sup> Miliani, C., Domenici, C., Clementi, C., Presciutti, F., Rosi, F., Buti, D., y otros. (2012). Colouring materials of pre-Columbian codices: non-invasive in situ spectroscopic analysis of the Codex Cospi. *Journal of Archaeological Science*, 672-679.
- <sup>10</sup> Vandenaabeele, P., Bodé, S., Alonso, A., & Moens, L. (2005). Raman spectroscopic analysis of the Mayan wall paintings in Ek' Balam, México. *Spectrochimica Acta Part A*, 2349-2356.
- <sup>11</sup> Zetina, S., Ruvalcaba, J., López, M., Falcón, T., & Hernández, E. (2010). Non Destructive In Situ Study of Mexican Codices: Methodology and First Results of Material Analysis for the Colombino and Azoyu Codices. En *Proceedings of the 37th International Symposium of Archaeometry* (págs. 349-354). Siena: Springer.
- <sup>12</sup> Domenici, D., Buti, D., Miliani, C., Giovanni, B., & Sgamellotti, A. (2014). The colours of Indigenous Memory: Non-invasive Analyses of Pre-Hispanic Mesoamerican Codices. En A. Sgamellotti, B. Giovanni, & C. Miliani, *Science and Art: The painted Surface* (págs. 94-119). Royal Society of Chemistry.
- <sup>13</sup> Gulmini, M., Idone, A., Diana, E., Gastaldi, D., Vaudan, D., & Aceto, M. (2013). Identification of dyestuffs in historical textiles: Strong and weak points of a non-invasive approach. *Dyes and Pigments*, 136-145.
- <sup>14</sup> Tamburini, D., & Dyer, J. (2008). Fibre optic reflectance spectroscopy and multispectral imaging for the non-invasive investigation of Asian colourants in Chinese textiles from Dunhuang (7th-10th century AD). *Dyes and Pigments*.

- 
- <sup>15</sup> Romani, A., Clementi, C., Miliani, C., & Favaro, G. (2009). Fluorescence Spectroscopy: A Powerful Technique for the Noninvasive Characterization of Artwork. *Accounts of chemical research*, 837-846.
- <sup>16</sup> Moskovits, M. (1985). Surface-enhanced spectroscopy. *Reviews of Modern Physics*, 783-826.
- <sup>17</sup> Kneipp, K., Wang, Y., Kneipp, H., Perelman, L. T., Itzkan, I., Dasari, R. R., y otros. (1997). Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). *Physical Review Letters*, 1667-1670.
- <sup>18</sup> Jurasekova, Z., Torreggiani, A., Tamba, M., Sanchez-Cortes, S., & Garcia-Ramos, J. (2009). Raman and surface-enhanced Raman scattering (SERS) investigation of the quercetin interaction with metals: Evidence of structural changing processes in aqueous solution and on metal nanoparticles. *Journal of Molecular Structure*, 129-137.
- <sup>19</sup> Corredor, C., Teslova, T., Cañamares, M., Chen, Z., Zhang, J., Lombardi, J. R., y otros. (2009). *Raman and surface-enhanced Raman spectra of chrysin, apigenin and luteolin*, 190-195.
- <sup>20</sup> Dimitrić Marković, J., Marković, Z., Krstić, J., Milenković, D., Lūčić, B., & Amić, D. (2013). Interpretation of the IR and Raman spectra of morin by density functional theory and comparative analysis. *Vibrational Spectroscopy*, 1-9.
- <sup>21</sup> Cesaratto, A., Londero, P., Shibayama, N., Lombardi, J., & Leona, M. (2016). Fourier filtering ultraviolet laser ablation SERS for the analysis of yellow lakes. *Microchemical Journal*, 237-242.
- <sup>22</sup> Bruni, S., Guglielmi, V., & Pozzi, F. (2011). Historical organic dyes: a surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectral database on Ag Lee–Meisel colloids aggregated by NaClO<sub>4</sub>. *Journal of Raman spectroscopy*, 1267-1281.
- <sup>23</sup> Casanova-González, E., García-Bucio, A., Ruvalcaba-Sil, J.-L., Santos-Vasquez, V., Esquivel, B., Falcón, T., y otros. (2012). Surface-enhanced Raman spectroscopy spectra of Mexican dyestuffs. *Journal of Raman Spectroscopy*, 1551-1559.
- <sup>24</sup> Jurasekova, Z., Domingo, C., Garcia-Ramos, J., & Sanchez-Cortés, S. (2008). In situ detection of flavonoids in weld-dyed wool and silk textiles by surface-enhanced Raman scattering. *Journal of Raman Spectroscopy*, 1309-1312.
- <sup>25</sup> Christie, R. M. (2015). *Colour Chemistry*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- <sup>26</sup> Roquero, A. (1995). Colores y colorantes de América. *Anales del Museo de América*, 145-160.
- <sup>27</sup> Giustetto, R., Llabres i Xamena, F., Ricchiardi, G., Bordiga, S., Damin, A., Gobetto, R., y otros. (2005). Maya Blue: A Computational and Spectroscopic Study. *Journal of Chemical Physics*, 19360-19368.
- <sup>28</sup> Kirby, J., van Bommel, M., & Verhecken, A. (2014). *Natural Colorants for Dyeing and Lake Pigments*. Londres: Archetype Publications.
- <sup>29</sup> Rodríguez, L. Á. (1997). Apéndice-Corlas o Corladuras. En G.-A. Enriqueta, *Tratado del dorado, plateado y su policromía: Tecnología, conservación y restauración* (pág. 278). Valencia: Universitat Politècnica de Valencia.
- <sup>30</sup> Kroustallis, S. (2011). Materiales y técnicas de la iluminación medieval. *Anuario de Estudios Medievales*, 775-802.



- 
- <sup>31</sup> Omoike, A., & Vanloon, G. (1999). Removal of phosphorus and organic matter removal by alum during wastewater treatment. *Water Research*, 3617-3627.
- <sup>32</sup> Clementi, C., Doherty, B., Gentili, P., Miliani, C., Romani, A., B. G. Brunetti, y otros. (2008). Vibrational and electronic properties of painting. *Applied Physics A*, 25-33.
- <sup>33</sup> *Biblioteca digital mundial*. (s.f.). Recuperado el 08 de Agosto de 2019, de <https://www.wdl.org/es/>
- <sup>34</sup> Martínez Musiño, C. (2015). Los códices prehispánicos y novohispanos en Mesoamérica como objetos de la escritura. *Bibliotecas. Anales de Investigación*, 32-49.
- <sup>35</sup> González Tirado, C. (2017). Las pinturas en los códices mexicanos. *Gaceta De Museos*, 12-15.
- <sup>36</sup> Dupey García, É. (2015). El color en los códices prehispánicos del México Central: identificación material, cualidad plástica y valor estético. *Revista Española de Antropología Americana*, 149-166.
- <sup>37</sup> Falcón Álvarez Tatiana, (2014). Tintes de otoño: experimentación con plantas tintóreas para la reinterpretación de los saberes, tradiciones y usos del color en manuscritos indígenas (tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.
- <sup>38</sup> Martínez Cortes, F. (1970). *Pegamentos, gomas y resinas en el México prehispánico*. México: Nuevo Mundo S. A.
- <sup>39</sup> *Biblioteca digital mundial*. (s.f.). Recuperado el 08 de Agosto de 2019, de <https://www.wdl.org/es/>
- <sup>40</sup> González Tirado, C. (2006). The Tzauhtli Glue. *Mundos Nuevos*.
- <sup>41</sup> Hernández, F. (15 de Febrero de 2017). *Historia de las Plantas de Nueva España*. Obtenido de [http://www.ibiologia.unam.mx/plantasnuevaspana/historia\\_de\\_las\\_plantas\\_III\\_INB.html](http://www.ibiologia.unam.mx/plantasnuevaspana/historia_de_las_plantas_III_INB.html)
- <sup>42</sup> Soto Ruiz, Tania Carolina, (2015), *Aislamiento y caracterización del colorante derivado del zacatlaxcalli (Cuscuta tinctoria Martius)* (tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- <sup>43</sup> *Malezas de México*. (16 de Febrero de 2017). Obtenido de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>
- <sup>44</sup> Shimokoriyama, M., & Hattori, S. (1953). Anthochlor Pigments of *Cosmos sulphureus*, *Coreopsis lanceolata* and *C. saxicola*. *Journal of the American Chemical Society*, 1900-1904.
- <sup>45</sup> Cayeros, P. D. (2008). Tejidos y tintes Coapaxtles. *Anales del Instituto de Investigaciones Estéticas*, 207-222.
- <sup>46</sup> *Lichens of Wales*. (2019). Recuperado el 08 de 10 de 2019, de <http://wales-lichens.org.uk/species-account/usnea-florida>
- <sup>47</sup> Aquino, R., Cáceres, A., Morelli, S., & Rastrelli, L. (2002). An Extract of *Tagetes lucida* and Its Phenolic Constituents as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 1773-1776.

- 
- <sup>48</sup> Sowbhagya, H., Sampathu, S., & Krishnamurthy, N. (2004). Natural Colorant from Marigold-Chemistry and Technology. *Food Reviews International*, 33-50.
- <sup>49</sup> Shirata, Y. (2007). *Colorantes Naturales de México*. Estado de México.
- <sup>50</sup> Armitage, R., Fraser, D., Degano, I., & Colombini, M. (2019). The analysis of the Saltzman Collection of Peruvian dyes by high performance liquid chromatography and ambient ionisation mass spectrometry. *Heritage Science*.
- <sup>51</sup> Wouters, J., & Chirinos, N. (1992). Dye Analysis of Pre-Columbian Peruvian Textiles with High-Performance Liquid Chromatography and Diode-Array Detection. *Journal of the American Institute for Conservation*, 237-255.
- <sup>52</sup> Domenéch-Carbó, A., Domenéch-Carbó, M., Osete Cortina, L., Valle-Algarra, F., & Buti, D. (2014). Isomerization and redox tuning in "Maya yellow" hybrids from flavonoid dyes plus palygorskite and kaolinite clays. *Microporus and Mesoporus Materials*, 135-145.
- <sup>53</sup> Papiiaka, Z., Konstanta, A., Karapanagiotis, I., Karadag, R., Akin Akyol, A., Mantzouris, D., y otros. (2017). FTIR imaging and HPLC reveal ancient painting and dyeing techniques of molluscan purple. *Archaeological and Anthropological Sciences*, 197-208.
- <sup>54</sup> Maynez-Rojas, M. A., Casanova-González, E., & Ruvalcaba-Sil, J. L. (2017). Identification of natural red and purple dyes on textiles by Fiber-Optics Reflectance Spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A*.
- <sup>55</sup> García Bucio, María Angélica, (2015), Espectroscopía Raman para estudio no destructivo de pigmentos y colorantes (tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- <sup>56</sup> Domeneci, D., Buti, D., Grazia, C., Dupey-García, É., Romani, A., Cartechini, L., y otros. (2019). Non-invasive chemical characterization of painting materials of mesoamerican codices Borgia (Borg. Mess. 1) and Vaticanus B (Vat. Lat. 3773) of the Biblioteca Apostolica Vaticana. *Miscellanea Bibliothecae Apostolicae Vaticanae*, 201-228.
- <sup>57</sup> Raman, C., & Krishnan, K. (1928). A new type of secondary radiation. *Nature*, 501-502.
- <sup>58</sup> Skoog, D. A., F. James Holler, & Timothy A. Nieman. (2001). *Principios de análisis instrumental*. Madrid: Mc Graw Hill.
- <sup>59</sup> Vandenberg, P. (2013). *Practical Raman spectroscopy- An introduction*. Chichester: Wiley.
- <sup>60</sup> Larkin, P. (2011). *Infrared and Raman Spectroscopy*. San Diego: Elsevier.
- <sup>61</sup> Nakamoto, K. (2009). *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part A*. New Jersey: Wiley.
- <sup>62</sup> Dana A., S., & Michael D., M. (2002). Bone tissue Fluorescence Reduction for Visible Laser Raman Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, 182-186.
- <sup>63</sup> Days S., J., M. Edwards, H., Dobrowski, S., & Voice, A. (2004). The detection of drugs of abuse in fingerprints using Raman Spectroscopy I: latent fingerprints. *Spectrochimica Acta part A*, 563-568.

- <sup>64</sup> Macdonald, A., & Wyeth, P. (2005). On the use of photobleaching to reduce fluorescence background in Raman Spectroscopy to improve the reliability of pigment identification on painted textiles. *Journal of Raman Spectroscopy*, 830-835.
- <sup>65</sup> Smith, E., & Dent, G. (2005). *Modern Raman Spectroscopy- A practical Approach*. Chichester: Wiley.
- <sup>66</sup> Casadio, F., Daher, C., & Bellot-Gurlet, L. (2016). Raman Spectroscopy of cultural heritage Materials: Overview of Applications and New Frontiers in Instrumentation, Sampling Modalities, and Data Processing. En M. R., *Analytical Chemistry for Cultural Heritage. Topics in Current Chemistry Collections* (págs. 161-211). Cham: Springer.
- <sup>67</sup> Yancy, P. P. (1972). Reduction of fluorescence background in Raman Spectra by the pulsed Raman technique. *Journal of the Optical Society of America*, 1297-1303.
- <sup>68</sup> Matousek, P., Tourie, M., Ma, C., Kowk, W., Phillips, D., & Parker, A. (2001). "Fluorescence suppression in resonance Raman spectroscopy using a high performance picosecond Kerr Gate. *Journal of Raman Spectroscopy*, 983-988.
- <sup>69</sup> Tolles, W., Nibler, J., Mc Donald, J., & Harvey, A. (1977). A review of the Theory and applications of Coherent Anti-Stokes Raman Spectroscopy (CARS). *Applied spectroscopy*, 253-271.
- <sup>70</sup> Fleischmann, M., Hendra, P., & McQuillan, A. (1964). Raman spectra of pyridine adsorbed at silver electrode. *Chemical Physics Letters*, 163-166.
- <sup>71</sup> Le Ru, E., & Etchegoin, P. (2009). Introduction to plasmons and plasmonics. En E. Le Ru, & P. Etchegoin, *Principles of Surface Enhanced Raman Spectroscopy and Related plasmonic* (págs. 121-131). Amsterdam: Elsevier.
- <sup>72</sup> Aroca, R. (2006). *Surface-enhanced vibrational spectroscopy*. Ontario: Wiley.
- <sup>73</sup> Maynez Rojas Miguel Ángel, (2017). Uso de espectroscopías UV-Vis-IRC para el estudio de piezas históricas y obras de arte (tesis de doctorado). Universidad Nacional Autónoma de México.
- <sup>74</sup> Lee, P., & Meisel, D. (1982). Adsorption and Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Dyes on Silver and Gold Sols. *Journal of Physical Chemistry*, 3391-3395.
- <sup>75</sup> Leopold, N., & Lendl, B. (2003). A new method for fast preparation of highly Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) active silver colloids at room temperature by reduction of silver nitrate with hydroxylamina hydrochloride. *Journal of Physical Chemistry*, 5723-5727.
- <sup>76</sup> Turkevich, J., Stevenson, P., & Hillier, J. (1951). A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society*, 55-75.
- <sup>77</sup> Jurasekova, Z., Garcia-Ramos, J., Domingo, C., & Sanchez-Cortes, S. (2006). Surface-enhanced Raman scattering of flavonoids. *Journal of Raman Spectroscopy*, 1239-1241.
- <sup>78</sup> Cañamares, M., Garcia-Ramos, J., Gómez-Varga, J., Domingo, C., & Sanchez-Cortes, S. (2005). Comparative Study of the Morphology, Aggregation, Adherence to Glass, and Surface-Enhanced Raman Scattering Activity of Silver Nanoparticles Prepared by Chemical Reduction of Ag<sup>+</sup> Using Citrate and Hydroxylamine. *Langmuir*, 8546-8553.

- 
- <sup>79</sup> Mayhew, H., Fabian, D., Svoboda, S., & Wustholz, K. (2013). Surface-enhanced Raman spectroscopy studies of yellow organic dyestuffs and lake pigments in oil paint. *Analyst*, 4493-4499.
- <sup>80</sup> Medina, J., Paladini, A., Wolfman, C., Levi de Stein, M., Calvo, D., Diaz, L., y otros. (1990). Chrysin (5,7-di-OH-flavone), a naturally-occurring ligand for benzodiazepine receptors, with anticonvulsant properties. *Biochemical Pharmacology*, 2227-2231.
- <sup>81</sup> Zanolli, P., Avallone, R., & Baraldi, M. (2000). Behavioral characterisation of the flavonoids apigenin and chrysin. *Fitoterapia*, S117-S123.
- <sup>82</sup> Zheng, X., Meng, W.-D., Xu, Y.-Y., Cao, J.-G., & Qing, F.-L. (2003). Synthesis and anticancer effect of chrysin derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 881-884.
- <sup>83</sup> Cristea, D., Bareau, I., & Vilarem, G. (2003). Identification and quantitative HPLC analysis of the main flavonoids present in weld (*Reseda luteola* L.). *Dyes and Pigments*, 267-272.
- <sup>84</sup> Moiteiro, C., Gaspar, H., Rodrigues, A., Lopes, J., & Carnide, V. (2008). HPLC quantification of dye flavonoids in *Reseda luteola* L. from Portugal. *Journal of Separation Science*, 3683-7.
- <sup>85</sup> Peggie, D., Hulme, A., McNab, H., & Quye, A. (2008). Towards the identification of characteristic minor components from textiles dyed with weld (*Reseda luteola* L.) and those dyed with Mexican cochineal (*Dactylopius coccus* Costa). *Microchimica Acta*, 371-380.
- <sup>86</sup> Jurasekova, Z., Domingo, C., Garcia-Ramos, J., & Sanchez-Cortes, S. (2012). Adsorption and catalysis of flavonoid quercetin on different plasmonic metal nanoparticles monitored by SERS. *Journal of Raman Spectroscopy*, 1913-1919.
- <sup>87</sup> Sánchez-Cortés, S. (2004). SERS en coloides. *Óptica pura y aplicada*, 33-42.
- <sup>88</sup> Sant'Ana, A., Rocha, T., Santos, P., Zanchet, D., & Temperini, M. (2008). Size-dependent SERS enhancement of colloidal silver nanoplates: the case of 2-amino-5-nitropyridine. *Journal of Raman Spectroscopy*, 183-190.
- <sup>89</sup> Joseph, V., Matschulat, A., Polte, J., Rolf, S., Emmerling, F., & Kneipp, J. (2010). SERS enhancement of gold nanospheres of defined size. *Journal of Raman Spectroscopy*, 1736-1742.
- <sup>90</sup> Lance Kelly, K., Coronado, E., Zhao, L., & C. Schatz, G. (2003). The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. *Journal of Physical Chemistry*, 668-677.
- <sup>91</sup> Piccaglia, R., Marotti, M., & Grandi, S. (1998). Lutein and lutein ester content in different types of. *Industrial Crops and Products*, 45-51.
- <sup>92</sup> Wei, L., Yanxiang, G., Jian, Z., & Qi, W. (2007). Phenolic, Flavonoid, and Lutein Ester Content and Antioxidant Activity of 11 Cultivars of Chinese Marigold. *Journal of agricultural and food chemistry*, 8478-8484.
- <sup>93</sup> Honggao, X., Weiyu, W., & Junping, J. (2015). Subcritical water extraction and antioxidant activity evaluation with on-line HPLC-ABTS+ assay of phenolic compounds from marigold (*Tagetes erecta* L.) flower residues. *Journal of Food Science and Technology*, 3803-3811.

- <sup>94</sup> Weiyou, W., Hongga, X., Hua, C., Kedong, T., Fuguo, L., & Yanxiang, G. (2016). In vitro antioxidant, anti-diabetic and antilipemic potentials of quercetagenin extracted from marigold (*Tagetes erecta* L.) inflorescence residues. *Journal of Food Science and Technology*, 614–2624.
- <sup>95</sup> Phrutivorapongkul, A., Kiattisin, K., Jantrawut, P., Chansakaow, S., Vejabhikul, S., & Leelapornpisid, P. (2013). Appraisal of biological activities and identification of phenolic compound of African marigold (*Tagetes erecta*) flower extract. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1071-1076.
- <sup>96</sup> Rui-Min, H., Jian-Ping, Z., & Leif H., S. (2012). Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids. *Molecules*, 2140-2160.
- <sup>97</sup> Kasprzak, Maria M., Erxleben, A., & Ochock, J. (2015). Properties and applications of flavonoid metal complexes. *RSC Advances*, 45853–45877.
- <sup>98</sup> Oliveira, L., O. Dantas, S., Velozo, E., Santos, P., & Ribeiro, M. (1997). Resonance Raman investigation and semi-empirical calculation of the natural carotenoid bixin. *Journal of Molecular Structure*, 101-107.
- <sup>99</sup> Zaffino, C., Bruni, S., Guglielmi, V., & De Luca, E. (2014). Fourier-transform surface-enhanced Raman spectroscopy (FT-SERS) applied to the identification of natural dyes in textile fibers: an extractionless approach to the analysis. *Journal of Raman Spectroscopy*, 211–218.
- <sup>100</sup> Bonilla-Jaime, H., Guadarrama-Cruz, G., Alarcon-Aguilar, F., Limón-Morales, O., & Vazquez-Palacios, G. (2015). Antidepressant-like activity of *Tagetes lucida* Cav. is mediated by 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors. *Journal of Natural Medicines*, 463–470.
- <sup>101</sup> Cornard, J., Merlin, J., Boudet, A., & Vrielynck, L. (1999). Structural Study of Quercetin by Vibrational and Electronic Spectroscopies Combined with Semiempirical Calculations. *Biospectroscopy*, 325-327.
- <sup>102</sup> Cornard, J., Boudet, A., & Merlin, J. (1999). Spectroscopic and theoretical studies of aluminum-quercetin complexes. En J. Greve, & C. Puppels, *Spectroscopy of Biological Molecules: New Directions* (pág. 419). Dordrecht: Kluwer.
- <sup>103</sup> Cornard, J., & J. C., M. (2002). Spectroscopic and structural study of complexes of quercetin with Al(III). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 19-27.
- <sup>104</sup> Rygula, A., Wrobel, T., Szklarzewicz, J., & Baranska, M. (2013). Raman and UV–vis spectroscopy studies on luteolin–Al(III) complexes. *Vibrational Spectroscopy*, 21– 26.
- <sup>105</sup> Rangel Chávez Isaac, (2018). Metodología para el estudio de pigmentos y colorantes en obras de arte y patrimonio cultural mediante la técnica de imagen infrarroja de falso color (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México.
- <sup>106</sup> Szymańska-Chargot, M., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2011). Sensing the Structural Differences in Cellulose from Apple and Bacterial Cell Wall Materials by Raman and FT-IR Spectroscopy. *Sensors*, 5543-5560.
- <sup>107</sup> Reitzenstein, S., Rösch, P., Strehle, M., Berg, D., Baranska, M., Schulz, H., y otros. (2007). Nondestructive analysis of single rapeseeds by means of Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, 301–308.

- 
- <sup>108</sup> Osticioli, I., Nevin, A., Anglos, D., Burnstock, A., Cather, S., Becucci, M., y otros. (2008). Micro-Raman and fluorescence spectroscopy for the assessment of the effects of the exposure to light on films of egg white and egg yolk. *Journal of Raman Spectroscopy*, 307–313.
- <sup>109</sup> Nevin, A., Osticioli, I., Anglos, D., Burnstock, A., Cather, S., & Castellucci, E. (2008). The analysis of naturally and artificially aged protein-based paint media using Raman spectroscopy combined with Principal Component Analysis. *Journal of Raman Spectroscopy*, 993-1000.
- <sup>110</sup> Platania, E., Lombardi, J., Leona, M., Shibayama, N., Lofrumento, C., Ricci, M., y otros. (2013). Suitability of Ag-agar gel for the microextraction of organic dyes on different substrates: the case study of wool, silk, printed cotton and a panel painting mock-up. *Journal of Raman Spectroscopy*, 1133–1139.
- <sup>111</sup> *Biblioteca Digital Mexicana A. C.* (23 de noviembre de 2010). Recuperado el 12 de agosto de 2019, de <http://bdmx.mx/>