



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

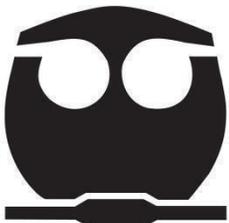
**Determinación de ácidos grasos como residuos orgánicos
en tiestos de vasijas provenientes de Tzicohuac**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO**

PRESENTA:

JORGE GUTIÉRREZ JOSÉ MANUEL



CDMX

2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



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: **Profesora:** Marisol Reyes Lezama

VOCAL: **Profesora:** Noe Zúñiga Villarreal

SECRETARIO: **Profesor:** Everardo Tapia Mendoza

1er SUPLENTE: **Profesor:** Emely Bache Ortega

2° SUPLENTE: **Profesor:** Agueda Elena Cenieros Gómez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del patrimonio Cultural (LANCIC), Instituto de Química (IQ), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

ASESOR DEL TEMA:

Everardo Tapia Mendoza

SUPERVISOR TÉCNICO:

Alma Rosa Espinosa Ruiz

SUSTENTANTE:

José Manuel Jorge Gutiérrez

Agradecimientos oficiales

A la Universidad Nacional Autónoma de México, inimitable y particular casa de estudios donde cada miembro de su verdadera raza habla con un inigualable furor y desde un auténtico espíritu.

A la facultad de Química, mi más sincera gratitud al permitirme transitar el mundo del conocimiento científico teniendo como objetivo claro una licenciatura y que, gracias a ella, se volvió más que tangible.

Se agradece al CONACYT por los proyectos financiados (*LN232619, LN 260779, LN 279740, LN 293904, LN 271614 y LN 293904*).

A los profesores de la facultad, columna vertebral de la misma y cuya instrucción y pasión fortalecen los corazones afligidos, enriquecen la mente y permiten cumplir aspiraciones y metas.

A los miembros del Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural por su apoyo técnico y práctico: M. en C. Mayra León Santiago. El Q. Emilio Iturbe Nava y mi colega y futuro Q. Daniel Humberto Sánchez Neri, que hicieron posible la realización de esta tesis y del laboratorio LANCIC-IQ un lugar agradable e inolvidable.

A la Dra. Adriana Romo Pérez, que con una gran actitud, talento y personalidad me brindó el tiempo y apoyo para enseñarme la técnica de espectroscopia ATR con pastilla.

A la Dra. Marisol Reyes Lezama por su apoyo y cátedra sobre el uso de la técnica espectrometría de IR.

Finalmente, pero no menos importante a mi supervisora técnica la arqueóloga Alma Rosa Espinosa Ruiz, que gracias a ella se tuvieron las muestras para poder trabajar

Agradecimientos personales

Porque todos y cada uno de los seres humanos que podemos llegar a existir no somos tan malos como nos perciben o ven, pero tampoco tan buenos como mostramos o aparentamos ser.

Al bosón de Higgs y las fuerzas fundamentales, que para mí manifiestan en el plano terrenal el impulso irrefutable de conocimiento que lleva a la convicción profunda de la idea de omnisciencia, omnipresencia y omnipotencia, y cuya existencia nos otorgó el poder de la voluntad y la sensibilidad de vivir, en este hermoso espacio, plano, estado y tiempo que algunos llamamos vida.

A Ma Angélica Gutiérrez Balderrama, que el universo la creó con capacidades y valores por encima de la humanidad entera, dándome el mayor regalo que cualquier ser humano puede recibir y experimentar, la vida.

A mi padrino, Alejandro Gutiérrez Balderrama, que me abrazó y cargó conmigo como un padre, bendijo mi espíritu, concentró mi luz, guardó en mi mente su voz, que en momentos de miedo y dolor me grita que persista y no desista, que puedo con esto y más pero, aunque su fortaleza y coraje son inquebrantables, cultura y talento bastos y admirables, inteligencia y asertividad verdaderamente audaces, lo que más amo es saber que puedo llegar a ser amado, admirado, respetado y valorado, pues me dio un pedacito de su alma, mente y corazón, para yo también ser un hombre lleno de satisfacción y valor, graciaspapá por ser en mi vida la luz y mi calor.

A mis mentores altruistas de la facultad, Carlos, Tlaca, Ramiro y Osvaldo, compañeros con determinación inquebrantable y cuyos conocimientos y apoyo resonarán eternamente en mi ser y en la facultad.

Al Instituto de Química, el primer santuario que me vio llegar, y que ahora me ve partir.

Al M. en C., Everardo Tapia Mendoza, maestro, profesor y asesor cuya confianza y oportunidad agradezco infinitamente, pues su proyecto me permitió llegar a la recta final donde ahora comienza mi vida, dándome la grata oportunidad de algún día llamarnos colegas.

Al Dr. Manuel Espinoza Pesqueira, cuya esencia, conocimiento, actitud y pasión me indicó el camino para sacar la casta dorada que la estrella de la mañana ampara en el mármol inmaculado de un glorioso sol bajo un cielo azul.

Al Dr. Alejandro Díaz Flores, propio caballero, virtuoso químico y admirable profesor, que trabaja, enseña y vive con entera responsabilidad e idílica calidad, pues en sus cátedras la química se vuelve un caramel macchiato y la cromatografía es su Flat White.

Al Dr. Noé Zúñiga Villarreal, cultivado oyente de melodías sublimes y letras profundas, cuyas charlas, anécdotas y confesiones me enriquecieron académica y empíricamente, amalgamando momentos verdaderamente orgánicos donde bajo su amparo frente a un pizarrón blanco, me volvía rey.

A mi tía, María Gutiérrez Escobar, que su casa me dio abrigo, su comida valor y su compañía amor, mi mamá que siempre me regañó, pero nunca me descuidó, nunca me abandonó.

A mi tía, Esmeralda Ramos Correa, tenaz, devota de corazón que escuchó y secó las lágrimas de mi mente y corazón, que calmó mis miedos con abrazos y mi hambre con su sazón, pero sobre todo gracias por creer en mí, por confiar en mí, encomendándome a Dios para tener la seguridad de ir para arriba, sabiendo que, si pierdo la fe algún día, rezarás conmigo en la compañía de Jesús, José y María.

A mi madrina, Carla Beatriz Sánchez Gutiérrez, estrella hermosa rodeada de personas maravillosas que hicieron inolvidable mi vida siendo para mí más mi amiga que mi tía.

A mi “papá Chava”, Salvador Vásquez Tapia, que tuvo fe ciega en mí cada día, en los libros escucho siempre tu voz y tu música hace latir mi corazón cada día, porque mientras siga teniendo vida seré orgulosamente el hijo al que le diste sabor y pasión a su vida.

A mis abuelos, Zeferino Gutiérrez Escobar y Regina Guadalupe Balderrama Moreno, que decir abuelos es poco para la maravilla de padres que fueron, son y agradezco, pues fue para mí un verdadero sueño crecer y vivir sabiendo y sintiendo, que son en realidad mis padres más sabios y longevos.

A la familia Gutiérrez Tello, mi segunda familia que tiene al mejor campeón de la familia Balderrama y que estoy orgulloso de decir que velaré y apoyaré a cada uno de ellos como siempre lo han hecho por mí

A mi hermano Diego, el Virgilio de mi vida que siempre admiraré y respetaré como un verdadero ser que a pesar de las adversidades de la vida brilla y se aviva mejor que el ave fénix.

Al alado protector de gatos y simbiote de pies alegres, el I-Q. “Lalo” Medina, que por haber controlado a sus tiburones y efervescido muchas veces no sólo aprendí, pasé, sufrí, acabé, viví y me titulé, si no que por un tiempo conocí la aventura de su vida, pero que le podía decir yo, si yo acababa de llegar.

ÍNDICE

CAPÍTULO	PÁGINA
I Resumen	1
II Introducción	2
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES	
1.1 Características generales de los biomarcadores	10
1.2 Lípidos	10
1.2.1 Conservación del material lipídico	12
1.2.2 Caracterización de los ácidos grasos encontrados en cerámicos arqueológicos	12
1.2.3 Procesos degradativos de contaminación	15
1.3 Técnicas analíticas usadas en la identificación de residuos orgánicos	16
1.3.1 Espectroscopia Infrarroja con transformada de Fourier y reflectancia total atenuada	16
1.3.2 Cromatografía de Gases (CG)	18
1.3.3 Espectrometría de masas	20
CAPÍTULO 2. Objetivos, hipótesis y estrategia de resolución	
2.1 Objetivos	22
2.2 Hipótesis	23
2.3 Estrategia de resolución	23
CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	
3.1 Material y equipo	25
3.2 Equipos y <i>softwares</i>	25
3.3 Disolventes y reactivos	26
3.4 Muestras	26
3.5 Metodología experimental	33
3.5.1 Identificación preliminar de compuestos orgánicos usando la técnica FTIR-ATR	33
3.5.2 Implementación de las condiciones de separación y detección del método analítico por CG-EM	34
3.5.3 Condiciones de preparación de muestra	35
3.5.4 Validación de la metodología analítica	37
3.5.5 Análisis por CG-EM de muestras arqueológicas	38

CAPÍTULO	PÁGINA
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1 Análisis de muestras arqueológicas por la técnica IR-ATR	39
4.2 Implementación de las condiciones de separación y detección del método analítico por CG-EM	41
4.3 Desarrollo del método analítico	43
4.4 Validación del método analítico	46
4.5 Muestras arqueológicas analizadas por la técnica CG-MS	49
4.5.1 Muestra m1tzib57	52
4.5.2 Muestra m2tzib150	53
4.5.3 Muestra m3tzib180	55
4.5.4 Muestra m4tzib165	56
4.5.5 Muestra m5tzib139	57
4.5.6 Muestra m6tzib186	58
4.5.7 Muestra m7tzib133	59
4.5.8 Muestra m8tzib177	60
4.5.9 Muestra m9tzib183	61
4.5.10 Muestra m10tzib141	62
4.5.11 Muestra m11tzib187	63
4.5.12 Muestra m13tzib246	64
4.6 Propuestas e interpretación de los resultados obtenidos desde el enfoque arqueológico	66
4.7 Compuestos modernos identificados	68
4.8 Otros compuestos de interés	70
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES	71
CAPÍTULO 6. REFERENCIAS	72
CAPÍTULO 7. ANEXOS	78

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
DRX	Difracción de rayos X.	ECD	Detector de captura de electrones
CG-EM	Cromatografía de gases acoplado espectrometría de masas	mg	miligramos
ATR-FTIR	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier	Min	minutos
cm/s	Centímetros sobre segundos	µL	microlitros
EAU	Extracción asistida por ultrasonido	Rpm	revolución por minuto
DCM	Diclorometano	He	Helio
MeOH	Metanol	ADN	Ácido desoxiribonucleico
TMTFTH	Hidróxido de trifluorometil-fenil trimetilamonio	H	Hidrógeno
EAC	Extracción asistida por centrífuga	N ₂	Nitrógeno gas
eV	Electronvolts	HXN	Hexano
INAH	Instituto Nacional de Antropología e Historia	psi	Unidad de presión; libra por pulgada cuadrada
LANCIC	Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural	etc.	Etcétera
°C	Grados centígrados	W	Tungsteno
P. eb.	Punto de ebullición	Re	Renio

<i>Split</i>	Modo de inyección con división	m/z	Relación masa/carga
<i>Splitless</i>	Modo de inyección sin división	EM	Espectrómetro de masas
H ⁺	Protón o hidrógeno ácido	KOH	Hidróxido de potasio
HCl	Ácido clorhídrico	s.	Siglo
CDMX	Ciudad de México	Cr-Ni	Cromo Níquel
IQ	Instituto de Química	mL	Mililitros
g	Gramos	ng	nanogramos
N	Número de equivalentes/ volumen de la solución en litros	Temp.	Temperatura
v/v	relación volumen/volumen	ppm	partes por millón
Ác.	Ácido	CO ₂	Dióxido de carbono
O ₂	Oxígeno	OH	Hidróxido
cm	Centímetros	FAME Mix	Mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos
s/f	Sin fecha	s.f	Sin fecha
EMAG	Ésteres Metílicos de Ácidos Grasos	KBr	Bromuro de Potasio

I. Resumen

Se desarrolló un método para analizar 12 muestras arqueológicas identificadas como restos de vasijas denominadas tiestos en busca de ácidos grasos como residuos orgánicos provenientes de una zona arqueológica Huasteca llamada Tzicohuac. Fueron llevadas al laboratorio LANCIC por la Arqlga. Alma Espinosa Ruiz con el propósito de conocer si tenían residuos orgánicos. La presencia o ausencia de residuos orgánicos aportaría información relevante para una hipótesis que tenía la Arqlga. sobre las muestras pues realiza un proyecto para localizar y reubicar la zona arqueológica de Tzicohuac, tomando como base un lienzo que describe la geografía de la zona pero que inicialmente fue mal interpretado por un Arqueólogo en el pasado y que la Arqlga. propone actualmente renombrar como Lienzo Tzoquitelán-Tzicohuac, pues es la zona que realmente se describe en el lienzo.

Se usó la técnica espectroscopia IR-ATR con pastilla de KBr como una técnica de apoyo para detectar posibles ácidos grasos en las muestras antes de ser analizadas por CG-EM, los espectros obtenidos mostraron bandas de los perfiles vibracionales pertenecientes a los grupos funcionales que pueden conformar un ácido graso.

El método desarrollado tenía como base el uso de la técnica de cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (CG-EM), por lo que antes de emplearlo en las muestras arqueológicas el método fue validado para corroborar su confiabilidad sobre los resultados que se pudieran obtener al llevar a cabo el análisis de las muestras.

El acondicionamiento de los analitos previo al análisis por CG-EM, consistió resumidamente en una extracción de los analitos de la matriz cerámica en la que se encontraban y posteriormente de una reacción de derivatización como forma de mejorar el perfil de los analitos para obtener resultados más resueltos, selectivos y específicos.

Ya que los resultados obtenidos mostraron la presencia de varios ácidos grasos en todas las muestras, se propuso dar un posible origen de los ácidos grasos encontrados con base en la flora y fauna de la zona arqueológica durante la época prehispánica como un aporte extra del trabajo realizado. También se encontraron otros compuestos orgánicos en las muestras, pero no fueron investigados a fondo ya que el objetivo era detectar la presencia de ácidos grasos y no de otros compuestos orgánicos, sin embargo, se propuso un posible origen para los compuestos orgánicos más interesantes de este tipo.

II. Introducción

México cuenta con una gran riqueza de patrimonio cultural que comprende desde recintos, construcciones y zonas arqueológicas hasta obras artísticas consideradas mundialmente como únicas, su conservación es una labor fundamental en la preservación de la identidad nacional. El estudio del patrimonio cultural permite el desarrollo de la identidad nacional interpretando los sitios y acerbos culturales los restos históricos que se descubren y conservan.

En todas las culturas del mundo el hombre ha usado la escritura e ilustraciones para dejar su legado a sus congéneres sobre las experiencias que tuvo en vida o el conocimiento que considerara relevante para los tiempos venideros de las futuras generaciones. En la cultura prehispánica conservaban sus memorias y conocimientos a través de códices o lienzos, los cuales narran hechos históricos o acontecimientos importantes. Los códices son documentos generalmente cocidos y están hechos de papel o piel de animales como el venado (Espinosa Ruiz, 2012, 2013, 2015).

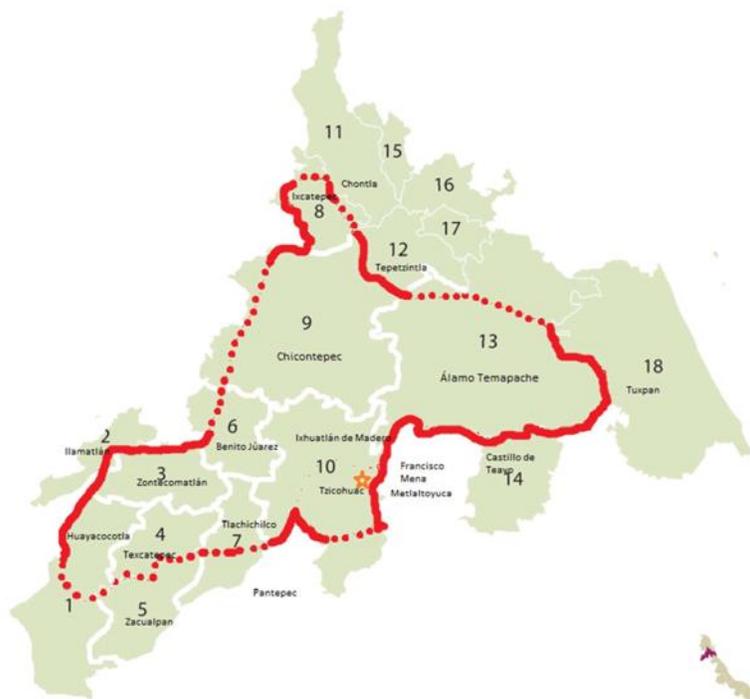


Ilustración 1. Mapa que muestra la geografía política de la región del norte de Veracruz, correspondiente al sur de la Huasteca. Con línea roja se enmarcan los límites de lo que fue la Provincia de Tzichohuac. Basado en lo plasmado en el Lienzo de Tzoquitetlán-Tzichohuac, tomado de Lefebvre, 2017 y Espinosa, 2015.

La Arqlga. Alma Espinosa actualmente dirige el proyecto *Mesa de Tzicohuac*. Su objetivo es contrastar la información etnohistórica con los datos arqueológicos para poder referir la ubicación exacta de Tzicohuac cabecera y de los límites de su provincia pues 1934 cuando el lienzo llega al Museo nacional de Antropología e Historia (MNAH), durante un inventario de códices realizado en 1964, el Arqlgo. Robert Glass interpretó el lienzo como un códice cartográfico que describía una región de Xochimilco, ubicada en el Valle de México basándose en los títulos escritos sobre los símbolos gráficos (glifos), que se encontraban pintados en el centro del lienzo, nombrándolo Lienzo Tzoquitetlán-Xochimilco (Glass, 1964; Glass y Robertson, 1975).

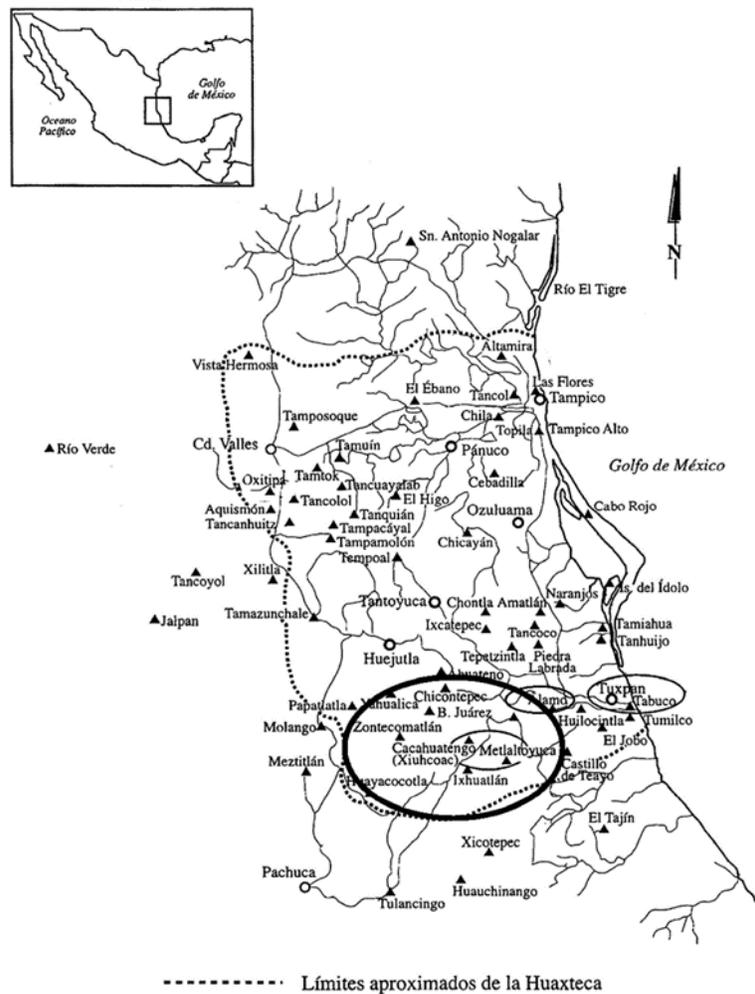
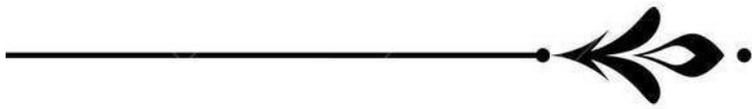


Ilustración 2. Mapa que muestra los límites de la Huasteca. Al sur se enmarca el área donde se ubicó la Provincia de Tzicohuac y su cabecera, también la ubicación de los mercados de Tuxpan y Temapache. Tomado de Ochoa, 2008 y modificado por Lefebvre 2017.



Con base en las investigaciones etnohistóricas y geográficas que realizó la posteriormente la Arqla. Alma Espinosa sobre la región descrita en el lienzo llegó a la conclusión de que la ubicación del elemento central (Tzicohuac cabecera), así como los límites de su provincia se encontraban frente al Cerro de Metlatteocan, entre los ríos Vinazco y Pantepec, cuya región corresponde a la geografía actual y exacta de la Mesa de Cacahuatenco, lo que significó que el sitio arqueológico ubicado sobre esa mesa que la Arqlga. estudió durante sus investigaciones podía corresponder a Tzicohuac, cabecera de la gran provincia Huasteca (Espinosa 2012, 2013; Espinosa *et al.*, 2015; Lefebvre, 2017; Meade, 1942, 1962; Melgarejo, 1945; Stresser, 1998).

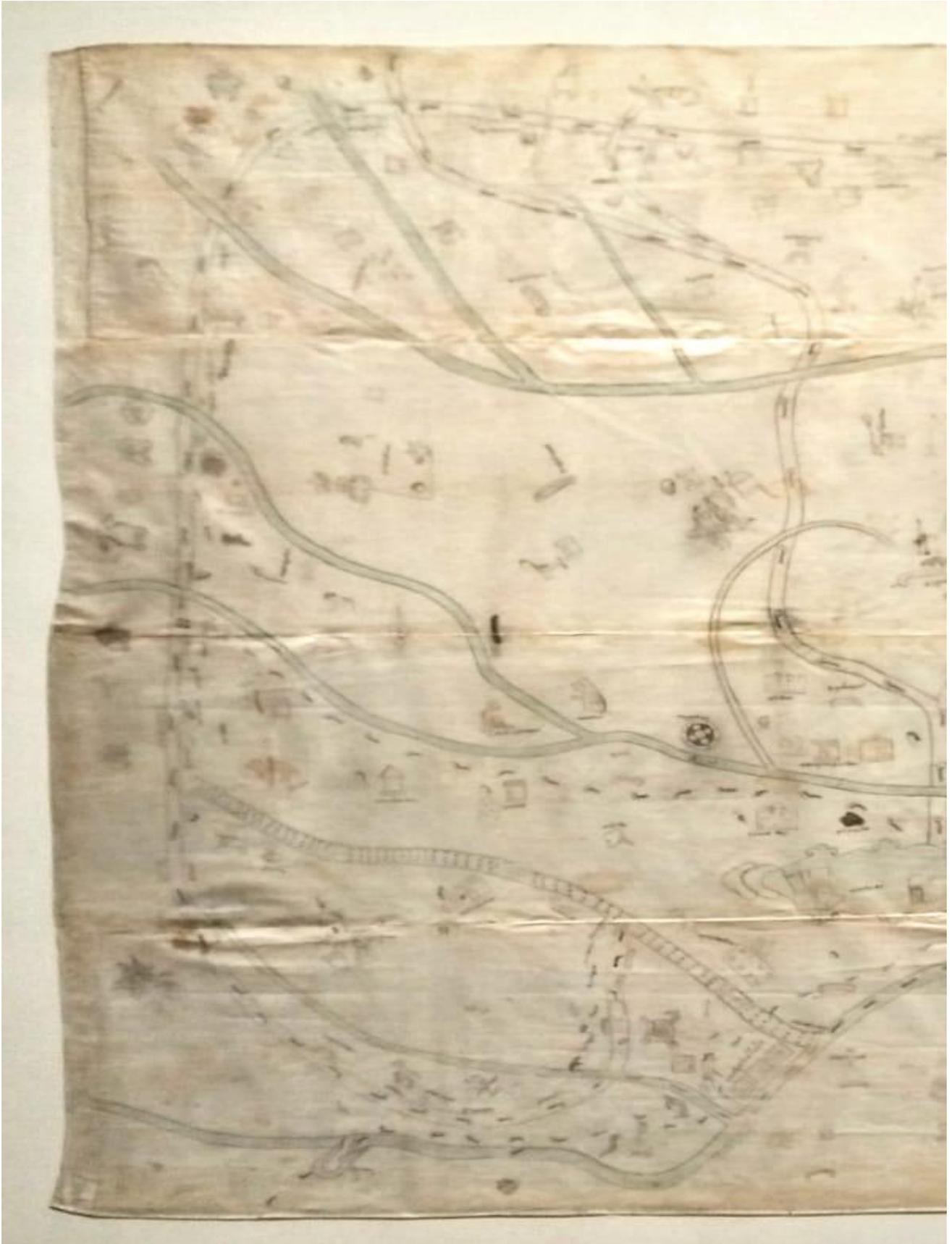
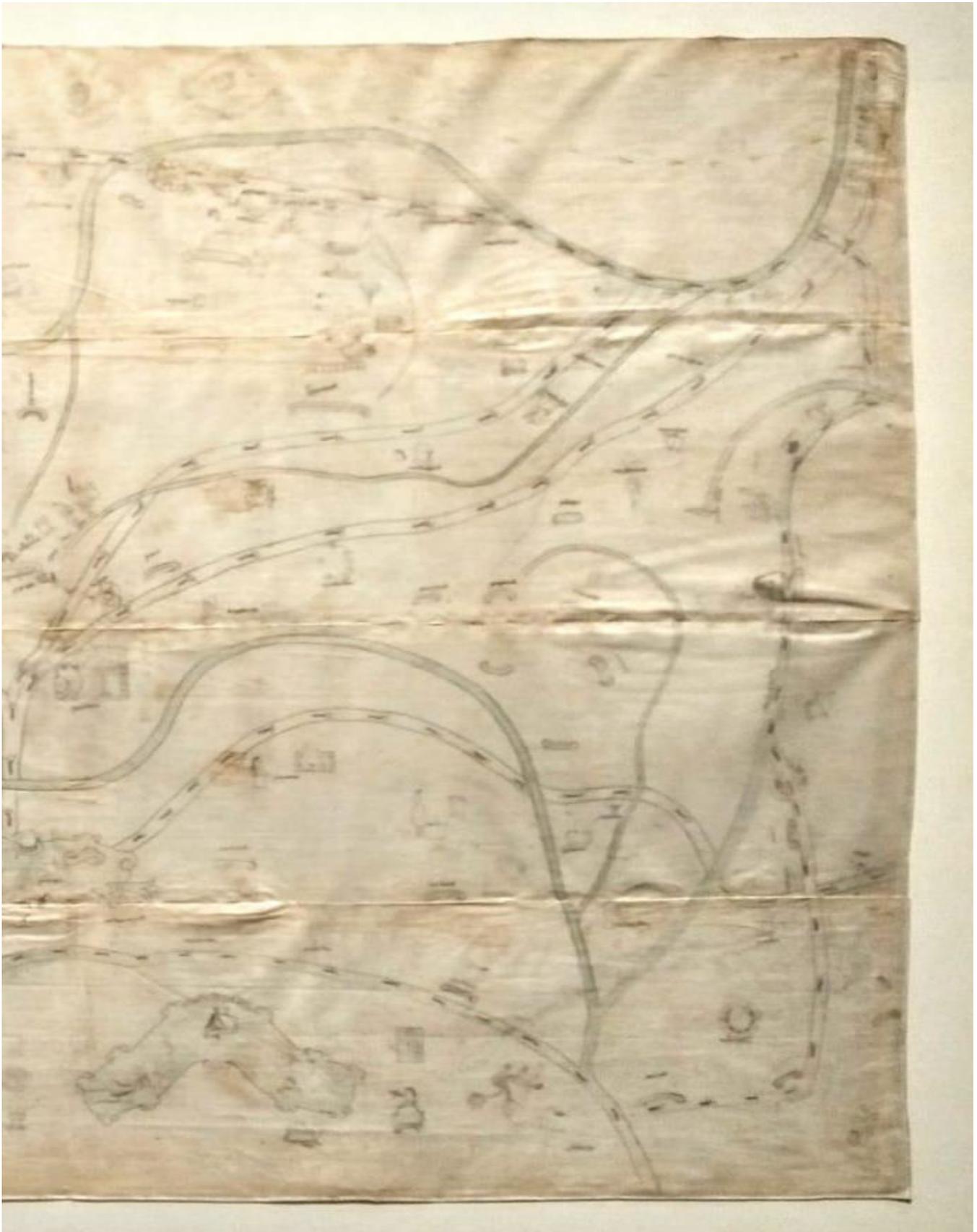


Ilustración 3. Lienzo de Tzoquitelán-



Itzicohuac. (Mediateca INAH, s/f)



El lienzo propuesto a ser renombrado como Lienzo Tzoquitetlán-Tzicohuac por la Arqlga. Alma Espinosa está catalogado como un documento cartográfico-histórico que forma parte del acervo de Códices de la Biblioteca Nacional de Antropología e Historia desde 1934, año en el que fue donado al Museo sin datos de su procedencia, data del año 1520, y se piensa formaba parte de los códices que se le enviaron a Hernán Cortés mientras se encontraba en España para conocer el reordenamiento territorial y la conciliación que se estaba llevando a cabo entre los referentes culturales mesoamericanos y europeos que sucedían en Nueva España. (Martínez, 1984; García Zambrano 1990; Hernán Cortés, 1998; Durán, 1984).

Fue elaborado con cuatro tiras de algodón cocidas entre sí, sus dimensiones son de 250 cm ancho X 300 cm de largo (Figura 3), describe los límites de lo que fue la Provincia huasteca de Tzicohuac, su cabecera, pueblos, caminos de la zona y la ubicación de los mercados de Tuxpan y Temapache. Con base en la geografía política actual, la región descrita en el lienzo corresponde actualmente a una serie de municipios como Ixhuatlán de Madero, Álamo Temapache y Benito Juárez, ubicados en la región norte de Veracruz, correspondiente al sur de la Huasteca.

Su relevancia en el campo del patrimonio cultural es importante ya que puede brindar un mejor entendimiento de los aspectos históricos y culturales que tenían los residentes de Tzicohuac, fomentando el desarrollo de identidad cultural para los pueblos que hoy día conforman la región, ayudando a preservar sus tradiciones y enseñanzas para generaciones venideras que quieran conocer sus raíces prehispánicas (Espinosa 2012, 2013; Espinosa *et al.*, 2015; Lefebvre, 2017; Carrasco 1996; Meade, 1942, 1962; Melgarejo, 1945; Stresser, 1998; Ochoa, 2001; Sagahún, 2000).

En el centro del lienzo hay tres glifos (señalados por un círculo rojo en la Figura 4), corresponden a los conjuntos que conformaban a Tzicohuac cabecera, la zona más relevante descrita por el lienzo y ubicada geográficamente sobre la Mesa de Cacahuatenco. Es considerada la zona más relevante porque los conjuntos arquitectónicos de la zona pertenecen al palacio de gobierno y los dos mercados regionales más importantes de la zona siendo el glifo izquierdo el conjunto de poniente (plaza granmercado), al centro el palacio de gobierno y a la derecha el conjunto oriente (plaza mercado).

Se ha descrito que existían dos tipos de mercados en la provincia de Tzicohuac: regionales cada 20 días y locales, se estima que se efectuaba en dos conjuntos arquitectónicos que posiblemente son los representados en el lienzo con glifos de mercado (Espinosa 2012, 2013; Espinosa *et al.*, 2015; Lefebvre, 2017; Hernán Cortés, 1998; Durán, 1984).

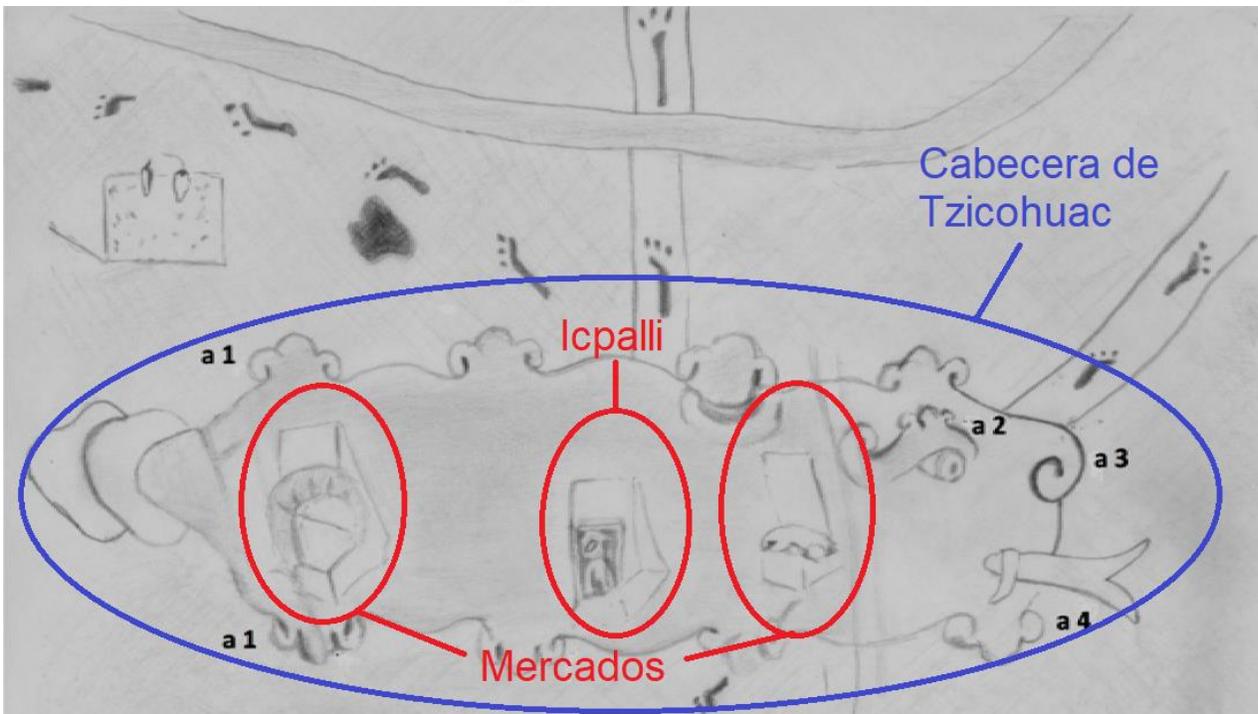


Ilustración 4. Toponimia de los 3 glifos correspondientes a las estructuras existentes en la Provincia de Tzicohuac, los glifos señalados como Glifo de mercado corresponde a las estructuras de los mercados de poniente y oriente mientras que el glifo señalado como Icpalli corresponde al palacio de gobierno (Espinosa Ruiz, 2015)

El gran desarrollo cultural y mercantil que tuvo Tzicohuac se debe a la región geográfica que conforma la mesa de Cacahuatenco, la amplia biodiversidad de su región permitió a sus pobladores el aprovechamiento de los recursos naturales, como el desarrollo de la agricultura de maíz y cacao, productos fundamentales para los pueblos prehispánicos (Costa et al., 2019; Pingarrón et al., 2014). La relevancia de estos productos y de su poder mercantil llevó a la creación de rutas de comercio que tenían como eje principal los mercados de Tzicohuac, también se crearon rutas de comercio para otros mercados igualmente importantes para la región (los mercados de Tuxpan y Temapache), la importancia de las rutas se llegó a mantener hasta la época colonial ya que algunas se seguían usando.

Todo esto provocó que Tzicohuac a pesar de ser un pueblo soberano se volviera una provincia tributaria, primeramente, de Texcoco durante el postclásico tardío (1424) y posteriormente centro recaudador del Imperio Mexica (1487). Durante las investigaciones realizadas por la Arqlga. Alma Espinosa se menciona que cuando la provincia fue conquistada por Netzahualcóyotl, emperador de los mexicas, impuso el impuesto de más de 2, 000 mantas de algodón, además de otros impuestos diversos como; cuero de venado, venados vivos, chile, etc. Esto demuestra la relevancia económica y cultural que tenía la provincia (Espinosa 2012, 2013; Espinosa et al., 2015; Lefebvre, 2017; Hernán Cortéz, 1998; Durán, 1984; Tezozómoc, 1987, Códice Mendoza, 1980).



Para confirmar las interpretaciones que la Arqlga. realizaba sobre los conjuntos arquitectónicos de la zona arqueológica con base la reinterpretación que había hecho del lienzo realizó una serie de exploraciones en las áreas marcadas por los glifos correspondientes a los dos mercados de Tzicohuac cabecera encontrando una serie de fragmentos cerámicos denominados tiestos. La Arqlga. propuso la hipótesis de que los fragmentos de las vasijas debieron pertenecer a utensilios (vasijas, cucharones, braseros), nuevos que se vendían o compraban en los mercados, por tal motivo tendrían que estar limpios o no presentar residuos orgánicos, este fue el motivo por el que las piezas fueron llevadas al laboratorio LANCIC-IQ para ser analizadas, pues si carecían de residuos orgánicos impregnados en los poros de los tiestos, eran fragmentos que piezas nuevas que se vendían en los conjuntos arqueológicos correspondientes a los mercados de Tzicohuac cabecera.



Capítulo 1

1. Antecedentes

1.1 Características generales de los biomarcadores

En arqueología, los residuos orgánicos son biomarcadores relacionados con todas aquellas sustancias de carácter amorfo y de origen orgánico que se identifican en la matriz cerámica de los recipientes en el registro arqueológico. Abarca residuos visibles como invisibles al ojo humano, localizados en el interior de las paredes y poros de la cerámica arqueológica sometida a estudio (Heron y Evershed, 1993).

Los biomarcadores arqueológicos son compuestos químicos cuya presencia o ausencia puede ayudar a determinar la funcionalidad de un objeto arqueológico, algunos biomarcadores pueden ser estructuras complejas o derivados de productos bioquímicos como los lípidos (tanto ácidos grasos libres, como acilglicéridos, terpenos, esteroides, entre otros compuestos), alcanos, ADN, proteínas, carbohidratos o aminoácidos provenientes de organismos y cuya identificación se ha comprobado que proporciona un alto grado de precisión en el conocimiento de la actividad humana (Alejandra García, 2018; Peters et al., 2005).

Este trabajo está centrado en el análisis de ácidos grasos provenientes de acilglicéridos de origen animal (grasas) o vegetal (aceites) que pudieron alojarse en las superficies porosas de los cerámicos gracias a las características y propiedades de los acilglicéridos. (Evershed, 2008).

1.2 Lípidos

Los lípidos son moléculas orgánicas compuestas mayoritariamente por átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno, y en menor medida por fósforo y nitrógeno (Aurand *et al.* 1987), son insolubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos, se pueden encontrar en los tejidos de animales y vegetales, presentan una importante estabilidad frente a altas temperaturas y una descomposición mínima a lo largo del tiempo en condiciones ambientales constantes (Evershed 1993; Feiser, L.F. y M. Feiser, 1960).

Entre los lípidos podemos distinguir a los acilglicéridos comúnmente llamados grasas si provienen de animales o aceites si provienen de vegetales. Están formados por una molécula de glicerol y moléculas de ácidos grasos, con base en el número de ácidos grasos unidos al glicerol se pueden clasificar en: monoacilglicéridos (esterificación con un ácido graso), diacilglicéridos (esterificación con dos ácidos grasos), y triacilglicéridos (esterificación con tres ácidos grasos). La cadena puede ser de diferentes longitudes,

dependiendo del tipo de ácido graso que se una al glicerol (Díaz-Velásquez D, Upegui-Mayor AT 2020). En la Figura 5 se muestra un ejemplo de un triacilglicérido, un acilglicérido formado por una molécula de glicerol y tres ácidos grasos diferentes unidos al glicerol.

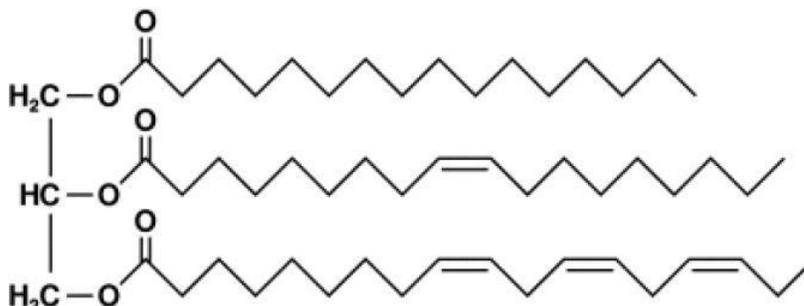


Ilustración 5. Estructura de un triglicérido con tres ácidos grasos diferentes.

Los ácidos grasos que se usan al glicerol son compuestos naturales o biomoléculas, formados por una cadena lineal hidrocarbonada, con un número par de átomos de carbono en cada molécula (Figura 6):

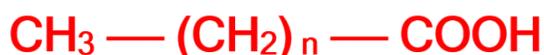


Ilustración 6. Estructura química general de un ácido graso.

De acuerdo con la longitud de la cadena de carbonos, los ácidos grasos se clasifican en ácidos de cadena corta (4 a 6), media (8 a 12), larga (14 a 20) y muy larga (más de 22).

También se clasifican con base en las insaturaciones por dobles enlaces que tenga la cadena (Figura 7), nombrándolos ácidos grasos saturados (sin dobles enlaces en su estructura molecular), monoinsaturados (con un doble enlace) y poliinsaturados (con dos o más dobles enlaces) (Feiser, L.F. y M. Feiser, 1960).

Ambas características influyen en la estabilidad que tengan en piezas arqueológicas (Bondia Pons 2007; Feiser y Feiser 1960). La inestabilidad y la probabilidad de degradación de los ácidos grasos aumentan cuanto mayor es el número de átomos de carbono en la cadena y cuanto mayor es el número de insaturaciones que tiene (Malainey et al.1999).



Ilustración 7. Representación de los ácidos carboxílicos, saturado como insaturado.



1.2.1 Conservación del material lipídico

El grado de conservación de los lípidos en material arqueológico puede depender de varios factores como las condiciones de enterramiento. Si las condiciones se mantienen homogéneas a lo largo del período de enterramiento se puede favorecer la conservación del material. Sin embargo, los cambios medio ambientales tienen una incidencia negativa sobre ella llegando a descomponer el material lipídico en algunos casos. Otro factor es el material cerámico, ya que las características arcillosas de una matriz cerámica provoca que los lípidos queden atrapados en los poros de la arcilla, permaneciendo protegidos de agresiones degradativas externas (Heron et al. 1991).

Otro aspecto para considerar es la carbonización. Cuando los tejidos orgánicos se carbonizan por una alta temperatura, la actividad de cualquier microorganismo presente en esos tejidos disminuye y las superficies externas se fusionan proporcionando una barrera carbonizada contra el ataque microbiológico, esto se debe a la incapacidad de los microorganismos por digerir el carbón. (Evans 1993; Needhan y Evans 1987; Evershed 1993). En consecuencia, ocurre la formación de una especie de vesículas o abultamientos en las que el material lipídico permanece intacto hasta el momento en que se rompe para su análisis.

1.2.2 Caracterización de los ácidos grasos encontrados en cerámicos arqueológicos

Las técnicas de análisis para la identificación de lípidos impregnados en cerámicas arqueológicas tienen un alto poder resolutivo ya que a partir de los ácidos grasos provenientes del fragmento cerámico se puede diferenciar la naturaleza lipídica del compuesto, si es de origen animal o vegetal, con el fin de proponer un posible origen a los residuos encontrados y estimar el uso de las piezas arqueológicas. (Alejandra García, 2018).

Desde los años 70's hasta la actualidad, los trabajos e investigaciones que se han ido realizando utilizan diferentes estrategias para poder caracterizar y determinar la fuente o el origen de los residuos lipídicos encontrados en los fragmentos cerámicos, estas estrategias usan el valor de los cocientes de ácidos grasos, sus relaciones isotópicas y/o, la presencia o ausencia de biomarcadores específicos. Con los resultados anteriores se puede proponer el origen del material lipídico tomando como referencia los criterios y tablas que se encuentran publicados en los trabajos de Eerkens, 2005; Deal y Silk, 1988; Dudd y Evershed, 1998; Malainey, 1999, 2011; y Alejandra García, 2018.



De manera general los ácidos grasos saturados e insaturados más comúnmente encontrados en el trabajo de Alejandra García, 2018 son:

Ácidos grasos Saturados:

- ácido mirístico ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{12}\text{-COOH}$).
- ácido palmítico ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-COOH}$).
- ácido esteárico ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{16}\text{-COOH}$).
- ácido araquídico ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{18}\text{-OOH}$).

Ácidos grasos Insaturados:

- ácido palmitoleico ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_8\text{-COOH}$),
- ácido oléico ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_8\text{-COOH}$).

También, algunos autores constatan que niveles altos de ácidos esteárico (C18:0), sugiere que el fragmento cerámico pudo haber contenido materia prima animal, mientras que niveles altos de ácidos palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), oleico (C18:1) y linoleico (C18:2), sugieren residuos de origen vegetal (Deal y Silk, 1988).

En la tabla 1 se muestran ácidos grasos de cadena impar como (C15:0, C17:0 y C19:0), así como de ácidos grasos de cadena ramificada, asociados con residuos orgánicos de origen animal, ácidos grasos de cadena corta como el C9:0 y ácidos grasos de cadena corta asociados a residuos de origen vegetal (Malainey, 2011, Salque *et al.*, 2013).

Tabla 1. Principales lípidos usados como biomarcadores y la materia de origen asociada (Malainey, 2011).

Biomarcador	Origen del material
Colesterol	Producto animal
sitoesterol, stigmasterol y campesterol	Materia vegetal
Ácidos carboxílicos (alquilfenilderivados) de 16-20 de carbono con ácidos grasos isoprenóides	Grasas de mamíferos marinos
Altos niveles de C12:0 y C14:0 y bajos niveles de C16:0 y C18:0	Lípidos de fruta de palma como los dátiles o el coco.
<i>n</i> -dotriacontanol	Herbácea panicoides, como el maíz
Nonacosano, nonacosan-15-ona, nonacosan-15-ol	Género <i>Brassica</i> , como el nabo y la col
Cedrol y cedreno	Madera de cedro
<i>n</i> -alcanos con 23-33 átomos de carbono, ésteres de ácido palmítico con cadenas de 40-52 o 54 átomos de carbono	Cera de abeja



Biomarcador	Origen del material
Ácido morónico y 28-norolean-17-en-3-ona	Resina <i>Pistasea</i>
Ácido dehidroabiético y 7-oxo-dehidroabiético	Productos de coníferas
Betulin	Abedul
Esteranos y terpenos	Betún de petróleo para embalsamamiento
Ácido boswélico y sus o-acetil derivados	Incienso

También se ha reportado que un contenido mayor en ácido palmítico relacionaría los residuos con grasa de origen vegetal, mientras que, si el compuesto mayoritario es el ácido esteárico, se asociaría a grasas animales. Estas investigaciones han permitido la creación de tablas que apoyan la interpretación de residuos orgánicos en muestras arqueológicas como lo hizo Eerkens, 2005, que podrían servir para proponer la fuente alimenticia de los ácidos grasos que se pudieran encontrar en este trabajo.

Tabla 2. Criterio para discernir sobre los tipos de alimentos usando las proporciones de ácidos grasos (Eerkens,2005).

PROPORCIÓN	MAMÍFEROS TERRESTRES	PESCADO	RAÍCES	VERDURAS	SEMILLAS Y NUECES	BAYAS
$\frac{(C15:0 + C17:0)}{C18:0}$	<0.2	0.2-0.5	>0.2	0.1-1.0	<0.6	<0.2
$\frac{C16:1}{C18:1}$	0.08-0.8	0.8-2.0	0.2-2.8	>2.8	<1.2	<0.32
$\frac{C16:0}{C18:0}$	<7	8-12	6-24	10-24	0-18	4-12
$\frac{C12:0}{C14:0}$	<0.15	<0.15	>0.15	>0.05	>0.15	>0.15

Se sabe que la rapidez de oxidación de los ácidos grasos es diferente debido a la naturaleza química de los mismos, esto se ha utilizado para poder diferenciar el origen de las materias primas, en la tabla 2 se muestra las relaciones de respuestas las cuales son cocientes de ácidos grasos que mediante la experimentación permiten asociar los



resultados a un posible origen (Eerkens, 2005). La relación más usada es el cociente entre el ácido palmítico (C16:0) y el ácido esteárico (C18:0), C16:0/C18:0, ya que ambos presentan un comportamiento similar durante la lixiviación y la oxidación (Copley *et al.*, 2005; Romanus *et al.*, 2007).

1.2.3 Procesos degradativos y de contaminación

A pesar de que los lípidos presentan características que favorecen su elección como buenos indicadores bioquímicos, se debe tener en cuenta el conjunto de procesos degradativos y/o contaminantes que se puedan presentar en la matriz de enterramiento. En condiciones normales no se suele producir migración entre el material cerámico y la tierra con la que está en contacto (Heron *et al.* 1991). No obstante, sería conveniente analizar la tierra con la que estuvo en contacto la matriz siempre que sea posible.

Otro aspecto es la reutilización del recipiente siendo una posibilidad que debe tenerse en cuenta ya que se puede detectar la presencia simultánea de compuestos tanto de origen animal como vegetal en el mismo recipiente sugiriendo que el recipiente debió usarse para almacenar diferentes tipos de alimentos o que en el recipiente se mezclaron alimentos de origen animal y vegetal simultánea o periódicamente

Los procesos degradativos principales son los que se citan a continuación: (Evershed *et al.* 1990).

— Hidrólisis.

Este proceso es provocado por la humedad, la temperatura, las enzimas y diversos microorganismos que producen la ruptura del enlace éster, liberando los ácidos grasos que forman parte de los acilglicerol. El efecto de hidrólisis puede producir una alteración en las proporciones relativas de ácidos grasos y acilglicerol.

— Oxidación.

Los dobles enlaces presentes en los grupos funcionales de los lípidos son particularmente sensibles a la oxidación, provocando que los ácidos grasos insaturados sufran en mayor extensión este proceso (Evershed *et al.* 1992), este es el motivo por el que resulta difícil encontrar ácidos grasos con un número de insaturaciones superior a una. Un ejemplo sería el ácido oleico (C18:1), el cual es un ácido graso con una sola insaturación. Este hecho es importante ya que la variación en la concentración de este ácido graso probablemente pueda reflejar el tipo de alimento depositado en el recipiente, así como la conservación y/o degradaciones experimentadas por el material lipídico.

— Degradación microbiológica.

Toda la materia orgánica enterrada puede sufrir procesos degradativos por microorganismos activos en la matriz de enterramiento (a menos que esté protegida de alguna forma). La población de microorganismos, en condiciones aeróbicas, estaría influida por las condiciones físicas del enterramiento como lo puede ser el clima, grado de aireación, humedad y pH.

— Contaminación lipídica post-excavación.

Un tipo de contaminación que no tiene un origen biológico proviene del almacenamiento de las muestras en plásticos. Las sustancias contaminantes procedentes de este tipo de almacenamiento son los ftalatos (fácilmente identificables por CG-EM). Otro modo de contaminación proviene de los lípidos que tengamos en la piel, introducidos a la muestra por la manipulación de los artefactos, de ahí la importancia de su correcto almacenaje y transporte hasta el laboratorio.

1.3 Técnicas analíticas usadas en la identificación de residuos orgánicos

En esta sección se abordarán los fundamentos necesarios de las técnicas analíticas más comúnmente usadas en el análisis residuos orgánicos en material cerámico arqueológico.

1.3.1 Espectroscopia FTIR-ATR

La Espectroscopia Infrarroja (IR) permite identificar grupos funcionales en muestras sólidas y líquidas, en la región de 4000 a 400 cm^{-1} . Al contar con el accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR) nos permite obtener espectros infrarrojos de muestras sin ningún tipo de preparación, por lo que es posible analizar sólidos de baja solubilidad entre otras muestras como películas, fibras, geles, pastas, adhesivos y polvos (Espectroscopía FTIR-ATR | Enlace UNAM, 2021).

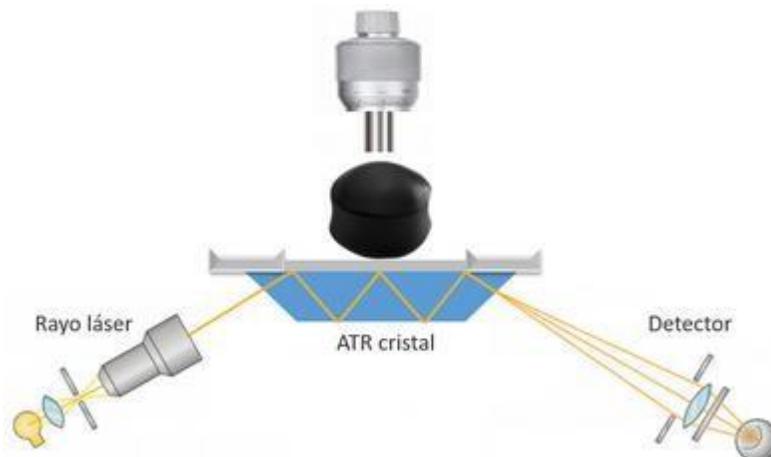


Ilustración 8. Interacción de la radiación infrarroja con una muestra.



La técnica tiene como base que la radiación que incide sobre la materia es diferente a la radiación emitida, la diferencia energética entre la radiación entrante y saliente se le conoce como energía de interacción o de absorción (Mondragón, P. ,2020). Las muestras pueden encontrarse en diferentes fases (sólida o líquida), y son puestas en contacto con la superficie de un cristal que tenga un alto índice de refracción (ATR), como el germanio o diamante, esto para crear un efecto de reflexión total interna dentro del cristal, provocando que el haz de luz infrarroja penetra unos micrómetros en la muestra previo a reflejarse (Skoog *et al.*, 2018), en la Figura 8 se muestra la interacción que tiene la radiación electromagnética con el cristal al momento de analizar una muestra.

Se mide la radiación electromagnética que haya absorbido la muestra con base en los intervalos de longitudes de onda que conforman la región del infrarrojo del espectro electromagnético obteniendo un espectro de infrarrojo de la muestra analizada. (Mondragón, P. ,2020).

En el pasado, las muestras se analizaban paso a paso, por lo que la muestra se irradiaba con diferentes longitudes de onda únicas (dispersas). FT-IR por otro lado, recoge los datos espectrales de todas las longitudes de onda en una pasada, usando una fuente de luz IR continua que genera en una amplia gama de longitudes de onda infrarrojas que pasa a través de un interferómetro y luego se dirige a la muestra obteniendo primero un interferograma que necesita ser convertido en un espectro IR a diferencia de las mediciones dispersas.

El interferograma representa la intensidad de la luz no en función de la longitud de onda, sino como una función de la posición (espacio), de un espejo móvil dentro del interferómetro, por lo que la señal primero es transformada por una ecuación matemática llamada Transformada de Fourier (FT), para producir la representación IR más familiar de intensidad en función del número de onda. De ahí el nombre "FT-IR" o FTIR.

La adquisición de espectros FT-IR no sólo es mucho más rápida que la de los instrumentos dispersivos convencionales. Además, estos espectros muestran una relación señal-ruido significativamente mejor y, dado que la escala de longitud de onda está calibrada con un láser muy preciso, tienen una precisión de longitud de onda mucho mayor. (Guía sobre espectroscopía FT-IR, s.f).

La pastilla de KBr es un método de preparación para muestras que son analizadas mediante la técnica FTIR-ATR, pero requieren algún acondicionamiento o mejora en su perfil para poder ser analizadas por la técnica o mejorar los resultados obtenidos. El uso de KBr en polvo para la formación de la pastilla se debe a que el KBr porque no muestra ninguna absorción de radiación en la región del infrarrojo volviéndolo espectroscópicamente transparente al equipo, además es químicamente inerte por lo que no interfiere con la muestra.

Para preparar la pastilla de KBr la muestra previamente seca es colocada en un mortero de ágata agregando una cantidad del haluro en polvo, se muele perfectamente hasta casi quedar la mezcla adherida a las paredes del mortero. Posteriormente la mezcla se comprime en una pastilladora a suficiente presión como para tener una pastilla transparente. Una vez obtenida esta pastilla es colocada en el espectrómetro para su análisis.

1.3.2 Cromatografía de Gases (CG)

La IUPAC define la cromatografía como un método físico de separación donde los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es estacionaria (fase estacionaria), mientras que la otra se mueve (fase móvil), en una dirección definida.

En la cromatografía de gases los analitos son transportados o “acarreados” por un gas (fase móvil), hacia una columna que contiene la fase estacionaria donde son separados con base en su presión de vapor y solubilidad con la fase estacionaria, en la Figura 9 se muestra un diagrama general del sistema cromatográfico, este proceso de separación puede considerarse fisicoquímico pues la separación depende de la interacción del analito con la fase estacionaria (Harris, D. 2016; Skoog D, 2007).

Los requisitos indispensables para analizar una muestra por CG es que sea un compuesto volátil (presión de vapor baja y bajo punto de ebullición), y que sea termoestable. El CG está conformado por seis partes generalmente, estos son; el gas acarreador (fase móvil), control flujo (válvulas reguladoras), sistema de inyección (inyector), horno/columna (fase estacionaria), detector (elegido con base en las propiedades de la muestra), y sistema de registro (sistema que traduce las señales percibidas por el detector que permitan ser interpretadas por el analista.

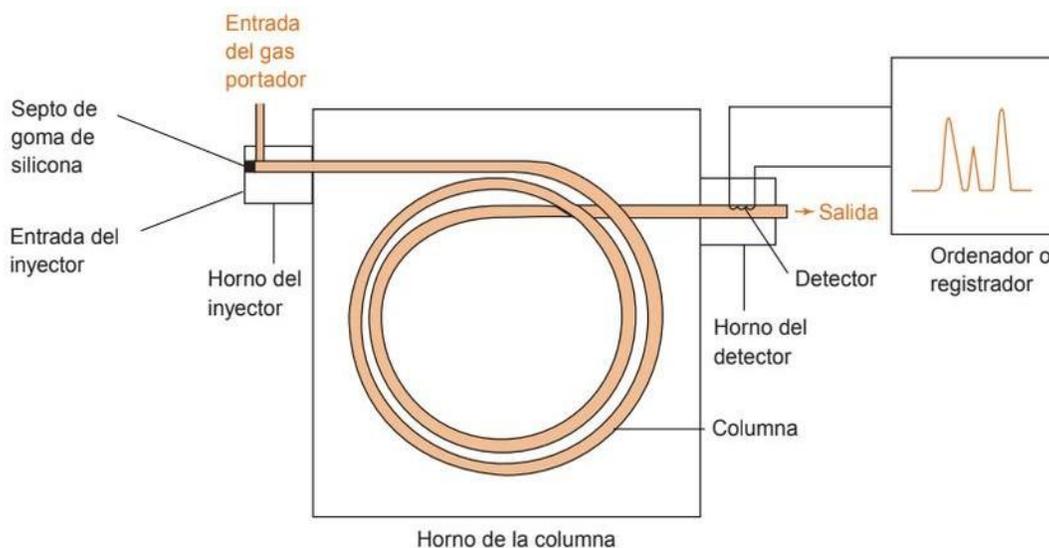


Ilustración 9. Diagrama de un cromatógrafo de gases (Harris, D. 2016).

A continuación, se presentan los aspectos más generales de la instrumentación de un cromatógrafo de gases:

— Gas acarreador

Debe cumplir con características específicas: alta pureza o grado cromatográfico 5.0 (99.999%), baja masa molecular, baja viscosidad, baja resistencia a la transferencia de masa, coeficiente de distribución elevado, inerte con la columna y los analitos, seguro. Los gases más usados son H_2 , N_2 y He .

— Sistema de introducción de muestra (inyector)

Para inyectar el analito al sistema se puede hacer de manera manual o con automuestreadores también llamados “*autosamples*”. El inyector debe contar con una temperatura lo suficientemente alta para volatilizar la muestra y suficientemente baja para evitar la descomposición de la muestra. Es recomendable que el interior del inyector esté a una temperatura mayor al punto de ebullición, del compuesto más pesado a analizar. Existen diferentes tipos de inyectores como lo son: *split/Splitless*, *cold on-column*, PTV.

El tipo de inyector se elige con base en las características que tiene la muestra. El inyector más usado en CG es el inyector con división de flujo y sin división de flujo (*split/splitless*). En modalidad *split* (con división), la muestra se divide en dos fracciones donde la fracción menor entra a la columna, mientras que la fracción mayoritaria se expulsa por la salida de división o *split*. En modalidad *splitless*, la válvula se cierra mientras la muestra se inyecta por un tiempo determinado (tiempo de *splitless*). El modo *split* se emplea para muestras concentradas, mientras que el modo *splitless* es empleado para muestras poco concentradas. En ambos casos, la fracción que entra a la columna es una mezcla de gas acarreador con la muestra. La Figura 10 muestra una representación esquemática del inyector.

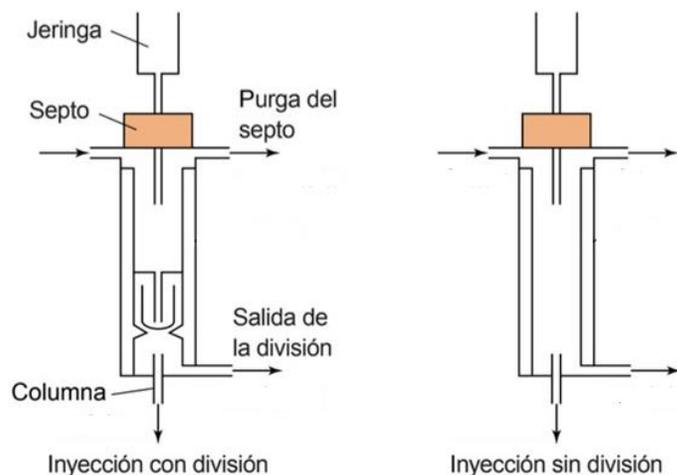


Ilustración 10. Condiciones representativas del inyector *split-splitless* en modo *split* (división) y *splitless* (sin división)



(Harris, D. 2016)

— Columna

Las columnas en cromatografía se clasifican en dos tipos (empacadas y capilares), y se encuentran dentro de un horno que regula la temperatura de la columna durante el análisis pues el control de la temperatura influye en la separación y elución de los analitos. Las columnas capilares son mayoritariamente ocupadas en la actualidad para cualquier análisis, están hechas de sílice fundida y en su interior tienen una fase estacionaria que varía en grosor y polaridad dependiendo de los requerimientos. Mayoritariamente, se ocupan columnas capilares con una longitud de 30 metros, pero pueden tener una longitud de 5 metros o llegar hasta los 100 metros. La WCOT (*Wall content*) o pared recubierta por sus siglas en inglés, es un tipo de columna cuya fase estacionaria recubre las paredes internas de la columna, la SCOT (*Support content*) o soporte recubierto, es un tipo de columna cuya fase estacionaria está funcionalizada por un soporte recubierto en forma de perlas o pequeñas esferas, por último, la PLOT (*Porus layer*) o capa porosa, es un tipo de columna cuya fase estacionaria es un material poroso.

— Detector

Es un dispositivo que identifica al analito con base en alguna propiedad física, química o fisicoquímica (conducir la corriente eléctrica, conductividad térmica, fragmentarse, emitir luz, fluorecer, etc.), su respuesta debe de corresponder a una linealidad o “modelo lineal” debe contar con ciertas características como sensibilidad, amplio intervalo de linealidad, baja relación señal ruido, estabilidad y, de ser posible, de bajo costo.

1.3.3 Espectrometría de masas

La espectrometría de masas es una técnica micro analítica que, siguiendo el principio de ionizar una molécula por métodos eléctricos, químicos y/o de radiación, mide la abundancia relativa de los iones gaseosos producidos por la fragmentación de una molécula, dependiendo de la energía incidente, la molécula se fragmentará de diferentes maneras (Harris, D. 2003; 2016).

El concepto de la espectrometría de masas (EM), es que una molécula se ioniza, provocando su fragmentación, cada fragmento se filtra (separa), con base en una relación de masa y carga (m/z), posteriormente cada unidad de relación de masa/carga (m/z), se tabula y se grafica como un espectro de masas. Al ser una técnica que ocurre en estado gaseoso, la espectrometría de masas se suele acoplar con la cromatografía de gases. El método más usado para ionizar las moléculas en CG-MS es la electroionización (EI) o impacto electrónico, en este modo de ionización los analitos se someten a una descarga de electrones de alta energía producida por un filamento de Tungsteno (W) o

Renio (Re).

El medio está a una alta temperatura y vacío, generando un ambiente donde la fragmentación es absoluta y crítica, formando una nube de iones repelida por la polarización de un ánodo llamado “*Repeller*” que desplaza la nube de iones hacia los lentes aceleradores, el cuadrupolo, donde se comienzan a separar los fragmentos con base en la masa molecular (Figura 11), y por último a la placa iónico sensible (Harris, D. 2003; 2016). De esta manera se tiene una técnica tándem selectiva y específica que logra discriminar en función de las masas moleculares.

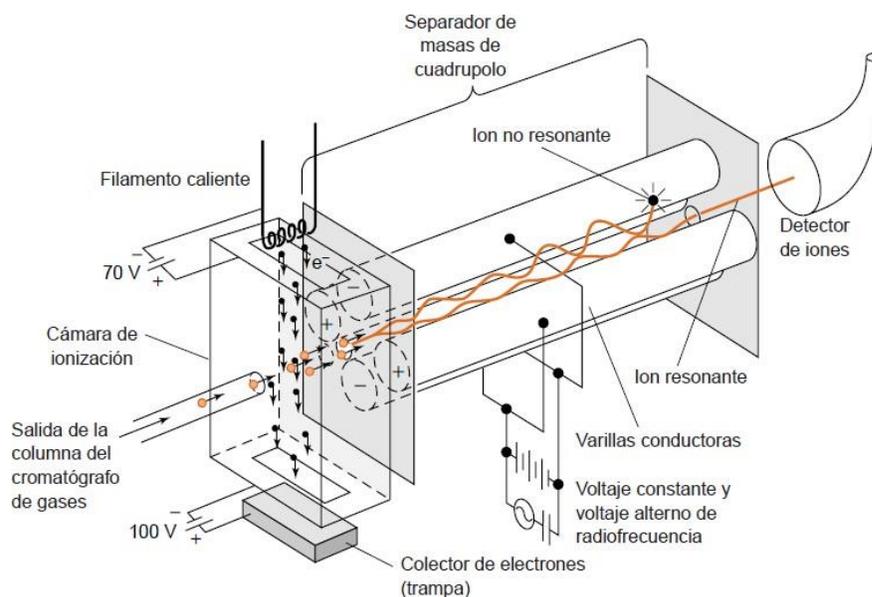


Ilustración 11. Esquema de un analizador másico de cuadrupolo (Harris, D. 2016).



Capítulo 2

2.1 Objetivos

Objetivo principal:

Desarrollar un método analítico cualitativo que permita la determinación simultánea de ácidos grasos, saturados e insaturados, que puedan estar presentes en los tiestos cerámicos recuperados de la provincia de Tzicohuac, en la sierra Huasteca veracruzana.

Objetivos particulares:

- ❖ Emplear la técnica de espectroscopia FTIR-ATR como una técnica no invasiva para conocer si es posible identificar las muestras que puedan tener residuos orgánicos de las que no, para evitar el uso de una técnica invasiva.
- ❖ Desarrollar una derivatización adecuada para analizar las muestras por la técnica de CG-EM.
- ❖ Determinar si las condiciones cromatográficas y la preparación de las muestras, propuestas inicialmente, permiten un análisis cualitativo eficaz para la identificación de los ácidos grasos que puedan estar presentes en las muestras.
- ❖ Proponer un posible origen para algunos ácidos grasos con base en la flora y fauna de Tzicohuac cabecera durante la época prehispánica como apoyo para el trabajo de la Arqlga. Alma Espinosa.



2.2 Hipótesis

Esta tesis apoya el proyecto Mesa de Tzicohuac para corroborar la descripción de la zona arqueológica plasmada en el lienzo con las fuentes etnohistóricas y geográficas que la Arqlga. Espinoza ha investigado sobre ubicar a Tzicohuac cabecera sobre la Mesa de Cacahuatenco pues según la información contenida en el lienzo, el conjunto arqueológico ubicado en esta zona geográfica corresponde a Tzicohuac cabecera, siendo este conjunto arqueológico el más relevante de la Provincia de Tzicohuac porque en él se encontraba el palacio de gobierno y los dos mercados más importantes de la Provincia.

Como forma de apoyar su proyecto para identificar el conjunto arqueológico de Tzicohuac cabecera la Arqlga. Espinosa extrajo una serie de tiestos que debían pertenecer a la zona de dichos mercados, estudiándolos pudo notar que algunos tiestos formaban parte de varios utensilios como cucharones y vasijas, pero también que no estaban hechos con la misma cerámica característica de la zona, proponiendo la hipótesis de que los tiestos formaban parte de una serie de utensilios nuevos que tal vez fueron llevados a ese espacio para su venta o intercambio. Su hipótesis proponía que los tiestos no debían tener residuos orgánicos ya que eran utensilios nuevos que se vendían en los mercados, por lo que se requería de un análisis para determinar la presencia o ausencia de residuos orgánicos en los tiestos.

A pesar de que los resultados del análisis podían confirmar o contrastar la hipótesis original de la Arqlga. en caso de que las muestras sí presentaran residuos orgánicos también se puede proponer una respuesta a su presencia en la zona, dado que en los mercados también existían puesto de comida o recipientes que almacenaban alimentos o ayudaban a ser exhibidos. Por tanto, los resultados ayudarán a dar la razón de su presencia en los lugares donde la Arqlga. Espinosa propone fueron las áreas de mercado y de donde fueron extraídos (Espinosa, 2020; Espinosa *et al.*, 2015).

2.3 Estrategia de resolución

Para realizar la búsqueda de residuos orgánicos se propuso analizar los posibles acilglicéridos presentes en las muestras, ya que tienen un amplio uso como indicadores orgánicos en las muestras de patrimonio cultural y sus propiedades químicas retardan su descomposición en comparación con otros compuestos orgánicos (Evershed 1993; Feiser y Feiser 1960; Gunstone *et al.* 2007).

Inicialmente las muestras serán analizadas por la técnica FTIR-ATR en una pastilla de KBr, obteniendo el espectro de las muestras y para determinar la presencia de compuestos orgánicos.



Posteriormente las muestras serán analizadas por la técnica cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (CG-EM), separando e identificando los posibles ácidos grasos que estén presentes en las muestras.

Para analizar las muestras por CG-EM se lleva a cabo una reacción de derivatización o formación de derivados de los ácidos grasos presentes en las muestras para formar el éster metílico respectivo de cada ácido, volviéndolos más volátiles y estables térmicamente mejorando los requisitos que deben tener los analitos para ser analizados por esta técnica. (Manzano *et al.*, 2015), (Evershed *et al.*,1990; Charters *et al.*,1993, Manzano *et al.*,2015).

Debido a que la cantidad de muestra es escasa y única por tratarse muestras arqueológicas se realizó una simulación en una matriz lo más parecida a las muestras arqueológicas para corroborar que las condiciones establecidas para el sistema, reactivos y muestreo del método desarrollado cumplen con los requisitos para analizar las muestras de manera óptima y certera.

En caso de confirmar la presencia de residuos orgánicos en las muestras, como un aporte extra para apoyar del proyecto Mesa de Tzicohuac de la ArqIga. Alma Espinosa (Espinosa Ruiz, 2020), se intentará hacer una lista con los ácidos grasos identificados en cada muestra y se propondrá un posible origen de los ácidos grasos con base en grasas y/o aceites de algunos alimentos de origen animal y/o vegetales existentes alrededor del s. XVI, que corresponde al periodo en que el lienzo propuesto a renombrarse Lienzo Tzoquitetlán-Tzicohuac describe la Provincia de Tzicohuac.



Capítulo 3

Desarrollo Experimental

3.1 Materiales y equipo

- Balanza analítica marca Mettler Toledo con capacidad de 220 g y exactitud de 0.1 mg, modelo AND GH-202.
- Baño ultrasónico marca Elma Easy Elmasonic 60 H
- Centrífuga Hermle Z306
- Probeta de 20 mL
- Viales transparentes con tapón de 2 mL
- Viales para CG-EM de 2 mL
- Matraces volumétrico clase A de varios volúmenes.
- Gradillas para tubos de ensaye
- Tubos de ensaye con tapa de plástico con rosca de 10 mL
- Viales de derivatización con tapa de 2 y 3 mL
- Pipetas Pasteur
- Jeringas de 10 mL
- Espátula metálica.
- Vasos de precipitados de vidrio de varios volúmenes.
- Papel aluminio.

3.2 Equipos y software

- Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas marca Agilent Technologies, modelo 7890BA. Software Masshunter Unknown Analysis y Qualitative Analysis. Columna utilizada: HP5-MS 30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m, Biblioteca digital: NIST 14.0.
- Automuestreador de cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies, modelo G4513A.
- Espectrómetro de infrarrojo FTIR-ATR marca Agilent Technologies, modelo Cary 670 con diamante monolítico PIKE Technologies GladiATR software: Origin 9.0.
- Espectrómetro de masas provisto de: fuente de ionización por impacto electrónico a 70 eV. Separador de iones tipo cuadrupolo, Bomba de vacío Edwards High Vacuum Puma.
- Statgraphics® 19.



3.3 Disolventes y reactivos

- Agua desionizada obtenida de un desionizador marca Millipore modelo WaterProBT
- Disolventes grado cromatográfico: diclorometano (DCM), metanol (MeOH), hexano, marca J.T. Baker.
- Material de referencia de ácidos grasos metílicos C4-C26, marca Aldrich con pureza mayor al 99%. Supelco 37 Component FAME Mix.
- Ácido Láurico marca Aldrich con pureza del 98%.
- Ácido Mirístico marca Aldrich con pureza del 98%.
- Ácido Palmítico marca Aldrich con pureza del 99%.
- Ácido Esteárico marca Aldrich con pureza del 95%.
- Arena marca Aldrich >90% de SiO₂, 50-70 tamaño de partícula.
- Hidróxido de 3-(trifluorometil) feniltrimetilamonio (TMTFTH) 0.2 N metanólico comercialmente conocido como Meth-Prep® marca GRACE.
- He grado 5 (99.999% de pureza).
- N₂ gas.

3.4 Muestras

Tiestos provenientes de la zona arqueológica descrita por el lienzo propuesto a renombrarse como “Lienzo Tzoquitlán-Tzicohuac” que la Arqlga. Alma Espinosa propone pertenecen a los conjuntos arqueológicos mercantiles de Tzicohuac cabecera, ubicados sobre la Mesa de Cacahuatenco, Provincia de Tzicohuac, al norte del estado de Veracruz, en la zona Huasteca, México.

En la tabla 3 se presentan fotografías de los tiestos recibidos por la Arqlga. Alma Espinosa, así como la identificación usada para las muestras.

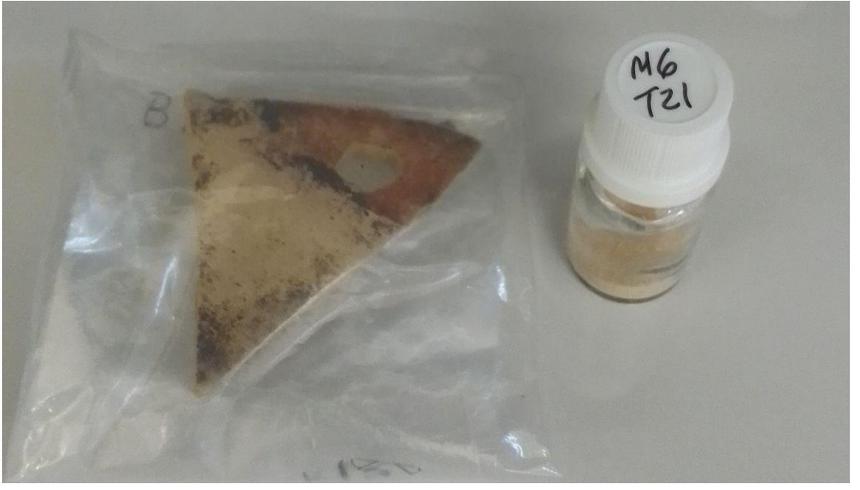
Tabla 3. Compendio de muestras.

Muestra	Clave	Imagen
1	M1TziB57	
2	M2TziB150	



Muestra	Clave	Imagen
3	M3TziB180	
4	M4TziB165	

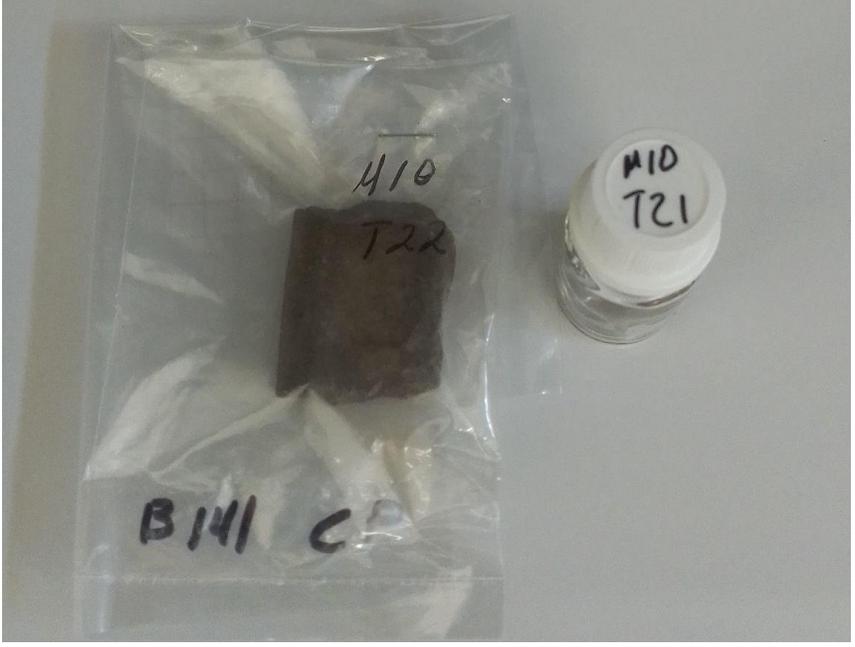


Muestra	Clave	Imagen
5	M5TziB139	
6	M6TziB186	

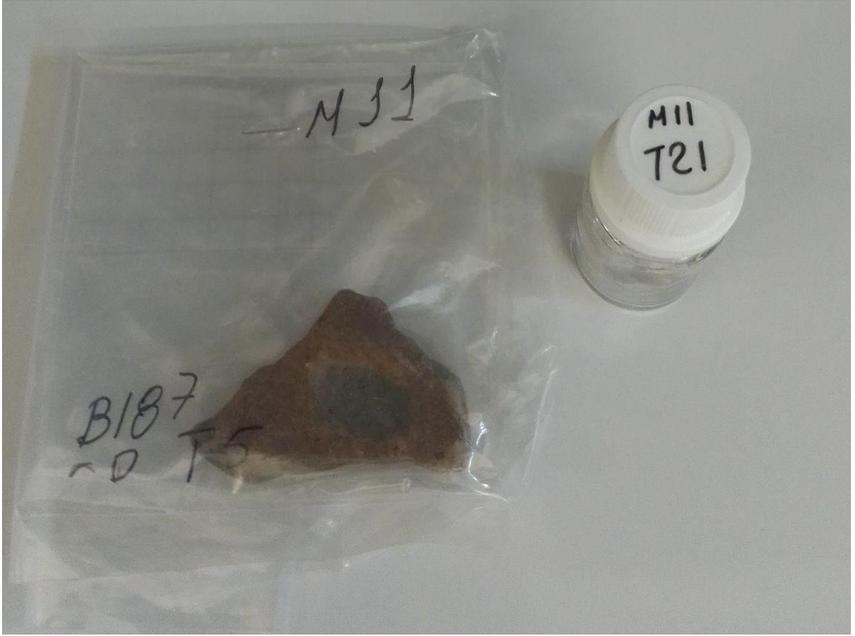
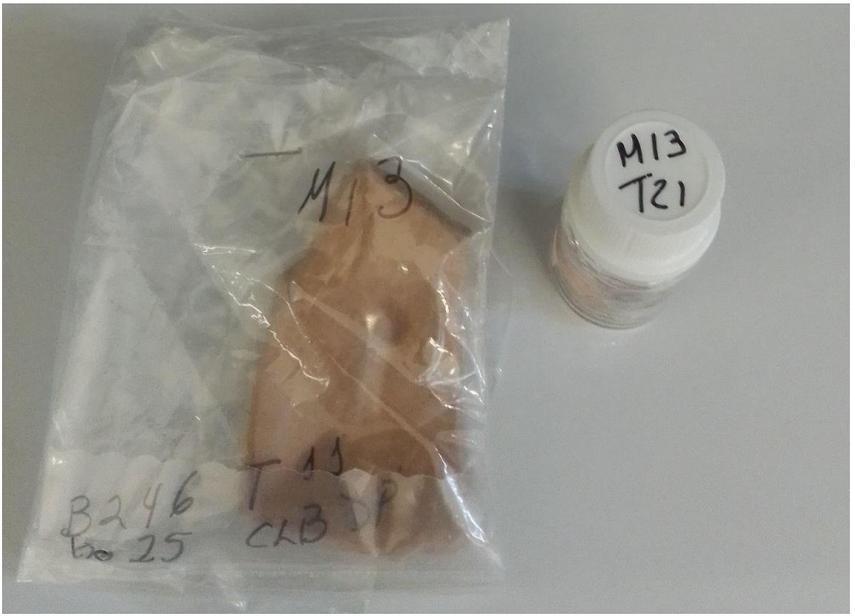


Muestra	Clave	Imagen
7	M7TziB133	
8	M8TziB177	



Muestra	Clave	Imagen
9	M9TziB183	
10	M10TziB141	



Muestra	Clave	Imagen
11	M11TziB187	
12	M13TziB246	



3.5 Metodología experimental

3.5.1 Identificación preliminar de compuestos orgánicos usando la técnica FTIR-ATR

Antes de llevar a cabo el análisis de las muestras de patrimonio cultural por la técnica destructiva de CG-EM, se analizaron las 12 muestras por FTIR-ATR, con el objetivo de poder identificar algunas bandas que correspondan a los enlaces característicos de ácidos grasos como materia orgánica.

Previo al análisis de las muestras arqueológicas se realizó un *background*, un espectro del aire que está en contacto con las partes del equipo, pero sin ninguna muestra sobre el cristal donde se deposita la muestra para identificar una posible interferencia en el ambiente y que sea retirada de la medida final de la muestra, para esto se emplearon 60 barridos.

Una vez obtenido el *background*, se preparó una pastilla de KBr y la muestra arqueológica, se pulverizó finamente en un mortero y se comprimió en una prensa para formar la pastilla colocándola después en el espectro de infrarrojo. Se repitió este proceso para analizar cada muestra arqueológica, limpiando los moldes de las pastillas y desechando los restos de las pastillas.



Ilustración 12. Uso de la técnica FTIR-ATR con pastilla de KBr para identificar residuos orgánicos en muestras de Tzicohuac (imágenes propias del autor).



3.5.2 Implementación de las condiciones de separación y detección del método analítico por CG-EM

Se preparó una disolución de 400.0 ppm en cloruro de metileno con los siguientes ácidos grasos: láurico, mirístico, palmítico, y esteárico; de cada ácido se pesó aproximadamente 10.0 mg en balanza analítica, llevando a marca de aforo en un matraz volumétrico de 25.0 mL.

Posteriormente, se realizó una dilución de la mezcla anterior obteniendo una nueva disolución de concentración 20.0 ppm. De esta nueva disolución se tomaron 250 μ L y se colocó en un vial de derivatización, se evaporó a sequedad, una vez evaporado se procedió a realizar una derivatización re-disolviendo en 500 μ L de hexano y adicionando 20 μ L TMTFTH, la mezcla se colocó a reaccionar a 70 °C durante 20 minutos en constante agitación. Terminado los 20 minutos, se inyectó 1 μ L al cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas con las condiciones descritas a continuación:

La temperatura del inyector fue de 280°C en modo *split*. Se utilizó He como fase móvil (gas acarreador), a un flujo de 1mL/min. Se utilizó un programa de temperatura que se muestra en la tabla 4, el cual contiene las temperaturas a las que se registraron los análisis. Las condiciones del EM se establecieron a 70 eV por impacto electrónico en modo de adquisición *scan*, en un intervalo de 25 a 500 m/z. La temperatura de la fuente y cuadrupolo fueron respectivamente 150 °C y 230 °C.

Tabla 4. Programa de temperatura

Rampa del horno	°C/min.	Siguiente temperatura	Tiempo de retención de la temperatura	Tiempo de análisis aproximado
T. inicial	-	70	2.00	2.00
Rampa 1	12.00	250	0.00	17.00
Rampa 2	20.00	290	8.00	27.00

Al observar la presencia de ácidos grasos sin derivatizar en el cromatograma se decidió volver a realizar el experimento, con la diferencia que se tomó de la disolución de los ácidos grasos de 20.0 ppm un volumen de 120 μ L en lugar de 250 μ L.

Finalmente, se realizó una tercera corrida, tomando 120 μ L de la mezcla de estándares de concentración 20.0 ppm, pero realizando la derivatización con 250 μ L de hexano y 250 μ L de agente derivatizante (TMTFTH).



3.5.3 Condiciones de preparación de muestra

Con el fin de establecer las condiciones de preparación de muestra en el material cerámico arqueológico, se utilizó arena de tamaño de partícula 50-70, simulando así el material que se obtendría al raspar los tiestos arqueológicos. Con esta premisa se propuso la siguiente metodología para el tratamiento de la muestra:

1. Se pesaron 250 mg de la muestra simulada (arena), en una balanza analítica y se depositaron en un vial de centrifuga. (Figura 13)



Ilustración 13. Extracción Asistida por Ultrasonido.

2. Se añadieron a la arena 120 μL de la disolución estándar con los 4 ácidos grasos de concentración 20.0 ppm (Ác. láurico, Ác. mirístico, Ác. palmítico y Ác. esteárico).
3. Se adicionaron 5 mL de una mezcla de disolventes (DCM/MeOH 2:1), en el tubo de centrifuga.
4. Se llevó a un baño ultrasónico por 15 min.
5. Transcurrido el tiempo se llevó a centrifugación por 10 min a una velocidad de 4000 rpm (Figura 14). Una vez concluida la centrifugación, se tomó el sobrenadante con una pipeta Pasteur y se depositó en un vial de derivatización.



Ilustración 14. Separación del sedimento sólido usando centrifuga.

6. Los extractos se llevaron a sequedad con corriente de nitrógeno, en la Figura 15 se muestra una fotografía de cómo se lleva a cabo la evaporación.



Ilustración 15. Sequedad con flujo de N₂.

7. Una vez evaporado, se re-disolvió con 500 μ L de hexano y se agregaron 20 μ L del agente derivatizante (TMTFTH), la reacción de derivatización se llevó a cabo bajo las condiciones ya descritas: 70 °C durante 20 minutos en agitación constante.

8. El extracto derivatizado se dejó atemperar, una vez lograda la temperatura, se filtró en un sistema de disco. En la Figura 16 podemos observar una fotografía del sistema de filtración.



Ilustración 16. Filtración de extracto por sistema de disco y jeringa.

9. Finalmente, se inyecta 1 μL al sistema de análisis con las condiciones ya descritas. En la Figura 17 se muestra una fotografía del equipo utilizado



Ilustración 17. Equipo de CG-EM usado para este trabajo.

Al analizar el resultado obtenido del experimento de simulación de la muestra arqueológica, se decidió repetir el procedimiento de preparación de muestra con otros 250 mg de la muestra simulada (arena), pero cambiando el modo de inyección de *split* a *splitless* y, en lugar de un volumen de inyección de 1 μL , se decidió duplicarlo (2 μL).

Todos los análisis posteriores que se encuentran en este trabajo se realizaron con esta metodología.

3.5.4 Validación de la metodología analítica

Se procedió a realizar una validación *in-house* que consiste en confirmar si la metodología analítica ofrece resultados confiables ya que es un método nuevo con uso propio del laboratorio.

En primera instancia se evaluó la selectividad, para esto se inyectaron al equipo los siguientes blancos: blanco de columna, blanco de disolvente, blanco de reactivos, blanco de proceso y blanco de matriz. A continuación, se describen en que consistió cada uno de los blancos, todos los blancos fueron inyectados al CG-EM con las condiciones de análisis ya establecidas.

- a) Blanco de columna: se inyectó al equipo aire.
- b) Blanco de disolvente: se inyectó al equipo el disolvente, en este caso, hexano.
- c) Blanco de reactivos: se inyectó la mezcla de derivatización sin los analitos de interés, es decir, 500 μL de hexano con 20 μL TMTFTH.
- d) Blanco de proceso: en un tubo de centrifuga nuevo se colocaron 5 mL de una mezcla de disolventes (DCM/MeOH 2:1), y se continuó con el proceso de preparación de muestra, a partir del paso número 4.



e) Blanco de matriz: se realizó todo el proceso de preparación de muestra con 500 mg de arena sin fortificar, esto es, sin realizar el paso número dos, que consiste en la adición de ácidos grasos.

Una vez evaluada la selectividad, se procedió a estimar el recobro y la precisión evaluada como repetibilidad. Para esto se realizaron de manera independiente tres muestras simuladas fortificadas (arena con ácidos grasos).

3.5.5 Análisis por CG-EM de muestras arqueológicas

Se analizaron las 12 muestras arqueológicas con el método implementado y validado en el laboratorio.

Para cada pico observado en cada cromatograma obtenido, se obtuvo su espectro de masas; los espectros de masas experimentales fueron comparados con los espectros de bases de una biblioteca internacional (NIST 14), y con ayuda del *software UnKnown Analysis*[®] se asignó con un cierto grado de coincidencia la identidad química a cada pico.

Por último, con la identificación de los posibles compuestos orgánicos detectados, con ayuda de lo reportado en la literatura y el contexto etnogeográfico cultural se realizó una propuesta del posible uso de cada artefacto arqueológico.



Capítulo 4

4. Resultados y Discusión

4.1 Análisis de muestras arqueológicas por la técnica FTIR-ATR

Antes de analizar las muestras por CG-EM, se llevó a cabo el análisis de cada muestra arqueológica usando la técnica de FTIR-ATR con pastilla de KBr con el fin de observar si algunas muestras podían presentar bandas vibracionales de estiramiento o flexión correspondientes a los enlaces que componen los grupos funcionales de un ácido graso o glicérido.

En la Figura 18 se muestra el espectro obtenido de la muestra m3tzib180 a modo de ejemplo, el anexo 1 contiene el resto de los espectros obtenidos en este trabajo. En todos los espectros de las muestras arqueológicas se observaron bandas en regiones que podían corresponder a ácidos carboxílicos, alcoholes o ésteres, detectando la presencia de residuos orgánicos además de algunas bandas relacionadas a residuos inorgánicos.

Esta fue una técnica secundaria que aportó información para detectar la presencia de residuos orgánicos en las muestras, ya que la técnica principal de CG-EM, confirmó que los residuos detectados pertenecían en su mayoría a ácidos grasos provenientes de lípidos, pero también de compuestos inorgánicos como silicatos o carbonatos y sustancias químicas sintéticas y orgánicas como ftalatos y plastificantes. La distinción de los diferentes ácidos grasos detectados en las muestras también permitió el planteamiento de una propuesta de un posible origen para algunos ácidos.

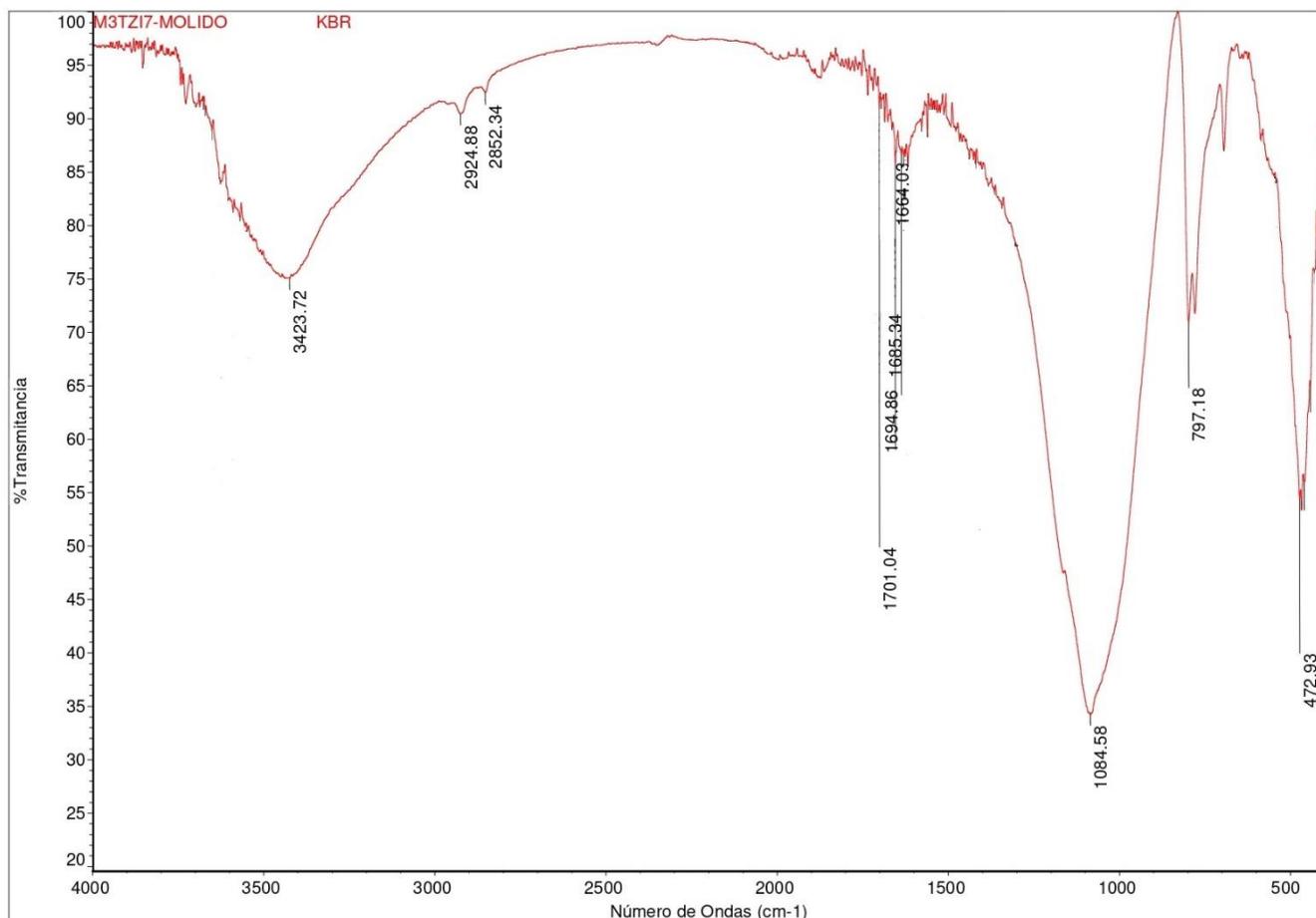


Ilustración 18. Espectro de IR de la muestra M3TZiB180 previo a su extracción.

Durante la interpretación de los espectros se realizaron las siguientes observaciones: en su mayoría se observaron bandas correspondientes a: estiramiento de los enlaces C-C, C=C y C-H en la región del 3000-2800 cm^{-1} relacionados a alcanos y alquenos. Metilos (-CH₃), en la región del 1460-1380 cm^{-1} y metilenos (-CH₂-), en la región del 1460 cm^{-1} . Estiramiento del enlace C=O en la región del 1745-1720 cm^{-1} relacionados al grupo carbonilo. Estiramiento del enlace O-H en la región del 3600-3200 cm^{-1} relacionado con el grupo alcohol. Estiramiento del enlace H-O-H en la región del 1650 cm^{-1} relacionado con la absorción de agua en las muestras.

Algunas bandas relacionadas a compuestos inorgánicos se encuentran en la región del 1100-1000 cm^{-1} , correspondientes a bandas de estiramiento del enlace Si-O de silicatos. La banda en la región del 479-465 cm^{-1} , correspondiente a el balanceo simétrico de los enlaces Si-O-Si. La banda en la región del 1086-1074 cm^{-1} y del 781-776 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace Si-O del cuarzo (Mondragón, 2013,2016; Coates, 2000; Lettieri & Giannotta, 2017).



Una acotación importante es la razón por la que se analizaron las muestras mediante FTIR-ATR usando una pastilla de KBr, esto se debió al alto contenido de agua que presentaron las muestras. Dicho fenómeno fue atribuido al tipo de suelo que presenta la Mesa de Cacahuatenco conocido como suelo vertisol, el cual posee una gran cantidad de humedad, además, en una entrevista con la Arqlga. comentó haber lavado las muestras con agua previo a ser almacenadas en bolsas de plástico para su transporte y almacenamiento, provocando la formación de un ambiente con alto contenido de agua que el material poroso del cerámico comenzó a almacenar en su interior.

Debido a que la preparación de la pastilla con KBr requiere que el compuesto se encuentre a una temperatura elevada para evitar precisamente la humedad, se pudo disminuir la cantidad de agua presente en el material poroso de las muestras. (Espinosa, comunicación verbal 2023; Sánchez, 2018; Nakanishi, 1977).

Una vez obtenidos todos los espectros de infrarrojo de los tiestos, se decidió realizar un análisis por CG-EM. Como se mencionó anteriormente, esta técnica posee límites de detección más bajos que el infrarrojo, siendo más selectiva y permitiendo que el material orgánico encontrado se pueda identificar.

4.2 Implementación de las condiciones de separación y detección del método analítico por CG-EM

Se usaron para el desarrollo del método analítico estándares de los ácidos palmítico, mirístico, láurico y esteárico, ácidos grasos comúnmente empleados como biomarcadores para restos orgánicos en muestras de patrimonio cultural (Alejandra García, 2018; Peters et al., 2005).

Los estándares adquiridos para poder desarrollar y validar el método son ácidos grasos libres; para poder inyectarlos al cromatógrafo de gases, fue necesario transformarlos químicamente con el fin de aumentar su volatilidad, y lograr una mejor forma del pico cromatográfico, a esto último se le conoce como derivatización.

Se decidió utilizar como agente derivatizante hidróxido de 3-(trifluorometil) feniltrimetilamonio (TMTFTH) 0.2 N metanólico comercialmente como Meth-Prep®. Este reactivo genera ésteres metílicos, y en estudios reportados han declarado que para análisis de acilglicéridos realiza la hidrólisis y esterificación, sin necesidad de hacer dos pasos de manera separada; en este momento de la experimentación no era necesario llevar la hidrólisis, pero pensando que la metodología se aplicaría en las muestras arqueológicas, los ácidos grasos estarían como acilglicéridos, y al emplear este reactivo se disminuye la manipulación y por tanto las fuentes de variabilidad.

En la Figura 19 se muestra la ecuación química que ejemplifica la reacción llevada a cabo.

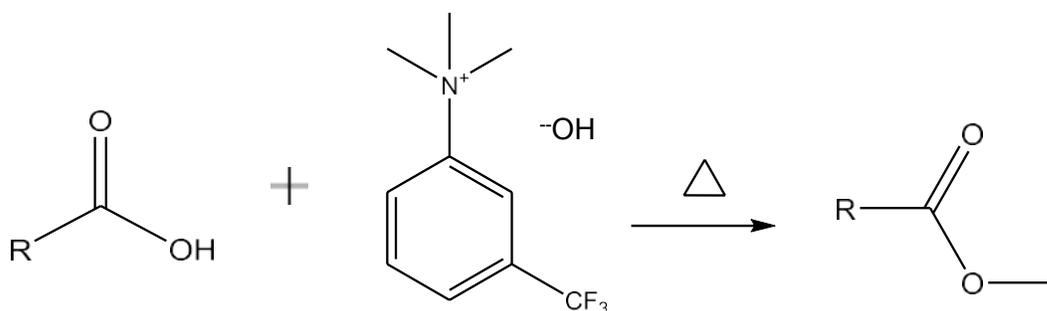


Ilustración 19. Esquema de reacción para la derivatización de ácidos carboxílicos

Los analitos inyectados fueron ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico y ácido esteárico; los tiempos de retención como ésteres metílicos para cada ácido graso fueron respectivamente: 11.5 min., 13.4 min., 15.2 min. y 16.8 min., esta asignación se logró por el orden de elución que deberían presentar los analitos. En cromatografía de gases, se sabe que el orden de elución depende de la presión de vapor, conforme aumenta la masa molecular el punto de ebullición aumenta, por lo que el analito más retenido será el éster metílico del ácido esteárico. El cromatograma obtenido para la primera inyección realizada se puede observar en la Figura 20.

También en el cromatograma se pueden observar más de cuatro picos, revisando el espectro de masas de cada pico cromatográfico se observó que los picos 12.1 min, 13.9 min, 15.6 min y 17.1 min, correspondían a los ácidos grasos de la mezcla sin derivatizar, dejando en evidencia que la reacción de derivatización no había sido completa.

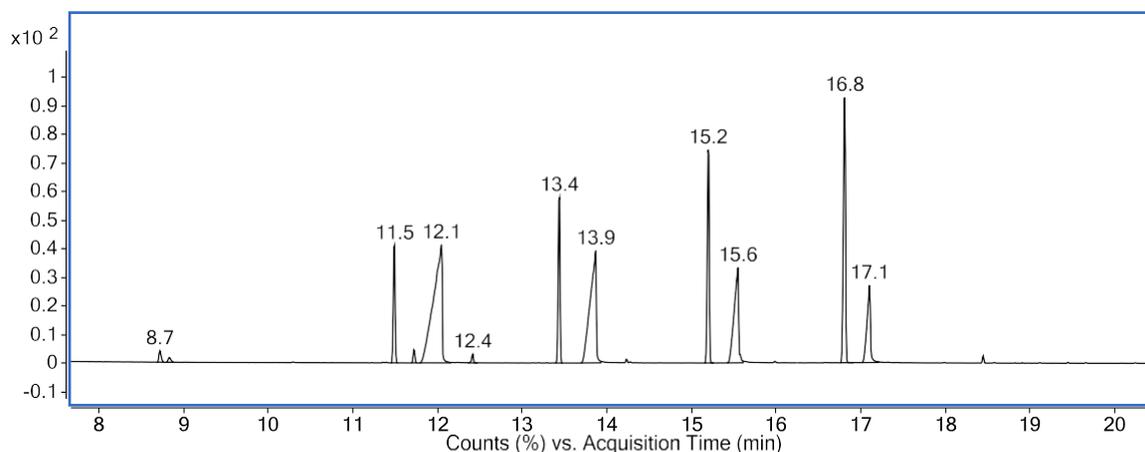


Ilustración 20. Cromatograma obtenido de la inyección de los estándares de ácidos grasos



Para derivatizar por completo la mezcla de ácidos láurico, mirístico palmítico y esteárico se disminuyó la cantidad de la mezcla inyectada al CG-EM y se colocó una mayor cantidad de agente derivatizante. El cromatograma obtenido con estos cambios se presenta en la Figura 21, donde el pico 11.5 min. corresponde al éster metílico del ácido láurico, el 13.4 min. al éster metílico del ácido mirístico, el 15.2 min. al éster metílico del ácido palmítico y el 16.8 min. al éster metílico del ácido esteárico.

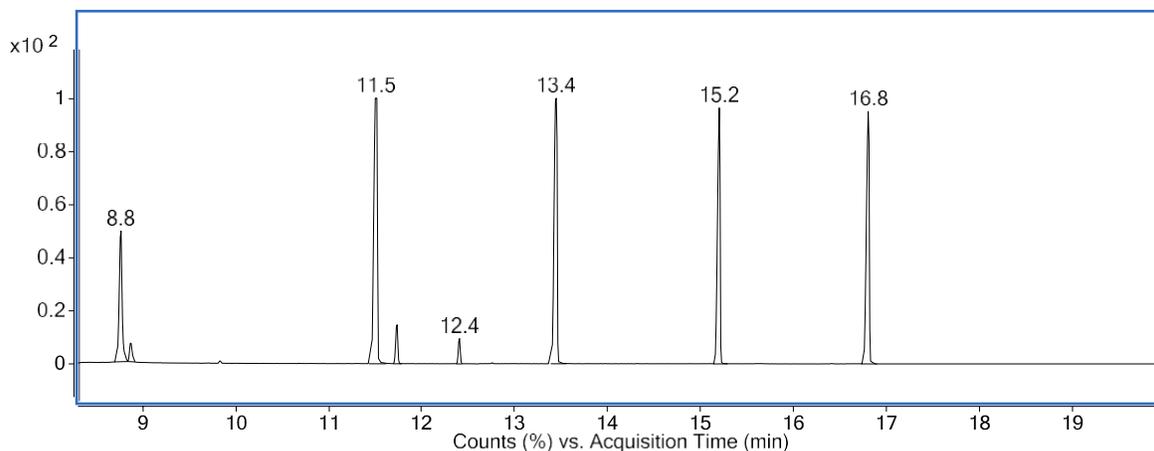


Ilustración 21. Cromatograma de los ésteres metílicos de los ácidos grasos en las condiciones finales

En el cromatograma ya no aparecen los picos 12.21 min, 13.9 min., 15.6 min. y 17.1 min., que correspondían a los ácidos láurico, mirístico, palmítico y esteárico respectivamente sin derivatizar (Figura 20). Los cambios implementados permitieron que la derivatización se llevara a cabo de manera cuantitativa manteniendo una buena selectividad ya que se puede seguir distinguiendo cada pico de otro, buena resolución porque los picos siguen siendo finos. Con estos resultados se pudo avanzar al desarrollo de metodología que se utilizaría para la preparación de la muestra.

4.3 Desarrollo del método analítico

El desarrollo del método y las condiciones establecidas para los sistemas, reactivos y muestreo tomaron sus bases en la investigación bibliográfica de Eerkens, 2005, Malainey, 2011, Alejandra García, 2018 y Manzano, 2015, trabajos previos enfocados en la determinación cualitativa de residuos orgánicos como los ácidos grasos en muestras arqueológicas o matrices cerámicas y cuyos resultados aportaron información relevante y confiable pues sus métodos además de identificar de manera selectiva y eficaz ácidos grasos en sus muestras.

Se usó una mezcla de los disolventes (DCM/MeOH) con una relación 2:1 para extraer el material lipídico de las muestras arqueológicas resolviendo que una óptima extracción de material lipídico se debía realizar con una mezcla de un disolvente polar (DCM) y un



disolvente menos polar o no polar (MeOH), esto por la naturaleza que tienen los ácidos grasos para tener una parte no polar (la cadena hidrocarbonada sustituida o no), y una parte polar (el grupo funcional de ácido carboxílico). Para los acilglicéridos pasa algo similar pues la parte no polar está formada por los ácidos grasos que compongan al acilglicérido y la parte polar a la parte del glicerol que mantiene unidos a los ácidos grasos por un enlace C-O de los oxígeno (O) que forman la molécula de glicerol. A pesar que algunas extracciones se realizan con CHCl_3 , el motivo de elegir diclorometano es reducir la toxicidad y contaminación de los disolventes empleados en este análisis, ya que el CHCl_3 es más tóxico que el diclorometano por sus propiedades químicas causando mareo o dolor de cabeza, incluso pérdida de conciencia en caso de una prolongada exposición.

La función del baño ultrasónico es para favorecer la extracción a partir de las vibraciones de los compuestos lipídicos adheridos al polvo de la muestra, generando puntos implosión. Actualmente la extracción asistida por ultrasonido se considera una técnica exhaustiva de extracción, considerando que la cantidad de material impregnado en las vasijas arqueológicas será poco, era importante usar una técnica con buenos recobros de extracción.

Por otro lado, el nitrógeno es usado en este análisis como evaporador del disolvente, evitando el uso de calor, y por ende la descomposición de los compuestos o pérdida por volatilización del material orgánico. Es importante destacar que esta forma de llevar a sequedad es utilizada para disolventes volátiles, como lo es la mezcla utilizada en este trabajo, y no se quieren usar métodos fuertes de evaporación. Es importante destacar que cuando se realiza la evaporación a sequedad, es previa a la derivatización por lo que no hay riesgo de pérdida de estos.

El volumen de inyección como se describió en la metodología se probaron dos volúmenes diferentes: 1 μL y 2 μL , dejando como volumen final 2 μL . Cuando se probó todo el método de preparación de muestra, derivatización, separación y detección, se decidió aumentar al doble el volumen y cambiar la modalidad del inyector a un modo *splitless*, partiendo de la idea de que el material orgánico presente sería muy poco, con estos cambios al método se aseguraba que en caso de existir compuestos orgánicos en los tiestos cerámicos, éstos fueran detectados ya que la muestra no es dividida (modo *splitless*) y se está inyectando el doble de muestra de los métodos convencionales.

El flujo de gas acarreador suministrado al CG-EM gas se estableció en 1.00 mL/min debido al valor de retención que presentan los analitos, se han reportado flujos mayores a 1.00 mL/min que disminuyen el tiempo de retención con la fase estacionaria como lo reporta Alejandra García, 2018, provocando una caída en la resolución y sensibilidad del análisis, por lo que se establece para esta metodología, un flujo de 1.00 mL/min.

El programa de temperatura consta de dos rampas de temperatura, esto con base en las comparaciones consultadas donde se realizaban análisis con una sola rampa, los cuales



llegaban a perder resolución en las partes finales de su análisis, mientras que los análisis realizados con dos rampas, distribuían eficazmente de los picos de sus ácidos grasos detectados, cabe mencionar que las condiciones de temperatura son el resultado de la previa metilación de los ácidos grasos, ya que la modificación estructural de los mismos, provoca una mayor estabilidad térmica y mayor volatilidad, como lo es la disminución en su punto de ebullición, por lo que no es necesario llegar a temperaturas tan elevadas.

Un ejemplo es el ácido linoléico ($C_{18}H_{32}O_2$), un ácido graso que esperamos detectar en las muestras, cuyo punto de fusión es de $230^{\circ}C$, pero al estar metilado su punto de ebullición es mayor a los $65^{\circ}C$, por lo que es posible su separación con el programa de temperatura establecido al igual que los demás ésteres metílicos de ácidos grasos de una manera eficaz y completa gracias a la derivatización previa.

Las condiciones para el espectrómetro de masas se consideraron a partir de los intervalos que ocuparon diferentes análisis para poder detectar la mayor cantidad de ácidos grasos que contenía sus muestras, el intervalo que consideramos es un poco más amplio que los consultados con el fin de no perder la detección de algún fragmento que llegase a aparecer (50-800 umas), sin embargo, también se consideró como límite interior 50 umas ya que por arriba de este valor evitamos la detección de masas correspondientes a H_2O , N_2 , O_2 o CO_2 , que producirían en la línea base un ruido de fondo que afectará el análisis, en caso de estar presentes estos compuestos.

La Figura 19 muestra el cromatograma que se obtuvo usando el método de análisis desarrollado en este trabajo para extraer la mezcla de ácidos grasos láurico, mirístico, palmítico y esteárico que se usaron para fortificar una matriz que simulara una de las muestras arqueológicas y comprobar que el método desarrollado sí es eficaz para extraer y determinar la presencia de ácidos grasos que puedan contener las muestras arqueológicas, ya que los picos 11.5 min., 13.4 min., 15.2 min. y 16.8 min. Corresponden a los ácidos láurico, mirístico, palmítico y esteárico respectivamente.

Las posiciones de los ácidos que se obtuvieron son muy similares a las posiciones que se obtuvieron de los mismos ácidos durante el proceso para establecer las condiciones óptimas de derivatización y determinación de los ácidos grasos.

Comparando este cromatograma con el de la figura 21 podemos observar que el método desarrollado mantiene una buena selectividad para seguir distinguiendo cada uno de los ácidos grasos (láurico, mirístico, palmítico y esteárico), y una buena resolución ya que ninguno de los picos se muestra ancho o superpuesto con otro.

Este cromatograma simuló el tratamiento que se le harían a las muestras arqueológicas, podemos observar que es muy similar al cromatograma obtenido de la sola derivatización de los compuestos (Figura 21), por lo que se puede decir que tampoco hay pérdida de los compuestos de interés en la preparación de muestra.

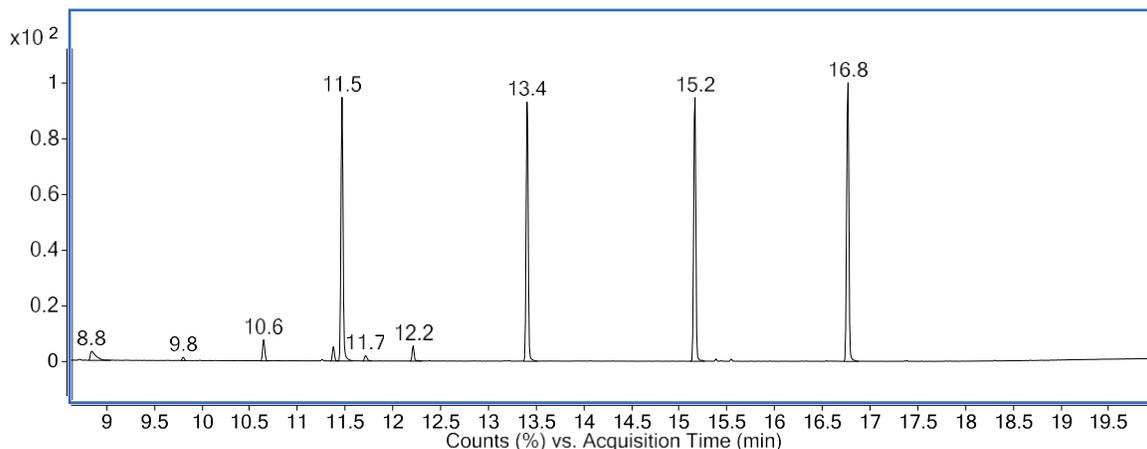


Ilustración 22. Cromatograma obtenido de la simulación de la muestra con la arena

Para asegurar que efectivamente se tiene un método donde la pérdida de compuestos orgánicos es despreciable, es que se procedió a realizar la validación del método analítico.

4.4 Validación del método analítico

En todas las guías de validación se pide como único parámetro obligatorio para considerar un método cualitativo validado, la selectividad o especificidad; sin embargo, se quisieron evaluar dos parámetros más, que consideramos deberían evaluarse para poder asegurar mayor confianza en los resultados de este método, estos parámetros fueron: el porcentaje de recuperación y la precisión evaluada como repetibilidad del método.

En primer término, para la selectividad se inyectaron diversos blancos, que a su vez funcionan como controles. Como observaciones relevantes se obtuvo que en el blanco de columna, disolvente, reactivos y proceso siempre se observó la ausencia de señales, estos blancos nos ayudaron a conocer el estado del equipo, si se observaban picos en cualquiera de los cromatogramas se atribuía a una contaminación y se buscó como eliminarla.

En la Figura 23 se muestran a modo de comparación el cromatograma obtenido del blanco de matriz y el cromatograma de una muestra fortificada con los cuatro ácidos identificados con la metodología desarrollada siendo el ácido láurico (11.5 min.), ácido mirístico (13.5 min.), ácido palmítico (15.2 min.), y ácido esteárico (16.8 min.) respectivamente. El blanco de matriz consistió en realizar todos los pasos como si fuera la muestra, pero con la certeza de que no contiene los compuestos de interés, de esta manera podemos conocer cuáles son las señales propias del sistema de trabajo y no atribuir picos procedentes de la muestra simulada o de los tiestos.

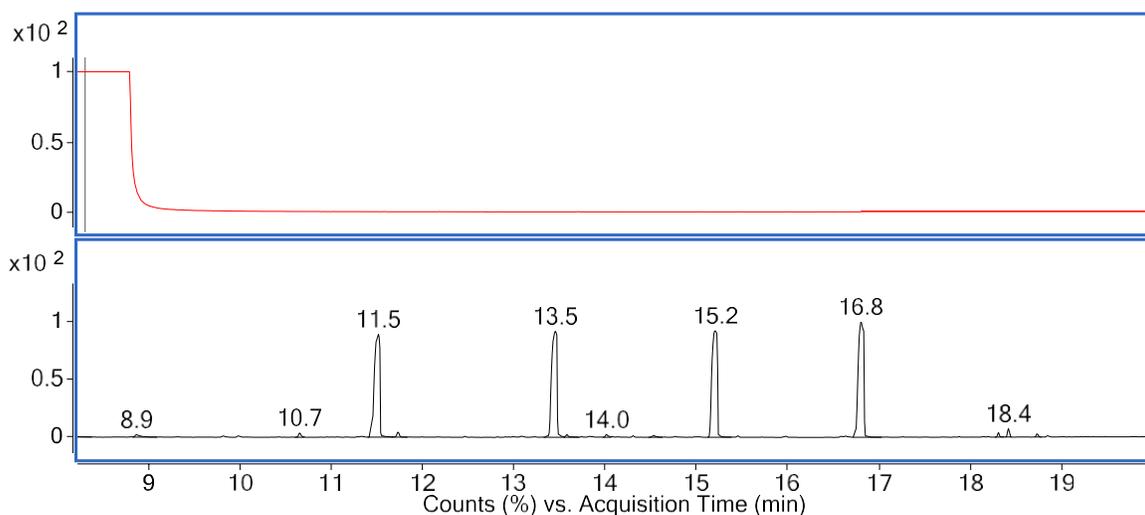


Ilustración 23. Cromatograma del blanco de matriz (color rojo) y cromatograma de muestra simulada fortificada (color negro)

Como podemos ver en ambos cromatogramas, el método de análisis no aporta picos de manera relevante pues el primer cromatograma de la Figura 23 corresponde al cromatograma obtenido durante el blanco del método el cual carece de pico que demuestren una contaminación por parte de los equipos o materia que se usó durante el blanco de la metodología pues sólo se aprecia una línea base.

El segundo cromatograma de la Figura 23 corresponde a una muestra fortificada señalando los picos de la mezcla de ácidos en sitios muy similares a los reportados durante el acondicionamiento del método y los experimentos de derivatización (Figuras 20,21, 22). Cada ácido se puede identificar de manera correcta evitando confundirlo con alguna impureza o ácido que fuera semejante en su tiempo de elución o intensidad de pico. Algunos picos como el 8.9 min. y el 10.7 min. se atribuyeron a impurezas provenientes de los reactivos que se emplearon para preparar la mezcla de ácidos, pero carecen de relevancia porque su presencia no alteró la resolución, selectividad o especificidad de los picos obtenidos para cada ácido. Se trató de identificar estas trazas usando la base de datos del equipo, pero no se pudo determinar verazmente debido a un porcentaje de semejanza menor al 50% con el compuesto sugerido por la base de datos atribuido a la escasa cantidad de la traza detectada.

Con base en esto cualquier pico detectado en las muestras arqueológicas fue atribuido a un posible compuesto orgánico propio de la muestra y no del método o contaminación de los reactivos e instrumento. Al no existir interferencias relevantes propias del método en las señales de los compuestos de interés, se dice que se tiene evidencia objetiva de que el método es selectivo. Para determinar si se pierde materia orgánica en el proceso se evaluó el porcentaje de recuperación o recobro.



El porcentaje de recuperación se define como la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar la cantidad de muestra que se conservó después del análisis, esperando que sea muy similar a la cantidad de muestra que se tenía al inicio del análisis.

Como ya se mencionó, en la metodología se realizaron tres experimentos independientes empleando el método de análisis desarrollado. A cada muestra simulada (arena), se le fortificó con la adición de una disolución que contenía los ácidos: láurico (11.5 min.), mirístico (13.4 min.), palmítico (15.2 min.), y esteárico (16.8 min.), agregando el mismo volumen a cada muestra. Las áreas de los picos obtenidas de los tres experimentos de fortificación fueron comparadas con el área de los picos obtenidos del cromatograma donde solamente se realizó la derivatización e inyección de la disolución fortificada sin emplear el método desarrollado (Figura 22), los resultados obtenidos se presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de la prueba de recuperación y repetibilidad del método

Tiempo de retención (min)	Mezcla de estándares	Muestra simulada 1	Muestra simulada 2	Muestra simulada 3	%	%	%	% CV
					Recuperación muestra simulada 1	Recuperación muestra simulada 2	Recuperación muestra simulada 3	
11.5	287197561	287129495	288322084	287445031	99.97629994	100.4153488	99.6958079	0.36256469
13.4	266577687	267627191	267469369	267042888	100.3936954	99.94102916	99.84054959	0.29449529
15.2	268228465	267182614	266146676	266297021	99.61008948	99.61227342	100.0564895	0.25772057
16.8	289160234	289521240	291916309	296109949	100.1248464	100.8272516	101.4365898	0.65123642

Significado de siglas: % CV = % porcentaje del coeficiente de variación, estimado con la expresión:

$$\% CV = \frac{\text{Desviación estándar}}{\text{Promedio}} \times 100 \quad \% \text{ Recuperación} = \frac{\text{Área obtenida de la muestra simulada}}{\text{Área obtenida de la disolución estándar}} \times 100$$

En la tabla 5 se puede observar que para los cuatro analitos de interés el porcentaje de recuperación es prácticamente 100, es decir, el método desarrollado en el laboratorio extrae en su totalidad los ácidos grasos y no se tienen pérdidas durante el proceso.

Finalmente se calculó el porcentaje del coeficiente de variación (% CV), para el porcentaje de recuperación, determinando para cada ácido graso un triplicado. Los valores obtenidos se consideran aceptables, ya que no rebasan el 2 % por lo que la variabilidad observada se atribuye totalmente al error aleatorio de la medición. De esta manera se tiene evidencia objetiva de que el método es preciso y detecta lo que se espera al tener recobros cercanos al 100 %.



4.5 Muestras arqueológicas analizadas por la técnica CG-MS

Al analizar los cromatogramas obtenidos para cada una de las muestras con la metodología de análisis validada, se observaron la presencia de picos en todas las muestras, algunos picos se asignaron con ayuda de los tiempos de retención de los ácidos grasos con los cuales se desarrolló el método.

Para los picos que se observaron en otros tiempos de retención, su identidad se asignó por comparación con la biblioteca NIST en su versión 14 (*NIST Special Database 14 | NIST, 2023*), ya que hasta el momento sólo se habían identificado los 4 ácidos que se usaron para preparar la mezcla de ácidos láurico, mirístico, palmítico y esteárico.

A continuación, se realiza una lista de los biomarcadores encontrados en las muestras arqueológicas, posteriormente se presenta un apartado por cada muestra donde se coloca una tabla con los compuestos orgánicos que se encontraron en cada muestra, su cromatograma y una propuesta de cuál podría ser el alimento del cual pueden proceder esos ácidos grasos.

Cabe mencionar que los alimentos que se proponen como origen de los ácidos encontrados (tanto vegetal como animal), fueron propuestos con base en las investigaciones que hizo la arqueóloga Alma Espinosa sobre las especies de flora y fauna que tenía la región durante el periodo prehispánico (Espinosa, comunicación verbal 2023).

Desde el punto de vista químico sólo podemos asegurar la presencia de los ácidos grasos y su origen (aceites de origen vegetal o grasas de origen animal). Asegurar de manera categórica que la muestra contuvo un alimento específico es ambicioso, ya sea porque varios alimentos contienen los mismos ácidos grasos y pueden haberse mezclado, hasta ignorar la ausencia de degradación de los ácidos o la disminución en la cantidad original de los ácidos (Copley *et al.*, 2005; Romanus *et al.*, 2007; García, 2018).

Durante la obtención de resultados, no se pudo utilizar la tabla de relaciones entre ácidos grasos propuesta por Malainey (Malainey, 1999; Malainey & Przybylski, 1999), ya que las muestras no llegaban a contener algunos de los ácidos grasos de la Tabla 1, sin embargo, con base en la interpretación que hicieron Malainey 1999, Eerkens 2005 y García 2018, sobre los resultados de sus trabajos y la información geográfica y cultural dada por la ArqIga. Alma Rosa sobre la flora y fauna de Tzicohuac cabecera es que se pudo realizar una propuesta del posible origen para algunos biomarcadores detectados.

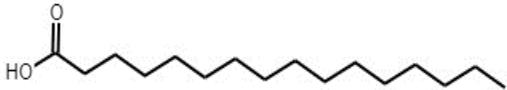
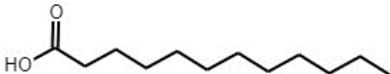
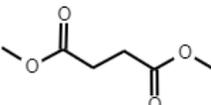
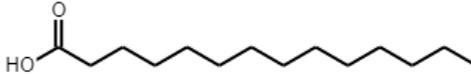
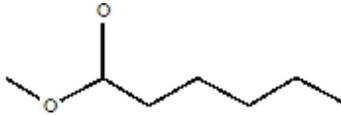
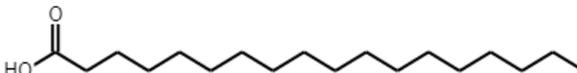
Las interpretaciones que se realizaron sobre algunos ácidos grasos en este trabajo deben tomarse como una posible propuesta, y no como algo contundente ya que posiblemente se tendría que hacer un trabajo o investigación que tuviera como único objetivo encontrar el origen exacto de los ácidos grasos presentes en las muestras, este objetivo no



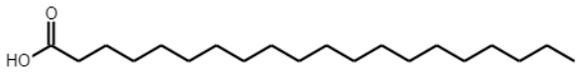
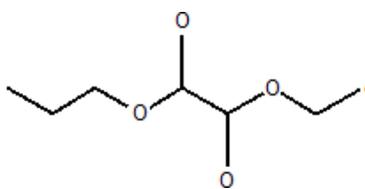
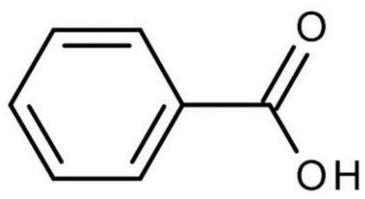
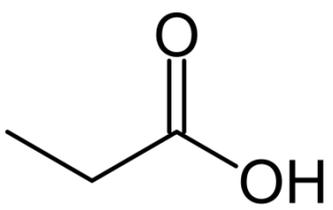
pertenece a los propuestos en esta tesis sin embargo, las propuestas hechas en este trabajo podrían servir como punto de partida para quien realice esa investigación en un posible futuro.

A continuación, se muestra en la Tabla 4 los compuestos orgánicos y sus estructuras químicas identificados con mayor frecuencia en las muestras arqueológicas analizadas.

Tabla 4. Estructura química de algunos compuestos orgánicos encontrados en las muestras analizadas de Tzicohuac.

Nombre	Estructura
Ácido Palmítico	
Ácido Láurico (dodecanóico)	
Ácido Succínico	
Ácido Mirístico	
Ácido Hexanóico (caproico)	
Ácido Estearico	



Nombre	Estructura
<i>Ácido Eicosanóico (araquídico)</i>	 <chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>
<i>Ácido Oxálico</i>	 <chem>CCOC(=O)C(=O)OCC</chem>
<i>Ácido Salicílico</i>	 <chem>O=C(O)c1ccccc1O</chem>
<i>Ácido Benzoico</i>	 <chem>O=C(O)c1ccccc1</chem>
<i>Ácido Propiónico</i>	 <chem>CCC(=O)O</chem>



A continuación, se muestra el cromatograma obtenido de cada muestra arqueológica seguido de dos tablas, una tabla con los ácidos grasos detectados en cada muestra y otra con los ácidos grasos que se les pudo proponer un posible origen con base en la flora y fauna de la región de Tzicohuac cabecera descrita por la Arqlga. Alma Espinosa en su trabajo de doctorado (Espinosa en preparación 2023, comunicación verbal, junio 2023), recordando que el objetivo principal de este trabajo es determinar si las muestras tenían ácidos grasos como residuos orgánicos. La propuesta de un posible origen para algunos ácidos grasos detectados se realizó como un aporte extra para la investigación de la Arqlga. Espinosa.

4.5.1 Muestra m1tzib57

A continuación, en la tabla 5 se muestran los ácidos grasos detectados en esta muestra y la propuesta de un posible origen, en la Figura 7 se muestra el cromatograma obtenido de la muestra.

Nota: Este arreglo se hizo para cada muestra

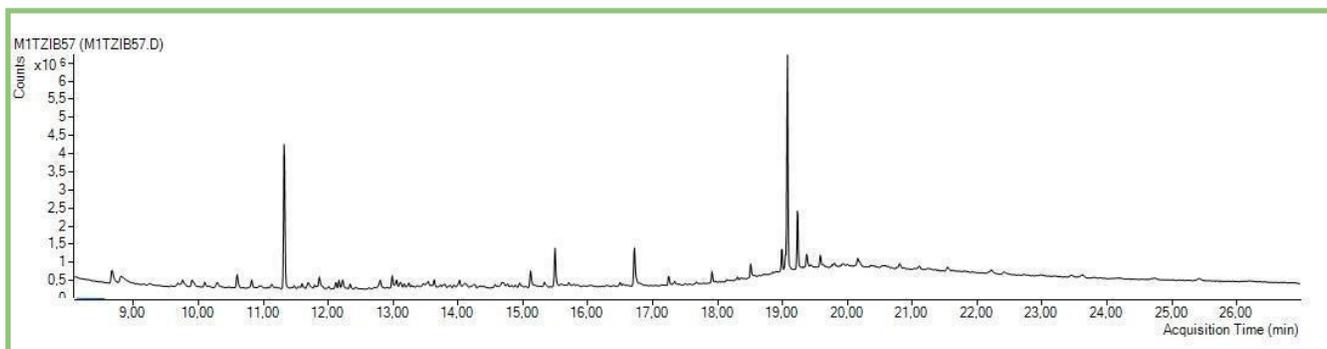


Figura 7. Cromatograma de la muestra m1tzib57.

Tabla 5. Ácidos grasos encontrados en la muestra m1tzib57 en la provincia de Tzicohuac.

Tr (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.90	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).



t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
11.52	Ác. Láurico	Frutos y semillas como la guayaba, coyol y cacahuate (Vasco Méndez y col., 2005; Arbués, 2005; Martínez, 2020) Guanábana o el coco (Daniela y col., 2016).
12.11	Ác. Hexanóico	Resultado de la fragmentación de ácidos grasos con cadenas más largas como el palmítico u oleico provocado por los procesos degradativos del ambiente (INTERFAC, 2023).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).

4.5.2 Muestra m2tzib150

A continuación, en la tabla 6 se muestran los compuestos detectados para esta muestra y en la Figura 8 el cromatograma obtenido.

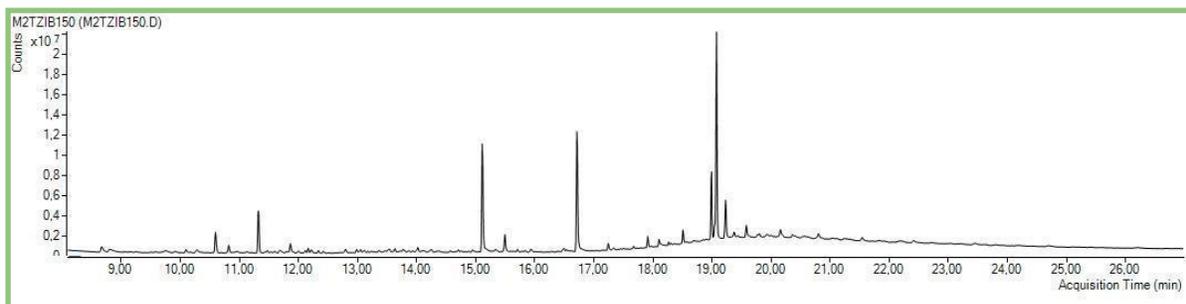


Figura 8. Cromatograma de la muestra m2tzib150.



Tabla 6. Ácidos grasos encontrados en la muestra m2tzib50 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.90	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
11.52	Ác. Láurico	Frutos y semillas como la guayaba, coyol y cacahuete (Vasco Méndez y col., 2005; Arbués, 2005; Martínez, 2020) Guanábana o el coco (Daniela y col., 2016).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).
16.53	Ác. Esteárico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Nopal (Silos y col., 2018).
18.10	Ác. Eicosanóico	Cacahuete y nopal (Arbués, 2005)



4.5.3 Muestra m3tzib180

A continuación, en la tabla 7 se muestran los compuestos detectados para esta muestra y en la Figura 9 el cromatograma obtenido.

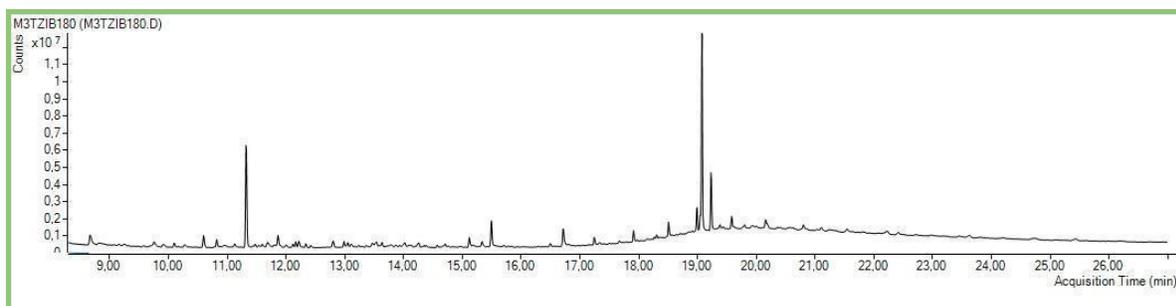


Figura 9. Cromatograma de la muestra m3tzib180.

Tabla 7. Ácidos grasos encontrados en la muestra m3tzib180 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.90	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
12.11	Ác. Hexanoico	Resultado de la fragmentación de ácidos grasos con cadenas más largas como el palmítico u oleico provocado por los procesos degradativos del ambiente (INTERFAC,2023).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).



4.5.4 Muestra m4tzib165

A continuación, en la tabla 8 se muestran los compuestos detectados para esta muestra y en la Figura 10 el cromatograma obtenido.

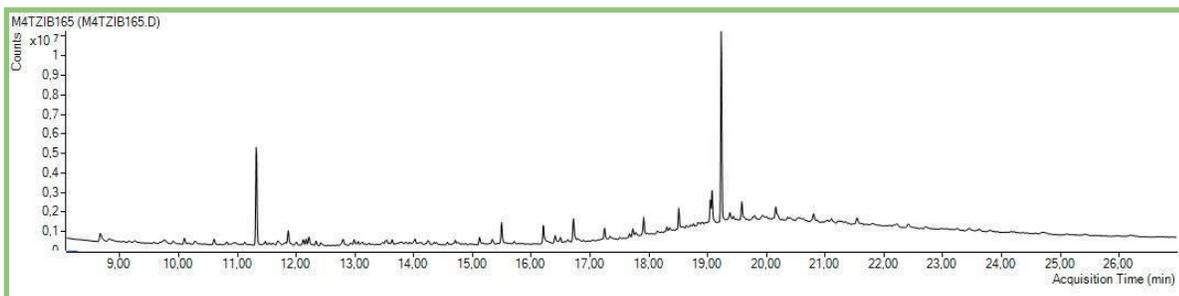


Figura 10. Cromatograma de la muestra m4tzib165.

Tabla 8. Ácidos grasos encontrados en la muestra m4tzib165 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.90	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
12.11	Ác. Hexanoico	Resultado de la fragmentación de ácidos grasos con cadenas más largas como el palmítico u oleico provocado por los procesos degradativos del ambiente (INTERFAC, 2023).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).

4.5.5 Muestra m5tzib139

A continuación, en la tabla 9 se muestran los compuestos detectados para esta muestra y en la Figura 11 el cromatograma obtenido.

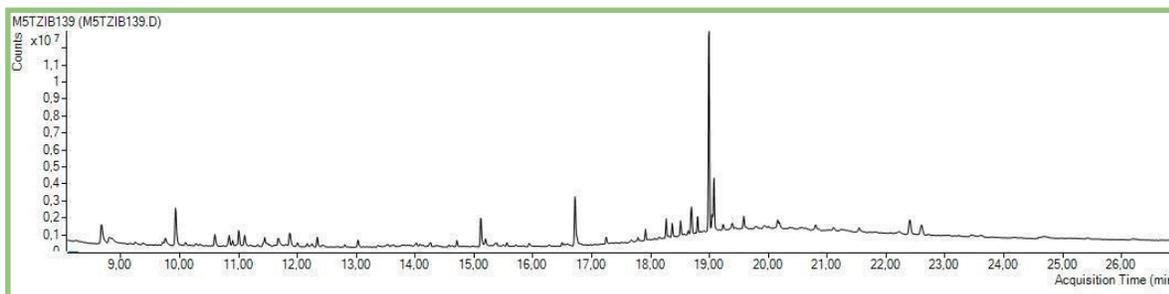


Figura 11. Cromatograma de la muestra m5tzib139

Tabla 9. Ácidos grasos encontrados en la muestra m5tzib139 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.90	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
11.32	Ác. Pentanóico	-
11.52	Ác. Láurico	Frutos y semillas como la guayaba, coyol y cacahuete (Vasco Méndez y col., 2005; Arbués, 2005; Martínez, 2020) Guanábana o el coco (Daniela y col., 2016).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).



4.5.6 Muestra m6tzib186

A continuación, en la tabla 10 se muestran los compuestos detectados para esta muestra y en la Figura 12 el cromatograma obtenido.

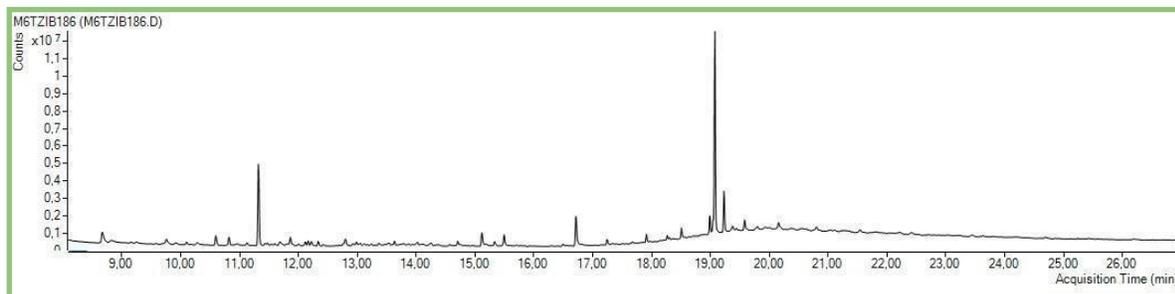


Figura 12. Cromatograma de la muestra m6tzib186.

Tabla 10. Ácidos grasos encontrados en la muestra m6tzib186 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
11.52	Ác. Láurico	Frutos y semillas como la guayaba, coyol y cacahuete (Vasco Méndez y col., 2005; Arbués, 2005; Martínez, 2020) Guanábana o el coco (Daniela y col., 2016).
12.11	Ác. Hexanoico	Resultado de la fragmentación de ácidos grasos con cadenas más largas como el palmítico u oleico provocado por los procesos degradativos del ambiente (INTERFAC,2023).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).



4.5.7 Muestra m7tzib133

A continuación, en la tabla 11 se muestran los compuestos detectados para esta muestra y en la Figura 13 el cromatograma obtenido.

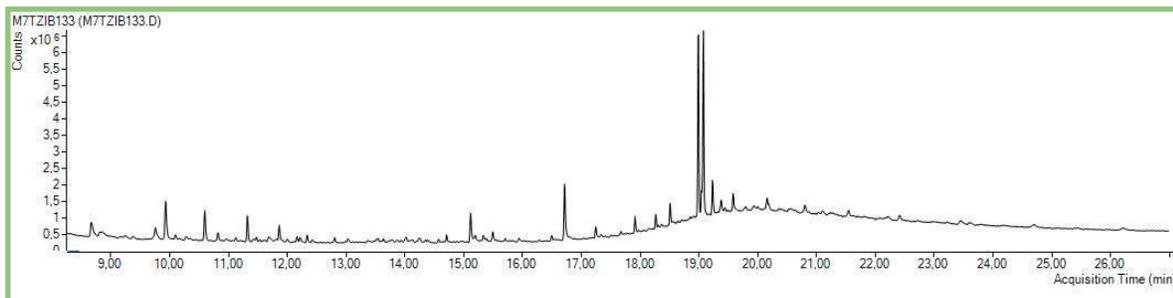


Figura 13. Cromatograma de la muestra m7tzib133.

Tabla 11. Ácidos grasos encontrados en la muestra m7tzib133 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.90	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
11.52	Ác. Láurico	Frutos y semillas como la guayaba, coyol y cacahuate (Vasco Méndez y col., 2005; Arbués, 2005; Martínez, 2020) Guanábana o el coco (Daniela y col., 2016).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).

4.5.8 Muestra m8tzib177

A continuación, en la tabla 12 se muestran los compuestos detectados para esta muestra y en la Figura 14 el cromatograma obtenido.

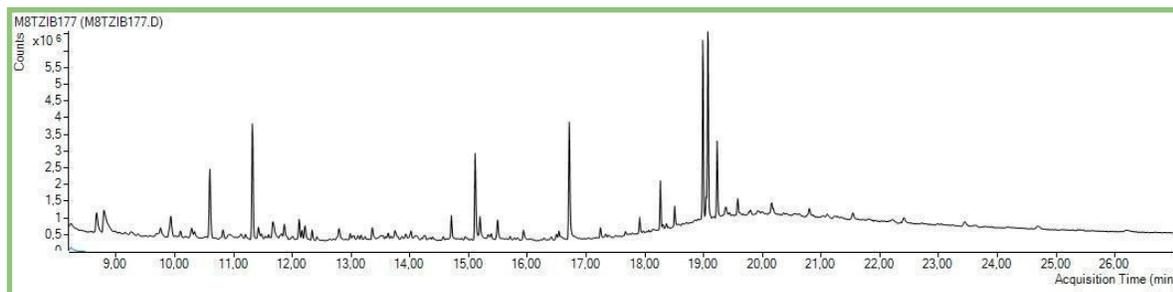


Figura 14. Cromatograma de la muestra m8tzib177.

Tabla 12. Ácidos grasos encontrados en la muestra m8tzib177 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.90	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
11.52	Ác. Láurico	Frutos y semillas como la guayaba, coyol y cacahuete (Vasco Méndez y col., 2005; Arbués, 2005; Martínez, 2020) Guanábana o el coco (Daniela y col., 2016).
12.11	Ác. Hexanoico	Resultado de la fragmentación de ácidos grasos con cadenas más largas como el palmítico u oleico provocado por los procesos degradativos del ambiente (INTERFAC,2023).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).



4.5.9 Muestra m9tzib183

A continuación, en la tabla 13 se muestran los compuestos detectados para esta muestra y en la Figura 15 el cromatograma obtenido.

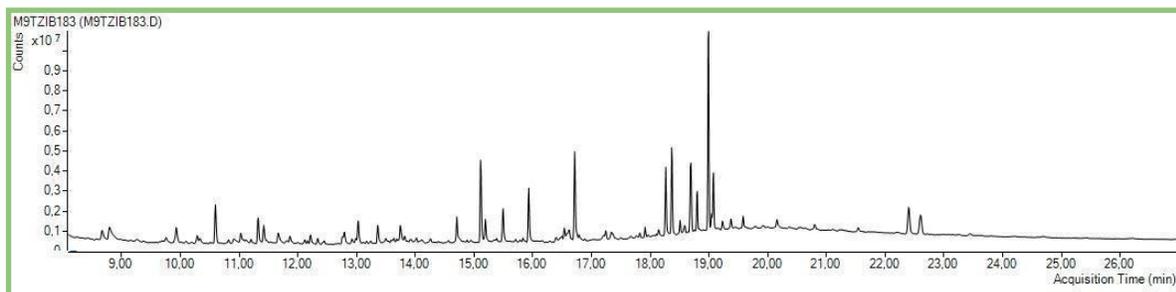


Figura 15. Cromatograma de la muestra m9tzib183.

Tabla 13. Ácidos grasos encontrados en la muestra m9tzib183 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.90	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
11.52	Ác. Láurico	Frutos y semillas como la guayaba, coyol y cacahuete (Vasco Méndez y col., 2005; Arbués, 2005; Martínez, 2020) Guanábana o el coco (Daniela y col., 2016).
12.11	Ác. Hexanoico	Resultado de la fragmentación de ácidos grasos con cadenas más largas como el palmítico u oleico provocado por los procesos degradativos del ambiente (INTERFAC,2023).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).



4.5.10 Muestra m10tzib141

A continuación, en la tabla 14 se muestran los compuestos detectados para esta muestra y en la Figura 16 el cromatograma obtenido.

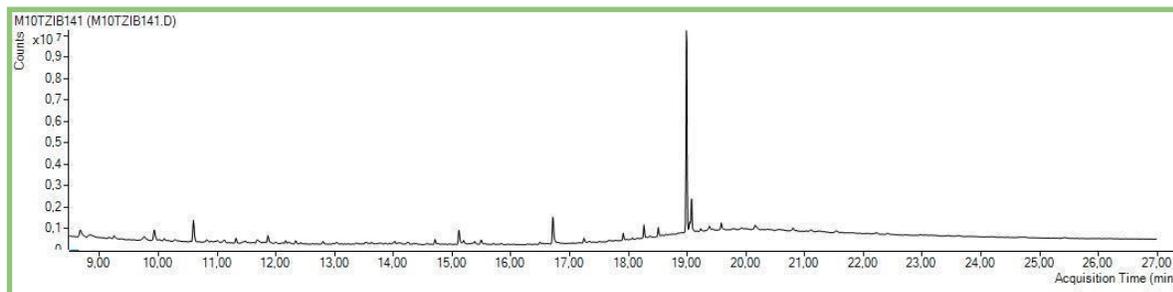


Figura 16. Cromatograma de la muestra m10tzib141.

Tabla 14. Ácidos grasos encontrados en la muestra m10tzib141 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.90	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
11.52	Ác. Láurico	Frutos y semillas como la guayaba, coyol y cacahuate (Vasco Méndez y col., 2005; Arbués, 2005; Martínez, 2020) Guanábana o el coco (Daniela y col., 2016).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).
18.30	Ác. Acético	-

4.5.11 Muestra m11tzib187

A continuación, en la tabla 15 se muestran los compuestos detectados para esta muestra y en la Figura 17 el cromatograma obtenido.

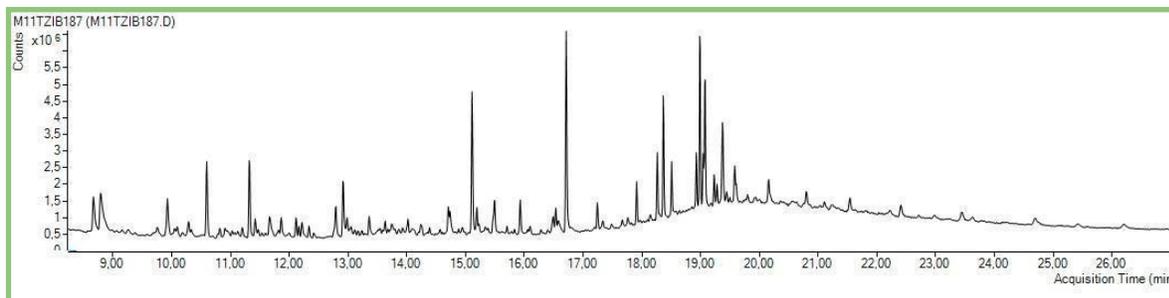


Figura 17. Cromatograma de la muestra m11tzib187.

Tabla 15. Ácidos grasos encontrados en la muestra m11tzib187 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.89	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
11.52	Ác. Láurico	Frutos y semillas como la guayaba, coyol y cacahuate (Vasco Méndez y col., 2005; Arbués, 2005; Martínez, 2020) Guanábana o el coco (Daniela y col., 2016).
12.11	Ác. Hexanoico	Resultado de la fragmentación de ácidos grasos con cadenas más largas como el palmítico u oleico provocado por los procesos degradativos del ambiente (INTERFAC,2023).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).



t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
16.53	Ác. Esteárico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Nopal (Silos y col., 2018).
17.50	Ác. Mirístico	Aguacate (Yang y Liu, 2012). Flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008).
19.21	Ác. Decanoico	-

4.5.12 Muestra m13tzib246

A continuación, se muestra en la tabla 16 los ácido grasos detectados para esta muestra y en la figura 18 el cromatograma obtenido.

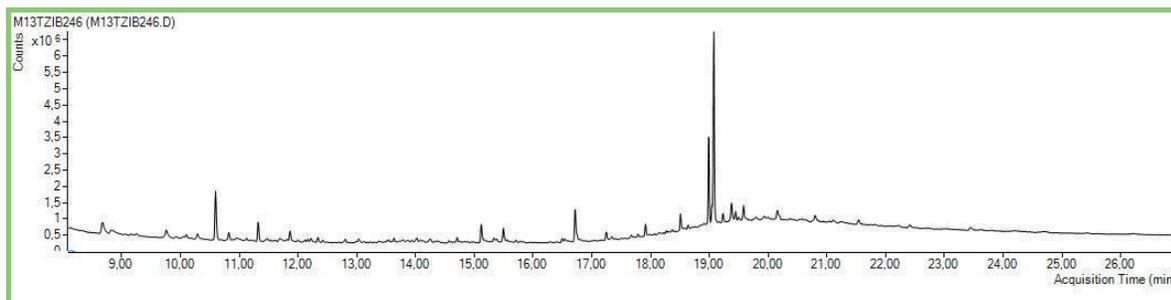


Figura 18. Cromatograma de la muestra m13tzib246.



Tabla 16. Ácidos grasos encontrados en la muestra m13tzib246 en la provincia de Tzicohuac.

t_R (min)	Nombre	Propuesta de su posible procedencia
9.89	Ác. Propiónico	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
15.11	Ác. Palmítico	Guanábana (Daniela y col., 2016). Aguacate de monte (Lara-Márquez y col. 2019). Guayaba (Vasco Méndez y col., 2005). Zapote (Roberto, 2004). Pigmentos de la flor de cempasúchil (Tapia-Salazar, 2008), Nopal (Silos y col., 2018). Coyol (Martínez, 2020).



4.6 Propuestas e interpretación de los resultados obtenidos desde un enfoque arqueológico

En cada muestra arqueológica se encontró la presencia de tres o más compuestos orgánicos con una similitud > 70% respecto a la base de datos usada para identificar los resultados del análisis. Con base en estos resultados se realizan una serie de interpretaciones que apoyen la teoría inicial de la antropóloga, pero modificando algunos puntos, pues la nula presencia de residuos orgánicos apoyaría su hipótesis, ya que, al ser un mercado, las vasijas deberían de estar limpias pues se pensaba que estaban en venta y no en uso.

La teoría inicial de la ArqIga. Alma Espinosa era que si todos o la mayoría de los tiestos no presentaban residuos orgánicos se podría proponer que la zona seguía correspondiendo a la sección mercantil ya que a pesar de haber algunas vasijas con residuos orgánicos (usadas posiblemente por las personas que vivían en el mercado o vendían y consumían alimentos ahí), la mayoría de las vasijas serían ocupadas para venta, sin embargo, todas las muestras poseen 3 o más biomarcadores de alimentos.

Con base en los resultados se proponen las siguientes interpretaciones.

La primera teoría que se propone es que la zona de donde se extrajeron los tiestos podría corresponder a una zona de venta de alimentos o almacenamiento. Los dos mercados formaban parte de la zona mercantil más importante de la región noroeste de la época prehispánica, es correcto pensar que había secciones donde se vendían materiales o productos específicos, por lo que la teoría de la arqueóloga podría haber estado cimentada en que en esa zona se vendían vasijas o trastes en general, así como en otra zona se podrían vender exclusivamente armas, textiles, etc.; sin embargo, podemos pensar que también podrían haber zonas donde se vendieran alimentos (frutas, verduras, semillas, incluso carne de animales), que requirieran de un objeto para presentar el producto al público, por lo que proponer que la razón por la que todos los tiestos presentaban residuos orgánicos puede deberse a que estostiestos sí se encontraban en los mercados pero en vez de ser objeto de venta, servían para presentar y almacenar los alimentos o incluso tomarlos, pues la arqueóloga mencionó en una entrevista que algunos tiestos correspondían a cucharones, que posiblemente fueron usados para servir o tomar los productos vendidos (Espinosa, en preparación 2023).



La segunda interpretación que se puede realizar se basa en que en las tablas de resultados se mostró que los ácidos: palmítico, hexanóico, mirístico y esteárico venían de aceites vegetales que en su mayoría se encuentran en semillas, sin embargo, estos ácidos también están presentes en grasas animales. Los animales que estaban en la fauna prehispánica de la zona que poseen estos ácidos grasos son el armadillo (*Dasypus novemcinctus*), serpientes como la mazacoatl (*Boa constrictor*), pescados como el robalo (*Centropomus undecimalis*) y la carpa (*Cyprinus carpio*).

Estos animales son mencionados ya que estaban presentes en la fauna prehispánica, sin embargo, es pertinente señalar que no se tienen estudios confiables sobre los ácidos grasos presentes de algunas especies de animales que la arqueóloga Espinosa señala que también pertenecían a la dieta prehispánica, como la tortuga, algunas aves y el venado (Espinosa, 2023).

A pesar de esto podemos proponer que en las vasijas extraídas de la zona mercantil no sólo se vendían frutas y verduras, sino también posiblemente carnes y pescados.

Reflexionando sobre la interpretación de los resultados obtenidos fue muy interesante notar una similitud o patrón en las muestras, es decir, a pesar de que algunas muestras mostraron la presencia de ácidos grasos particulares, como el ácido oxálico que propone un posible presencia de cacao o el ácido propiónico que propone el posible uso de esa vasija como un contenedor de pulque o cucharón con el que tomaban el pulque, la mayoría de los ácidos grasos en las muestras (por no decir en todas), se repetían, a excepción de algunos como ya se ejemplificó.

Esto no sólo es interesante, sino que aporta mucho al proyecto de la arqueóloga porque se puede proponer que los alimentos que ahí se vendían, correspondían a una sección específica del mercado, o incluso a un puesto en particular, es decir, en esa sección sólo se vendían frutas y verduras (de ahí a que la mayoría de los ácidos grasos identificados tienen un origen vegetal), o que una sección del mercado vendía carnes de animales, otra frutas y verduras y otro pulque.

A pesar de que no podemos asegurar qué alimentos o usos tuvieron realmente los tiestos recuperados, el hecho de que las muestras posean ácidos grasos muy similares entre sí nos permite proponer que las vasijas tenían un mismo tipo de alimento (por puntualizar porque pudieron haber sido varios), es que se vendía y/o vendía en esa zona.

Respecto al ácido hexanóico o mejor conocido como caproico; este ácido normalmente se encuentra en las grasas de origen animal que vienen de la cabra, pero también pueden ser producto de la degradación de ácidos con cadenas largas de carbonos, en especial los ácidos oleico y palmítico.



El ácido palmítico puede estar presente en grasas animales y vegetales, es decir, en casi cualquier alimento que se pudo consumir en ese tiempo, pero también el ácido oleico puede encontrarse en varios alimentos, en especial pescados, y si tomamos en cuenta que Tzicohuac estaba cerca de una zona costera y un río a los pies de la cuenca de Cacahuatenco, no es descabellado proponer que también se pudo haber vendido pescado en la misma zona donde fueron extraídos los tiestos. Con base en esto se propone que la presencia de ácido hexanóico se debe a la anterior presencia de ácido palmítico y oleico en algunas vasijas por haber almacenado pescado o alimentos como el aguacate, y que, debido a las condiciones climáticas, se fraccionaron o degradaron formando como subproducto el ácido hexanóico.

4.7 Compuestos modernos identificados

En los cromatogramas se encontraron tres compuestos orgánicos de interés, pero que no se pueden considerar biomarcadores, ya que su origen no es natural o que se generen en alguna ruta biosintética. En la tabla 20 se pueden observar los compuestos identificados

Tabla 20. Contaminantes encontrados en las muestras de la provincia de Tzoquitelán.

Nombre del Compuesto	Posible origen	Muestras que lo contienen
2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato	Resina usada en la elaboración de surfactantes y plastificantes	Todas
Ftalatos	Plásticos	Todas
Ácido dicloroacético	Lavado con agua clorada	M2, M3, M4, M6



Ilustración 18. Muestras almacenadas en bolsas de plástico.



Los ftalatos son compuestos químicos que se utilizan principalmente como plastificantes, dando flexibilidad a diversos materiales en la producción del policloruro de vinilo (PVC). Se producen cantidades enormes de ftalatos a nivel mundial para la producción de productos plásticos, la eliminación de estos plastificantes causa efectos de contaminación en el medio ambiente (Pérez-Andres, 2017). La presencia de este compuesto puede deberse al medio de almacenamiento que tuvieron las muestras (Figura 33).

En una entrevista con la Arqlga. Alma Espinosa, nos comentó que los tiestos fueron previamente lavados con agua clorada posterior a la extracción de las muestras, el hallazgo del ácido dicloroacético en algunas muestras corrobora este lavado, ya que es un subproducto de la cloración del agua, método usado en las comunidades rurales de algunos estados de México para potabilizar el agua. La Arqlga. Espinosa comentó haber lavado las muestras con agua de la llave, por lo que se propone que algunas muestras almacenaron el compuesto en sus poros.

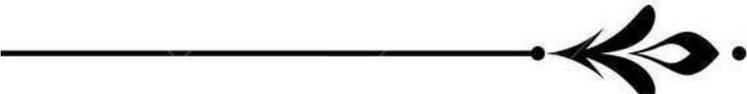
Esto último también es importante destacar que pudo haber afectado en la detección de más compuestos orgánicos, que pudieron haberse ido en los lavados realizados, y al estar en un nivel de trazas, los problemas de solubilidad no son tan apreciables.

Por último, en la tabla 21 se muestran otros compuestos que fueron de interés debido a los picos tan intensos que se observaron en los cromatogramas (como el ácido tetrahidroxiquinolina) o su alta presencia en varias muestras como el ácido malónico. Se propone un posible origen para algunos de los compuestos orgánicos ya que durante la investigación de algunos alimentos que contenían ácidos grasos algunos de estos compuestos también se podrían encontrar en los frutos y alimentos investigados.



Tabla 21. Otros compuestos identificados de interés

t_R (min)	Nombre	Muestras que lo contienen	Propuesta de un posible origen
8.50	Ác. Mandélico	M1, M9 y M11	-
8.60	Ác. Malónico	M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M10 y M13	-
11.54	Ác. Trifluorometilbenzóico	M3, M9 y M13	-
11.78	Ác. Fumárico	M4, M7 y M11	-
14.10	Ác. Succínico	M2, M4, M5, y M11	Fermentación del maguey pulquero o agua de coyol fermentada (Alessandra, 2017; Espinosa, comunicación verbal 2023).
14.20	Ác. Salicílico	M1	Frutos y semillas como la guayaba, coyol y cacahuete (Vasco Méndez y col., 2005; Arbués, 2005; Martínez, 2020).
15.83	Ác. Anísico	M8, M9 y M11	-
16.39	Ác. Oxálico	M9	Cacao (J Ihde, 2012; Rojas 2006). Cacahuete (Arbués, 2005).
16.79	Ác. Difluorobenzoico	M4, M7, M8, M9, M10, M11 y M13	Frutos como coyol o tejocote (Yang y Liu, 2012; Arbués, 2005; Martínez, 2020).
17.78	Ác. Dihroximandélico	M3, M5 y M7	-
17.97	Ác. Málico	M2, M8, M11 y M13	-
18.36	Ác. Tereftálico	M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M10 y M13	-
19.07	Ác. Tetrahidroxiquinolina	M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11 y M13	-
19.37	Ác. Sulfuroso	M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M10, M11 y M13	-



5. Conclusiones

- Se midieron los tiestos por la técnica de IR-ATR, demostrando que no es una técnica con el suficiente límite de detección para detectar la presencia de material orgánico, sin la necesidad de realizar ninguna extracción previa.
- Se desarrolló una técnica analítica mediante CG-EM para la separación y detección de ácidos grasos. Esto con llevó condiciones de derivatización.
- Se aplicó una técnica de preparación de muestra que permite la extracción, derivatización y detección de los ácidos grasos.
- Se realizó la validación de la metodología analítica propuesta, evaluando la selectividad, el recobro y la repetibilidad del método, obteniendo buenos resultados, lo que confirma que el método ofrece resultados confiables.
- Se identificaron por el método analítico desarrollado varios biomarcadores de residuos orgánicos en cada una de las muestras arqueológicas por lo que se propone que las muestras tenían un uso y no eran vasijas de venta en el posible mercado.
- Con base en los resultados obtenidos se espera que la Arqlga. Alma Espinosa Ruiz cuenta con información confiable que contraponga con su teoría inicial para determinar si las muestras analizadas corresponden a la zona mercantil de Tzicohuac cabecera, pero no a una sección de venta de vasijas, trastes o utensilios, sino a una sección de venta de alimentos siendo la mayoría alimentos de origen vegetal.
- Se espera que los ácidos grasos identificados que aparecían en la mayoría de las muestras como el ácido palmítico y para el cuál se le propuso un posible origen le aporte información relevante a la Arqlga. Alma Espinosa Ruiz para determinar si los alimentos que podrían haber estado presentes en las muestras eran los mismos o se encontraban en varios tiestos.
- Se propone al ácido hexanóico como producto de la degradación de ácido oléico y/o palmítico proveniente de verduras, frutas o pescados que debido a las condiciones climáticas y el tiempo formaron un ácido graso saturado con una cadena de carbonos más corta.
- Se propone la identificación de ftalatos como posibles marcadores degradativos de las bolsas plásticas que almacenan las muestras. Esta información es importante para los arqueólogos ya que debe evitarse el almacenaje de las muestras en materiales plásticos.
- Finalmente, este trabajo muestra la estrecha relación que puede existir entre la Química y el patrimonio cultural.



6. Referencias

- +Aurand, L.W.; Woods, A.E.; Wells, M.R. (1987): Food composition and analysis. Wan Nostrand Reinhold, New York.
- +Alltech Associates Inc. (2004). Recommended Reagents for GC Derivatization Derivatization Reagents Ready-To-Use Silylation Mixes Alltech has the most complete. 40–54.
- +Arbués Gabarre. J, Millán Palomino, C., Equilibrio emocional, el papel de los nutrientes fisioterapéuticos. Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Universitario 12 de octubre. Diciembre 2005 Madrid. Vol. 24. Núm. 11. 98-106 pp.
- +Abián J., Carrascal M., Gay M. Introducción a la Espectrometría de Masas para la caracterización de péptidos y proteínas en Proteómica. Laboratorio de Proteómica CSIC/UAB, Instituto de Investigaciones Biomédicas de Barcelona IIBB-CSIC, IDIBAPS, Barcelona. 2008.
- +Alessandra Pecci, Agustín Ortiz, Luis Barba, Los residuos químicos de la producción de pulque. Etnoarqueometría y arqueología experimental, Anales de Antropología, Volume 51, Issue 1, 2017, 39-55 pp.
- +Beccaria, M., Zou, Y., Stefanuto, P. H., Siqueira, A. L. M., Maniquet, A., Piparo, M., Giusti, P., Purcaro, G., & Focant, J. F. (2022). Deeper investigation of oxygen-containing compounds in oleaginous feedstocks (animal fat) by preparative column chromatography and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with high-resolution time-of-flight mass spectrometry. In *Talanta* (Vol. 238).
- +Brondz, I. (2004). Lipids - Fatty Acids. Encyclopedia of Analytical Chemistry: Second Edition, 76–88. <https://doi.org/10.1016/B0-12-369397-7/00310-1>
- +Colombini, M. P., & Modugno, F. (2009). Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology. John Wiley & Sons.
- +Copley, M.S., Bernstan, R., Starker, V., Payne, S. y Evershed, R.P. (2005): Dairying in antiquity. II. Evidence from absorbed lipid residues dating to the British Bronze Age, *Journal of Archaeological Science* 32, 505-521.
- +Cecilia A. Riquelme et al., Fatty Acids Identified in the Burmese Python Promote Beneficial Cardiac Growth. *Science* 334, 528-531 pp. (2011). DOI:10.1126/science.1210558
- +Coates, J. (2000). Interpretation of infrared spectra, a practical approach. Encyclopedia of Analytical Chemistry. R. A. Meyers (Ed.), John Wiley and Sons Ltd, Chichester, 10815-10837.



+Dzib-Ek, Gabriela, Villanueva-Couoh, Eduardo, Garruña-Hernández, René, Vergara Yoisura, Silvia, & Larqué-Saavedra, Alfonso. (2021). Efecto del ácido salicílico en la germinación y crecimiento radicular del tomate. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(4), 735-740. Epub 21 de febrero de 2022.

+Division, S., Company, M. R., Box, P. O., & College, S. (1979). Pyrolytic Methylation/Gas Chromatography: A Short Review.

+Díaz-Velásquez D, Upegui-Mayor AT, Arboleda-Nava JA & Vásquez-Mucúa AL. Los lípidos y sus generalidades. En: Álvarez-Ramírez AA, López-Peláez J. & Meneses-Urrea LA. (eds. científicas). *Dislipidemias y estilos de vida en jóvenes*. Cali, Colombia: Editorial Universidad Santiago de Cali; 2020. p. 17-50.

+Dorado, Daniela J, Hurtado-Benavides, Andrés M, & Martínez-Correa, Hugo A. (2016). Extracción con CO₂ Supercrítico de Aceite de Semillas de Guanábana (*Annona muricata*): Cinética, Perfil de Ácidos Grasos y Esteroles. *Información tecnológica*, 27(5), 37-48.

+Espinosa Ruiz, A. R. (2012) Lienzo de Tzoquitetlán, hoy propuesto a renombrar como Lienzo de la Provincia de Tzicohuac. *Arqueología*, 46, 205–218.

+Espinosa Ruiz, A. R. (2013). Lienzo de Tzoquitetlán, hoy propuesto a renombrar como Lienzo de la Provincia de Tzicohuac. *Arqueología*, 46, 205–218.

+Espinosa Ruiz, A. R. (2015). *Lienzo de Tzoquitetlán-Tzicohuac Patrimonio Huasteco Veracruzano*, Editorial Raíz del Sol, México.

+Espinosa Ruiz, A. R. (2020). Proyecto mesa de Tzicohuac de contrastación arqueológica-etnohistórica para la ubicación espaciotemporal de cabecera y provincia.

+Espinosa, A. (2023). *Proyecto de contrastación arqueológica-etnohistórica de ubicación espacio temporal de Tzicohuac*. [Tesis doctoral inédita]. Posgrado de Estudios Mesoamericanos. Instituto de Investigaciones Filológicas. Facultad de Filosofía y Letras. UNAM. México. Cap. II.

+ Espectroscopía FTIR-ATR | Enlace UNAM. (2021, 22 septiembre). Enlace UNAM. <https://enlace.unam.mx/espectroscopia-ftir-atr/>

+Evershed, R. P., Heron, C., & John Goad, L. (1990). Analysis of organic residues of archaeological origin by high-temperature gas chromatography and gas chromatography - Mass spectrometry. *The Analyst*, 115(10), 1339–1342. <https://doi.org/10.1039/an9901501339>

+Evershed, R.P.; Heron, C.; Cnarters, 5.; Go~n, L.J. (1992): The survival of food residues: new methods of analysis, interpretation and application. *Proceedins of the British Academy*, 77: 187-208.



- +Eerkens, J. W. (2005). GC-MS analysis and fatty acid ratios of archaeological potsherds from the western Great Basin of North America. *Archaeometry*, 47(1), 83–102. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2005.00189.x>
- +Fatty Acids - an overview | ScienceDirect Topics. (s/f). Recuperado el 25 de noviembre de 2020, de <https://www.sciencedirect.com/topics/chemical-engineering/fatty-acids>
- +Feiser, L. F. y M. Feiser. 1960. Química orgánica. Grijalbo, México.
- +García García, A. (2018). La alimentación en la cultura del Argar. Análisis de residuos orgánicos en las cerámicas de la peñalosa (baños de la encina, Jaén)
- +García Zambrano, A. J. (1990) “El poblamiento en México en la época del contacto (1520-1540)”, *Mesoamérica*, (Cuaderno 24), Plumsock Mesoamérica Studies, Centro de investigación Regionales de Mesoamérica.
- +González Casado, A. (1996): *Determinación de ácidos grasos mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas*. Tesis doctoral, Universidad de Granada.
- +Gunstone, F.D., J. L. Harwood y A. J. Dijkstra. 2007. *The Lipid Handbook*. CRC Press, Boca Raton.
- +Guía sobre espectroscopía FT-IR. (s. f.). Bruker. <https://www.bruker.com/es/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy.html>
- +Heron, C.; Evershed, R. P. (1993): The analysis of organic residues and the study of pottery use, en M. B. Schiffer (ed.), *Archaeological Method and Theory*, 5, Arizona: University of Arizona Press, 247-284.
- +Heron, A.; Everseed, P.; Go-xx J. (1991): Effects of migration of soil lipids on organic residues associated with buried potsherds. *Journal of Archaeological Science*, 18: 641-659.
- +Harris, Daniel. (2003). *Análisis Químico Cuantitativo*. New York: Reverté: 919-921, 579-585
- +Harris, D. (2016). *Análisis químico cuantitativo*. Barcelona, España: Reverté; p. 549-553, 560-579, 580-596.
- +Interfac Aceites Esenciales y Oleoquímicos. (01 de Julio de 2023). Ácido Caproico número CAS: 142-62-1 <https://www.interfat.com/es-ES/acido-caproico-p-83-es>
- +Izquierdo Córser, Pedro, Torres Ferrari, Gabriel, Barboza de Martínez, Yasmina, Márquez Salas, Enrique, & Allara Cagnasso, María. (2000). Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(2), 187-194.



+J Ihde, A. 2012. *The Development of Modern Chemistry*. Editorial Dover Publications.

+Khan, S. A. (2018). *Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications in Functional Groups and Nanomaterials Characterization*. Springer International Publishing.

+Kim, D., Park, H., & Hee, I. (2022). The effect of roasting of capsaicinoids, volatile compounds, and fatty acids in *Capsicum L.* (red pepper) seeds. *Food Science and Biotechnology*, 31(2), pp. 211-220.

+Knapp, D. R. (1979): *Handbook of analytical derivatization reactions*. John Wiley and Sons.

+Koolman, J., & Röhm, K.-H. (2005). *Bioquímica: Texto y atlas*. Ed. Médica panamericana.

+Lara-Márquez, M., Báez-Magaña, M., Raymundo-Ramos, C., Spagnuolo, P. A., Macías-Rodríguez, L., Salgado-Garciglia, R., ..., and López-Meza, J. E. (2019). Lipid-rich extract from Mexican avocado (*Persea americana* var. *Drymifolia*) induces apoptosis and modulates the inflammatory response in Caco-2 human colon cancer cells. *Journal of Functional Foods*. 64: 103658.

+LabUNAM - Laboratorio Nacional de Ciencias para la investigación y Conservación del Patrimonio Cultural. (s/f). Recuperado el 23 de diciembre de 2020, de <http://labunam.unam.mx/micrositios/LANCIC/antecedentes.php?il=MTY4>

+López, N. 1998. Influencia del ácido salicílico sobre los parámetros fisicoquímicos y la carga bacteriana en la leche cruda. Facultad de ciencias veterinarias. Universidad Central de Venezuela. pp.5-13.

+Lettieri, M., & Giannotta, M. T. (2017). Investigations by Ft-Ir Spectroscopy on Residues in Pottery Cosmetic Vases from Archaeological Sites in the Mediterranean Basin. *International Journal of Experimental Spectroscopic Techniques*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.35840/2631-505x/8509>

+Liu, M., Guo, C., Zhu, C., Lv, J., Yang, W., Wu, L., & Xu, J. (2022). Vertical profile and assessment of soil pollution from a typical coking plant by suspect screening and non-target screening using GC / QTOF-MS. *Science of the Total Environment*. 810, 151278.

+Manzano, E., García, A., Alarcón, E., Cantarero, S., Contreras, F., & Vílchez, J. L. (2015). An integrated multianalytical approach to the reconstruction of daily activities at the Bronze Age settlement in Peñalosa (Jaén, Spain). *Microchemical Journal*, 122, 127– 136. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.04.021>



- +Manzano, E., Cantarero, S., García, A., Adroher, A., & Vílchez, J. L. (2016). A multi-analytical approach applied to the archaeological residues in Iberian glasses. Earliest evidence on the consumption of fermented beverages in votive rituals. *Microchemical Journal*, 129, 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.07.006>
- +Martínez, H. (1984). *Tepeaca en el siglo XVI. Tenencia de la tierra y organización de un señorío*, CIESAS, México, pp. 51-76.
- +Martínez-Valencia, Biaani B., et al. "Calidad de aceite de pulpa de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Mart: alternativa para la producción de biodiesel en México." *AGROProductividad*, vol. 13, no. 1, Jan. 2020, pp. 43
- +Malainey, M. E., R. Przybylski y B. L. Sherriff. 1999. The Fatty Acid Composition of Native Food Plants and Animals of Western Canada. *Journal of Archaeological Science* 26: 83–94.
- +Mondragón-Cortez P. M., Ulloa J. A. (2013). Identificación de alimentos adulterados mediante espectroscopia de infrarrojo. *Revista Fuente*, 6, 5-9
- +Mondragón-Cortez P., Arriola-Guevara E., (2016). Espectroscopia de Infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)-Reflexión Total Atenuada (ATR): Principios y Aplicaciones en la Biotecnología. Editorial Amate, Guadalajara, Jalisco.: 27-29, -41.
- +Mondragón, P. (2020). *Principios y aplicaciones de la espectroscopia de infrarrojo en el análisis de alimentos y bebidas*. México: CONACYT, CIATEJ; p. 25-32, 41-49, 51-64.
- +Mesa García MD, Aguilera García CM, Gil Hernández A. Importancia de los lípidos en el tratamiento nutricional de las patologías de base inflamatoria. *Nutr. Hosp.* vol.2. 2006;(0212- 1611):30–41.
- +Nakanishi, K. (1977). *Infrared Absorption Spectroscopy*. Emerson-Adams Press.
- +N. L. Vasco Méndez, J. F. Toro Vázquez, S. Padilla Ramírez. composición química de la semilla de guayaba. Departamento de Química, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Av. Universidad 940, Fracc. Bosques, C. P. 20100, Aguascalientes, México, Centro de Investigación y de Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Manuel Nava No. 6, C. P. 78240, San Luis Potosí, México, Campo Experimental Pabellón de Arteaga, INIFAP. Km 32.5 carretera Aguascalientes-Zacatecas, C. P. 20 600, Pabellón de Arteaga Aguascalientes, México.
- + NIST Special Database 14 | NIST. (2023, 5 abril). NIST. <https://www.nist.gov/srd/nist-special-database-14>
- +Olmedo Sánchez, M. T. Subproductos de la desinfección del agua por el empleo de



compuestos de cloro. Efectos sobre la salud. *Higiene y Sanidad Ambiental*, Área Gestión Sanitaria Sur de Granada. Farmacéutica IISS. Granada. España.8: 335-342 (2008)

+Pérez-Andres, L., Díaz-Godínez, R., Luna-Suárez, S., & Sánchez, C. (2017). Características y usos de los ftalatos. *Mexican journal of biotechnology*, 2(1), 145–154. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2017.2.1.145>

+Pingarrón, L. B., Ortiz Butrón, A., & Pecci, A. (2014). Los residuos químicos. Indicadores arqueológicos para entender la producción, preparación, consumo y almacenamientos de alimentos en Mesoamérica. *Anales de Antropología*, 48 (1), 201-240. [https://doi.org/10.1016/s0185-1225\(14\)70495-3](https://doi.org/10.1016/s0185-1225(14)70495-3)

+Roberto A. Solis Cajas. Caracterización fisicoquímica de la grasa del zapote (pouteria sapota) y el contenido de ácidos grasos. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de ciencias químicas y farmacia. Guatemala, noviembre de 2004. pp 21-25.

+Rie, S. W. and E. R. de la. (2011). GCMS analysis of triterpenoid resins: in situ derivatization procedures using quaternary ammonium hydroxides Siobhan Watts and E. Rene de la Rie. 47(4), 257–272.

+Romanus, K., Poblome, J., Verbeke, K., Luypaerts, A., Jacobs, P., De Vos, D. y Waelkens, M. (2007): An evaluation of analytical and interpretive methodologies for the extraction and identification of lipid associated with pottery sherds from the site of Sagalassos, Turkey, *Archaeometry* 49 (4), 729-747.

+Sanchez, F. L. 2018. Caracterización de la materia orgánica de suelos y sedimentos sometidos a lluvia simulada por espectroscopia infrarroja. pp.18-22. Coruña.

+Silos Espino. H., Gallegos Vázquez, C., Mondragón Jacobo, C. Caracterización y evaluación a través de la técnica de citometría de flujo se determinó el nivel de ploidía y tamaño del genoma de 23 especies de nopal. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. Abril. 2018. México.

+Skoog D, Holler F, Crouch S. Principios de análisis instrumental. 6ta edición. México, DF: Cengage Learning; 2007.

+Tammekivi, E., Vahur, S., Kekišev, O., Van Der Werf, I. D., Toom, L., Herodes, K., & Leito, I. (2019). Comparison of derivatization methods for the quantitative gas chromatographic analysis of oils. *Analytical Methods*, 11(28), 3514–3522. <https://doi.org/10.1039/c9ay00954j>

+Tapia-Salazar, M., Ricque-Marie, D., Nieto-López, M., y L.E. Cruz-Suárez. 2008. Uso de Pigmentos de Flor de Cempasúchil (*Tagetes erecta*) como Aditivos en Alimentos para



Camarón L. vannamei. 492- 513 pp.

+Yang B. and P. Liu (2012) Composition and health effects of phenolic compounds in hawthorn (*Crataegus* spp.) of different origins. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92:1578-1590

Capítulo 7

7. Anexo

Espectros de IR-ATR de los tiestos analizados

Nota: el espectro de la muestra M3TZIB180 está en la página 40

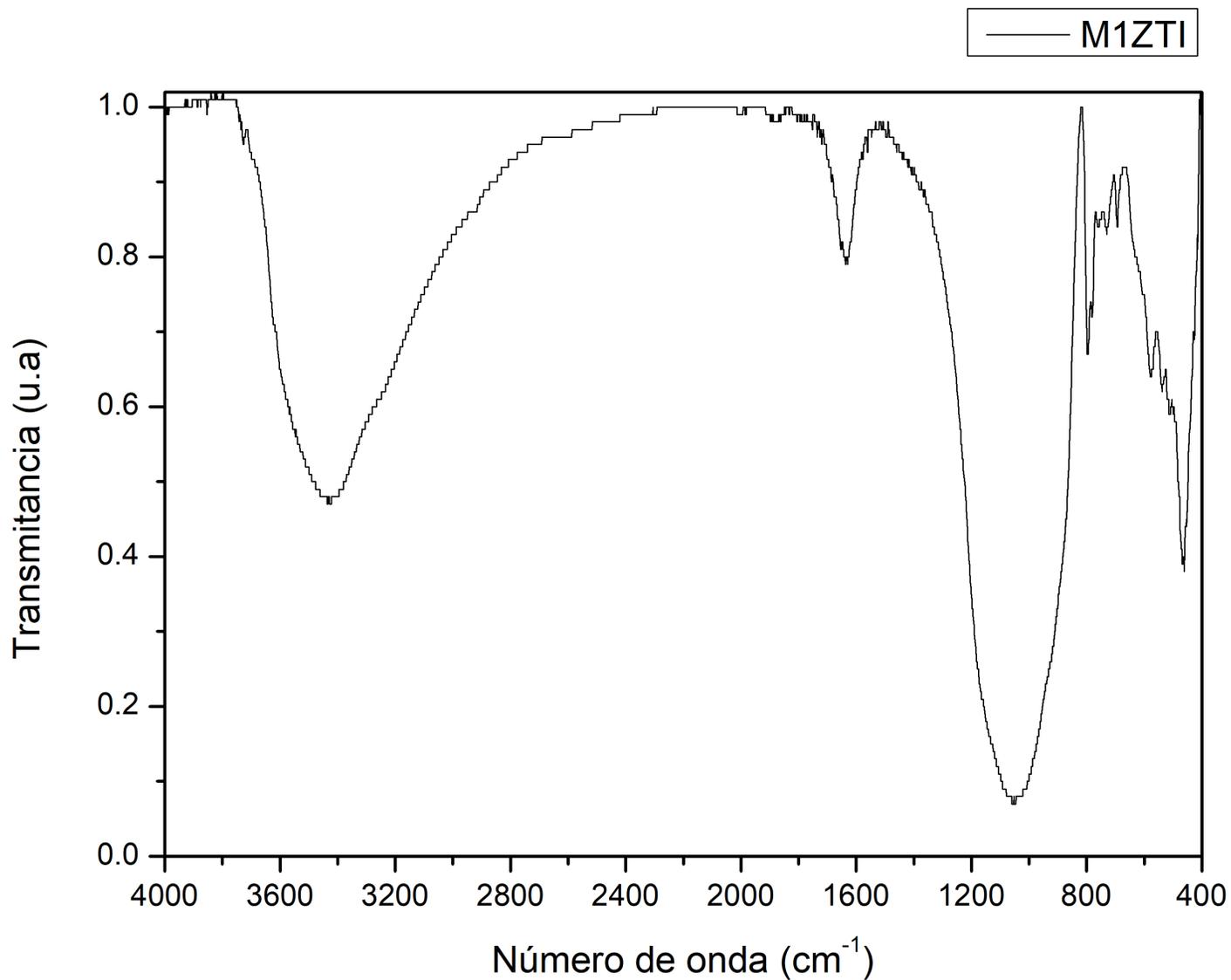


Figura 34. Espectro de la muestra M1TziB57.

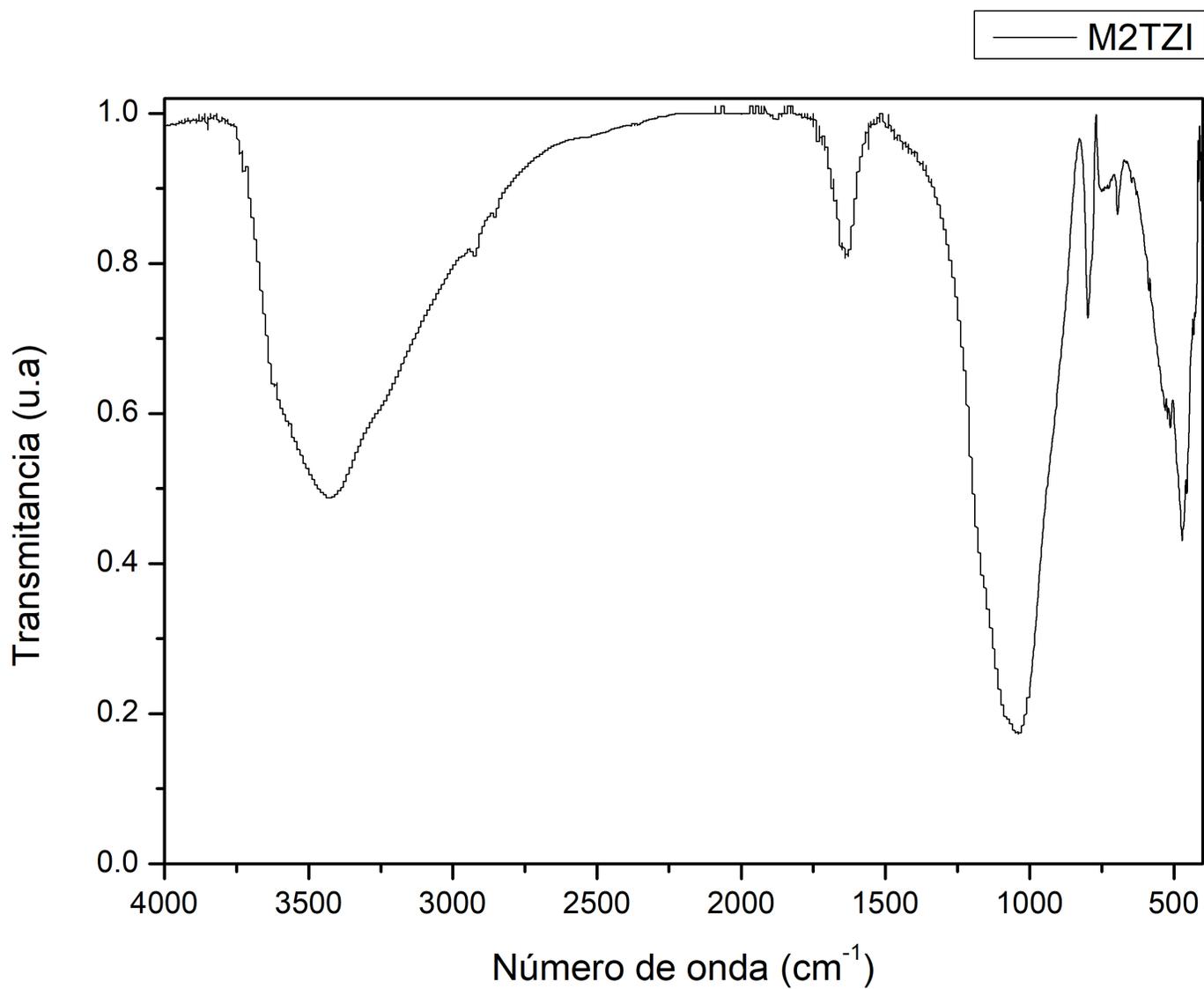


Figura 35. Espectro de la muestra M2TziB150.

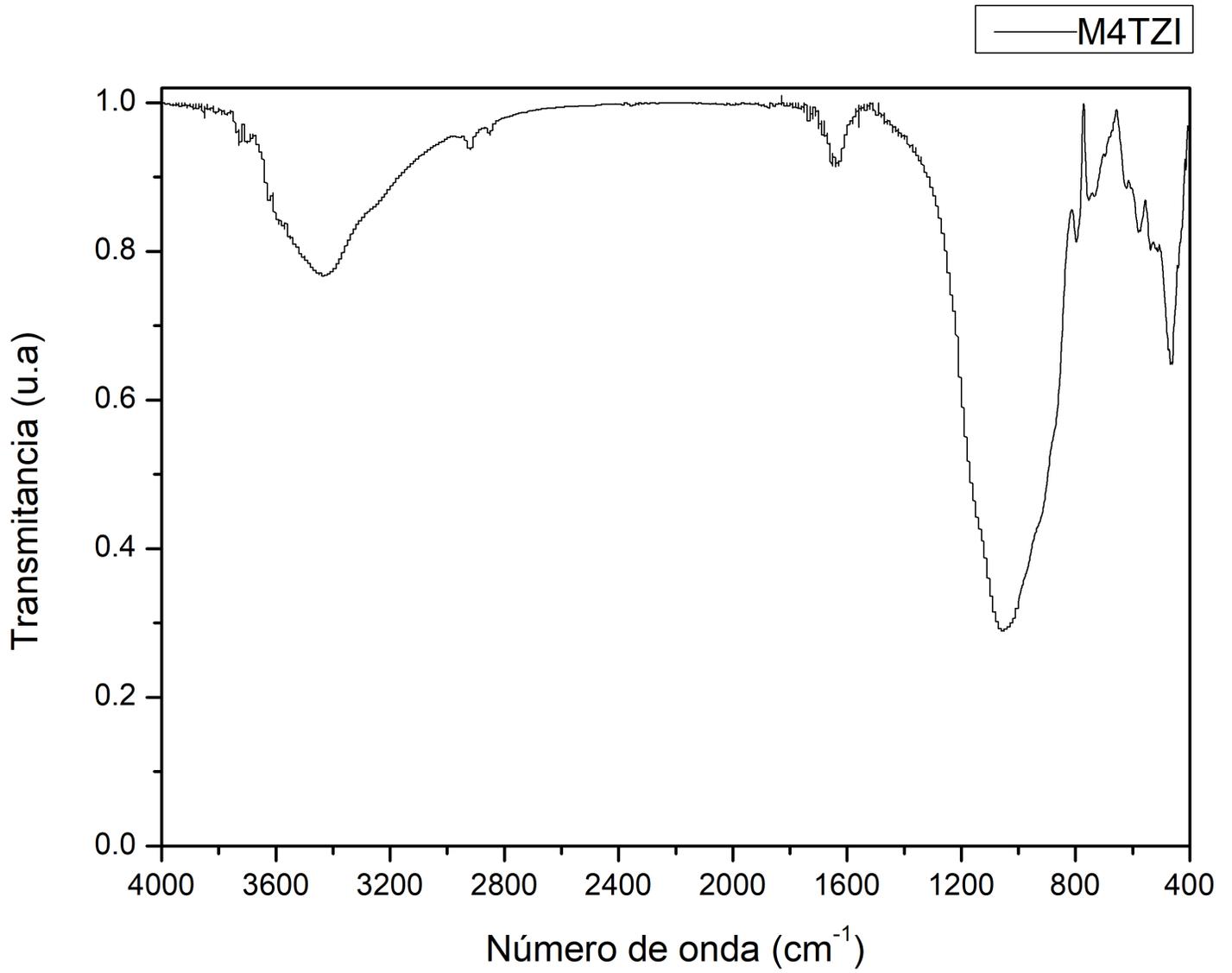


Figura 20. Espectro de la muestra M4TziB165.

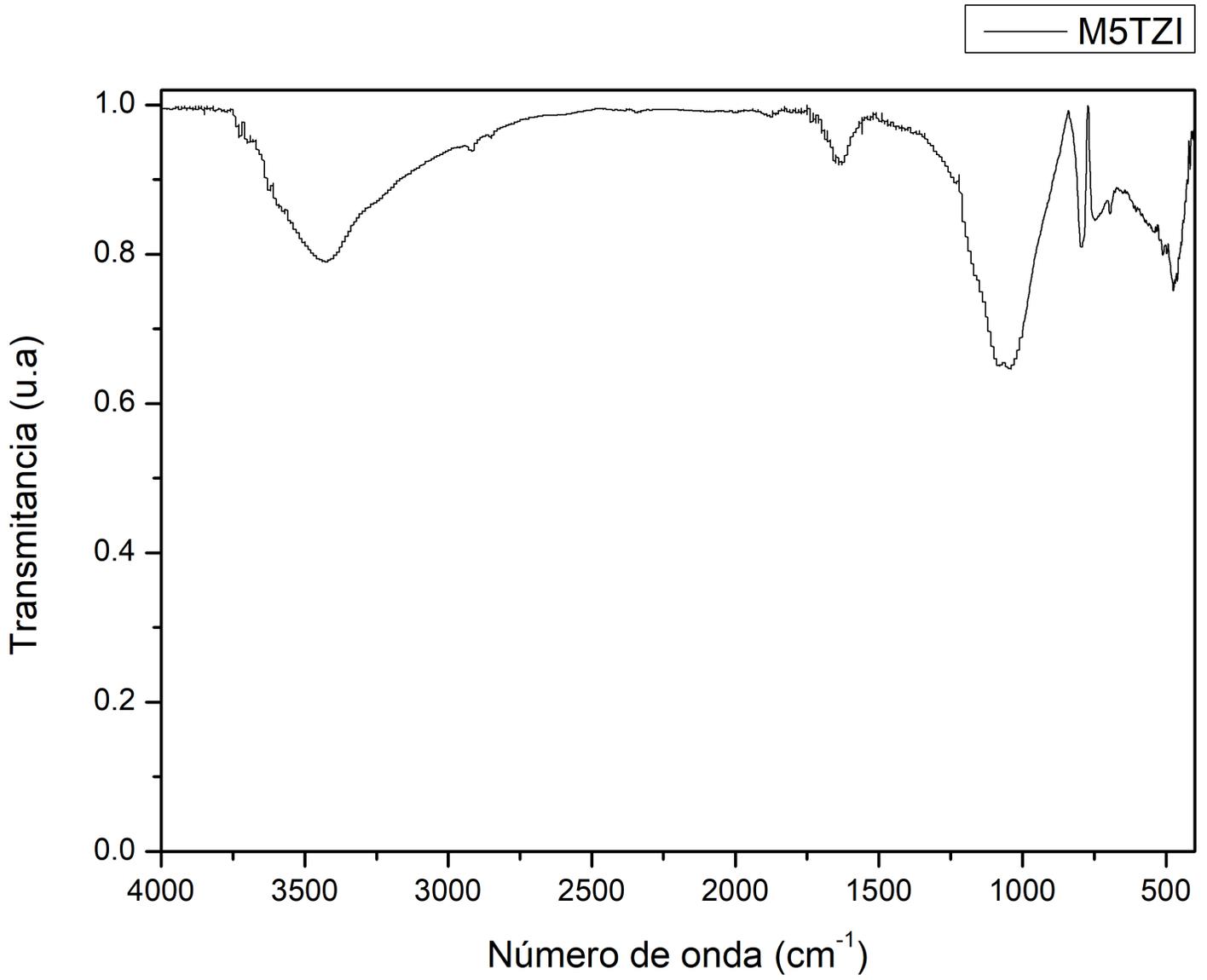


Figura 21. Espectro de la muestra M5TziB139.

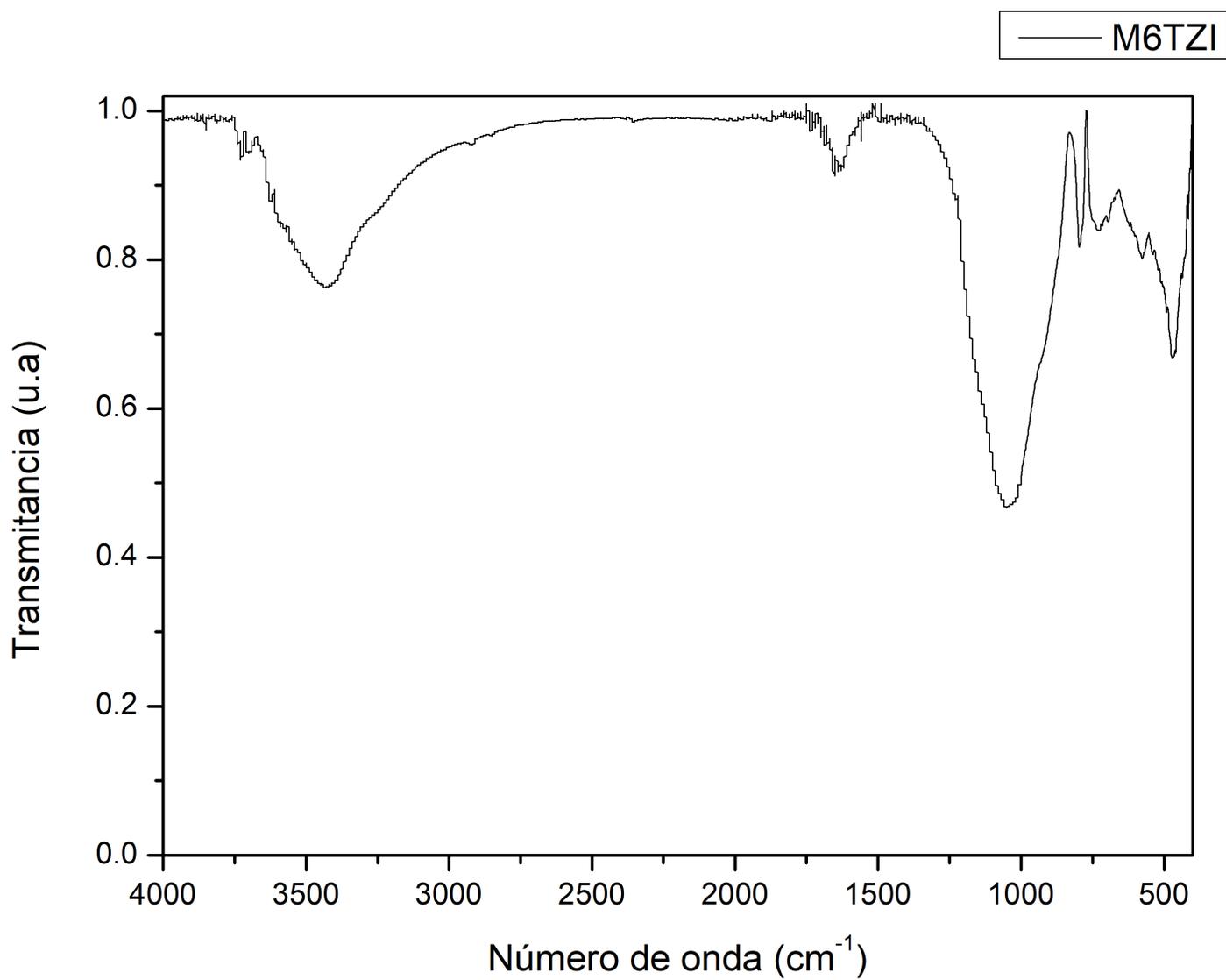


Figura 22. Espectro de la muestra M6TziB186.

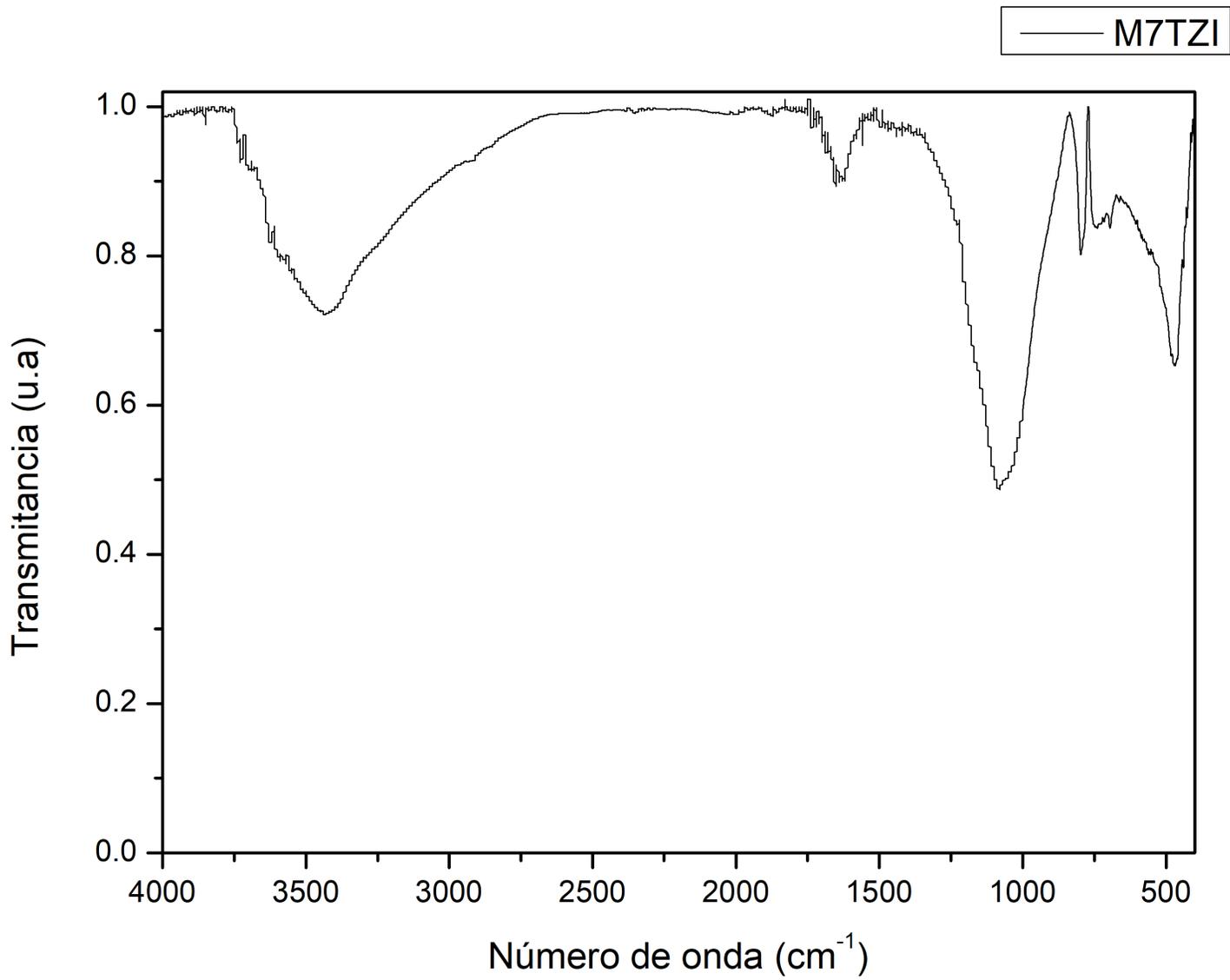


Figura 23. Espectro de la muestra M7TziB133.

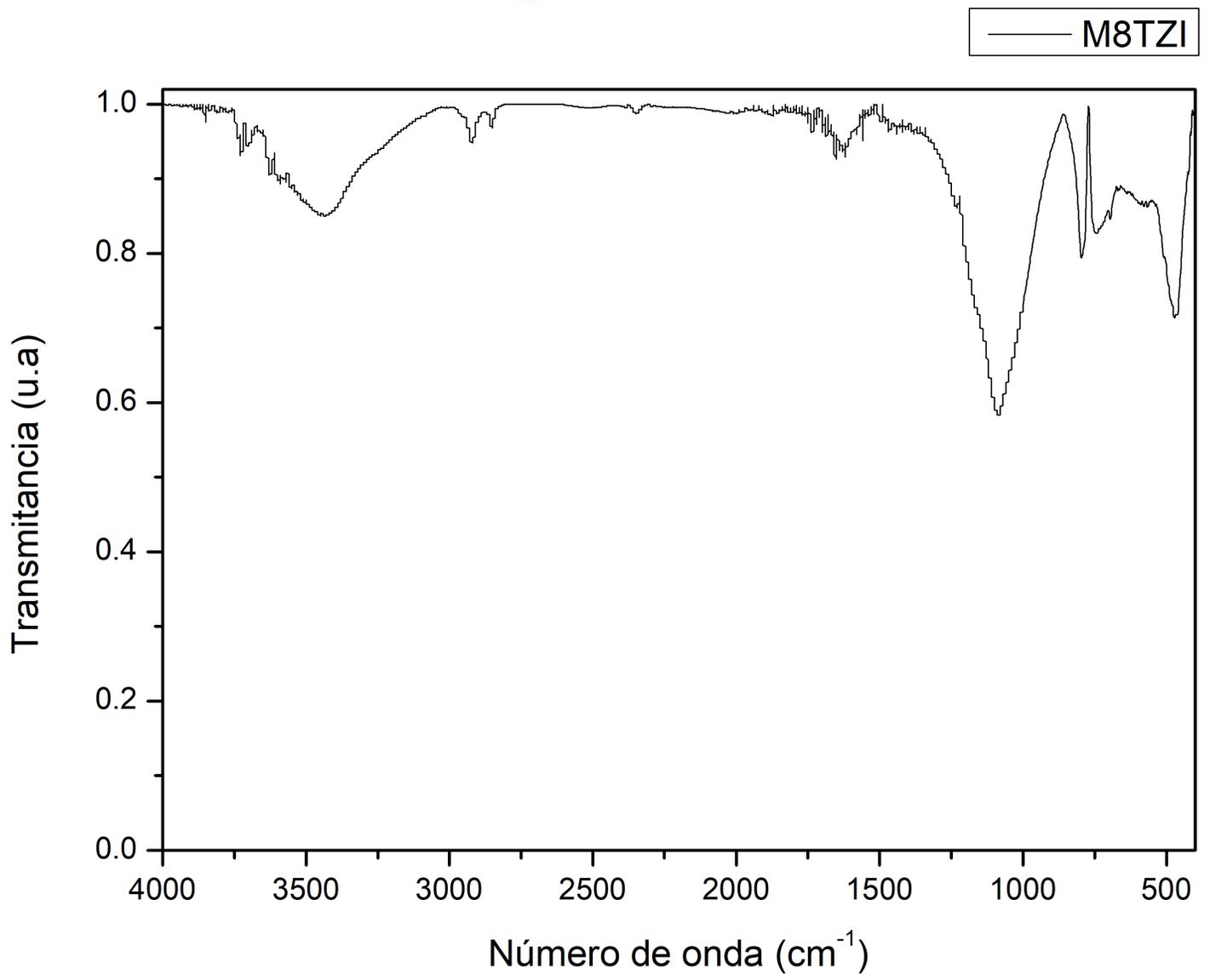


Figura 24. Espectro de la muestra M8TziB177.

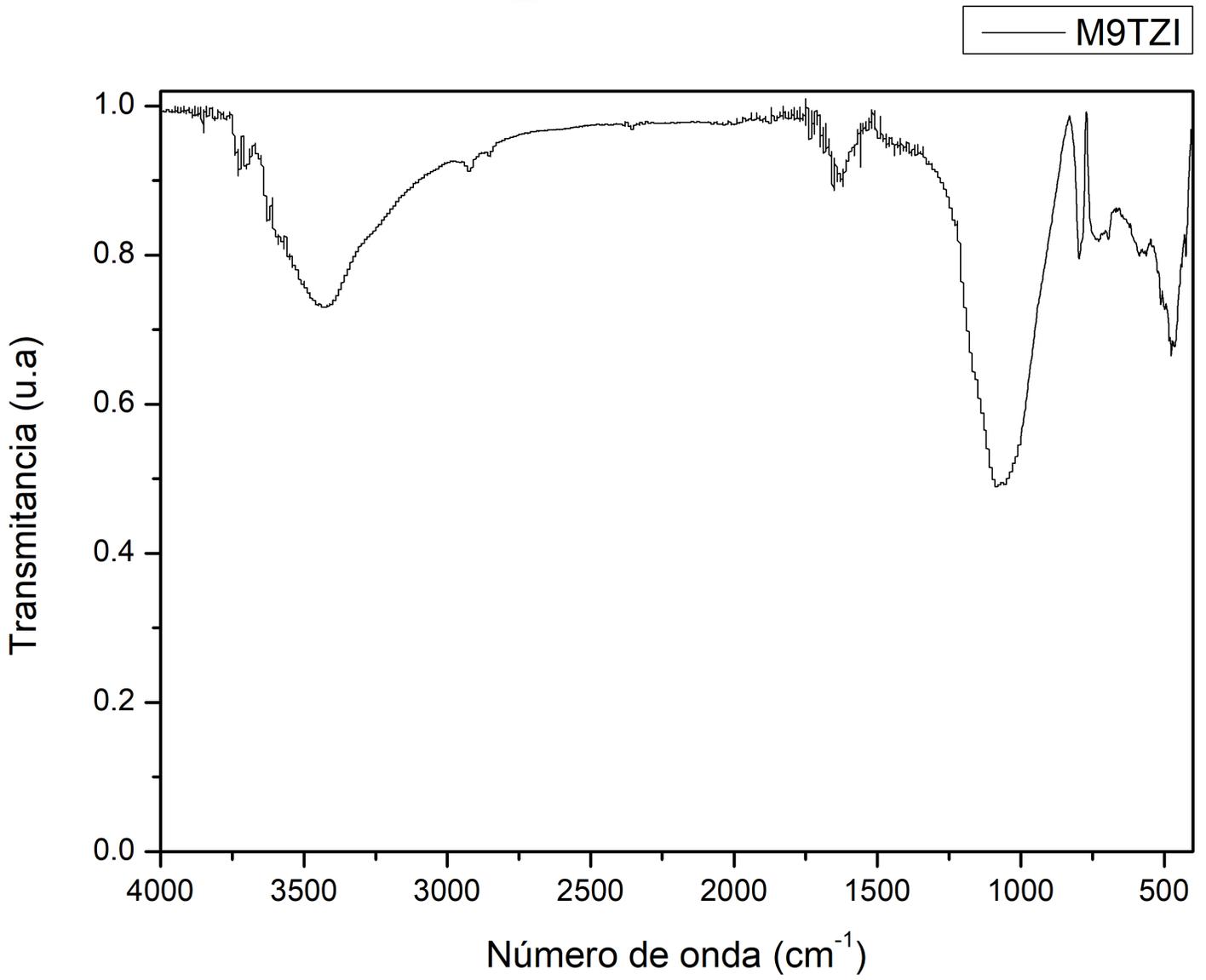


Figura 25. Espectro de la muestra M9TziB183.

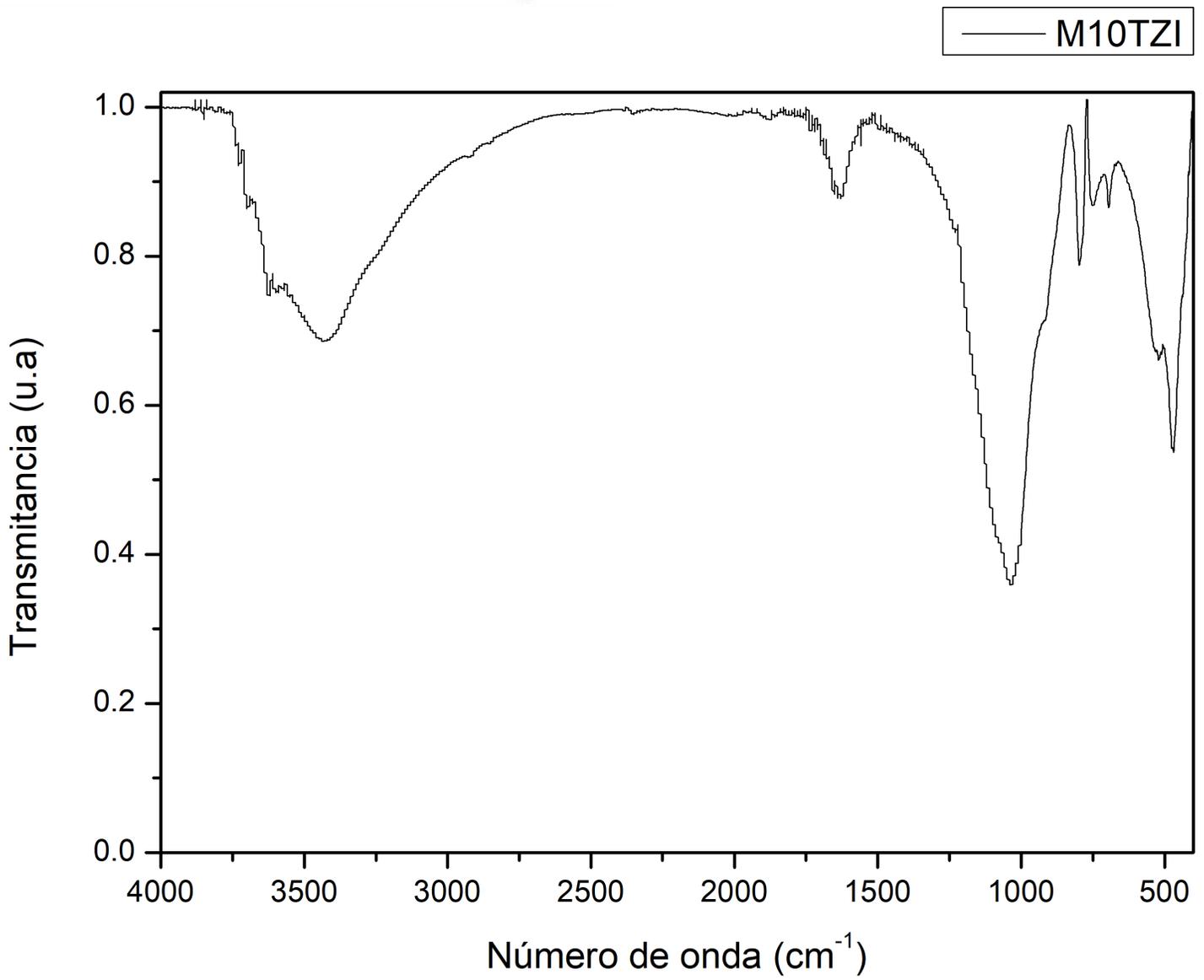


Figura 26. Espectro de la muestra M10TziB141.

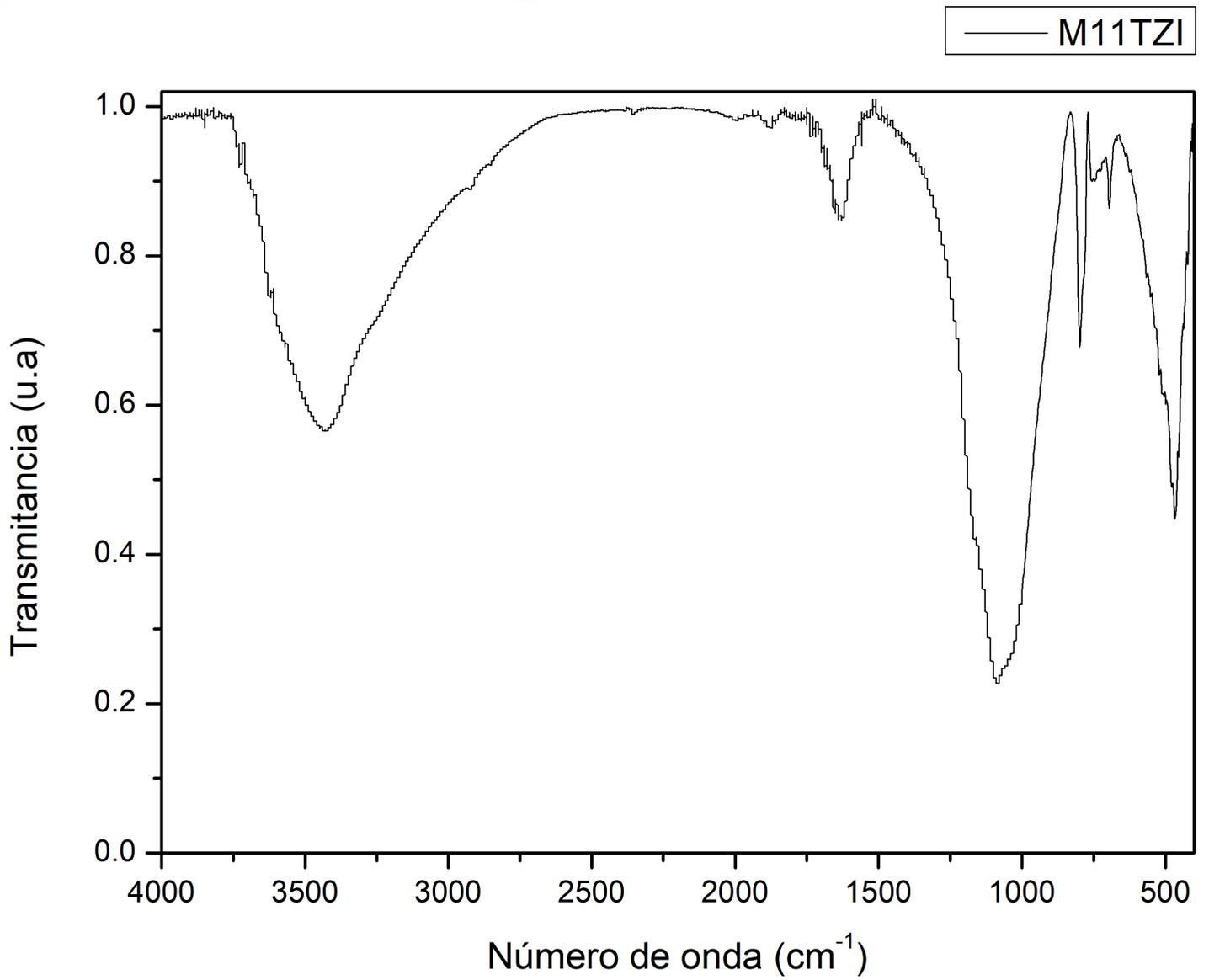


Figura 27. Espectro de la muestra M11TziB187.

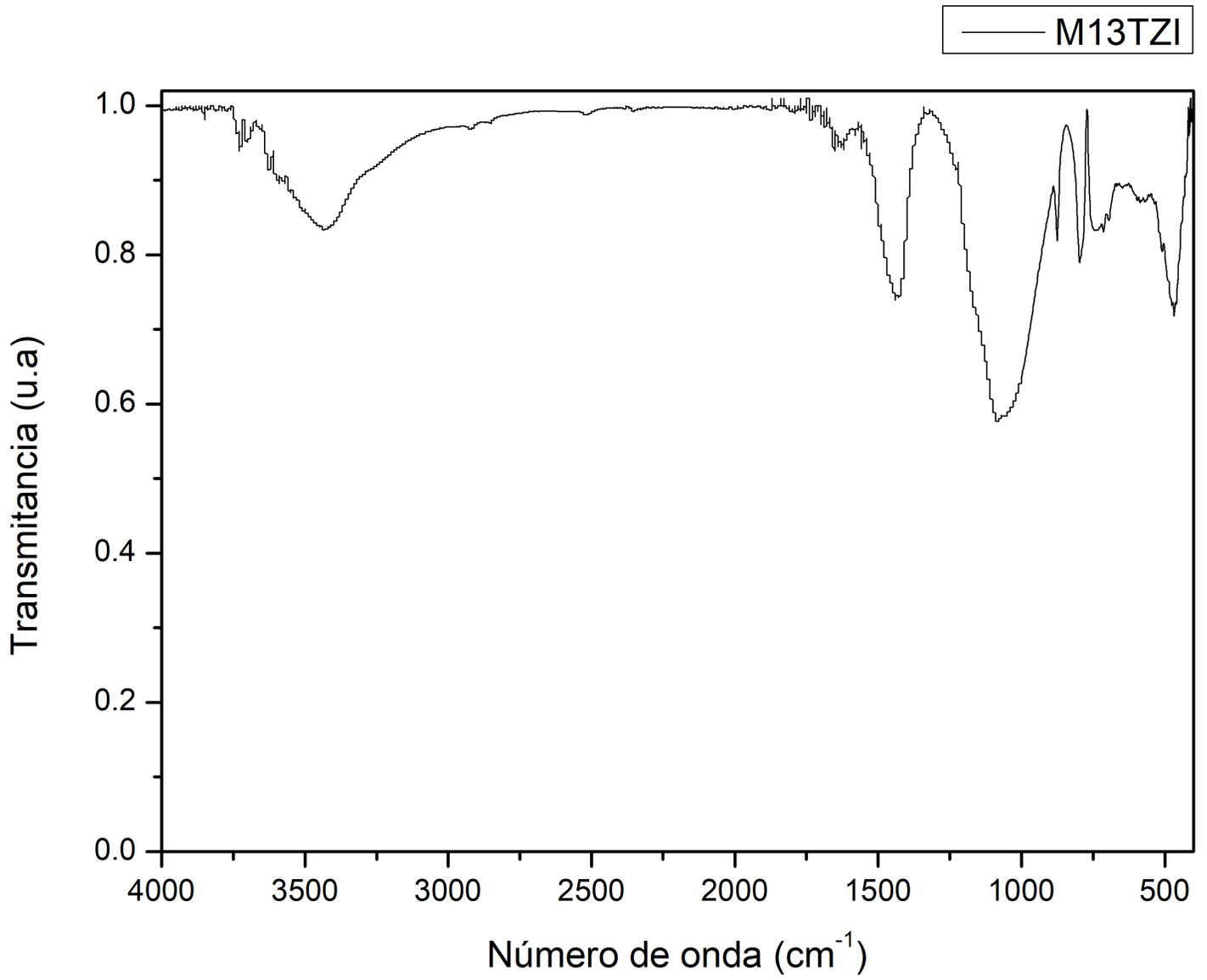


Figura 28. Espectro de la muestra M13TziB246.