



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**CARACTERIZACIÓN POR CG-EM Y RMN DE PINTURA A LA
ENCÁUSTICA Y ATLCOLOR USADOS EN EL ARTE MODERNO
MEXICANO.**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUIMICO

PRESENTA

ESTEBAN JOEL LANDA HUERTA



MÉXICO, CDMX

2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: DR. JOSÉ FEDERICO DEL RIO PORTILLA

VOCAL: DRA. ARACELI PATRICIA PEÑA ÁLVAREZ

SECRETARIO: DRA. NURIA ESTURAU ESCOFET

1er. SUPLENTE: M. EN C. XOCHIQUETZAL GONZÁLES RODRIGUEZ

2° SUPLENTE: JOSE OSCAR HUMBERTO PEREZ DIAZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

DRA. NURIA ESTURAU ESCOFET

SUPERVISOR TÉCNICO:

DRA. SANDRA ZETINA OCAÑA

SUSTENTANTE:

ESTEBAN JOEL LANDA HUERTA

Tabla de contenido

Tabla de contenido.....	3
1 Introducción.....	6
2 Objetivos.....	8
2.1 Objetivo general.....	8
2.2 Objetivos particulares.....	8
3 Antecedentes.....	9
3.1 La encástica.....	9
3.2 La encástica en México.....	9
3.2.1 Diego Rivera y el mural “La Creación”.....	10
3.2.2 Siqueiros y la encástica.....	10
3.2.3 El Dr. Alt y los crayones atlcolors.....	10
3.3 Aglutinantes usados en la encástica.....	11
3.3.1 Cera de abeja.....	11
3.3.2 Resina de elemí y copal.....	12
4 Fundamentos de las técnicas analíticas.....	13
4.1 Cromatografía de Gases.....	13
4.2 Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas.....	15
4.2.1 Preparación de muestra para CG.....	16
4.3 Resonancia Magnética Nuclear.....	18
4.4 Aplicaciones de la CG/EM y RMN al estudio de la encástica.....	19
5 Materiales y metodología.....	21
5.1 Materiales pictóricos para encástica.....	21
5.2 Reproducciones de mezclas para encástica y atlcolors.....	21
5.2.1 Mezcla para atlcolors.....	21

5.2.2	Mezcla para encáustica de David Alfaro Siqueiros.....	22
5.2.3	Mezcla para encáustica de Diego Rivera	22
5.2.4	Mezcla para encáustica de Rivera, con pigmento y cauterizada ..	22
5.3	Muestras pictórica de <i>La Creación</i> de Diego Rivera	22
5.4	Reactivos y Estándares.....	23
5.5	Análisis por Resonancia Magnética Nuclear	23
5.6	Análisis por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas.....	24
5.6.1	Condiciones cromatográficas	24
5.6.2	Identificación de compuestos orgánicos	25
5.6.3	Preparación de muestra	25
6	Resultados.....	26
6.1	Selección de marcadores de cera de abeja, copal y resina de elemí .	26
6.1.1	Cera de abeja	26
6.1.2	Copal y resina de elemí	28
6.2	Reproducciones de mezclas para encáustica y atlcolors.....	35
6.2.1	Mezcla para atlcolors.....	35
6.2.2	Mezcla para encáustica de Siqueiros	38
6.2.3	Mezcla para encáustica de Rivera y mezcla cauterizada	41
6.3	Muestras del mural <i>La Creación</i> de Diego Rivera.....	45
6.3.1	Análisis de los espectros de ¹ H-RMN	45
6.3.2	Análisis de los experimentos 2D.....	47
6.3.3	Análisis de los TIC	50
7	Discusión de resultados de las muestras del mural.....	56
8	Conclusión.....	58
9	Anexo I.....	59

9.1	Cera de abeja.....	59
9.2	Copal y resina de elemí.....	59
10	Anexo II	63
11	Referencias	68

1 Introducción

El estudio de los objetos pertenecientes al patrimonio artístico presenta un gran interés cultural e histórico. Estos objetos sufren degradaciones con el paso del tiempo, y las propuestas de tratamientos para su restauración y/o conservación exigen disponer de información lo más completa posible acerca de los materiales que fueron utilizados en su elaboración. En México, el Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural (LANCIC) realiza estudios para identificar los componentes, mediante el análisis químico y/o físico, de dichos materiales. Una de las líneas de investigación de LANCIC está enfocada al estudio de materiales usados en la encáustica, una técnica de pintura que se caracteriza por el uso de la cera como aglutinante de los pigmentos.

La encáustica (del griego *enkaustikos*, “marcado a fuego”) era una de las técnicas pictóricas más utilizadas en el mundo clásico. En México, Diego Rivera (1886-1957) empezó a interesarse por la encáustica en 1913, y en 1922 probó fórmulas que integraron a la cera de abeja de diferentes resinas terpénicas como el copal mexicano en su primer mural *La Creación*. Dicho mural se encuentra sobre los muros del Anfiteatro Simón Bolívar en la Escuela Nacional Preparatoria, hoy Antiguo Colegio de San Ildefonso.

Otros artistas mexicanos usaron técnicas similares a la encáustica. Los atlcolors, crayones inventados por Gerardo Murillo, conocido como el Dr. Atl (1875-1964) y algunas formulaciones de David Alfaro Siqueiros (1896-1974) tienen como aglutinante mezclas de cera de abeja y resinas naturales.

La composición exacta de la encáustica así como el origen de la técnica es un tema en constante debate, pues la información se basa en la traducción e interpretación de fuentes documentales antiguas.

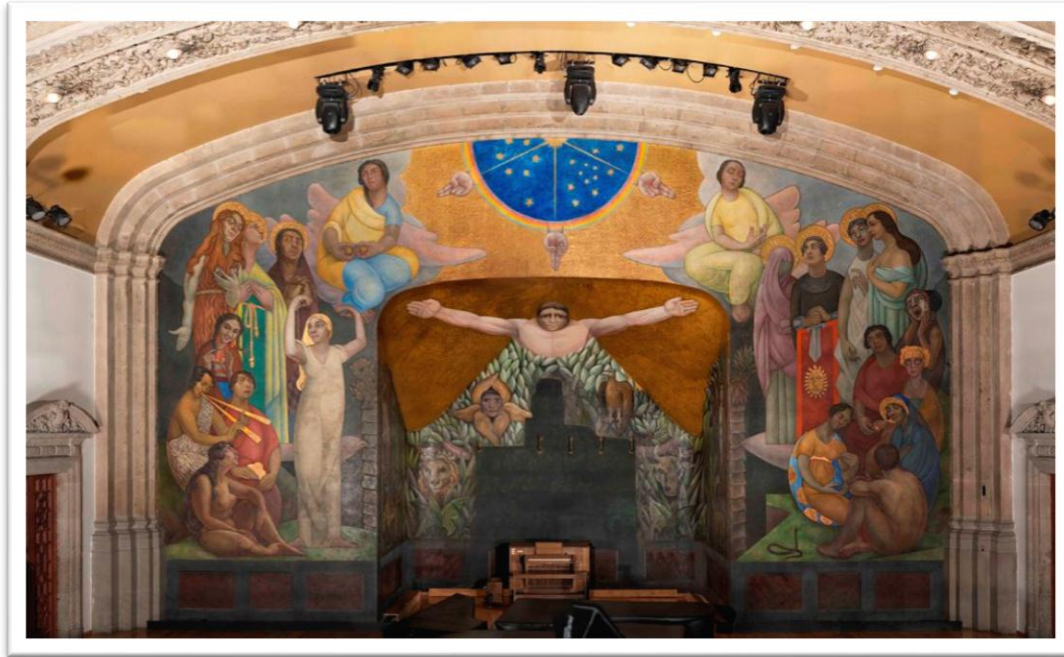


Figura 1-1 Diego Rivera, *La Creación* (1922-23), encáustica sobre concreto, Anfiteatro Simón Bolívar, Antiguo Colegio de San Ildefonso, Ciudad de México. Fotografía: Ricardo Alvarado y Eumelia Hernández, IIE-UNAM.

La presente tesis tiene como objetivo realizar la caracterización de materiales orgánicos utilizados en pintura a la encáustica en México y aticolors. Para ello, se emplearon los métodos analíticos de: Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (CG-EM), y espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Primero se estudiaron muestras de reproducciones experimentales realizadas en el Instituto de Investigaciones Estéticas de la UNAM (IIE) siguiendo los reportes de las formulaciones utilizadas por Rivera, Siqueiros y el Dr. Atl, posteriormente, se estudiaron seis muestras de encáustica tomadas del mural *La Creación*.

Se logró obtener la identificación de los compuestos marcadores de la cera de abeja, la resina de elemí y el copal, así como algunos disolventes. También fue posible identificar algunos de estos marcadores en las muestras del mural. Sin embargo, no fue posible detectar todos los marcadores de las materias primas posiblemente debido al envejecimiento natural y/o a la interacción con otros componentes de la pintura.

2 Objetivos

2.1 Objetivo general

Caracterizar los materiales orgánicos usados en pintura a la encáustica de muestras tomadas del mural *La Creación* de Diego Rivera.

2.2 Objetivos particulares

- Desarrollar los métodos analíticos de CG-EM y RMN para conocer la composición de los materiales que componen la pintura encáustica y atlcolors.
- Seleccionar los principales compuestos marcadores que permiten identificar con ambas técnicas los materiales usados en la pintura a la encáustica y atlcolors.
- Caracterizar una serie de reproducciones realizadas en IIE basadas en las formulaciones reportadas por Rivera, Siqueiros y el Dr. Atl.
- Identificar los materiales presentes en muestras del mural *La Creación* de Diego Rivera.

3 Antecedentes

3.1 La encáustica

La encáustica es una técnica de pintura a la cera usada en la antigüedad grecorromana para la producción de pintura mural, sobre tabla y para policromar o pulir esculturas de piedra y madera.¹ La composición exacta, así como el origen de la técnica, es un tema en constante debate debido a que se conservan pocas obras intactas y ha sido difícil identificar los componentes. Así mismo, los conocimientos que se tienen se basan en la traducción e interpretación de fuentes documentales antiguas.^{2,3} A partir de los textos de Plinio el Viejo, es posible situar el uso de la técnica por lo menos desde el siglo V a.C.²

En general, ésta técnica pictórica usa como aglutinante una mezcla de cera de abeja con diversas resinas y disolventes, para después añadir el pigmento correspondiente. Existen dos formas de aplicación del aglutinante: una técnica “en caliente” en la cual la cera es aplicada derretida y posteriormente cauterizada, y una técnica “en frío” en la cual se aplica como una emulsión obtenida mediante saponificación alcalina de la cera o adición de jabón. En ambos casos, el resultado es similar: una pintura brillante, que presenta ligeros relieves y que es capaz de resistir el paso del tiempo.²

3.2 La encáustica en México

Después de la Revolución Mexicana, cuando José Vasconcelos (1892 – 1959) fue Secretario de Educación del gobierno de Álvaro Obregón (1921-1924), se implementó un programa cultural en el cual se dio gran impulso a las artes con el fin de fomentar el alfabetismo en la población. En especial, se privilegió la pintura mural por su monumentalidad, alcance masivo y poder didáctico, además de su durabilidad.⁴

En la década de 1920, se comisionó a Rivera y al Dr. Atl para pintar murales en la Escuela Nacional Preparatoria (ENP) y en su Anexo, hoy Antiguo Colegio de San Ildefonso y Antiguo Colegio de San Pedro y San Pablo, en la Ciudad de México. Ambos artistas recurrieron a técnicas de pintura a la cera para sus murales. Poco

tiempo después, Siqueiros también fue convocado para realizar murales en la Preparatoria y también utilizó encáustica. Estos trabajos fueron el inicio del movimiento muralista mexicano, y pusieron en boga el uso de la cera para la creación artística.⁴⁻⁶

3.2.1 Diego Rivera y el mural “La Creación”

Rivera, tras años de estudio y experimentación en Europa, desarrolló una fórmula a la encáustica que utilizó para producir su primer mural, *La Creación*, en el anfiteatro de la ENP entre 1922 y 1923.^{4,7}

En el libro *Sobre la encáustica y el fresco*, Rivera detalló los estudios que comenzó a hacer desde 1905 acerca de la pintura a la cera hasta llegar al método usado para *La Creación*. La receta de Rivera para encáustica incluye cera de abeja, copal y resina de elemí diluidos en esencia de espliego y petróleo esencial. Finalmente, menciona como un detalle importante cauterizar para poder dar el acabado ideal al mural.⁷ Un estudio sobre este libro hace notar que Rivera describió de forma ambigua en un solo párrafo la producción del mural y no brinda detalladamente la fórmula que utilizó.⁵

3.2.2 Siqueiros y la encáustica

David Alfaro Siqueiros pintó a la encáustica el mural *Espíritu de Occidente* (también conocido como *Los Elementos*) en el Patio Chico la ENP 1923 y 1924.^{5,8}

En el libro *Cómo se pinta un mural*, Siqueiros detalló su fórmula de la encáustica: una parte cera blanca de abeja, una parte copal, una parte esencia de espliego y gasolina como disolvente mezclado a baño maría. El resultado, menciona, es una mezcla de consistencia similar a la vaselina, a la cual se añaden los pigmentos previamente molidos.⁸

3.2.3 El Dr. Atl y los crayones atcolors

El Dr. Atl creó el mural *Las fuerzas de la naturaleza* (1922-1923) en el Anexo de la Escuela Nacional Preparatoria, utilizando técnicas pictóricas de su invención a las

que se refirió como “óleo al temple, petro-resina o *atlcors*”.⁹ Lamentablemente, dicho mural fue destruido.

Los *atlcors* eran crayones hechos con cera de abeja, copal, trementina y aceite de linaza: Atl realizó diversas formulaciones durante su vida, buscando un medio nuevo que tuviese una aplicación rápida sobre cualquier superficie, papel, madera y muro. Un estudio reciente analizó las fórmulas y demostró que se tratan de escalas de tonos de pigmentos cambiando las proporciones de cera y resinas en la mezcla. Para variar las cualidades de sus crayones, mezclaba otros ingredientes en proporciones distintas (parafina, jabón, aceite de linaza, trementina de Venecia, trementina, amoniaco y aceite de castor).⁹

3.3 Aglutinantes usados en la encáustica.

3.3.1 Cera de abeja

La composición de la cera de abeja es aproximadamente constante y se conforma por: alcanos (14%), monoésteres (35%), diésteres (14%), triésteres (3%), hidroximonoésteres (4%), hidroxipoliésteres (8%), ácidos libres (12%), ésteres monoácidos (1%), poliésteres ácidos (2%), alcoholes libres (1%) y otros compuestos traza no identificados.¹⁰⁻¹²

En muestras arqueológicas o provenientes de trabajos artísticos en las que se busca determinar la presencia de cera de abeja, es importante tomar en cuenta que la composición puede cambiar por las condiciones del medio ambiente,^{13,14} el paso del tiempo¹⁵ y el tratamiento para su aplicación en las obras de arte. En el caso de la encáustica los principales factores a considerar son el calentamiento y la interacción con los pigmentos inorgánicos.¹

Los tres principales fenómenos de degradación de las ceras son: i) La hidrólisis de los ésteres, lo que aumenta la cantidad de ácidos libres, monoalcoholes, dioles e hidroxiaácidos. En este caso el incremento en la cantidad de ácido palmítico es especialmente notable, y se utiliza frecuentemente para identificar cera que ha comenzado a degradarse^{11,12,16}. ii) El calentamiento deliberado de la cera puede sublimar casi por completo el ácido palmítico y los alcanos.¹⁵ iii) La presencia de

pigmentos inorgánicos, además de acelerar el proceso de hidrólisis, da como resultado la formación de sales a partir de la interacción entre los ácidos libres y cationes metálicos; estas sales son hidrosolubles y podrían perderse si las condiciones del medio lo facilitan^{1,13,14}.

3.3.2 Resina de elemí y copal

Las resinas triterpénicas han sido usadas de manera tradicional en el arte como el componente principal de barnices y aglutinantes. Para encáustica en México, principalmente se han utilizado dos resinas: elemí y copal.

Elemí es el término genérico aplicado a un gran número de resinas provenientes de la familia de plantas Burseraceae. Esta familia de plantas incluye más de 600 especies productoras de resinas, varias de las cuales son usadas con fines artísticos. Especialmente, la resina extraída de plantas del género *Canarium* se comercializa con el nombre de elemí y las especies *C. luzonicum* y *C. commune*, que provienen de las islas Filipinas, se comercializan bajo el nombre de elemí Manila.^{11,17}

El término copal originalmente proviene del náhuatl *copalli* y se refería a las resinas usadas en la época prehispánica, principalmente de uso ritual. Actualmente su uso se ha generalizado para resinas terpénicas, principalmente de árboles de la familia Leguminosae. Los copales mexicanos provienen principalmente de la familia Burseraceae y algunos de la familia Fabaceae.^{18,19}

Los principales compuestos identificados en la fracción triterpénica de las resinas de elemí y copal son la α -amirina, β -amirina y lupeol. En el caso del copal se encuentra también el Hop-22(29)-en-3 β -ol, mientras que en elemí se observan los denominados ácidos de elemí del grupo del eufano (C₃₀H₅₀O₃).^{11,17,19} En ambas resinas también hay terpenos en menores concentraciones que con el paso del tiempo tienden a oxidarse y a evaporarse. Los triterpenoides, cuyos productos de oxidación son fácilmente identificables, son los que han sido sugeridos como compuestos marcadores, tanto por su alta concentración como por su estabilidad.^{11,19,20}

4 Fundamentos de las técnicas analíticas

La identificación y cuantificación de compuestos orgánicos en una matriz compleja, como es el caso de la encáustica, implica necesariamente el empleo de técnicas instrumentales de análisis. Las utilizadas en el presente trabajo son la técnica de separación CG acoplada a EM y la técnica de RMN.

4.1 Cromatografía de Gases

La cromatografía es un método físico de separación. En ella, los componentes a ser separados se distribuyen entre dos fases, una fase estacionaria y una fase móvil.²¹ Los métodos cromatográficos se clasifican de acuerdo a la fase móvil. Cuando la fase móvil es un líquido la técnica es llamada cromatografía de líquidos. Si la fase móvil es un gas se le llamada cromatografía de gases (CG).

La CG utiliza como fase móvil un gas de arrastre de alta pureza (99.995% o mayor) químicamente inerte (N_2 , CO_2 , He o Ar), por lo que a diferencia de muchos otros tipos de cromatografías, la fase móvil no interacciona con los compuestos a separar. La única función del gas es transportar a los analitos a lo largo de la columna.^{12,14}

En la Figura 4-1 se muestra un esquema con los componentes básicos de un equipo para CG, que de manera general se describen a continuación:

El sistema de inyección de la muestra que sirve para conducir la muestra a la columna. Inicialmente la muestra es introducida mediante una jeringa (de forma manual o con un automuestreador) a un puerto de inyección. El puerto de inyección generalmente se mantiene a altas temperaturas (250-300 °C) para que los analitos puedan volatizarse antes de entrar a la columna.²²⁻²⁴ Los sistemas de inyección operan de diferentes modos. Los principales son: i) el modo con división de flujo (*split*), en el que solo una pequeña porción de la muestra es dirigida a la columna y el resto es dirigida a una abertura de ventilación (con una relación de split que va de 10:1 a 400:1), y ii) el modo sin división de flujo (*splitless*), en el que la muestra es inyectada con la abertura de ventilación cerrada para que toda la muestra entre a la columna. El modo *split* es utilizado para muestras con

concentraciones relativamente altas, donde los compuestos de interés se encuentran a más de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, mientras que el modo *splitless* es usado cuando las muestras contienen compuestos a nivel de trazas.^{22,23,25}

La columna y el horno es donde ocurre la separación. El horno regula la temperatura de la columna. En la columna es donde los diferentes componentes de la mezcla son retardados de forma selectiva por las diferentes afinidades con la fase estacionaria. Existen tres tipos de columnas: las capilares, las columnas widebore y las empacadas aunque estas últimas han caído en desuso en los últimos años. Las columnas capilares son tubos huecos, abiertos y estrechos cuyo interior está cubierto por la fase estacionaria. Las columnas wide-bore son columnas con un diámetro interno de 0.53 mm o mayor. Las columnas capilares están hechas de sílice fundida recubiertas de poliimida; suelen tener una longitud que va desde 2 a 60 metros, siendo la más común la de 30 m. La fase dimetilsiloxano (95%) fenil (5%) es la fase estacionaria de uso general para varias aplicaciones.²²⁻²⁵

El sistema de detección es donde se identifica la presencia de los compuestos conforme salen de la columna. Existen varios detectores disponibles para acoplar a CG, cuál se utilice dependerá de los compuestos, su concentración esperada y la información acerca de la muestra que se desea conocer. Uno de los detectores que nos ayuda a hacer la identificación de los compuestos es el de EM.^{22,24}

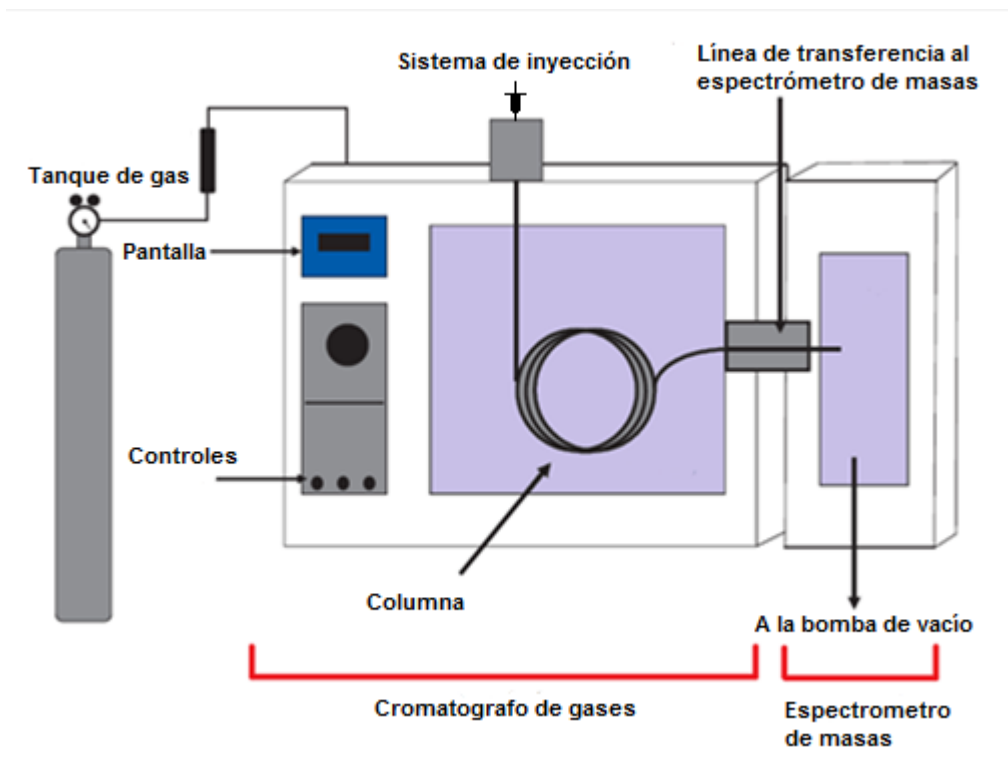


Figura 4-1 Esquema de un sistema CG-EM

4.2 Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas

Para el estudio de mezclas complejas, como las muestras de patrimonio cultural, los equipos de CG con frecuencia se encuentran acoplado a un espectrómetro de masas, convirtiéndose en una técnica híbrida CG-EM que permite la separación e identificación de los compuestos. Las técnicas acopladas CG-EM tienen la ventaja de tener una gran sensibilidad (límite de detección de picogramos), por lo que un equipo CG-EM resulta de gran importancia para los laboratorios analíticos.

La EM es una técnica de análisis que permite identificar un compuesto en función de su masa y los fragmentos que se generan. Puede utilizarse para identificar los diferentes elementos químicos que forman un compuesto, o para determinar el contenido isotópico de diferentes elementos en un mismo compuesto.

El primero en salir de la columna cromatográfica es el eluyente. Este eluyente contiene: la fase móvil y las moléculas del analito. Posteriormente en el espectrómetro de masas se separan los iones formados de acuerdo a sus valores

de relación masas/carga (m/z). Dado que en los sistemas CG-EM la mayoría de los iones formados tienen solo una carga, el valor m/z se considera la masa del ion. El patrón específico de fragmentación obtenido por el detector permite la identificación del compuesto.²⁵

Un espectrómetro de masas está compuesto por:

El sistema de introducción de la muestra en donde se vaporiza la muestra.

La fuente de iones, que produce un haz de electrones de alta energía que ioniza la muestra

El analizador que separa los iones en función de su relación m/z ,

El **detector** que transforma los iones que chocan en las paredes en señales eléctricas.

Cuando se trabaja con sistemas acoplados de CG-EM, la identificación de los compuestos se puede realizar comparando los espectros obtenidos con los espectros de compuestos patrón, o a través de la interpretación de los patrones de fragmentación. Esta comparación actualmente se realiza a través de sistemas de búsqueda en bibliotecas informatizadas. No hay que olvidar que además de comparar los espectros con los que están en una base de datos, el espectro de masas puede ser interpretado para lograr la identificación del compuesto.

4.2.1 Preparación de muestra para CG.

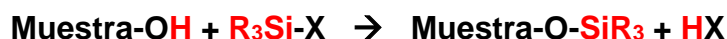
Los compuestos que pueden volatizarse sin descomponerse son adecuados para analizarse directamente por CG. Sin embargo, para el análisis de compuestos con grupos funcionales polares (principalmente los que presentan hidrógenos activos) es necesario derivatizarlos con el fin de mejorar su volatilidad, su estabilidad térmica y, en ciertos casos, su sensibilidad en la detección.²⁵

4.2.1.1 Derivatización

La derivatización consiste en hacer reaccionar el hidrógeno activo con un agente químico que transforme al compuesto en otro menos polar. Las reacciones de

derivatización se han empleado durante años, aunque han ido evolucionando los reactivos derivatizantes, haciéndolos más específicos. Hay tres grupos principales de reacciones de derivatización:

Reacciones de Sililación. Esta reacción consiste en la introducción de un grupo silil, como pueden ser trimetilsilil (TMS) o t-butildimetilsilil (TBDMS), en una molécula mediante la sustitución de hidrógenos activos de grupos OH, SH o NH. Es el método de derivatización más usado, pues sirve para incrementar la volatilidad de muestras no volátiles al reducir las interacciones dipolo-dipolo. La reacción general es la siguiente:



Uno de los principales reactivos usados para la sililación es el N,O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA), que es usado principalmente en el análisis de compuestos como alcoholes alifáticos y aromáticos, ácidos orgánicos, carbohidratos, los cuales suelen encontrarse en cera de abeja y resinas terpénicas.

Reacciones de Alquilación. En esta reacción se reemplaza un hidrógeno activo por un grupo alifático o alifático-aromático (bencilo) para obtener un éster. La principal aplicación de esta técnica es la conversión de ácidos orgánicos en ésteres. La reacción general es la siguiente:



Debido a que se requieren condiciones más extremas y reactivos más potentes, la selectividad y aplicabilidad de este método resulta más limitada

Reacciones de acilación. La derivatización por acilación es un tipo de reacción en el cuál un grupo acilo es introducido en un compuesto que contenga hidrógenos activos para formar ésteres, tioésteres y amidas mediante la acción de un ácido carboxílico o un derivado de ácido carboxílico. El esquema general de reacción es el siguiente:



La reacción de acilación se usa principalmente para mejorar la volatilidad de carbohidratos y aminoácidos, mejorar la detección de compuestos con el detector de captura de electrones; además que los derivados de acilo tienden a producir patrones de fragmentación en EM claros de interpretar.

Los derivados de acilo pueden ser difíciles de preparar por la interferencia de subproductos de reacción; además que los reactivos son sensibles a la humedad y nocivos para la salud.

4.3 Resonancia Magnética Nuclear

La espectroscopia de RMN es una técnica de análisis instrumental no destructiva que detecta los ambientes químicos de núcleos atómicos por medio de la absorción de radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencia. Estas absorciones son discretas y dependen del tipo de núcleo y del ambiente químico en el que se encuentran, obteniéndose dicho efecto solamente bajo el influjo de un campo magnético intenso.²⁶

En circunstancias normales (fuera del influjo de un campo magnético) el momento magnético de los núcleos está orientado en el espacio al azar. Al colocar un campo magnético B_0 , se alinean con dicho campo, ya sea a favor o en contra de éste, siguiendo la distribución de Boltzmann y describiendo un movimiento de precesión a una frecuencia proporcional al campo magnético, llamada frecuencia de Larmor. Esta frecuencia depende de la constante giromagnética; la cual es propiedad intrínseca del núcleo. Para poder hacer que entren en resonancia, se les aplica una radiofrecuencia, similar a la frecuencia en que precesan, perpendicular a la dirección de la magnetización, sacándolos de su equilibrio y observando la señal que generan al regresar a su estado original.

Los componentes básicos de un equipo moderno con el que se detecta el fenómeno de RMN se muestran en la Figura 4-2. Entre las partes más importantes está un **imán superconductor** que genere un campo magnético intenso, estable y homogéneo; una **sonda** compuesta de bobinas para la excitación y detección de los espines nucleares; un **transmisor de pulsos de radiofrecuencia** para

generar las radiofrecuencias de excitación de los núcleos; y, una **computadora** que controle el sistema de procesamiento de la señal.

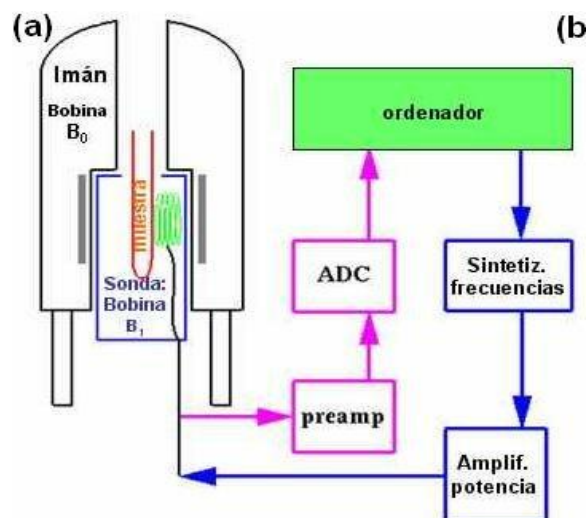


Figura 4-2 Esquema de un espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear

En un espectro convencional de RMN de una dimensión (1D) se tiene una gráfica de intensidad de señal en función de la frecuencia resonancia (que por diversas razones se muestran en unidades de ppm); mientras que en los experimentos bidimensionales (2D) se grafica la intensidad en función de dos ejes de frecuencia. Los experimentos 2D pueden clasificarse en **experimentos de correlación homonuclear** en los que todas las dimensiones corresponden al mismo núcleo; por ejemplo, correlaciones ^1H - ^1H a 2 o 3 enlaces como el COSY (*CORrelation Spectroscopy*) o a más enlaces como el TOCSY (*Total Correlation Spectroscopy*). Los **experimentos de correlación heteronuclear** en los cuales se obtienen espectros cuyas dimensiones pertenecen a diferentes núcleos; por ejemplo correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace como el HSQC (*Heteronuclear Simple Quantum Correlation*) o a 2 y 3 enlaces como el HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*).^{28,29}

4.4 Aplicaciones de la CG/EM y RMN al estudio de la encáustica

Los estudios para analizar la composición química de materiales orgánicos de piezas del patrimonio cultural, así como el análisis de los procesos de degradación, son fundamentales para comprender tanto la técnica de manufactura

como el estado de deterioro de los objetos. Los resultados de estos análisis pueden servir como guía en la selección de los métodos de preservación y restauración.

Desde hace años la CG/EM y en años más recientes la RMN en 1D y 2D han sido usadas para caracterizar la composición química de materiales orgánicos de piezas del patrimonio cultural, tales como pinturas, madera, resinas, aglutinantes, ceras, y materiales poliméricos.³⁰ En cuanto al análisis particular de la encáustica y/o de alguno de sus componentes, en la Tabla 4-1 se algunas de las investigaciones reportadas en la bibliografía con los estudios realizados por CG-EM y RMN.

Tabla 4-1 Estudios de caracterización y análisis de la composición química sobre encáustica y/o sus componentes mediante RMN y CG-E

Aplicaciones	Año	Técnica	Ref
Determinación de los cambio causados por pigmentos en resinas di y triterpenoides usadas como aglutinantes en pinturas	2006	CG-EM	20
Análisis de la composición y el origen de los materiales orgánicos encontrados en bálsamos y ungüentos	2008	CG-EM	16
Análisis de restos arqueológicos de ungüentos con contenido de cera de abeja, preparada de forma similar a la cera púnica usada en encáustica	2011	CG-EM	14
Identificación de cera de abeja en muestras de pinturas romanas a la encáustica	2012	CG-EM	3
Caracterización de lípidos y sus productos de degradación para su identificación en ungüentos de origen arqueológico	2012	RMN	12
Análisis de resinas di- an- tri-terpénicas para su identificación en muestras de ambientes arqueológicos	2014	CG-EM, RMN	31
Investigación sobre las propiedades físicas y moleculares de una serie de reproducciones de pinturas a la encáustica antes y después de envejecer	2018	CG-EM	1

5 Materiales y metodología

En este capítulo se detallan los procedimientos analíticos utilizados para el estudio de: i) los materiales utilizados para la elaboración de las réplicas pictóricas, ii) las réplicas pictóricas y iii) las muestras tomadas de la pintura mural a la encáustica “*La Creación*” realizada por Rivera.

5.1 Materiales pictóricos para encáustica

Los materiales comerciales utilizados para las reproducciones fueron:

- Cera de abeja amarilla (tienda Santiago).^a
- Con fines comparativos: cera de abeja blanca (Farmacia París), cera de abeja para uso artístico (Kremer), ^b cera de abeja refinada (Casa Serra), y cera de abeja en trozo y laminada (comprada en un tianguis local de Xochimilco, México).
- Copal (Casa Serra).^c
- Resina de élemi (Kremer).

5.2 Reproducciones de mezclas para encáustica y atlcolors

Las reproducciones de las mezclas fueron realizadas en el Laboratorio de Diagnóstico de Obras de Arte del IIE con base en documentos originales escritos por los artistas. Se usaron las materias primas indicadas en la sección 5.1 y como disolventes esencia de espliego (aluzema), aceite de linaza y "White Spirit" de grado artístico.

5.2.1 Mezcla para atlcolors

La formulación de la base usada para elaborar los crayones atlcolor se basó en las notas del “Dr. Atl” que están resguardados en el Fondo Reservado de la Biblioteca Nacional de México. Para la elaboración, se fundió cera de abeja y copal en un

^a Santiago, tienda mexicana especializada en materiales para artistas, restauradores y doradores. <http://www.santiagomateriales.com/>

^b Kremer, marca alemana de materiales artísticos de acuerdo con referencias históricas. <https://www.kremer-pigmente.com/>

^c Casa Serra, tienda mexicana de materiales para artistas y artesanos. <https://casaserra.com.mx/>

recipiente en baño maría, posteriormente se añadió aceite de linaza y trementina manteniendo agitación.

5.2.2 Mezcla para encáustica de David Alfaro Siqueiros

Para elaborar la formulación de la mezcla para encáustica de David Alfaro Siqueiros se utilizó un volumen de copal, uno de cera de abeja y uno de esencia de espliego “azulema”. Las resinas y la cera de abeja se calentaron hasta que estuvieran en forma líquida, para que después se mezclaran los tres materiales juntos, agitando hasta que se integraron completamente; la consistencia de esta mezcla es parecida a la vaselina, pero al irse enfriando endureció.

5.2.3 Mezcla para encáustica de Diego Rivera

Para elaborar la formulación de la mezcla para encáustica se siguió el procedimiento reportado por Rivera en el libro *Sobre la encáustica y el fresco*. Los componentes usados fueron cera amarilla, “azulema”, resina de elemí, copal y petróleo esencial (white spirit). Se utilizó el mismo volumen de copal, cera de abeja y resina de elemí. Por separado, se disolvió la cera de abeja y la resina de elemí en esencia de espliego, mientras que el copal se disolvió en white spirit. En cuanto estuvieron en estado líquido se mezclaron todas y se añadió un volumen adicional de cera de abeja.

5.2.4 Mezcla para encáustica de Rivera, con pigmento y cauterizada

A la mezcla para encáustica de Rivera se le adicionó pigmento blanco de zinc y fue cauterizada con soplete con el fin de imitar el tratamiento que recibiría al ser aplicado en pintura mural.

5.3 Muestras pictórica de *La Creación* de Diego Rivera

Como parte del proyecto PAPIIT IN402417 “*La Superficie y el color. Estudios interdisciplinarios sobre los materiales de pintura del arte moderno mexicano*” se realizó el estudio material del mural de Rivera *La Creación*. En dicha investigación se tomaron 30 muestras del mural; las cuales se analizan por microscopía

electrónica de barrido en una tesis doctoral en historia del arte.⁴ Con el objetivo de caracterizar químicamente los aglutinantes utilizados por Rivera, en la presente tesis se analizaron seis de estas muestras por las técnicas RMN y CG-EM. Las muestras estudiadas se enlistan en la junto con una breve descripción.

De las muestras M29 Negro y M29 Verde se disponía de aproximadamente 3mg pues fueron tomadas de los bordes del mural, mientras que las demás muestras fueron tomadas de partes centrales del mural y en cantidades mínimas, por lo cual se disponía de menos de 1mg de cada una, en especial la muestra M21 Laca pues se trataba de un fragmento de muro con una película delgada del medio pictórico.

Tabla 5-1 Muestras del mural La Creacion y su caracterización por MEB-EDS

Muestra	Descripción
M29 Negro	Pigmento oscuro y apariencia de copal
M29 Verde	Pigmento verde y apariencia de copal
M27 Manto Rosa	Apariencia de fragmentos “limpios” de copal
M28 Nahui	Tomada de la parte del mural “Nahui”
M21 Laca	Laca orgánica roja, blanco de zinc, amarillo de cromo, verde viridia, verde de marfil y calcita

5.4 Reactivos y Estándares

Disolvente para RMN: cloroformo (CDCl₃) con grado de deuteración 99.8% de Cambridge Isotope Laboratories (Massachusetts, EUA).

Disolventes y reactivos para CG-EM: metanol (≥99.9) y dietileter (≥99.8%) de Fluka Analytical (Steinheim, Alemania); isooctano (99.7%) y n-hexano (95%) de Fermont (Monterrey, México). Reactivos: KOH (≥85%) y HCl (37%) de Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Derivatizantes: N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (≥99.9) de Sigma-Aldrich. Estándar interno: ácido n-tridecanóico (≥99.9) de Sigma-Aldrich.

5.5 Análisis por Resonancia Magnética Nuclear

Para el análisis por RMN se pesaron aproximadamente 3 mg de las muestras en viales de 4 mL. Se adicionaron 0.6 mL de cloroformo deuterado (CDCl₃) con grado

de deuteración 99.8%. Posteriormente, se sonicaron por cinco minutos y una vez sedimentada la parte insoluble se transfirieron a tubos de RMN de 5mm por medio de pipetas Pasteur. El espectrómetro empleado es un equipo Bruker Avance III HD 700 MHz para ^1H (campo magnético de 16.4 T, figura 5-1), equipado con una sonda criogénica CPTCI (criosonda) de tres canales para $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ con bobina de gradientes en el eje z.

Los espectros se adquirieron a 298.0 K, sin giro del tubo de RMN y con las secuencias de pulsos estándar de la librería de Bruker: *zg30* para la adquisición de los espectros de ^1H -RMN, *hsqcedetgp* para HSQC y *hmbcetgpl3nd* para HMBC.

Los espectros se procesaron con el software MestReNova 12.0.1 (Santiago de Compostela, España). Para los experimentos ^1H -RMN se ajustó la fase manualmente; se corrigió la línea base con el método de ajuste polinomios de Bernstein; se apodizó con la función exponencial a 0.3 Hz. En los experimentos ed-HSQC se corrigió la fase de forma manual.

5.6 Análisis por Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas

5.6.1 Condiciones cromatográficas

El análisis instrumental se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent 7890B GC System acoplado a un espectrómetro de masas 5977A MSD. Se utilizó un inyector multimodo (MMI) en modo split (20:1) a 553.15 K. El cromatógrafo de gases se equipó con una columna Agilent J&W HP-5ms (30 m x 0.250 mm x 0.25 μm). El programa de temperatura aplicado fue: 353.15 K durante 2 min, incremento de 283.15 K/min hasta 473.15 K y enseguida de 279.15 K/min hasta 553.15 K manteniéndose durante 35 min. El volumen de inyección fue de 1 μL .

En el espectrómetro de masas se utilizó electro ionización (70 eV) y un cuadrupolo como analizador másico. La temperatura de la línea de transferencia, fuente de ionización y cuadrupolo fue de 573.15, 503.15 y 423.15 K respectivamente. El análisis se realizó utilizando el modo SCAN (monitoreando m/z: 50-500).

5.6.2 Identificación de compuestos orgánicos

La identificación de los compuestos se realizó con el software Unknown Analysis de Agilent, el cual identifica compuestos mediante el análisis de los patrones de fragmentación comparando los espectros de masas obtenidos con la base de datos del Instituto Nacional de Estandarización y Tecnología de EUA (NIST) versión 14. Se decidió utilizar un match mínimo del 80%.

5.6.3 Preparación de muestra

Para cada muestra, se colocaron 2-3 mg en un vial de fondo cónico al cual previamente se adicionó 1 mL de KOH metanólico ($\text{KOH}_{\text{CH}_3\text{OH}}$ 10% masa / $\text{KOH}_{\text{H}_2\text{O}}$ 10% masa, 2:3) y se calentó a 353.15 K durante 3 horas. Se realizó una primera extracción para obtener los componentes orgánicos neutros adicionando 500 μL de n-hexano, agitando en Vórtex por 30 segundos y transfiriendo el sobrenadante a otro vial cónico (3 veces). El remanente se acidificó con ácido clorhídrico 5 M hasta llegar a $\text{pH}=2$; se realizó otra extracción para obtener los compuestos orgánicos ácidos adicionando 500 μL de dietiléter y siguiendo el procedimiento previamente mencionado. Ambos extractos (fracción neutra y ácida) se llevaron a sequedad con un flujo suave de nitrógeno. Para realizar la derivatización se reconstituyó con 250 μL de isooctano (10 μL en el caso de las muestras del mural), se agregaron 25 μL de BSTFA y se calentó a 353.15 K durante 30 minutos. En las fracciones ácidas adicionalmente se agregaron 10 μL de ácido n-tridecanóico con concentración de 1.52 mg g^{-1} . Se realizó el análisis del derivado por CG-EM.

6 Resultados

Las muestras de ceras y resinas fueron caracterizadas con el fin de identificar los compuestos marcadores. Los espectros de los experimentos COSY, ed-HSQC y HMBC, utilizados de forma auxiliar para confirmar la presencia de dichos compuestos, así como las tablas de resultados de los experimentos de CG-EM correspondientes se encuentran en el Anexo I.

6.1 Selección de marcadores de cera de abeja, copal y resina de elemí

6.1.1 Cera de abeja

En la figura 6-1 se muestra los espectros de ^1H -RMN de las seis muestras de ceras de abeja, en los cuales se indican con letras los principales grupos químicos identificados, que fueron ésteres no lineales (a, b, c), lineales (d, i, k) e insaturados (a, j), ácidos grasos (h), alcoholes (e, f, g, l, n) y alcanos (m, o). La asignación de las principales señales se encuentra en la tabla 6-1.

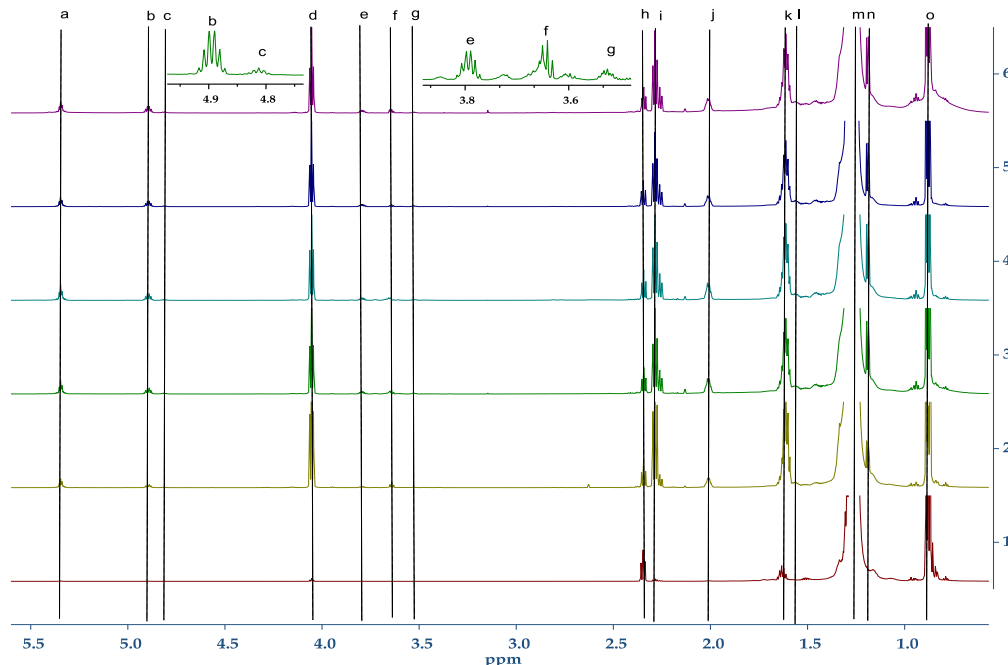


Figura 6-1 Espectro RMN ^1H (700MHz, CDCl_3) de cera de abeja blanca Farmacia París (1), para uso artístico Kremer (2), refinada Casa Serra (3), amarilla Casa Serra (4), de Xochimilco “trozo” (5) y “laminada” (6). Las letras en la parte superior corresponden a las asignaciones reportadas en la tabla 6-1. En la parte superior se muestra la ampliación de las señales b, c, e, f y g.

Tabla 6-1 Asignación de las diferentes señales de $^1\text{H-RMN}$ - en cera de abeja. El protón de la señal correspondiente ha sido resaltado en *itálica y negritas*.

Grupos químicos		Desplazamiento químico/ ppm (multiplicidad, constante de acoplamiento)
R-<i>HC=CH</i>-R	doble enlace (a)	5.40 – 5.30 (m)
CH₃-<i>CH</i>-O(COR)-R	éster, alcohol ω -1 (b)	4.90 (m, $J = 6.3$ Hz)
R-<i>CH</i>-O(COR)-R	éster, alcohol 2° (c)	4.80 (m, $J = 6.1$ Hz)
R-<i>CH₂</i>-O(COR)	éster, alcohol 1° (d)	4.05 (t, $J = 6.7$ Hz)
CH₃-<i>CH</i>-OH-R	alcohol ω -1(e)	3.79 (m, $J = 6.3$ Hz)
R-<i>CH₂</i>OH	alcohol 1° (f)	3.64 (t, $J = 6.7$ Hz)
R-<i>CH</i>-OH-R	alcohol 2° (g)	3.53 (m)
R-<i>CH₂</i>COOH	ácido graso (h)	2.34 (t, $J = 7.5$ Hz)
R-<i>CH₂</i>COO-R	éster, ácido graso (i)	2.28 (t, $J = 7.5$ Hz)
R-<i>CH₂</i>-CH=CH-CH₂-R	metileno α a doble enlace (j)	2.01 (m, $J = 6.4$ Hz)
R-<i>CH₂</i>-CH₂-COO-	éster, ácido graso (k)	1.61 (m, $J = 7.2, 6.7$ Hz)
R-<i>CH₂</i>-CH₂-OH	metileno α a alcohol 1°(l)	1.57 (m)
R-<i>CH₂</i>-R	Metileno (m)	1.25 (m)
CH₃-CHOH-R	metilo ω a alcohol 1° (n)	1.19 (d, $J = 3.1$ Hz)
R-<i>CH₃</i>	Metilo (o)	0.88 (t, $J = 6.9$ Hz)

El sistema de nomenclatura " ω " en este caso toma como referencia el extremo metilo de la molécula del lado alcohólico del éster.

Las Figura 6-2 y Figura 6-3 muestran los análisis por CG-EM de cera de abeja, previa hidrólisis y derivatización. En la fracción neutra (Figura 6-2) se identificaron alcanos como tricosano, tetracosano, pentacosano, hexacosano, heptacosano, octacosano, nonacosano, triacontano, hentriacontano, dotriacontano y tritriacontano, y algunos alcoholes como alcohol behénico y octacosanol. Por otro lado, en la fracción ácida (Figura 6-3) se observan dos picos en mayor proporción los cuales corresponden a ácido palmítico y a ácido 9-hidrosidecanoico; también se identificaron otros ácidos grasos tales como ácido oleico, esteárico, eicosanoico y lignocérico.

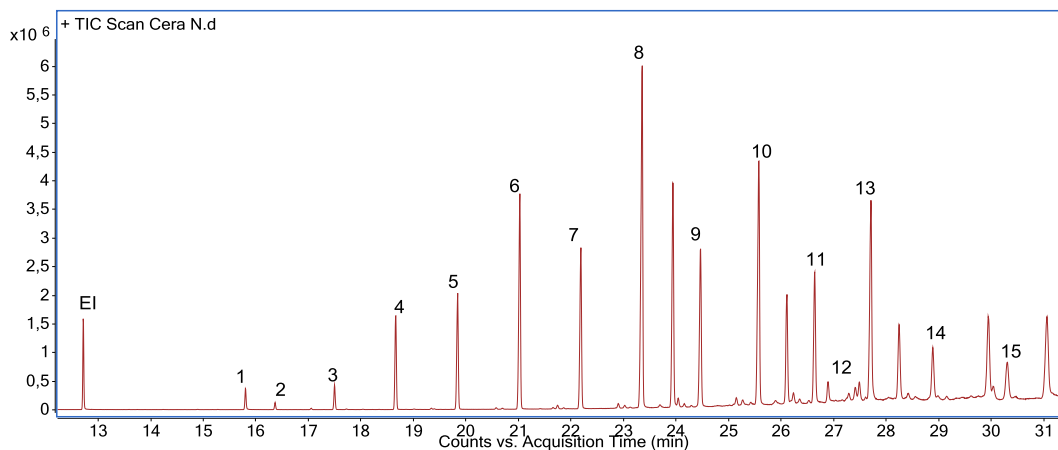


Figura 6-2 TIC de la fracción neutra de cera de abeja. Condiciones de adquisición en sección 5-7. 1. Ácido palmítico. 2. Heneicosano. 3. Docosano. 4. Tricosano. 5. Tetracosano. 6. Pentacosano. 7. Hexacosano. 8. Heptacosano. 9. Octacosano. 10. Nonacosano. 11. Triacotano. 12. Alcohol behénico. 13. Hentriacontano. 14. Dotriacontano 15. Tritriacontano.

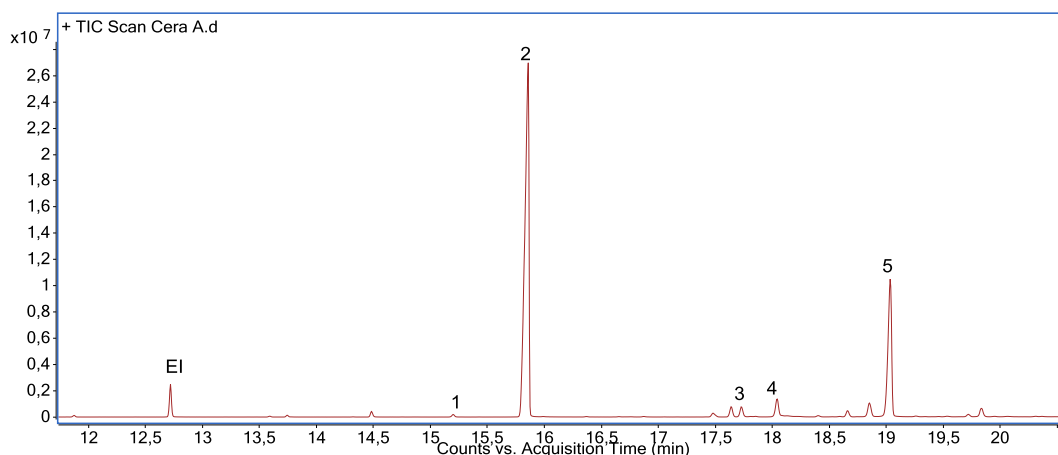


Figura 6-3 TIC de la fracción ácida de cera de abeja. Condiciones de adquisición en sección 5-7. 1. Ácido hexadecanoico. 2. Ácido palmítico. 3. Ácido oleico. 4. Ácido esteárico. 5. Ácido 9-hidroxidecanoico.

6.1.2 Copal y resina de elemí

En la Figura 6-4 se muestran los espectros de ^1H -RMN de copal (espectro superior) y resina de elemí (espectro inferior). Se puede observar que ambas muestras presentan las señales características de α -amirina (t, $\delta^1\text{H}$ 5.12 ppm, $J = 3.6$ Hz) y β -amirina (t, $\delta^1\text{H}$ 5.18 ppm, $J = 3.5$ Hz). En el espectro de la muestra de copal también se ven señales características de Lupeol, las cuales también se observan, pero con baja intensidad, en el espectro de elemí (d, $\delta^1\text{H}$ 4.68 ppm, $J = 2.5$ Hz; m, $\delta^1\text{H}$ 4.56 ppm; dd, $\delta^1\text{H}$ 3.22 ppm, $J = 11.4, 4.8$ Hz; s, $\delta^1\text{H}$ 1.67 ppm).

Por otra parte, en el espectro de resina de elemí se pueden observar las señales características de elemicín, de las cuáles las más sobresalientes son los singuletes en $\delta^1\text{H}$ 6.41, 3.85 y 3.82 ppm. Finalmente, se observaron en el espectro de copal dos señales de un compuesto que no se logró identificar, un triplete en $\delta^1\text{H}$ 3.38 ($J = 2.9$ Hz) y un doblete en $\delta^1\text{H}$ 1.52 ppm ($J = 3.8$ Hz), las cuales tienen correlación H-H en el espectro COSY.

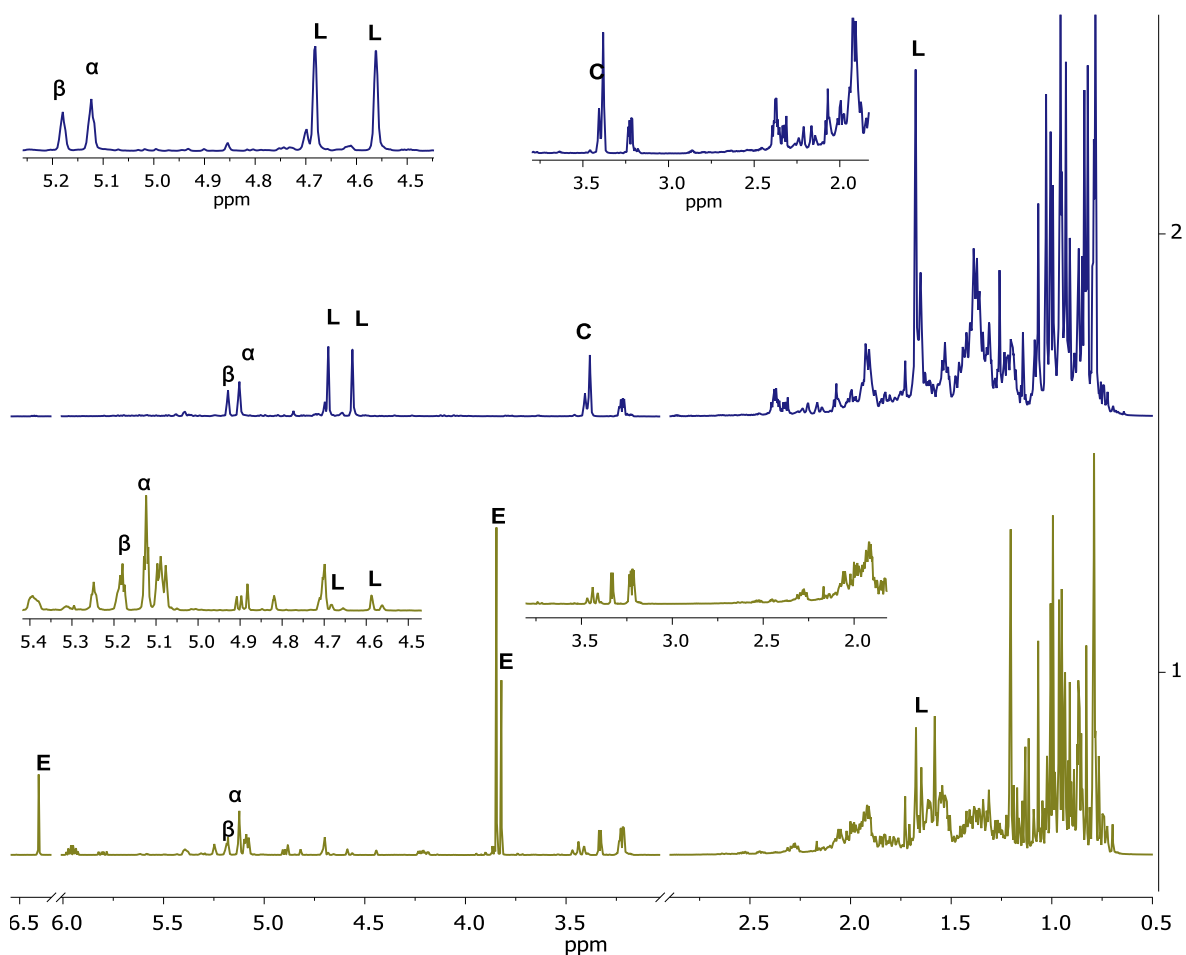
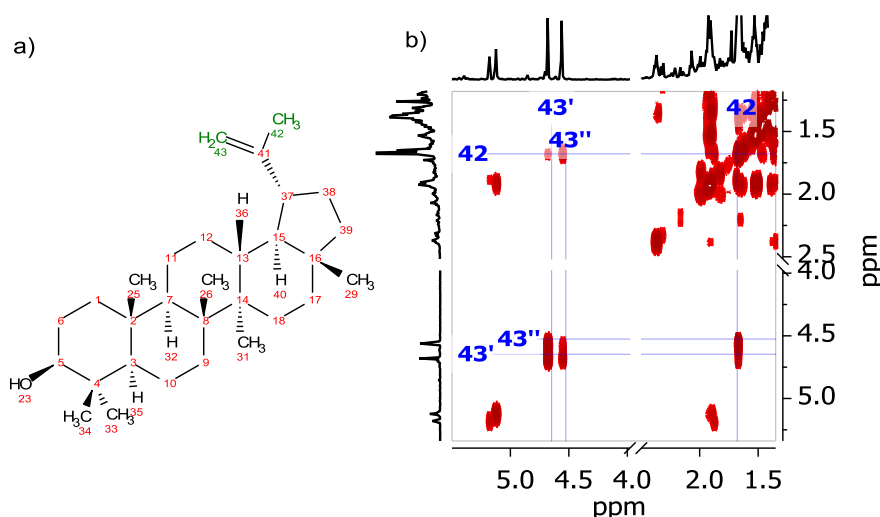


Figura 6-4 Espectros RMN ^1H (700MHz, CDCl_3) de resina de elemí (1) y copal (2), con ampliación en las regiones de 5.3-4.4 ppm y 3.6-1.9 ppm. E = elemicín, β = β -amirina, α = α -amirina, L = lupeol, C=compuesto no identificado del copal.

Finalmente, con el análisis de correlaciones entre núcleos ^1H - ^1H del experimento COSY, y ^1H - ^{13}C de los experimentos bidimensionales ed-HSQC y HMBC

acoplados, se confirmaron las principales correlaciones de lupeol, α -amirina y β -amirina como se describe a continuación:

- Lupeol (Figura 6-5)
 - En el espectro COSY se observan la correlación entre los protones H43' ($\delta^1\text{H}$ 4.68 ppm) y H43'' ($\delta^1\text{H}$ 4.56 ppm), la del protón H43' con el protón H42 ($\delta^1\text{H}$ 1.67 ppm) y del protón H43'' con H42.
- α -amirina (Figura 6-6)
 - En el espectro COSY se observan las correlaciones de los protones H12 ($\delta^1\text{H}$ 5.13 ppm) y H32 ($\delta^1\text{H}$ 1.53 ppm) con el protón H11 ($\delta^1\text{H}$ 1.90 ppm)
 - En los espectros sobrepuestos edHSQC y HMBC el protón H12 ($\delta^1\text{H}/\delta^{13}\text{C}$ 5.13/124.65 ppm) correlaciona con los carbonos C15 ($\delta^{13}\text{C}$ 59.25 ppm), C14 ($\delta^{13}\text{C}$ 42.12 ppm), C7 ($\delta^{13}\text{C}$ 47.84 ppm) y C11 ($\delta^{13}\text{C}$ 23.26).
- β -amirina (Figura 6-7)
 - En el espectro COSY se observa la correlación ^1H - ^1H entre H12 ($\delta^1\text{H}$ 5.18 ppm) y H11 ($\delta^1\text{H}$ 1.87 ppm).
 - En los espectros sobrepuestos edHSQC y HMBC se observan las correlaciones del protón H12 ($\delta^1\text{H}/\delta^{13}\text{C}$ 5.18/121.93 ppm) con C7 ($\delta^{13}\text{C}$ 47.18), C14 ($\delta^{13}\text{C}$ 41.92 ppm) y C11 ($\delta^{13}\text{C}$ 23.50 ppm).



- Figura 6-5 Estructura de lupeol (a) y sus principales correlaciones en el espectro (700MHz) COSY de copal (b). La numeración en las estructuras es solo con fines de asignación.

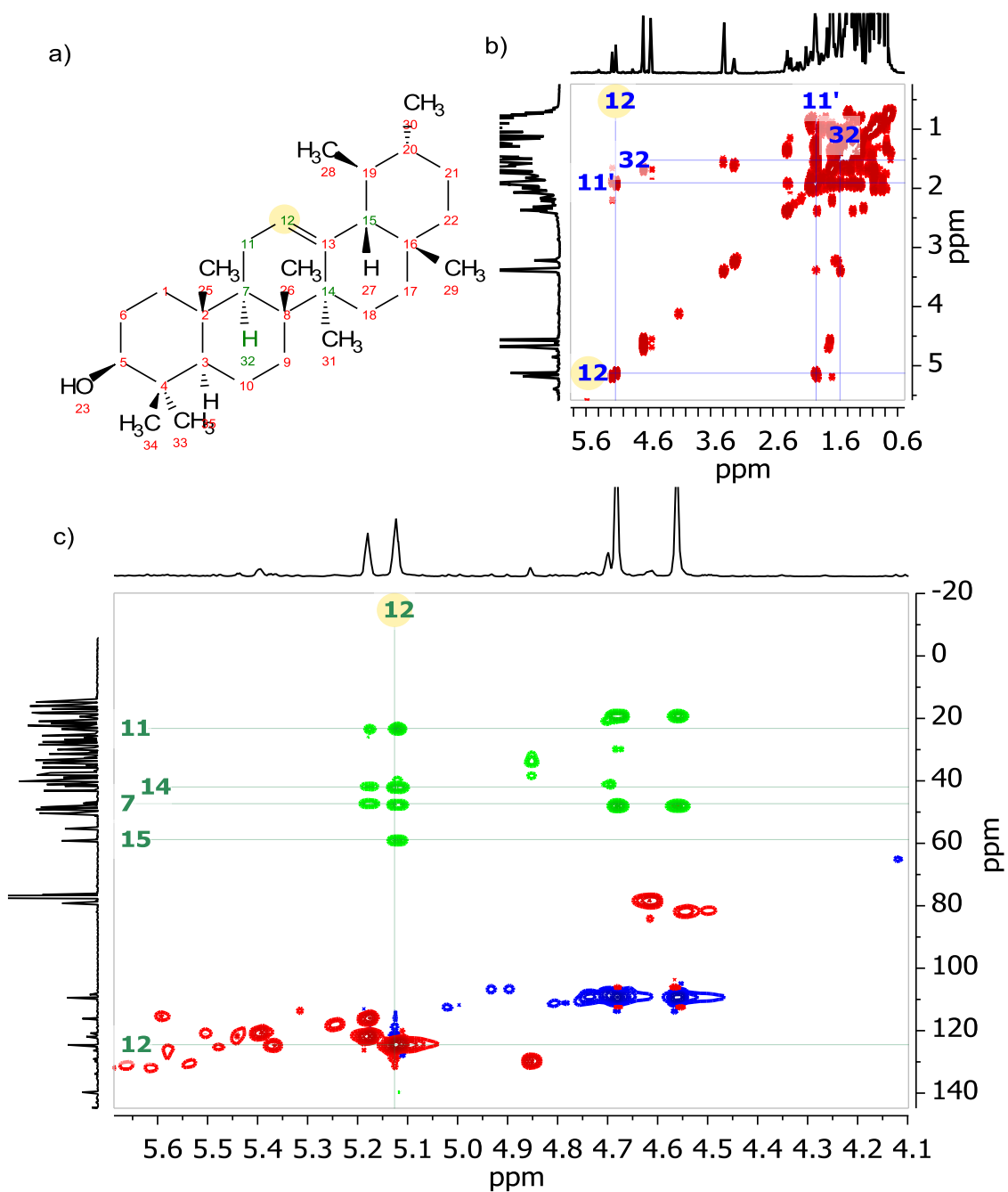


Figura 6-6 Estructura de la α -amirina (a) y sus principales correlaciones en el espectro (700MHz) COSY (b) y los espectros sobrepuestos (700MHz) ed-HSQC/HMBC de copal (c). La numeración en las estructuras es solo con fines de asignación.

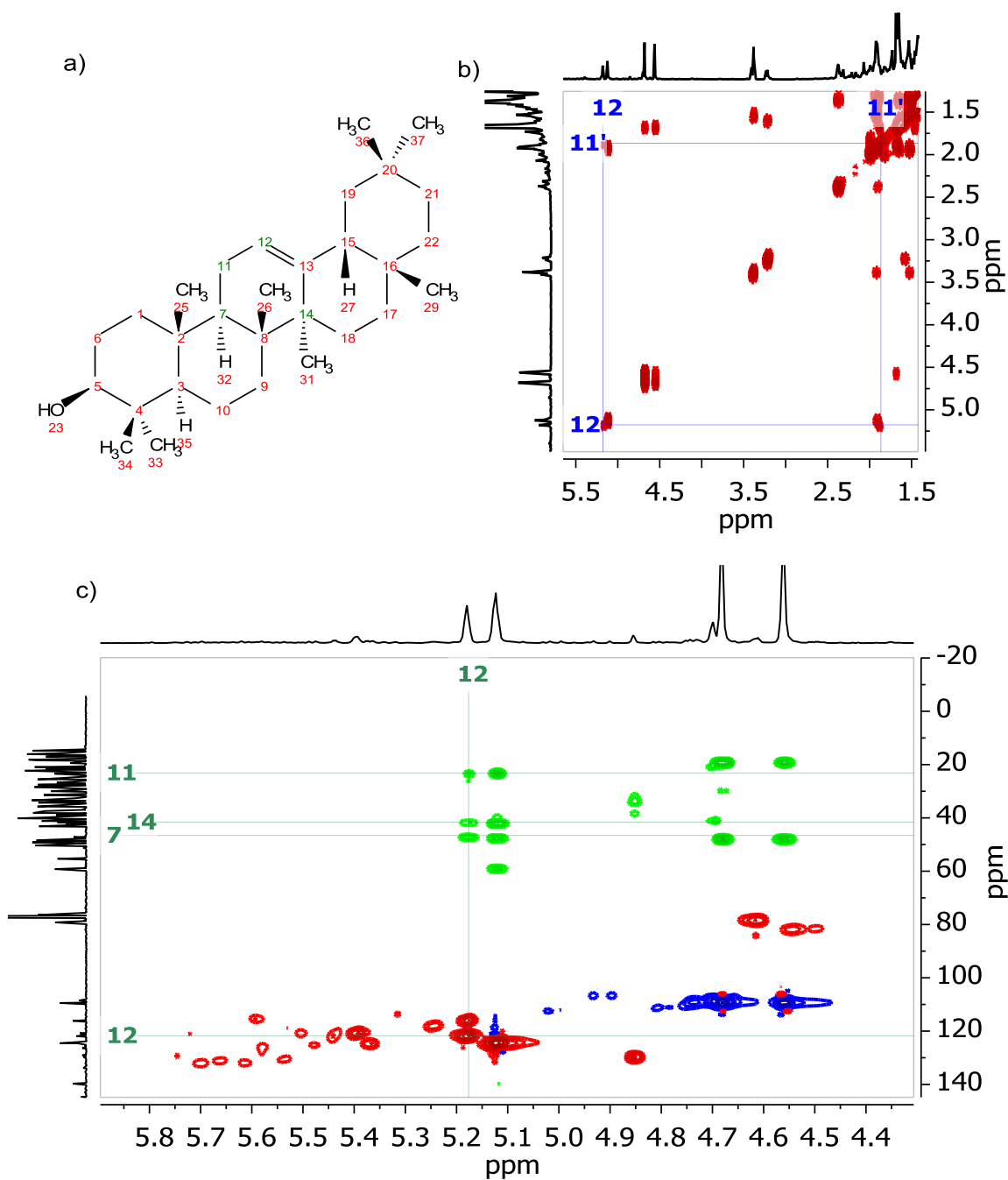


Figura 6-7 Estructura de la β -amirina (a) y sus principales correlaciones en el espectro (700MHz) COSY (b) y los espectros sobrepuestos (700MHz) ed-HSQC/HMBC de copal (c). La numeración en las estructuras es solo con fines de asignación.

El análisis por CG-EM de la muestra de copal se muestra en las Figura 6-8 Figura 6-9, fracciones neutra y ácida respectivamente. En la fracción neutra se identificaron β -amirina, Lupeol, y α -amirina en mayor concentración, aunque estos compuestos no se derivatizaron por completo por lo que se observa el compuesto

trimetil silil derivatizado y sin derivatizar. También se observa acetato de β -amirina, el cual no se hidrolizó bajo las condiciones de reacción empleadas. En la fracción ácida se observaron señales con baja intensidad de algunos ácidos grasos.

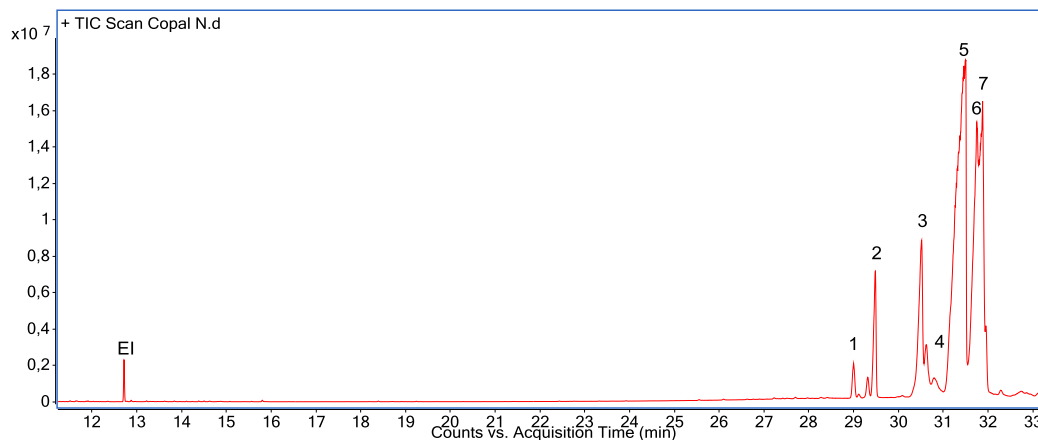


Figura 6-8 TIC de la fracción neutra de copal. Condiciones de adquisición en sección 5-7. 1. β -amirina (TMS). 2. Lupeol (TMS). 3. Acetato de β -amirina. 4. β -amirina. 5. Lupeol. 6. α -amirina. 7. α -amirina (TMS).

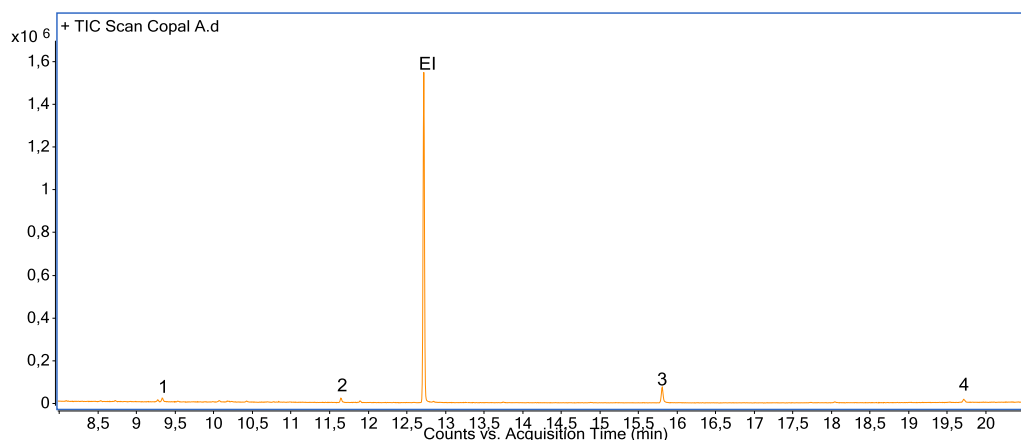


Figura 6-9 TIC de la fracción ácida de copal. Condiciones de adquisición en sección 5-7. 1. Ácido decanoico. 2. Ácido dodecanoico. 3. Ácido Palmítico. 4. Metil (3, 4-dimetoxifenil)(hidroxi)acetato.

Los análisis de CG-EM de las fracciones neutra y ácida de elemí se muestran en las Figura 6-10 y Figura 6-11 respectivamente. En la fracción neutra las señales más intensas corresponden a elemicin, β -amirina y α -amirina. Lupeol también fue identificado con una señal de menor intensidad comparada a los compuestos fenólicos y terpenoides encontrados en la muestra (isoelemicin, γ -eudesmol, (+)- β -eudesmol, asarona, zingiberol, α -eudesmol, proximadiol. y β -eudesmol).

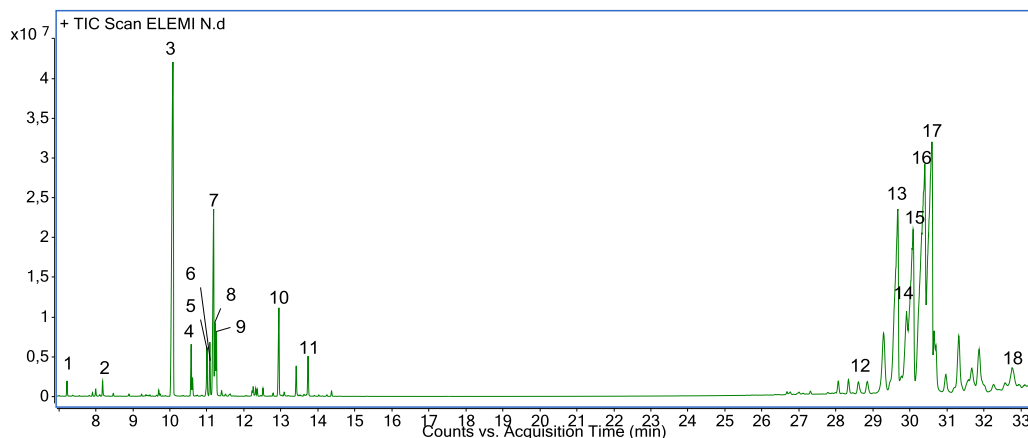


Figura 6-10 TIC de la fracción neutra de resina de elemi. Condiciones de adquisición en sección 5-7. 1. (S)-(-)- α -terpineol (TMS). 2. Metileugenol. 3. Elemicin. 4. Isoelemicin. 5. γ -eudesmol. 6. (+)- β -eudesmol. 7. Asarona. 8. Zingiberol. 9. α -Eudesmol. 10. Proximadiol. 11. β -eudesmol. 12. Lanosterol. 13. β -amirina. 14. Acetato de β -amirina. 15. β -amirina (TMS). 16. α -amirina. 17. α -amirina (TMS). 18. Lupeol.

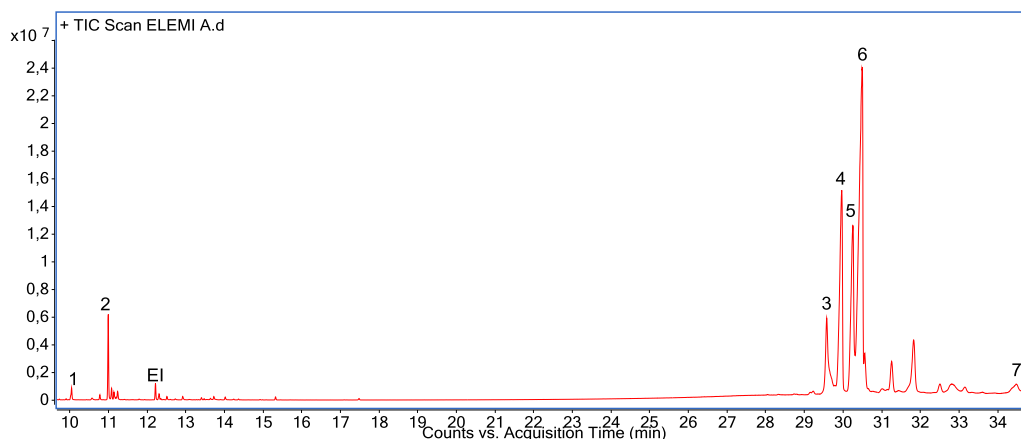


Figura 6-11 TIC de la fracción ácida de resina de elemi. Condiciones de adquisición en sección 5-7. 1. Elemicin. 2. Machilol. 3. β -amirina. 4. β -amirina (TMS) 5. α -amirina. 6. α -amirina (TMS). 7. Aldehído ursálico

Los compuestos detectados a tiempos de retención altos (25 min en adelante) son de derivatización incompleta, por lo que se decidió no usar derivatizante en las fracciones neutras de las muestras de las mezclas y del mural.

Los componentes que se detectan con esta metodología para el copal y elemí coinciden con lo reportado en la literatura (sección 3.3.2) y también es importante señalar que sus correspondientes picos en los TICs no interfieren con la detección de los compuestos observados en la cera de abeja.

6.2 Reproducciones de mezclas para encáustica y atlcors

La reproducción de la mezcla de Rivera fue analizada por RMN y CG-EM para identificar los marcadores de cera de abeja, copal y elemí así como observar los posibles cambios en la composición química debida al proceso de preparación de la mezcla o de su aplicación. Adicionalmente, las reproducciones de las mezclas para atlcors y de encáustica de Siqueiros fueron analizadas por RMN.

6.2.1 Mezcla para atlcors

En la Figura 6-12 se muestra el espectro de ^1H -RMN de la mezcla para atlcors y su ampliación en la zona de 1.8 a 5.4 ppm. Las señales más intensas observadas son la de $\delta^1\text{H}$ 1.25 (m) y 0.88 (t) ppm, las cuales corresponden respectivamente a metilenos y metilos terminales de alcanos de cadena mayor a veinte carbonos presentes en cera de abeja. Las señales en $\delta^1\text{H}$ 4.05 (t, $J = 6.7$ Hz), 2.29 (t, $J = 7.5$ Hz) y 1.62 (m, $J = 7.2, 6.7$ Hz) ppm son las señales de ésteres presentes en la cera de abeja, para confirmarlo se revisaron las correlaciones en el espectro COSY (Figura 6-13).

La ampliación del mismo espectro de ^1H -RMN en la región de $\delta^1\text{H}$ 1.85 a 5.50 ppm permite observar las señales de otros compuestos minoritarios presentes en cera de abeja utilizados como marcadores: ácidos grasos (t, $\delta^1\text{H}$ 2.34 ppm, $J = 7.5$ Hz), alcoholes (m, $\delta^1\text{H}$ 3.78 ppm, $J = 6.3$ Hz y t, $\delta^1\text{H}$ 3.64 ppm, $J = 6.7$ Hz), ésteres insaturados (m, $\delta^1\text{H}$ 5.34 ppm) y ésteres no lineales (m, $\delta^1\text{H}$ 4.89 ppm).

De los compuestos esperados del copal se identificaron las señales características de lupeol (d, $\delta^1\text{H}$ 4.68, $J = 2.5$ Hz; m, $\delta^1\text{H}$ 4.56 ppm, y s, $\delta^1\text{H}$ 1.67 ppm,) además de las de α y β -amirina (t, $\delta^1\text{H}$ 5.12 ppm, $J = 3.6$ Hz, y t, $\delta^1\text{H}$ 5.18 ppm, $J = 3.5$ Hz, respectivamente). Finalmente, se identificó el triplete en $\delta^1\text{H}$ 3.38 ppm ($J = 2.9$ Hz) del compuesto no identificado observado en la muestra de copal.

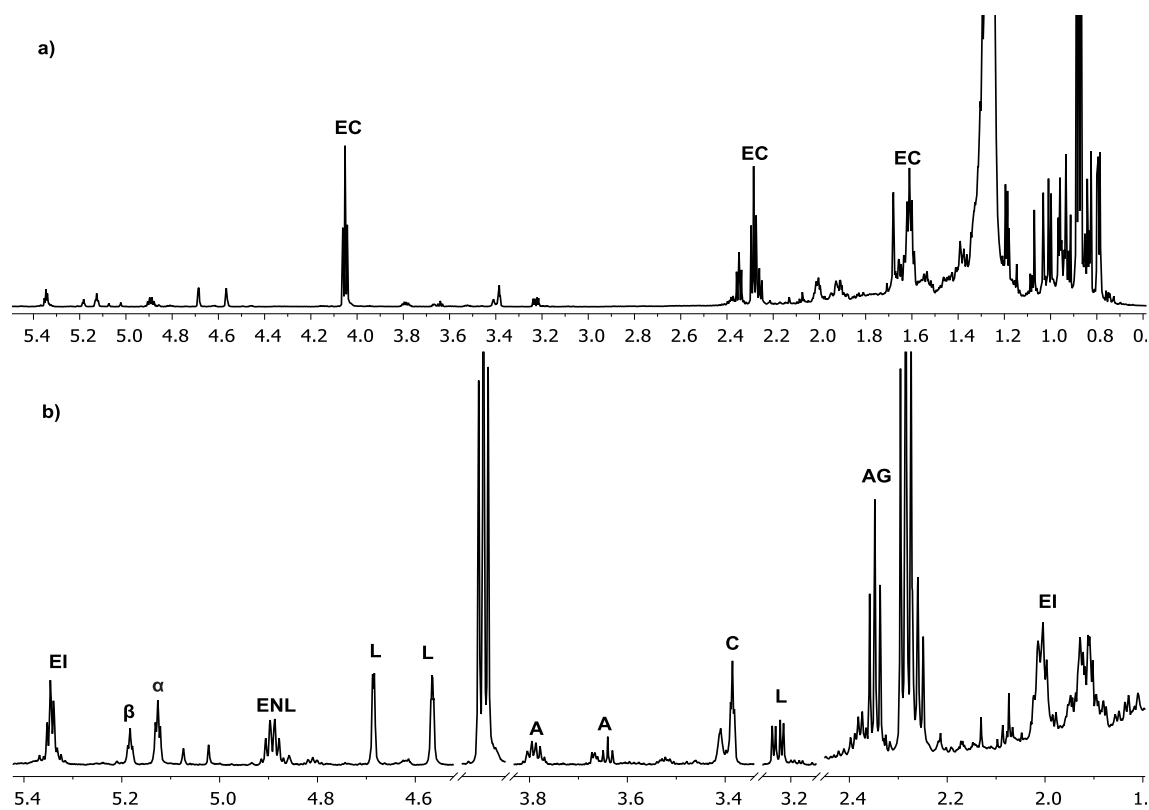


Figura 6-12 Espectros RMN ^1H (700MHz, CDCl_3) de mezcla para atcolors (arriba) y su ampliación en la zona de 1.8 a 5.4 ppm. EC= ésteres de cera de abeja, EI= ésteres insaturados, β = β -amirina, α = α -amirina, ENL= éster no lineal, L= lupeol, A= alcoholes, C=compuesto no identificado del copal, AG= ácidos grasos

En la Figura 6-13 se muestra la estructura de los ésteres y el espectro COSY de la mezcla para atcolors. Las dos correlaciones que confirman la presencia de un éster lineal de cera de abeja. Las correlaciones son: H11 (t, $\delta^1\text{H}$ 4.05 ppm) con H12 (m, $\delta^1\text{H}$ 1.62 ppm), y H1 (t, $\delta^1\text{H}$ 2.29 ppm) con H5 (m, $\delta^1\text{H}$ 1.62 ppm), cabe mencionar que las señales de H5 y H12 se traslapan. En este espectro también se observa que las señales en $\delta^1\text{H}$ 2.34 y 1.63 ppm tienen correlación H-H, dichas señales pertenecen a ácidos carboxílicos (homólogo a las posiciones H1 y H5 de la estructura del éster) y sirven para confirmar la presencia de éstos.

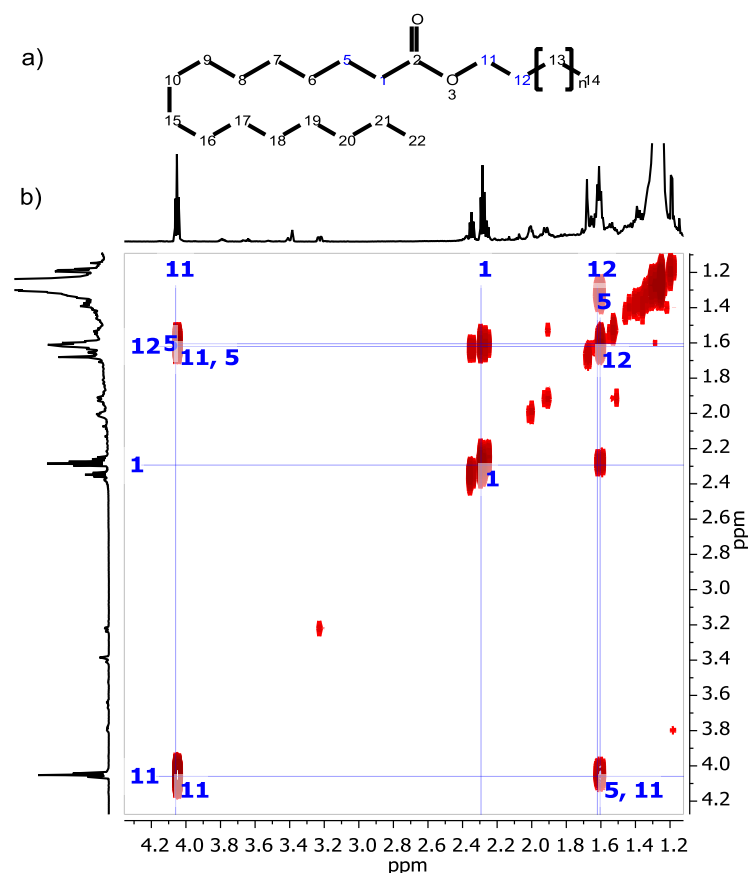


Figura 6-13 a) Estructura y asignación de los ésteres lineales insaturados. b) Ampliación del espectro (700MHz) COSY de la mezcla para atcolors con la asignación de los ésteres lineales insaturados.

Como se mencionó en la sección 5.2.1, esta formulación contiene trementina y aceite de linaza. La trementina está compuesta principalmente de monoterpenos³² y el aceite de linaza por los ácidos linolénico (50-60%), linoleico (12-18%), oleico (16-24%), esteárico (2.5-5%) y palmítico (5-7%)³³ de los cuales los tres últimos están presentes también en cera de abeja y contribuyen al triplete de $\delta^1\text{H}$ 2.34 ppm. En el mismo espectro de ^1H -RMN de la mezcla de atcolors tampoco se observan señales entre $\delta^1\text{H}$ 5.20 – 5.50 ppm que puedan corresponder a las insaturaciones en los ácidos linolénico y linoleico. Tampoco se ven señales distintivas que indiquen la presencia compuestos provenientes de trementina, posiblemente porque se volatilizaron durante el calentamiento al elaborar la mezcla, haciendo que disminuya su concentración a niveles no detectables por la RMN, o bien sus señales se traslapan con las de otros compuestos. Por tal motivo,

no se puede asegurar que los compuestos provenientes de estos dos disolventes sigan presentes en la muestra.

6.2.2 Mezcla para encáustica de Siqueiros

Esta formulación fue hecha con el mismo volumen de copal y cera de abeja; además de esencia de espliego, la cual está reportado que se compone principalmente de terpenos y en especial de β -linalool (20-43%) y acetato de linalool (25-47%)⁽³³⁾ ambos compuestos abundantes en flores y aceites esenciales.

En la Figura 6-14 se muestra el espectro de ^1H -RMN de la mezcla para encáustica de Siqueiros con ampliación en las señales correspondientes a esencia de espliego (a) y la ampliación del espectro resaltando las señales de compuestos marcadores de las materias primas (b). La mayoría de las señales correspondientes a β -linalool⁽³⁴⁾ se pueden identificar en el espectro: $\delta^1\text{H}$ 5.91 (dd, $J = 17.3, 10.8$ Hz), 5.22 (d, $J = 1.3$ Hz), 5.20 (d, $J = 1.3$ Hz), 5.06 (d, $J = 1.3$ Hz), 5.05 (d, $J = 1.3$ Hz), 1.68 (d, $J = 1.4$ Hz), 1.60 (d, $J = 1.5$ Hz) 1.28 s ppm

En la ampliación del espectro ^1H -RMN en la región de $\delta^1\text{H}$ 1.85 a 6.5 ppm se observan las señales correspondientes a las familias de compuestos marcadores de cera de abeja (Es, AG, A), los terpenos (α y β) y terpenoides provenientes de copal (L), y elemicín (E). La presencia de ésteres y ácidos grasos de cera de abeja se confirmó con las correlaciones H-H en el espectro COSY tal como se hizo en la mezcla para aticolors.

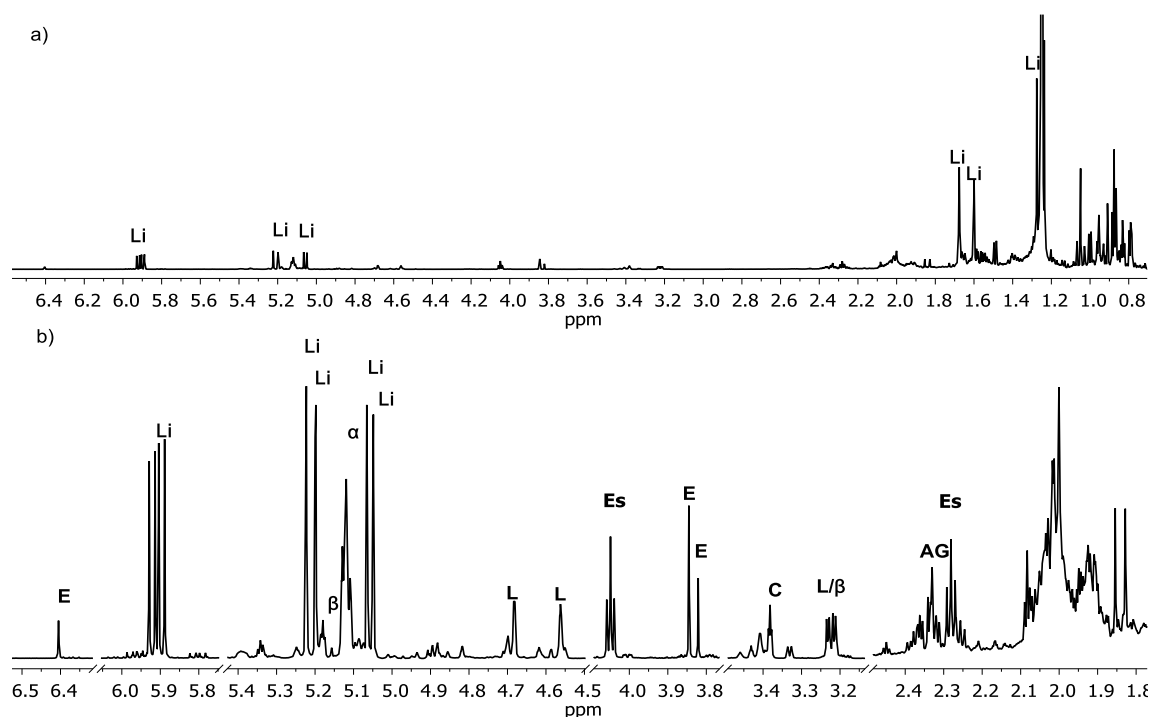


Figura 6-14 Espectro 1H-RMN (700MHz CDCl₃) de la mezcla para encáustica de Siqueiros. a) Principales señales de esencia de espliego, Li=Linalool. b) Región con los compuestos marcadores de las materias primas: E=Elemicin, β = β-amirina, α = α-amirina, L= lupeol, Es=ésteres lineales, C=compuesto no identificado del copal, AG= ácidos grasos.

En la Figura 6-15 se muestra: a) la estructura de α-amirina y el espectro COSY de las regiones con las correlaciones de las señales que ayudan a confirmar su identificación y b) la estructura de β-amirina y los espectros sobrepuestos de ed-HSQC y HMBC ampliación en la región donde se encuentran las principales señales de este compuesto. En el espectro COSY se distingue claramente la correlación H-H característica de α-amirina entre el triplete H12 ($\delta^1\text{H}$ 5.13) y H11 ($\delta^1\text{H}$ 1.90 ppm), y la correlación entre H11 y H32 ($\delta^1\text{H}$ 1.53 ppm). Las señales con correlaciones homólogas de β-amirina en $\delta^1\text{H}$ 5.18 y 1.87 ppm en su correspondiente espectro COSY son visibles también si se eleva la intensidad en el espectro. Por otro lado, en los espectros sobrepuestos ed-HSQC/HMBC se distinguen las correlaciones características de β-amirina de H12 ($\delta^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 5.18/121.93 ppm) con C7 ($\delta^{13}\text{C}$ 47.84 ppm), C11 ($\delta^{13}\text{C}$ 23.14 ppm) y C14 ($\delta^{13}\text{C}$ 41.92) mientras que las señales de α-amirina son imperceptibles.

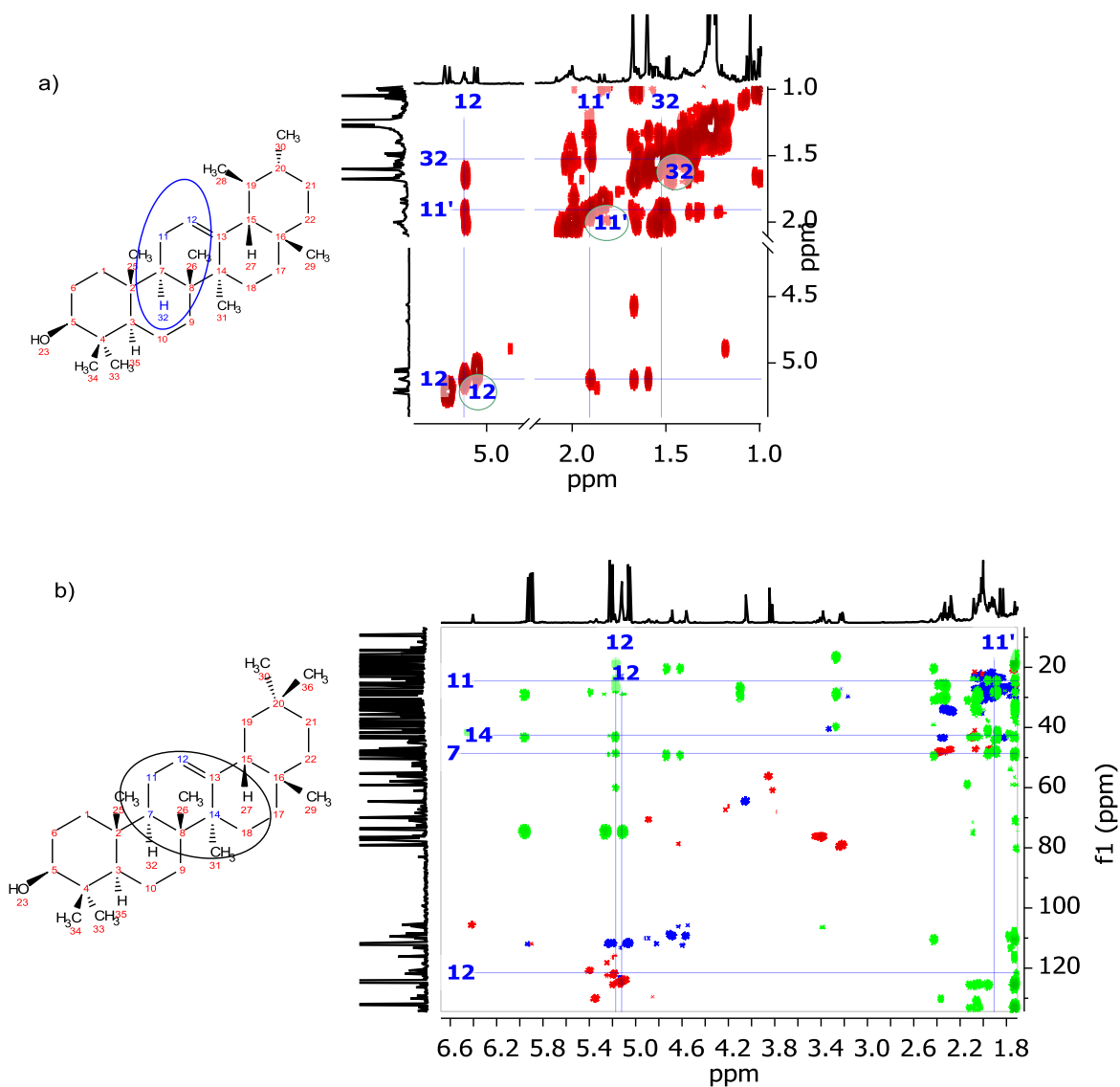


Figura 6-15 a) Estructura de α -amirina y ampliación del espectro (700MHz) COSY de la mezcla para encáustica de Siqueiros con asignación de las señales características de α -amirina b) Estructura de β -amirina y espectros superpuestos de (700MHz) ed-HSQC/HMBC con asignación de las señales características de β -amirina

Finalmente, en esta muestra se observó elemicín y otras señales de la resina de elemí, lo que puede indicar contaminación durante su preparación o que provengan de algún disolvente.

6.2.3 Mezcla para encáustica de Rivera y mezcla cauterizada

La reproducción de la mezcla para encáustica de Rivera contiene cera de abeja, esencia de espliego, elemi y White spirit, este último es una mezcla de compuestos aromáticos C₆-C₁₂ (15%) alcanos y cicloalcanos C₆-C₁₂ (85%).(33,35)

En la Figura 6-16a se muestra el espectro de ¹H-RMN de la reproducción para encáustica de Rivera, en la cual se notan las señales intensas en δ¹H 1.25 y 0.88 ppm de metilenos y metilos de cadenas alifáticas. La ampliación de algunas regiones entre δ¹H 1.8 a 6.5 ppm del espectro de ¹H-RMN se muestra en la Figura 6-16b en donde se marcaron las principales señales de cera de abeja, elemi, copal y esencia de espliego, las cuales se confirmaron con los espectros COSY y ed-HSQC/HMBC igual que en las muestras anteriores.

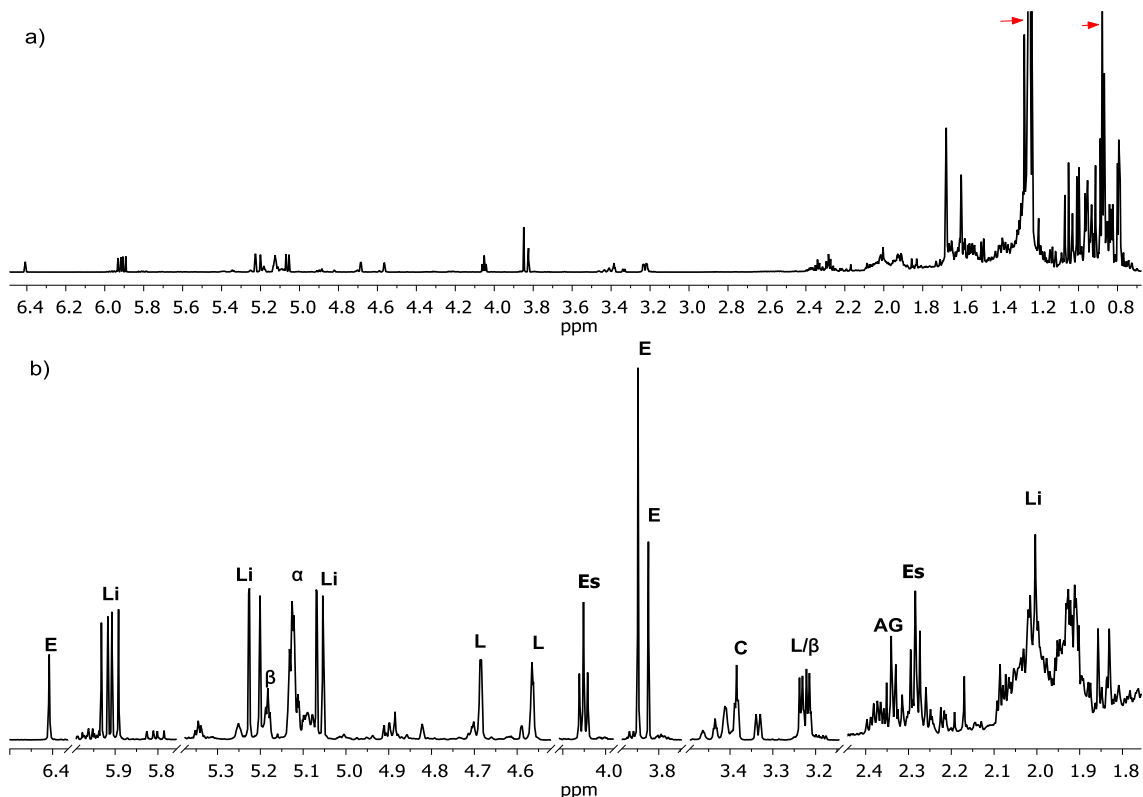


Figura 6-16 Espectro de ¹H-RMN (700MHz CDCl₃) de la mezcla para encáustica de Rivera a) Región de 0.7 a 6.5 ppm (señales de alcanos indicadas con flechas rojas). b) Ampliación de las señales de: E= elemicin, Li= linalool, β = β-amirina, α = α-amirina, L= lupeol, Es=ésteres lineales, C=compuesto no identificado del copal, AG= ácidos grasos.

La reproducción de la mezcla para encáustica de Rivera fue analizada por CG-EM, previa hidrólisis y derivatización de la fracción neutra. El TIC con los compuestos identificados en ambas fracciones se muestran en las Figura 6-17 y Figura 6-18. Las listas de compuestos encontrados en cada muestra y su correspondiente tiempo de retención se reportan en tablas en el anexo III.

En el TIC de la fracción neutra (Figura 6-17) se observan los compuestos marcadores esperados:

- La serie de alcanos de cadena larga provenientes de cera de abeja
- β -amirina, α -amirina y lupeol provenientes de copal y elemí
- Elemicin e Isoelemicin marcadores de elemí
- Criptomeridiol y α -felandreno, que además de encontrarse en copal y elemí, también forman parte de la composición de varios disolventes.
- Se identificó también acetato de β -amirina, el cual resistió las condiciones de hidrólisis.

Varios de los compuestos provenientes de la resina de elemí no se identificaron, posiblemente debido a que se volatilizaron durante la preparación de la mezcla, lo cual ya está reportado en la literatura.¹¹ Tampoco se observaron otros compuestos con concentración significativa que puedan provenir de los disolventes usados.

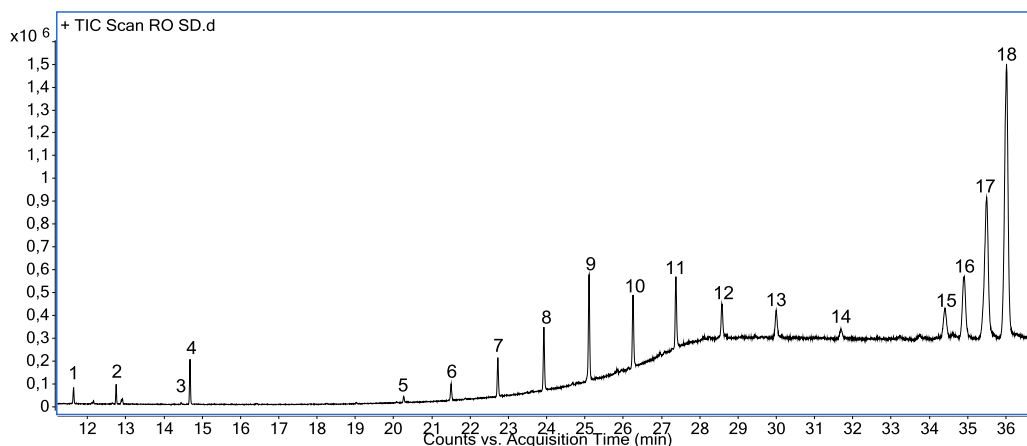


Figura 6-17 TIC de la fracción neutra de reproducción de la fórmula de Rivera. Condiciones de adquisición en sección 5-7. 1. Elemicin; 2. Isoelemicin; 3. α -felandreno; 4. Criptomeridiol; 5. Hexadecano; 6. Eicosno; 7. Pentacosano; 8. Hexacosano; 9. Heptacosano; 10. Octacosano; 11. Nonacosano; 12. Triacotano; 13. Hentriacotano; 14. Dotriacotano; 15. Acetato de β -amirina; 16. β -amirina; 17. Lupeol; 18. α -amirina.

Por su parte, en la fracción ácida (Figura 6-18), comprendida principalmente de ácidos carboxílicos, no es posible discernir entre los ácidos que se encontraban libres desde un inicio y los que son producto de la hidrólisis. El ácido palmítico resulta ser el más abundante; su presencia indica el alto contenido de cera de abeja que ha comenzado a degradarse, aunque hay que indicar que puede provenir en menor medida de otros productos naturales. El ácido oleico a una concentración menor a la de los otros ácidos es congruente a la señal correspondiente observada en los espectros de RMN (multiplete en 5.34 ppm). Los compuestos orgánicos presentes en tiempos de retención de entre 6 y 12 minutos en las materias primas analizadas (Sección 6.1) no se encuentran en esta muestra debido a que son compuestos volátiles que al momento de calentar en baño María para preparar la mezcla se pierden. Esta ausencia de compuestos es congruente con lo observado en los espectros de RMN.

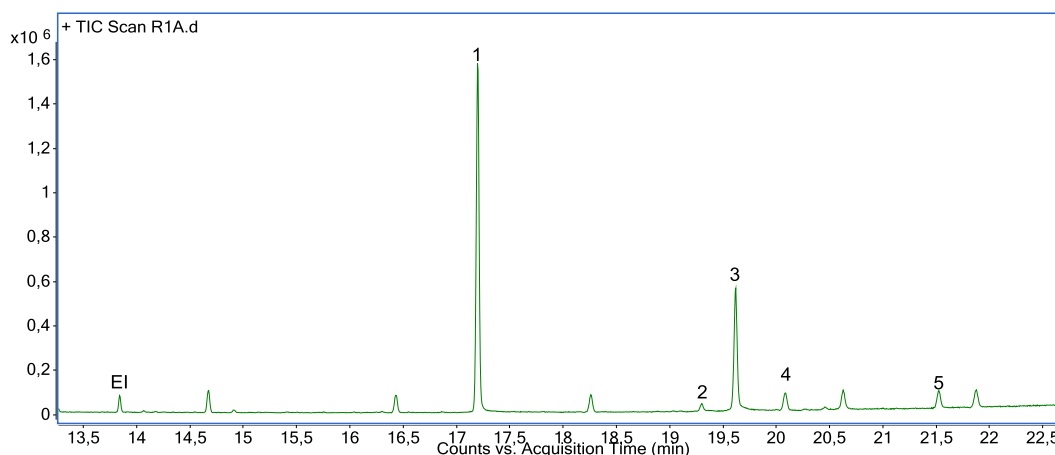


Figura 6-18 TIC de la reproducción de la fórmula de Rivera, fracción ácida. Condiciones de adquisición en sección 5-7. 1. Ácido palmítico; 2. Ácido oleico; 3. Ácido esteárico; 4. 1-iodononano; 5. Ester de bis(2-etilhexil) del ácido adípico

Para indagar más en el efecto del tratamiento de la muestra sobre los compuestos presentes, se analizó una muestra de esta misma formulación combinada con pigmento blanco de zinc y cauterizada con soplete para simular tanto el efecto del pigmento como el tratamiento para el acabado final en el mural. En las Figura 6-19 y Figura 6-20 se muestran los TIC de las fracciones neutra y ácida de la mezcla cauterizada. En los TIC se puede observar que la intensidad de los picos de los ácidos grasos bajó y está por debajo del pico del estándar interno. También se

observa que la intensidad de los picos correspondientes a β -amirina, α -amirina, acetato de β -amirina y lupeol disminuyó; sin embargo, para estos dos últimos compuestos el cambio no fue tan drástico lo que indica que el acetato de β -amirina y lupeol son más estables durante la preparación y la aplicación de la muestra.

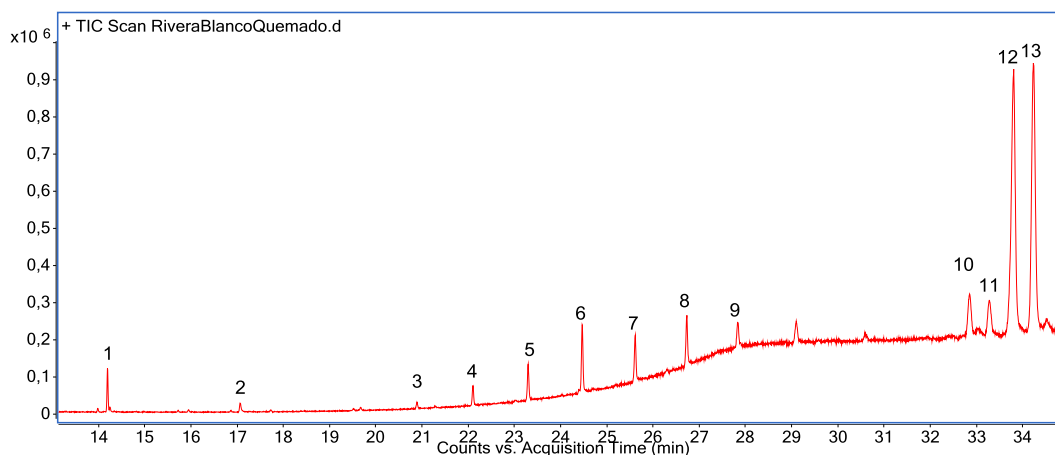


Figura 6-19 TIC de la reproducción de la fórmula de Rivera cauterizada, fracción neutra. .
Condiciones de adquisición en sección 5-7. 1. Proximadiol; 2. 1-Dodecanol; 3. 2,4-dimetil decano; 4. Hexadecano; 5. Heptadecano; 6. Eicosano; 7. Heptacosano; 8. Octacosano; 9. 1-iodo-eicosano. 10. Acetato de β -amirina; 11. β -amirina; 12. Lupeol; 13. α -amirina.

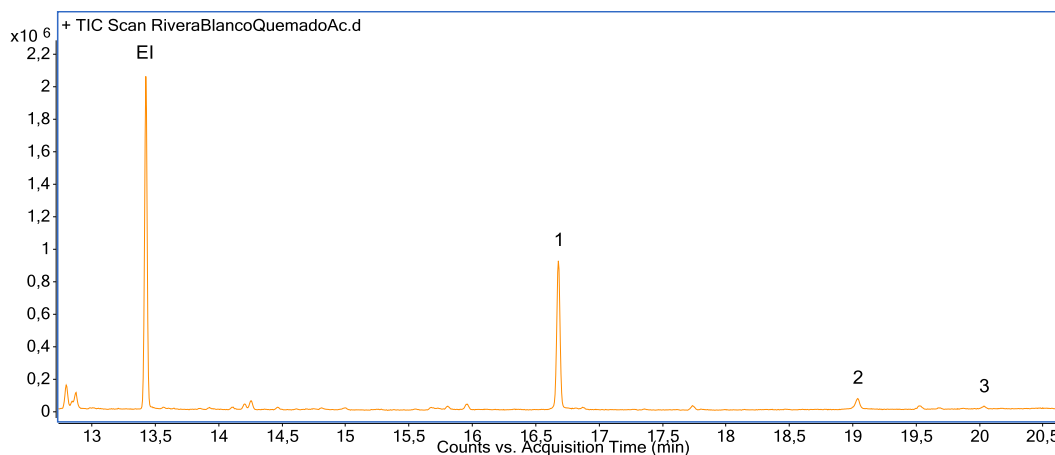


Figura 6-20 TIC de la reproducción de la fórmula de Rivera cauterizada, fracción ácida.
Condiciones de adquisición en sección 5-7. 1. Ácido palmítico; 2. Ácido esteárico; 3. Ácido hexanodiólico.

6.3 Muestras del mural *La Creación* de Diego Rivera

6.3.1 Análisis de los espectros de ^1H -RMN

En la Figura 6-21 se muestran los espectros de ^1H -RMN de las muestras tomadas del mural *La Creación* de Diego Rivera y la mezcla reproducción. En los espectros ^1H -RMN de todas las muestras se observa lo siguiente:

- Una señal intensa en todas las muestras en $\delta^1\text{H}$ 1.54 ppm que pertenece al agua.
- Señales en $\delta^1\text{H}$ 7.72 (dd, $J = 5.2, 3.3$ Hz), 7.53 (dd, $J = 5.2, 3.3$ Hz), 4.37 (q, $J = 7.2$ Hz) y 1.37 (t, $J = 7.0$ Hz) ppm que son consistentes con dietil ftalato. En la Figura 6-22 se muestra el espectro ^1H -RMN de la muestra M29 Verde con ampliación y asignación de las señales de este compuesto, así como su estructura.
- La señal en $\delta^1\text{H}$ 1.25 (m) ppm correspondiente a metilenos alifáticos que se habían identificado en cera de abeja. La señal en $\delta^1\text{H}$ 0.88 (t) de metilo terminal no se observa claramente por la presencia de otras señales de metilos.
- Las señales en $\delta^1\text{H}$ 4.05 (t), 2.29 (t) y 1.62 (m) ppm que son consistentes con ésteres de cera de abeja.
- La señal en $\delta^1\text{H}$ 2.34 (t) correspondiente a ácidos grasos de cera de abeja se observa bien en todas las muestras excepto en las muestras M29 Verde y M28 Nahui en las cuales se encuentra casi a nivel de ruido.
- Las señales características de α y β -amirina en $\delta^1\text{H}$ 5.12 y 5.18 ppm respectivamente
- Las señales características de lupeol en $\delta^1\text{H}$ 4.68 y 4.56 ppm excepto en las muestras M28 Nahui y M12 Laca.
- Las señales en $\delta^1\text{H}$ 3.41 y 3.38 de un compuesto no identificado proveniente del copal.
- No se identificaron las señales características de compuestos como elemicín y linalool (provenientes de elemí y esencia de espliego) en los espectros ^1H -RMN, posiblemente porque se volatilizaron.

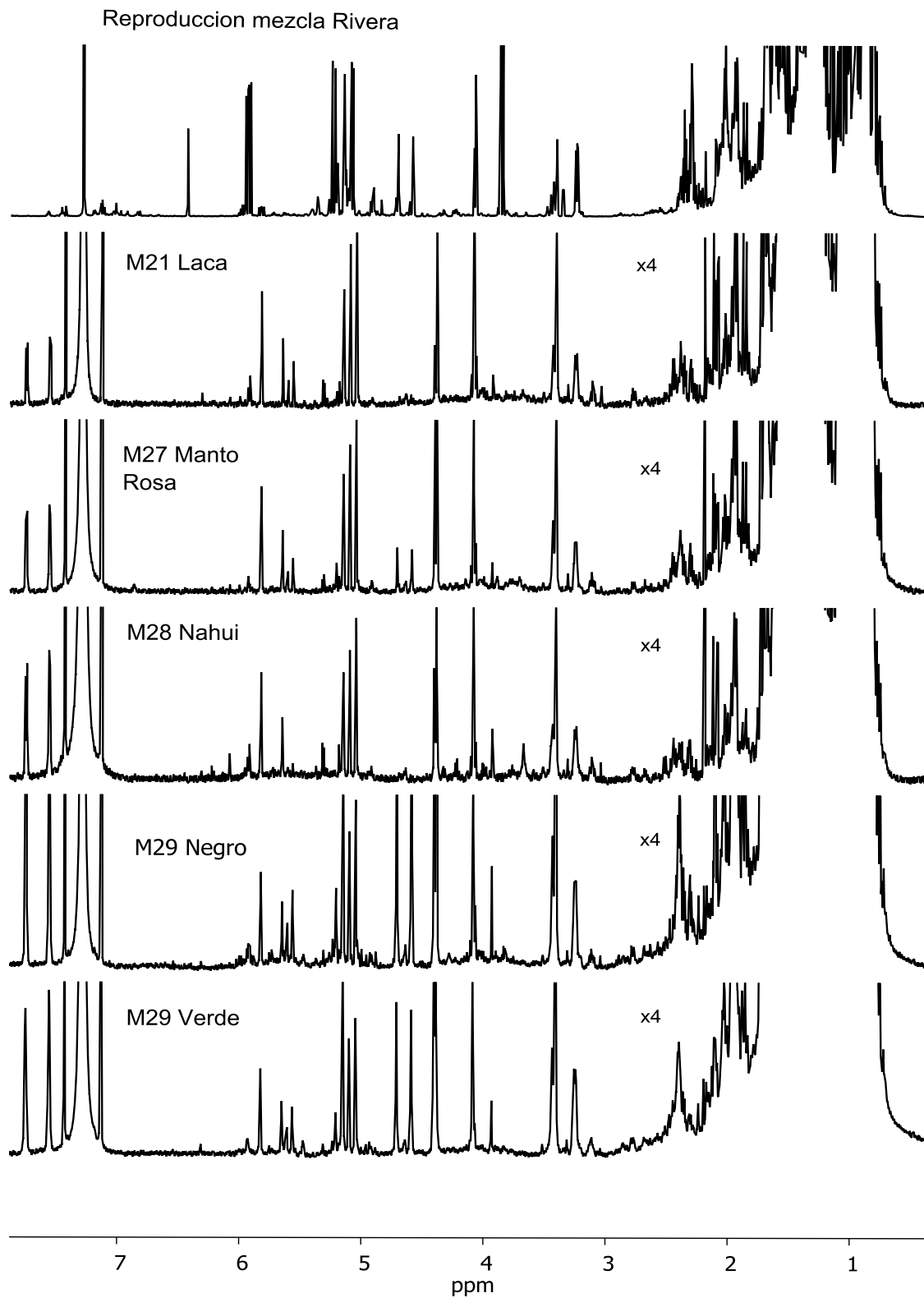


Figura 6-21 Espectros RMN ¹H (700MHz, CDCl₃) de la reproducción de la mezcla y de las muestras del mural: M21 Laca, M27 Manto Rosa, M28 Nahui, M29 Negro y M29 Verde

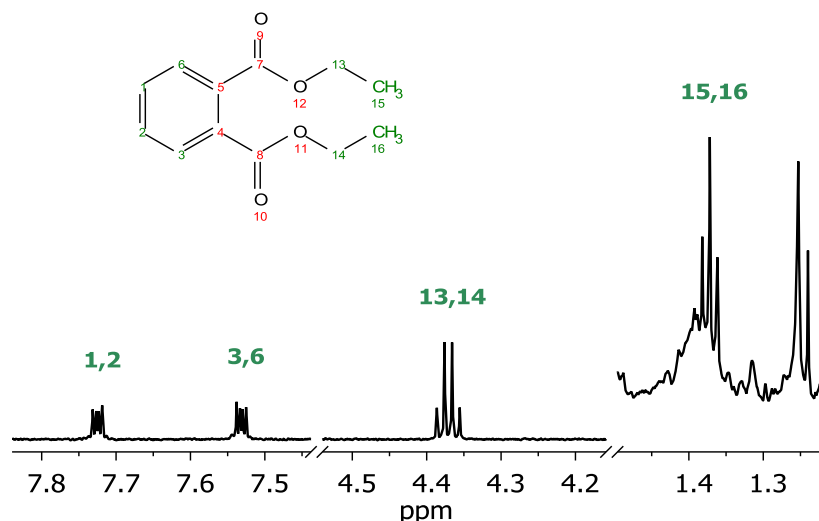


Figura 6-22 Espectro RMN ^1H (700MHz, CDCl_3) de la muestra M29 Verde con ampliación en las señales de dietil ftalato y su correspondiente asignación en la molécula.

Otras señales de compuestos que no habían sido observados en las materias primas son las que se observan en la región entre $\delta^1\text{H}$ 6.00 y 5.45 ppm, y las señales en $\delta^1\text{H}$ 5.07 y 5.02 ppm.

De las señales de ésteres de cera de abeja, el triplete en $\delta^1\text{H}$ 2.29 se observa bien en las muestras M27 Manto Rosa, M29 Negro y M29 Verde, mientras que el triplete en $\delta^1\text{H}$ 4.05 está junto a un doblete más intenso en $\delta^1\text{H}$ 4.06; pero, como se verá más adelante, su presencia se confirmó analizando las correlaciones en el espectro COSY (Figura 6-23).

Los compuestos lupeol, α -amirina y β -amirina pueden provenir tanto de copal como de elemí; sin embargo, las proporciones relativas de lupeol se asemejan más a las observadas en copal. Dicha proporción y la presencia de las señales en $\delta^1\text{H}$ 3.41 ppm y $\delta^1\text{H}$ 3.38 ppm de un compuesto no identificado presente en el copal permiten confirmar la presencia de copal. La presencia de estos compuestos se confirma en los experimentos 2D y de CG-EM como se verá a continuación.

6.3.2 Análisis de los experimentos 2D

En el espectro COSY de la muestra M29 Negro (Figura 6-23) se puede confirmar que existe correlación ^1H - ^1H de la señal H11 en $\delta^1\text{H}$ 4.05 ppm con la señal de H12 en $\delta^1\text{H}$ 1.62 (m) ppm, y la señal H1 en $\delta^1\text{H}$ 2.29 (t) ppm con la señal de H2 en $\delta^1\text{H}$

1.62 m ppm, las cuales son correlaciones consistentes con ésteres provenientes de cera de abeja. Dichas correlaciones también se observaron en el espectro COSY de las muestras M21 Laca, M27 Manto Rosa, M28 Nahui y solo en la muestra M29 Verde no pudo confirmarse la presencia de ésteres metílicos de cera de abeja.

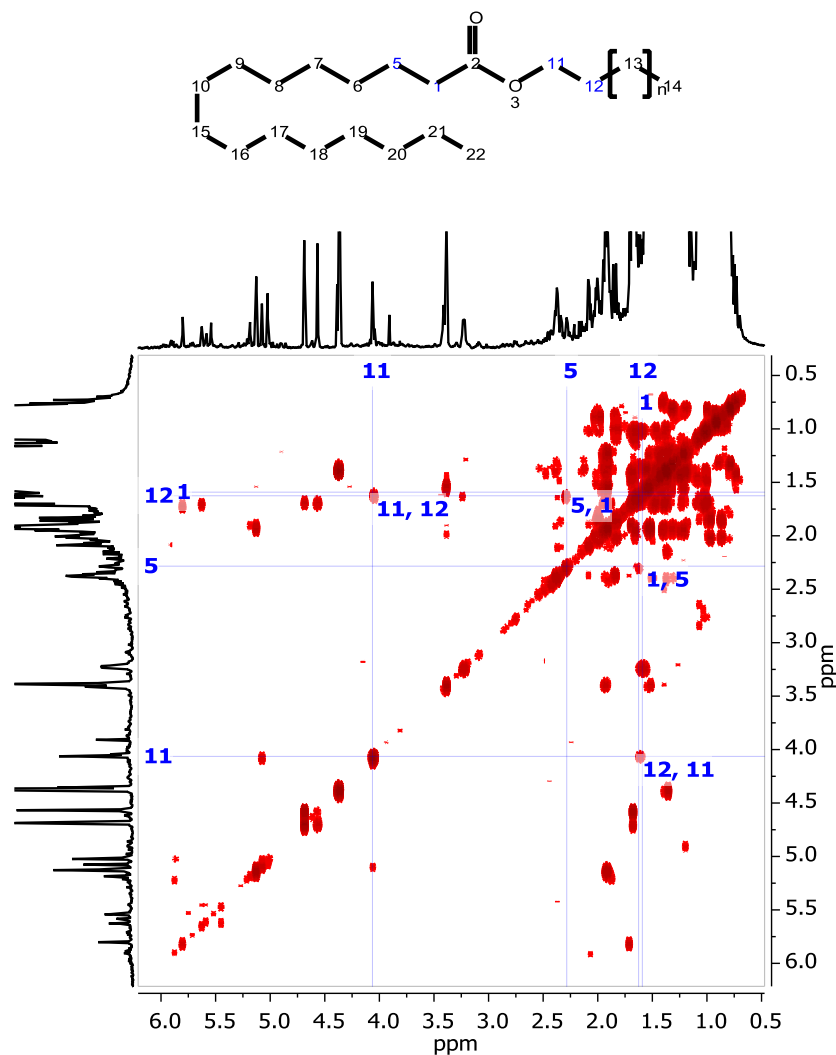


Figura 6-23 Estructura de ésteres insaturados y asignación de sus señales en la ampliación del espectro COSY (700MHz) de la muestra M29 Negro.

Por otro lado, las correlaciones ¹H-¹H del triplete en $\delta^1\text{H}$ 2.34 ppm correspondiente a ácidos grasos (como se mencionó en la sección 6.3.1) no pudieron ser observadas en los espectros COSY.

En el mismo espectro COSY de la Figura 6-23 se observan correlaciones ^1H - ^1H consistentes con las principales del lupeol: H43' ($\delta^1\text{H}$ 4.68 ppm) con H43'' ($\delta^1\text{H}$ 4.56 ppm); H43' con el protón H42 ($\delta^1\text{H}$ 1.67 ppm); y H43'' con H42. También se pueden observar algunas de las correlaciones consistentes con las de α -amirina (H12 $\delta^1\text{H}$ 5.13 con H11 $\delta^1\text{H}$ 1.90 ppm) y β -amirina (H12 $\delta^1\text{H}$ 5.18 con H11 $\delta^1\text{H}$ 1.87 ppm), como se muestra en la Figura 6-24.

Las correlaciones ^1H - ^1H del lupeol antes mencionadas también fueron observadas en las muestras M29 Verde y M27 Manto Rosa. Las correlaciones ^1H - ^1H de la α -amirina también fueron observadas en las muestras M29 Verde, M28 Nahui, M27 Manto Rosa y M21 Laca. Las correlaciones ^1H - ^1H de β -amirina también fueron observadas en las muestras M29 Verde y M27 Manto Rosa.

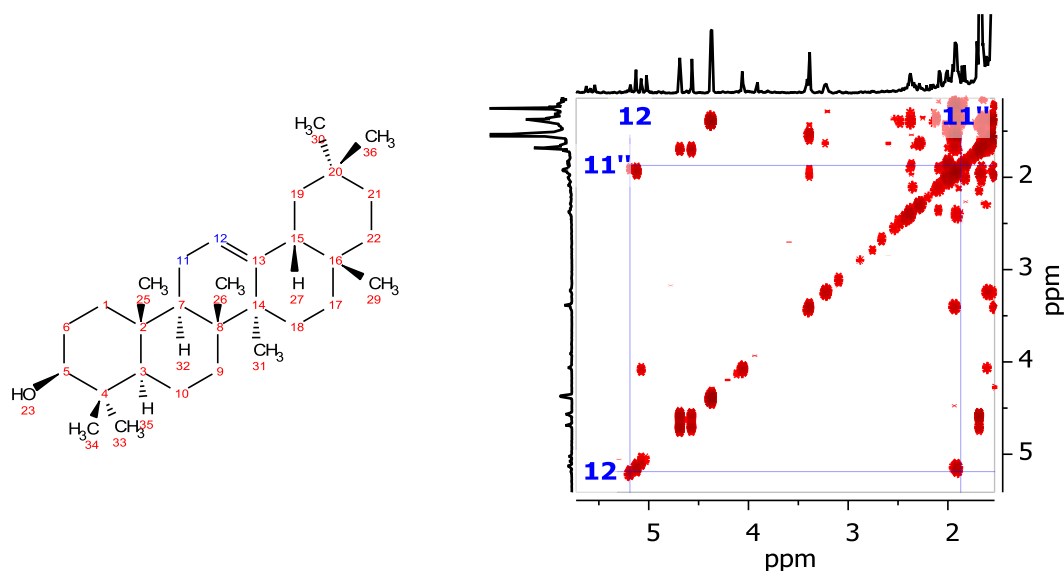


Figura 6-24 Estructura de β -amirina y asignación de su principal correlación en el espectro COSY (700MHz) de la muestra M29 Negro.

Finalmente, en los espectros apilados de los experimentos ed-HSQC y HMBC (Figura 6-25) de la muestra M29 Negro se observan correlaciones consistentes con algunas de las principales correlaciones de α -amirina: H12 ($\delta^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 5.13/124.65) con C14 ($\delta^{13}\text{C}$ 42.12), C7 ($\delta^{13}\text{C}$ 47.84) y C11 ($\delta^{13}\text{C}$ 23.26). Dichas correlaciones se observan también en el espectro M29 Verde, mientras que la señal de H12 puede verse en todos los espectros ed-HSQC.

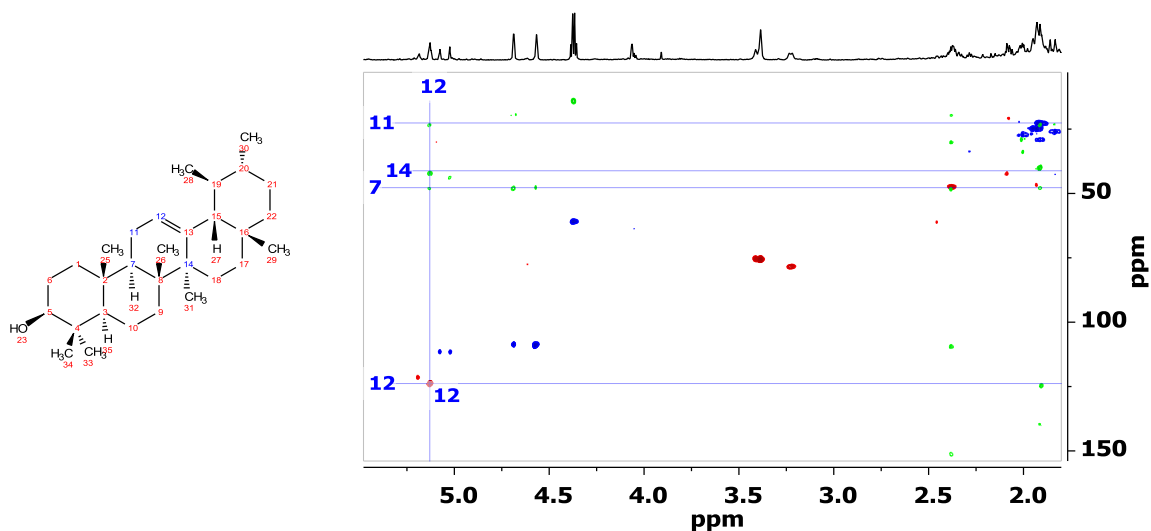


Figura 6-25 Espectros sobrepuestos de (700MHz) ed-HSQC/HMBC con asignación de las señales características de α -amirina.

6.3.3 Análisis de los TIC

A continuación, se muestran los TIC de las fracciones neutra y ácida de las muestras del mural (Figura 6-26 a Figura 6-35). El análisis de los TICs permitió concluir lo siguiente:

- En las fracciones neutras no se identificó la presencia de alcanos de cadena larga de cera de abeja, pero si la presencia de lupeol y α -amirina.
- En las fracciones neutras de las muestras M21 Laca y M29 Verde se identificó β -amirina, mientras que en las muestras M28 Nahui y M29 Negro se identificó acetato de β -amirina.
- El pico de la α -amirina es menos intenso que el de lupeol en las fracciones neutras igual que se observó en el TIC de la reproducción de la mezcla cauterizada para encáustica de Rivera con pigmento (Figura 6-19).
- En la fracción neutra se identificaron otros compuestos minoritarios tales como α -felandreno y dímero de α -felandreno proveniente del copal y/o de elemí. También se identificó 2-bornanona. 2-endo-borneol los cuales pueden provenir de los solventes utilizado.

- En las fracciones ácidas, solo se identificó el pico de ácido palmítico a nivel de ruido.

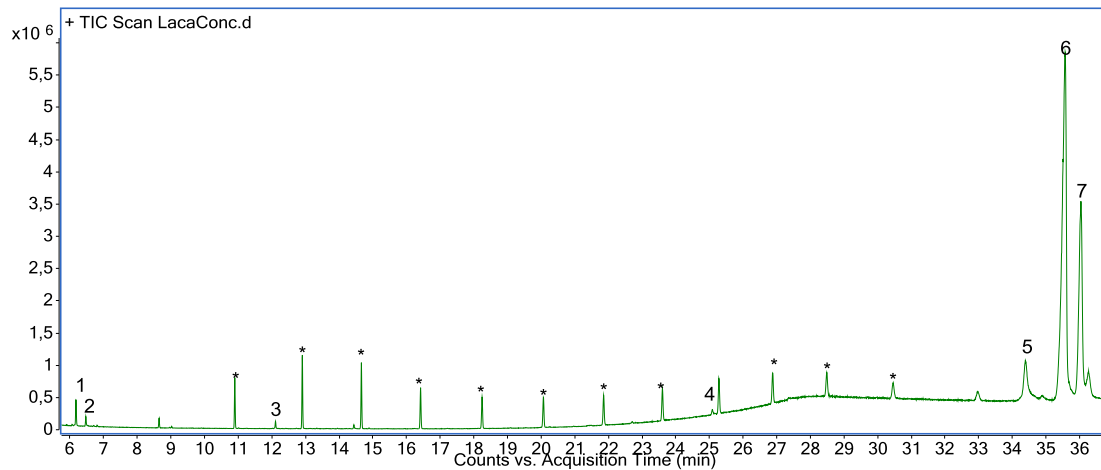


Figura 6-26 TIC de la muestra "M21 Laca" tomada del mural, fracción neutra. Condiciones de adquisición en sección 5.6.1; 1. (+)-Camfor; 2. (+)-borneol; 3. Óxido de cariofileno; 4. Heneicosano; 5. β -amirina; 6. Lupeol; 7. α -amirina. *Siloxanos (posiblemente por sangrado de la columna cromatográfica).

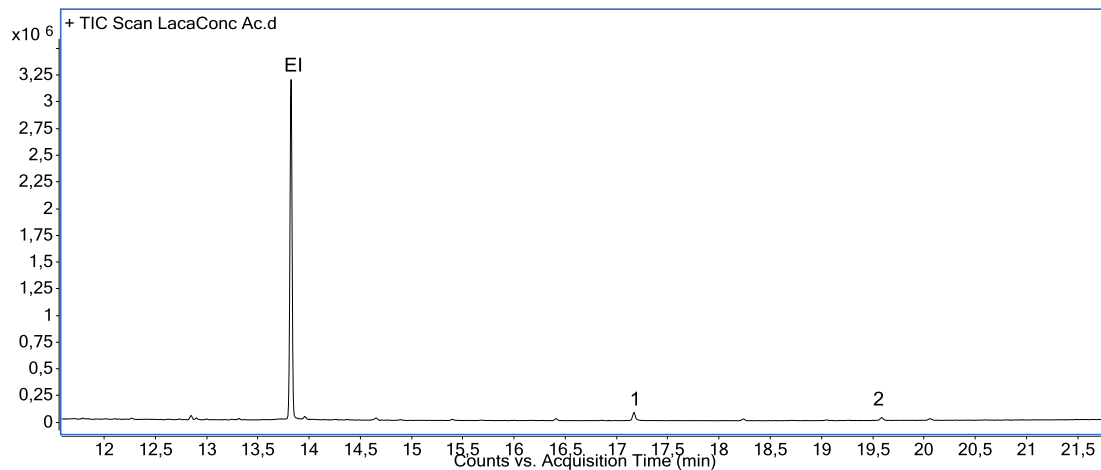


Figura 6-27 TIC de la muestra "M21 Laca" tomada del mural, fracción ácida. Condiciones de adquisición en sección 5.6.1; 1. Ácido palmítico; 2. Ácido esteárico

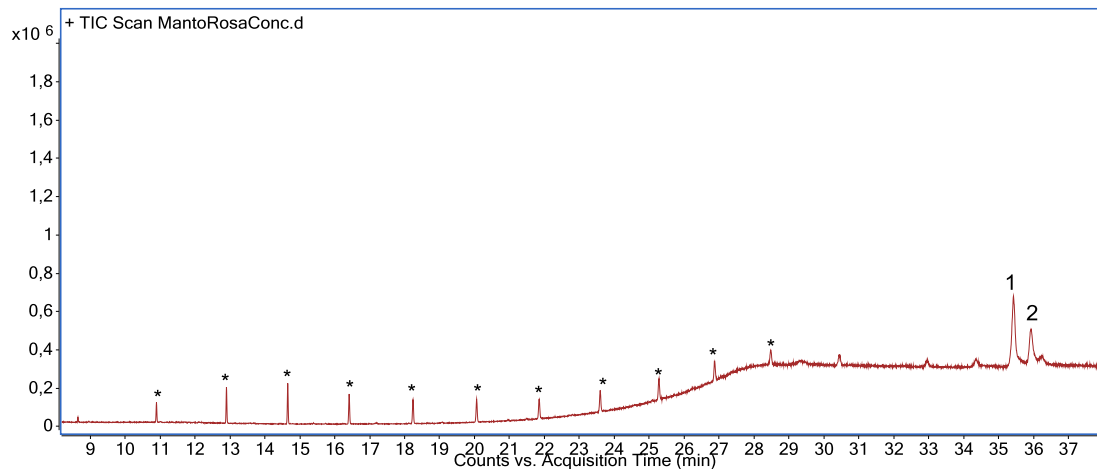


Figura 6-28 TIC de la muestra "M27 Manto Rosa" tomada del mural, fracción neutra. Condiciones de adquisición en sección 5.6.1; 1. Lupeol. 2. α -amirina. *Siloxanos (posiblemente por sangrado de la columna cromatográfica).

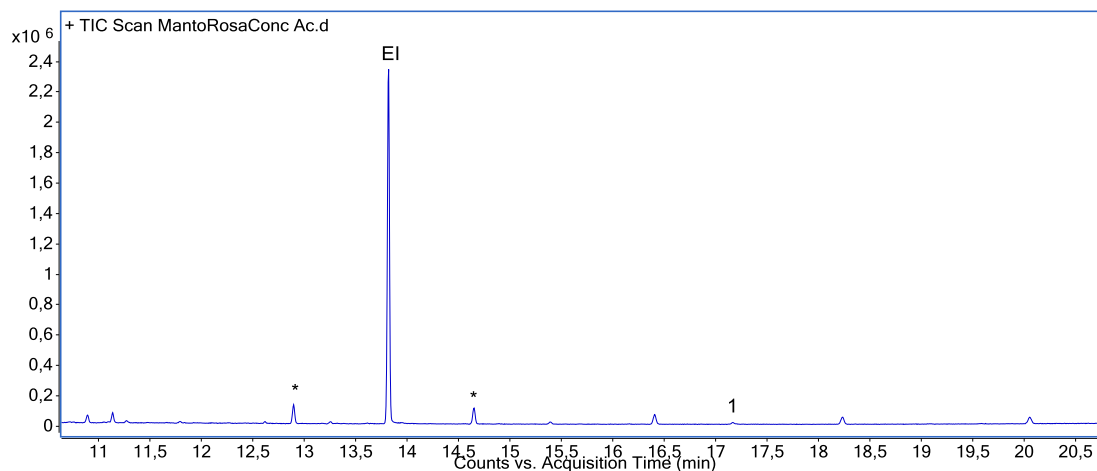


Figura 6-29 TIC de la muestra "M27 Manto Rosa" tomada del mural, fracción ácida. Condiciones de adquisición en sección 5.6.1; 1. Ácido palmítico. *Siloxanos (posiblemente por sangrado de la columna cromatográfica).

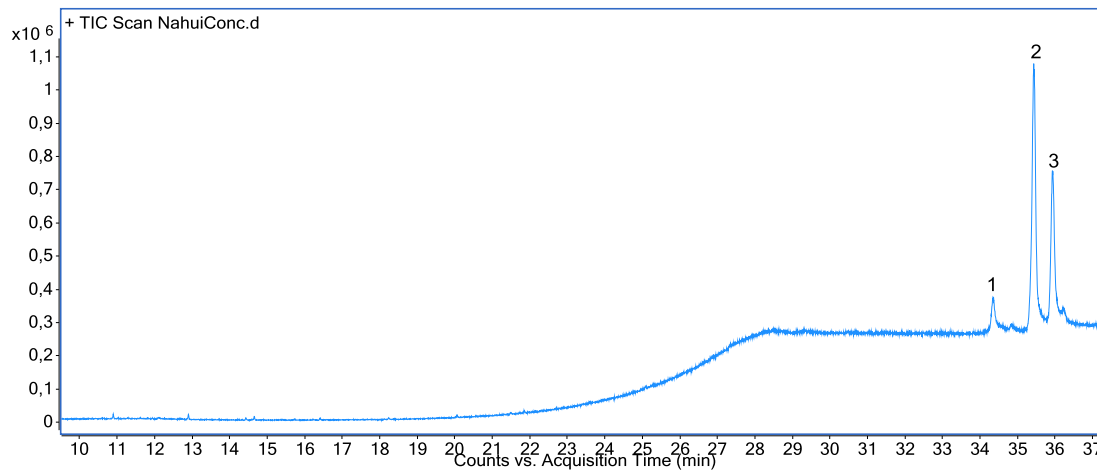


Figura 6-30 TIC de la muestra "M28 Nahui" tomada del mural, fracción neutra. Condiciones de adquisición en sección 5.6.1; 1. Acetato de β -amirina. 2. Lupeol. 3. α -amirina.

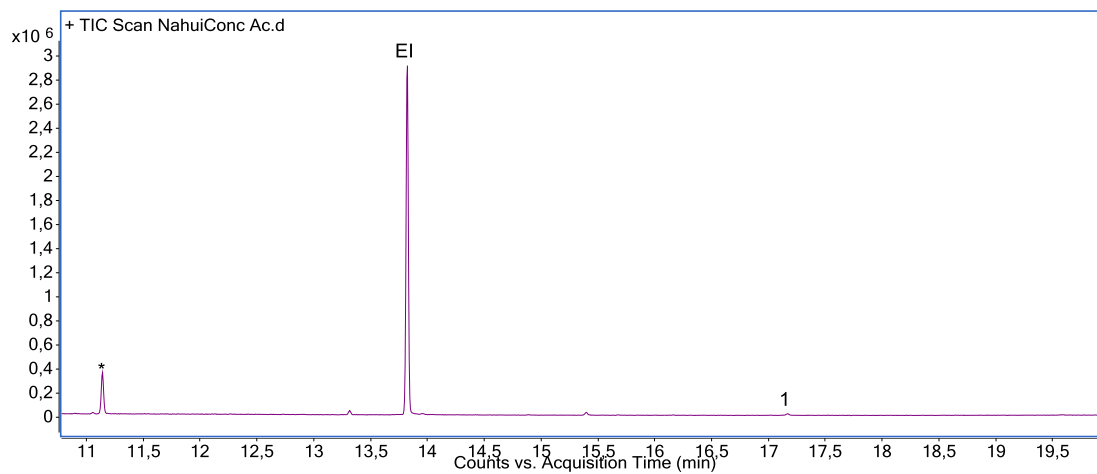


Figura 6-31 TIC de la muestra "M28 Nahui" tomada del mural, fracción ácida. Condiciones de adquisición en sección 5.6.1; 1. Ácido palmítico. *Siloxanos (posiblemente por sangrado de la columna cromatográfica).

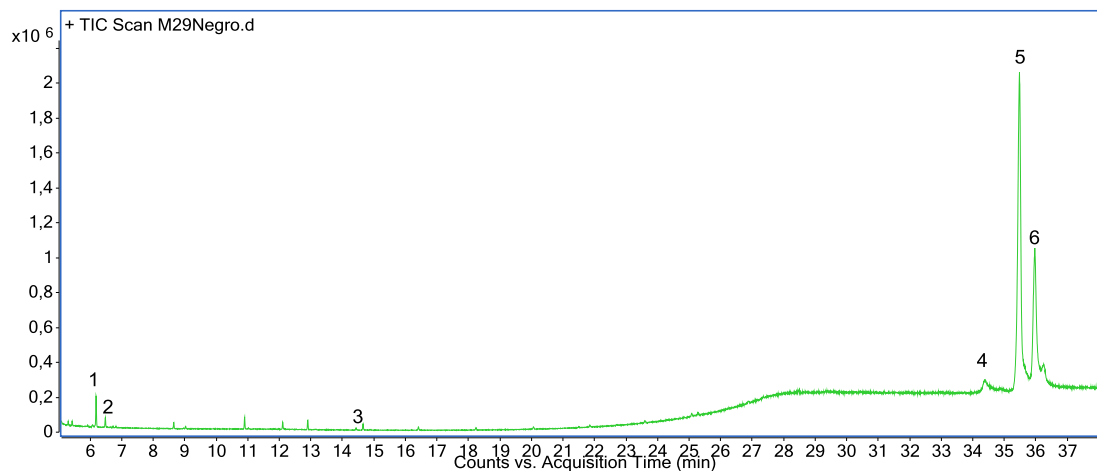


Figura 6-32 TIC de la muestra "M29 Negro" tomada del mural, fracción neutra. Condiciones de adquisición en sección 5.6.1; 1. 2-Bornanona. 2. Endo-borneol. 3. α -felandreno. 4. Acetato de β -amirina. 5. Lupeol. 6. α -amirina.

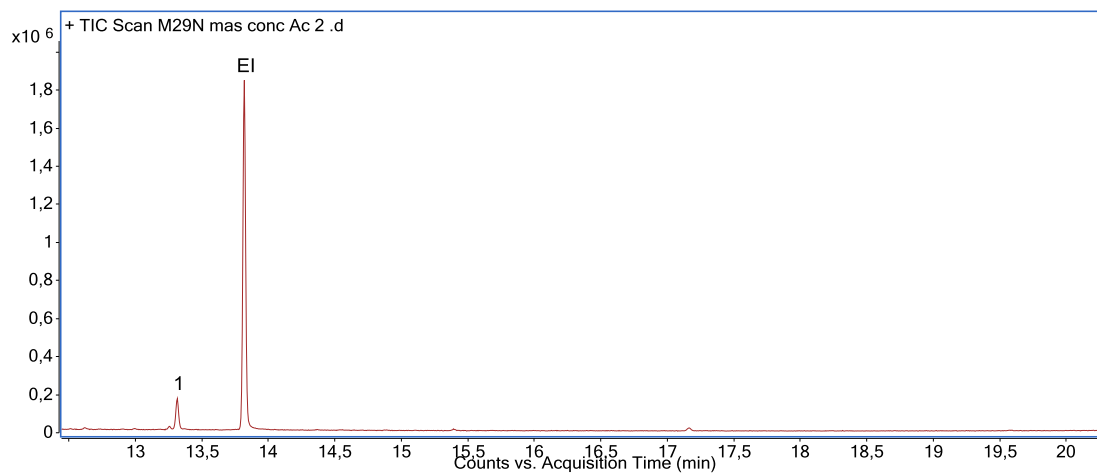


Figura 6-33 TIC de la muestra "M29 Negro" tomada del mural, fracción ácida. Condiciones de adquisición en sección 5.6.1; 1. Ácido ftálico.

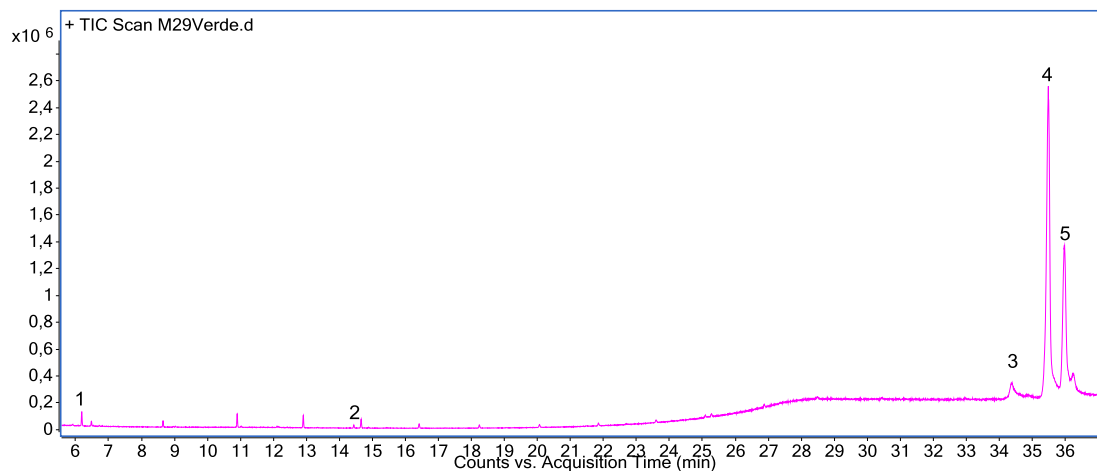


Figura 6-34 TIC de la muestra "M29 Verde" tomada del mural, fracción neutra. Condiciones de adquisición en sección 5.6.1; 1. 2-bornanona. 2. Dímero de α -felandreno. 3. Acetato de β -amirina. 4. Lupeol. 5. α -amirina.

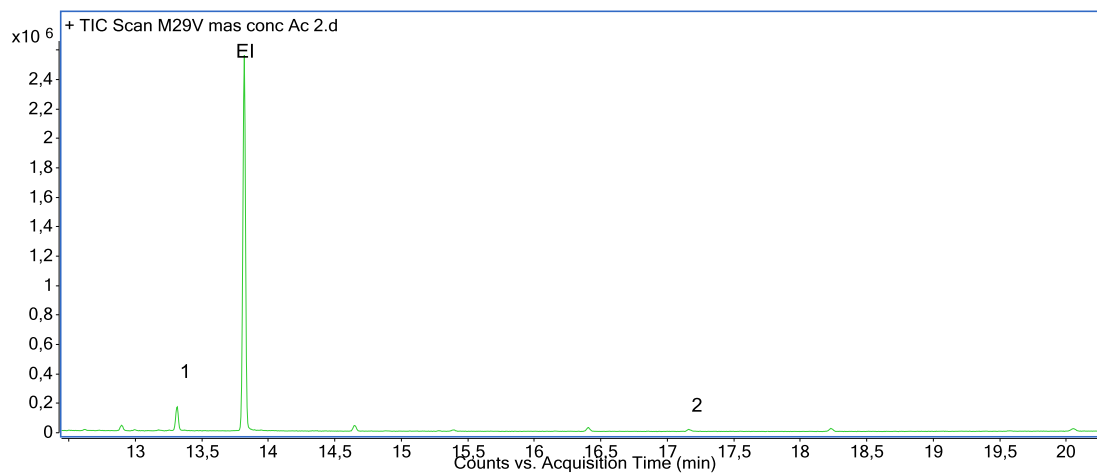


Figura 6-35 TIC de la muestra "M29 Verde" tomada del mural, fracción ácida. Condiciones de adquisición en sección 5.6.1; 1. Ácido ftálico. 2. Ácido palmítico.

7 Discusión de resultados de las muestras del mural

Los datos obtenidos por RMN y CG-EM de la mayoría de las muestras indican la presencia de los marcadores seleccionados: α -amirina, β -amirina y lupeol, los cuales pueden provenir tanto de copal como de resina de elemí. Además, en los espectros ^1H y COSY se observa una señal consistente con un compuesto no identificado del copal (un triplete en $\delta^1\text{H}$ 3.38 que correlaciona con un doblete en $\delta^1\text{H}$ 1.52 ppm) elegido también como marcador. Otro argumento a favor de la presencia de copal es la proporción de lupeol con respecto a las amirinas en los TICs, que se asemejan a las observadas en la muestra de referencia del copal.

En cuanto a los compuestos provenientes de resina de elemí, además de la α -amirina y β -amirina, también se eligió el elemicín como marcador. Sin embargo, no fue identificado en las muestras del mural, probablemente debido a su volatilidad o descomposición. Tampoco fueron detectados en las muestras del mural otros marcadores, como los terpenoides y compuestos fenólicos, por lo que no es posible confirmar la presencia de resina de elemí. Todo esto indica que el elemicín y los demás terpenoides no son buenos marcadores para identificar la presencia de resina de elemí. La dificultad para la identificación de esta resina en muestras del patrimonio cultural ya ha sido reportado en la literatura.¹¹

Con respecto a los compuestos provenientes de la cera de abeja, en los espectros ^1H y COSY se observan señales que pueden ser consistentes con la presencia de ésteres lineales. Sin embargo, no fueron identificados ni ácidos grasos ni alcoholes por CG-EM. Se esperaría la presencia de dichos compuestos como resultado de la hidrólisis de las muestras, debido al proceso de envejecimiento natural o al pre tratamiento de hidrólisis para su análisis. Por tanto, no se puede confirmar la presencia de ésteres lineales en las muestra del mural, y solo se pudo identificar ácido palmítico a bajas concentraciones en algunos de los TICs de las muestras del mural.

En cuanto a la ausencia de algunos de los compuestos en los TICs como los ácidos grasos y los alcanos provenientes de la cera de abeja, puede tener diversas explicaciones. Para la ausencia de ácidos grasos una explicación podría

ser la formación de sales debido a su interacción con los pigmentos¹ o los procesos de hidrólisis por las condiciones ambientales¹⁴. En cuanto a la ausencia de los alcanos de cadena larga, está reportado que estos pueden sublimar del medio también por las condiciones ambientales.¹⁵

Un compuesto presente en todas las muestras del mural fue el ftalato de etilo, que puede provenir de la aplicación de algún material en un proceso de conservación o bien debido a contaminación ambiental. Descartamos que provenga del muestreo ya que las muestras se preservaron en frascos de vidrio y se tomaron con un bisturí limpio.

8 Conclusión

Se implementaron las metodologías analíticas para analizar por CG-EM y RMN muestras de obras de pintura a la encáustica.

Se determinaron los marcadores moleculares para cera de abeja, copal y resina de elemí por CG-EM y RMN.

Se identificaron los marcadores reportados en la literatura para aceite de linaza y esencia de espliego por RMN.

Se identificaron las principales materias primas usadas en las reproducciones de Rivera, Siqueiros y el Dr. Atl.

Se confirmó la presencia copal y ftalato de etilo en las muestras del mural *La Creación* de Diego Rivera.

No fue posible comprobar la presencia de cera de abeja en el mural, ya que no se pudieron detectar sus compuestos marcadores en los TICs (alcanos y ácidos grasos). Sin embargo, está reportado que el no detectar dichos compuestos puede deberse a diversos procesos como: i) la interacción con los pigmentos o ii) la degradación por envejecimiento inducido debido a las condiciones del recinto.

9 Anexo I

9.1 Cera de abeja

Tabla 9-1 Cera de abeja, fracción neutra

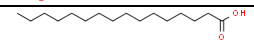
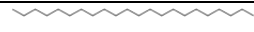
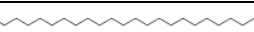
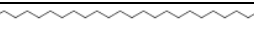
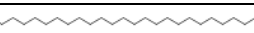
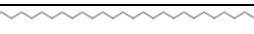

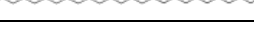
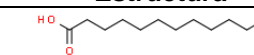
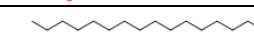
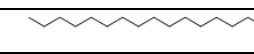
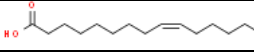
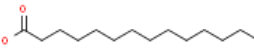
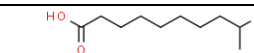
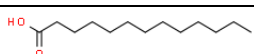
pico	tr (min)	nombre	estructura
El	12.72	Ácido tridecanoico.	
1	15.80	Ácido palmítico	
2	16.37	Heneicosano	
3	17.50	Docosano	
4	18.66	Tricosano	
5	19.84	Tetracosano	
6	21.03	Pentacosano	
7	22.19	Hexacosano	
8	23.35	Heptacosano	
9	24.46	Octacosano	
10	25.57	Nonacosano	
11	26.64	Triacontano	
12	27.49	Alcohol behénico	
13	27.71	Hentriacontano	
14	28.89	Dotriacontano	
15	30.30	Tritriacontano	

Tabla 9-2 Cera de abeja, fracción ácida

Pico	tr (min)	Nombre	Estructura
El	12.72	Ácido Tridecanoico	
1	15.20	Ácido hexadecanoico	
2	15.86	Ácido palmítico	
3	17.73	Ácido oleico	
4	18.04	Ácido esteárico	
5	19.05	Ácido 9-Hidroxidecanoico	

9.2 Copal y resina de elemí

Tabla 9-3 Copal, fracción neutra

Pico	Tr (min)	Nombre	Estructura
El	12,72	Ácido tridecanoico	

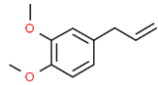
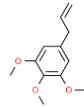
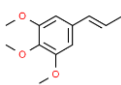
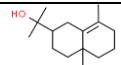
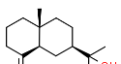
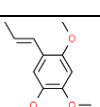
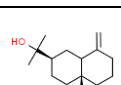
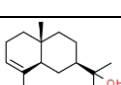
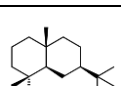
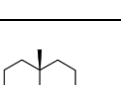
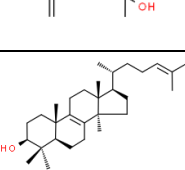
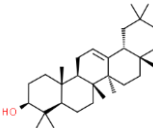
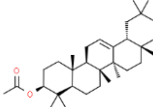
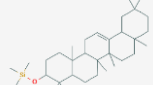
1	29,00	β -amirina (TMS)	
2	29,49	Lupeol (TMS)	
3	30,52	Acetato de β -amirina	
4	30,80	β -amirina	
5	31.45	Lupeol	
6	31,75	α -amirina	
7	31,88	α -amirina (TMS)	

Tabla 9-4 Copal, fracción ácida

Pico	Tr (min)	Nombre	Estructura
1	9,33	Ácido decanoico	
2	11,65	Ácido dodecanoico	
El	12,72	Ácido tridecanoico	
3	15,81	Ácido palmítico	
4	17,73	Metil (3, 4-dimetoxifenil)(hidroxi)acetato	

Tabla 9-5 Resina de elemí, fracción neutra

Pico	Tr(min)	Nombre	Estructura
1	7.22	(S)-(-)- α -terpineol (TMS)	

2	8.18	Metileugenol	
3	10.09	Elemicin	
4	10.58	isoelemicin	
5	11.00	γ -eudesmol	
6	11.08	(+)- β -Eudesmol	
7	11.18	Asarona	
8	11.22	Zingiberol	
9	11.26	α -Eudesmol	
10	12.95	proximadiol	
11	13.73	β -Eudesmol, derivado TMS	
12	28.61	Lanosterol	
13	29.67	β -amyrin	
14	29.91	acetato de β -aminina	
15	30.09	β -amrina, derivado TMS	

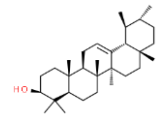
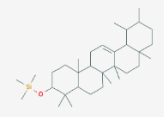
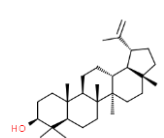
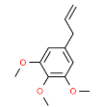
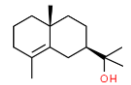
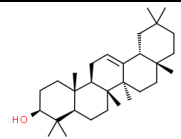
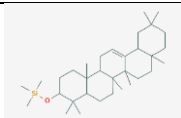
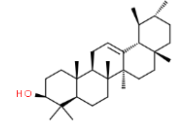
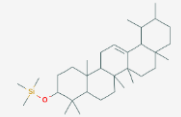
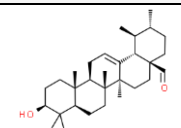
16	30.40	α -amirina	
17	30.60	α -amirina, derivado TMS	
18	32.76	Lupeol	

Tabla 9-6 Resina de elemí, fracción ácida

pico	Tr (min)	nombre	estructura
1	10.05	Elemicin	
2	11.00	Machilol	
3	29.58	β -amirina	
4	29.97	β -amirina, derivado TMS	
5	30.26	α -amirina.alpha	
6	30.50	α -amirina, derivado TMS	
7	34.48	Aldehído ursálico, derivado TMS	

10 Anexo II

Tablas con los resultados de los análisis de CG-EM de la reproducción de la fórmula de Rivera y las muestras del mural.

Tabla 10-1 Reproducción fórmula de Rivera, fracción neutra

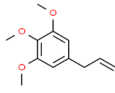
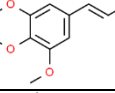
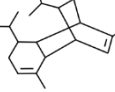
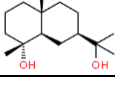









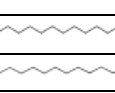
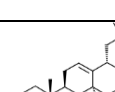
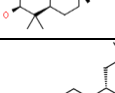
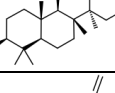
pico	tr (min)	nombre	estructura
1	11.63	Elemicin	
2	12.75	Isoelemicin	
3	14.45	α -felandreno	
4	14.68	Criptomeridiol	
5	20.26	Hexadecano	
6	21.50	Eicosano	
7	22.72	Pentacosano	
8	23.93	Hexacosano	
9	25.11	Heptacosano	
10	26.26	Octacosano	
11	27.38	Nonacosano	
12	28.58	Triacotano	
13	29.99	Hentriacontano	
14	31.70	Dotriacontano	
15	34.42	β -Amyrin acetate	
16	34.91	Acetato de β -amirina	
17	35.50	Lupeol	
18	36.02	α -amirina	

Tabla 10-2 Reproducción fórmula de Rivera, fracción ácida

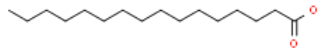
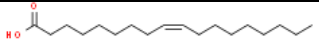
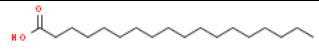
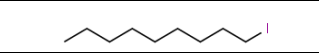
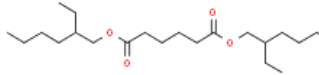
pico	tr (min)	Nombre	estructura
1	17.20	Ácido palmítico	
2	19.30	Ácido oleico	
3	19.62	Ácido esteárico	
4	20.27	1-iodononano	
5	21.52	Ester de bis(2-etilhexil) del ácido adípico	

Tabla 10-3 Muestra M12 Laca, fracción neutra

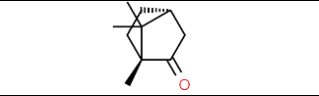
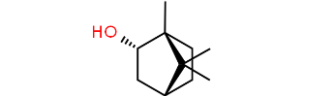
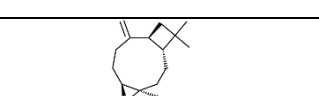
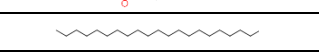
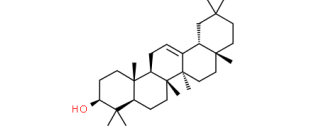
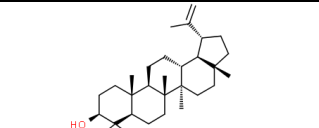
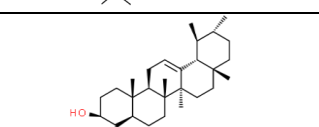
Pico	Tr (min)	Nombre	Estructura
1	6.18	(+)-camfor	
2	6.47	(+)-borneol	
3	12.11	Óxido de cariofileno	
4	25.09	Heneicosano	
5	34.39	β -amirina	
6	35.57	Lupeol	
7	36.04	α -amirina	

Tabla 10-4 M12 Laca, fracción ácida

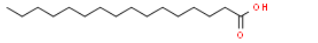
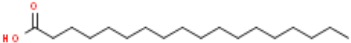
pico	tr (min)	nombre	estructura
1	17.17	Ácido palmítico	
2	19.59	Ácido esteárico	

Tabla 10-5 M27 Manto Rosa, fracción neutra.

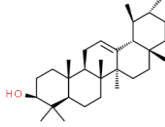
pico	tr (min)	nombre	estructura
1	35,43	Lupeol	
2	35,93	α -amirina	

Tabla 10-6 M27 Manto rosa, fracción ácida.

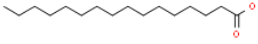
pico	tr (min)	nombre	estructura
1	17.19	Ácido palmítico	

Tabla 10-7 M28 Nahui, fracción neutra.

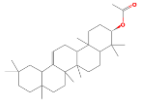
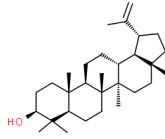
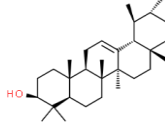
pico	tr (min)	nombre	estructura
1	34,35	Acetato de β -amirina	
2	35.43	Lupeol	
3	35,93	α -amirina	

Tabla 10-8 M28 Nahui, fracción ácida.

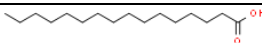
pico	tr (min)	nombre	estructura
1	17,19	Ácido palmítico	

Tabla 10-9 M29 Negro, fracción neutra.




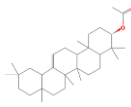
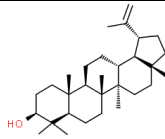
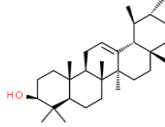
pico	tr (min)	nombre	estructura
1	6,19	(+)-2-Bornanona	
2	6,48	Endo-borneol	
3	14,44	Dímero de α -felandreno	
4	34,37	Acetato de β -amirina	
5	35,48	Lupeol	
6	35,97	α -amirina	

Tabla 10-10 M29 Negro, fracción ácida.

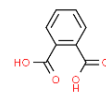
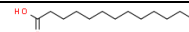


pico	tr (min)	nombre	estructura
1	13,32	Ácido ftálico.	
EI	13,82	Ácido tridecanoico.	

Tabla 10-11 M29 Verde, fracción neutra.

pico	tr (min)	nombre	estructura
1	6,19	(+)-2-Bornanona	
4	14,44	Dímero de α -felandreno	

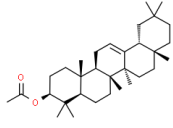
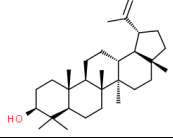
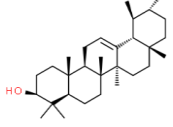
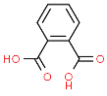
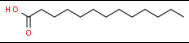
6	34,37	Acetato de β -amirina	
7	35,49	Lupeol	
8	35,98	α -amirina	

Tabla 10-12 M29 Verde, fracción ácida.

pico	tr (min)	nombre	estructura
1	13,32	Ácido ftálico.	
EI	13,82	Ácido tridecanoico.	

11 Referencias

1. Stacey, R.J., Dyer, J., Mussell, C., Lluveras-Tenorio, A, Colombini MP, Duce C, et al. Ancient encaustic: An experimental exploration of technology, ageing behaviour and approaches to analytical investigation. *Microchem J.* 2018, 138:47 2-87.
2. Omarini, S., Encaustic: history, technique and research. Florence, Italy: Nardini. 2012. 87 p.
3. Cuní, J., Cuní, P., Eisen, B., Savizky, R., Bové, J., Characterization of the binding medium used in Roman encaustic paintings on wall and wood. *Anal Methods.* 2012. 4(3), 659.
4. Zetina, S., Pintura mural y vanguardia: "La Creación" de Diego Rivera. México: UNAM, Facultad de Filosofía y Letras. Tesis de Doctorado en Historia del Arte.
5. Zetina, S., Diego Rivera's revival of encaustic painting: the use of wax in Mexican avant-garde painting. 2018.
6. Charlot, J., El renacimiento del muralismo mexicano 1920-1925. Primera edición. México, D.F., Editorial Domés. 1985. 412 p.
7. Rivera, D., O'Gorman, J., Sobre la encáustica y el fresco. Segunda edición. México, D. F. El Colegio de México. 1993. 48 p.
8. Siqueiros, D.A., Como se pinta un mural. Tercera Edición. Cuernavaca, Morelos. México. Ediciones Taller Siqueiros. 1979.
9. Barquera, R., Atlcolors and encaustic: Dr. Atl's Renovation of an Ancient Medium. Ponencia presentado en: Futurahma Conference. Materiali e tecniche tra Futurismo e Ritorno al Classico. Ricerche, analisi, prospettive. 2016. Scuola Normale Superiore. Pisa. Italia.
10. Tulloch, AP., Hoffman, LL., Canadian beeswax: Analytical values and composition of hydrocarbons, free acids and long chain esters. *J Am Oil Chem Soc.* 1972. 49(12). 696-9.
11. Mills, JS., White, R., *The Organic Chemistry of Museum Object.* 2nd ed. USA. Routledge. 1994. 206.
12. Zoia, L., Tolppa, E., Pirovano, L., Salanti, A., Orlandi, M., ¹H-NMR and ³¹P-NMR characterization of the lipid fraction in archaeological ointments. *Archaeometry.* 2012. 54(6). 1076-99.
13. Evershed, RP., Vaughan, AJ., Dudd, SN., Soles, JS., Fuel for thought? Beeswax in lamps and conical cups from Late Minoan Crete. *Antiquity.* 1997. 71, 274. pp. 979-985.

14. Stacey, R.J., The composition of some Roman medicines: evidence for Pliny's Punic wax?. *Anal Bioanal Chem.* 2011. 401(6).1749-59.
15. Regert, M., Colinart, S., Degrand, L., Decavallas, O., Chemical Alteration and Use of Beeswax Through Time: Accelerated Ageing Tests and Analysis of Archaeological Samples from Various Environmental Contexts. *Archaeometry.* 2001. 43 (4). 549-69.
16. Ribechini, E., Modugno, F., Colombini, M.P., Evershed, R.P., Gas chromatographic and mass spectrometric investigations of organic residues from Roman glass unguentaria. *J Chromatogr A.* 2008. 1183 (1-2). 158-69.
17. De la Cruz, J., Doménech, M.T., Gimeno, J.V., Mateo, R., Bosch, F., Study of Burseraceae resins used in binding media and varnishes from artworks by gas chromatography–mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2005. 1093 (1-2). 177-94.
18. Vandenabeele P, Grimaldi DM, Edwards HGM, Moens L. Raman spectroscopy of different types of Mexican copal resins. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2003. 59 (10). 2221-9.
19. Stacey, R.J., Cartwright, C.R., McEwan, C., Chemical characterization of ancient mesoamerican "copal" resins: Preliminary results. *Archaeometry.* 2006 48 (2). 323-340.
20. Doménech, M.T., Kuckova, S., de la Cruz, J., Osete, L., Study of the influencing effect of pigments on the photoageing of terpenoid resins used as pictorial media. *J Chromatogr A.* 2006. 1121 (2). 248-58.
21. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology. 2nd ed. Oxford. Blackwell Scientific Publications. 1997.
22. Vitha, M.F., *Chromatography: Principles and Instrumentation.* Primera Edición. New Jersey. Wiley. 2017. 268.
23. Tipler, A., Sample Introduction Methods. *Gas Chromatography.* Elsevier. 2012 187-219.
24. Agilent Technologies. Agilent 7890B Gas Chromatograph Getting Started. Segunda edición. Estados Unidos. Agilent Technologies. 2013. 36.
25. Sparkman O., Penton Z., Kitson, F., Gas Chromatography. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide.* Elsevier. 2011.
26. NMR spectroscopy - Latest research and news. Nature <https://www.nature.com/subjects/nmr-spectroscopy>. 2018.
27. Hore, P., *Nuclear Magnetic Resonance.* Oxford University Press. 2015. 121 p.

28. Keeler, J., *Understanding NMR Spectroscopy*. Wiley, 2ed. 2010.
29. Capitani, D., Di Tullio, V., Proietti, N., Nuclear Magnetic Resonance to characterize and monitor Cultural Heritage. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc.* 2012. 64. 29-69.
30. Bruni, S., Guglielmi, V., Identification of archaeological triterpenic resins by the non-separative techniques FTIR and ^{13}C NMR: The case of Pistacia resin (mastic) in comparison with frankincense. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2014. 121. 613-22.
31. Hassan, A. Amjid, I., Gas chromatography-mass spectrometric studies of essential oil of *Pinus roxburghii* trees and their antibacterial and antifungal activities. *Journal Med Plants.* 2009. 3(9). 670-9.
32. Solladié-Cavallo, A., Senouci, H., Jierry, L., Klein, A., Bouquey, M., Terrisse, J. Linseed oil and mixture with maleic anhydride: ^1H and ^{13}C NMR. *J Am Oil Chem Soc.* 2003. 80(4). 311-4.
33. Yun, Z., Lavender Oil Analysis Using Agilent J&W DB-WAX Ultra Inert Capillary GC Columns. Agilent Technologies Ltd. Shanghai, China. 2016.
34. Human Metabolome Database: ^1H NMR Spectrum (HMDB0036100) http://www.hmdb.ca/spectra/nmr_one_d/3981
35. White spirit (HSG 103, 1996). <http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg103.htm>
36. Lambert, J., Tsai, C., Shah, M., Hurlley, A., Santiago, J., Distinguishing amber and copal classes by magnetic resonance spectroscopy. *Archaeometry.* 2012. 54(2). 332-48.
37. Lambert, J., Santiago, J., Rodríguez, R., Wu, Y., Levy, A. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Examination of Fossilized, Semi-fossilized, and Modern Resins from the Caribbean Basin and Surrounding Regions. *Life Excit Biol.* 2015. 2 (4). 180-209.