



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ANÁLISIS DE BIOMARCADORES DE COPAL MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE
GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN PIEZAS
ARQUEOLÓGICAS DEL CENTRO DE VERACRUZ**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA

BRAULIO REYES SUÁREZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

2022





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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** Covarrubias Herrera María del Rosario
VOCAL: **Profesor:** Reyes Lezama Marisol
SECRETARIO: **Profesor:** León Santiago Mayra
1er. SUPLENTE: **Profesor:** Bache Ortega Emely
2° SUPLENTE: **Profesor:** Sifuentes Vázquez Luis Daniel

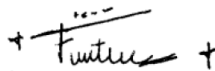
SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO NACIONAL DE CIENCIAS PARA LA INVESTIGACIÓN Y CONSERVACIÓN DEL PATRIMONIO CULTURAL (LANCIC), INSTITUTO DE QUÍMICA (IQ). UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO (UNAM).

ASESOR DEL TEMA:



MAYRA LEÓN SANTIAGO

SUPERVISOR TÉCNICO:



ROCÍO VELASCO FUENTES

SUSTENTANTE:



BRAULIO REYES SUÁREZ

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme una gran oportunidad académica, una vida cultural repleta de aprendizajes y una nueva visión del mundo que he de descubrir.

A la Facultad de Química por enseñarme lo maravilloso e interesante que es el mundo cuando entiendes los pequeños bloques que lo conforman. Y cómo puedes manipularlos.

Al Instituto de Química y el Laboratorio Nacional de Ciencias para la Investigación y Conservación del Patrimonio Cultural (LANCIC-IQ) por la oportunidad de realizar este proyecto y de descubrir una aplicación de mis conocimientos que cada día me estimula más.

A mi asesora, la M. en C. Mayra León Santiago por brindarme su asesoría y orientar mi trabajo hacia su mejor versión posible, por su tiempo, sus consejos y su conocimiento, que me permitieron crecer como profesionista y persona.

A la M. en Arqueol. Rocío Velasco Fuentes, por ayudarme a introducirme en el mundo tan sorprendente que es la arqueología, y revelarme el misterio que puede representar cada pieza de nuestro pasado. Al Museo de Antropología de Xalapa, por aprobar el préstamo de las piezas arqueológicas que se analizaron en el proyecto y a la Dra. Annick Daneels, investigadora del Instituto de Investigaciones Antropológicas de la UNAM, por las facilidades otorgadas para la obtención y el análisis de las muestras de los candeleros de La Joya.

A los demás miembros del LANCIC-IQ y especialmente a las Doctoras Marisol Reyes Lezama y María del Rosario Covarrubias Herrera por sus comentarios, críticas y apoyo para el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Ricardo Reyes Chilpa del Dpto. de Productos Naturales del Instituto de Química de la UNAM y a la M. en C. Dulce Yehimi López Miranda del Doctorado en Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias de la UNAM por proporcionarnos la muestra de resina de *Bursera bipinnata*.

A los profesores de la Facultad de Química que me guiaron, enseñaron y acompañaron durante mi desarrollo profesional: M. Emely Baché Ortega, M. en C. Zurisadai Padilla Gómez, Dr. Paulino Guillermo Zerón Espinosa, Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar, Dra. Norma Angélica Macías Ruvalcaba, Dr. Amado Salvador Granados Aguilar (Q.E.P.D.), Dr. José Oscar Humberto Pérez Rosas, Dr. Marco Polo Jiménez Segura, Dra. Claudia Paola Gómez Tagle Chávez.

A los profesores de la Escuela Preparatoria de la Universidad La Salle, quienes cultivaron en mí la pasión por la química y el deseo de hacer de ella algo central para el resto de mi vida Q.F.B. Enrique Bouchot Gamas y M. en C. e I. M. Abel Humberto Cortés Arce.

ÍNDICE

I.	Resumen.....	1
II.	Introducción.....	2
III.	Antecedentes.....	3
	3.1. Arqueometría.....	3
	3.2. Biomarcadores Arqueológicos.....	4
	3.3. Copal.....	5
	3.3.1 Origen Biológico.....	5
	3.3.2 Distribución Geográfica.....	6
	3.3.3 Recolección.....	8
	3.3.4 Marcadores de Copal.....	9
	3.3.5 Biosíntesis de los marcadores.....	9
	3.3.6 Uso ritualístico en las culturas mesoamericanas.....	12
	3.4. Estudios previos.....	13
	3.5. Sitios Arqueológicos.....	14
	3.5.1 Nopiloa.....	14
	3.5.2 La Joya.....	15
	3.5.3 El Zapotal.....	16
	3.6. Piezas.....	16
	3.6.1 Probetas.....	19
	3.7. Preparación de Muestras.....	20
	3.7.1 Extracción Asistida por Ultrasonido.....	21
	3.8. Técnicas Analíticas.....	22
	3.8.1 Espectroscopía Infrarroja de Transformada de Fourier de Reflectancia Total Atenuada (ATR-FTIR).....	23
	3.8.2 Cromatografía de Gases (CG).....	23
	3.8.3 Detector de Espectrometría de Masas (EM).....	26
	3.9. Diseño de Experimentos.....	27
	3.9.1 Diseño 2 ^k	27
IV.	Justificación.....	29
V.	Hipótesis.....	30
VI.	Objetivos.....	30
	6.1. Objetivo General.....	30
	6.2. Objetivos Particulares.....	30
VII.	Desarrollo experimental.....	31
	7.1. Materiales y Equipos.....	31
	7.1.1 Materiales.....	31
	7.1.2 Equipos e infraestructura.....	31
	7.1.3 Reactivos y disolventes.....	31
	7.1.4 Muestras.....	32
	7.2. Métodos.....	32
	7.2.1 Selección de las piezas.....	32
	7.2.2 Obtención de las muestras.....	32
	7.2.3 Extracción Asistida por Ultrasonido: Método Preliminar.....	33
	7.2.4 Extracción Asistida por Ultrasonido: Optimización.....	33
	7.2.5 Método optimizado.....	35
	7.2.6 Método cromatográfico.....	35

7.2.7	Controles	36
7.2.8	Análisis por ATR-FTIR	37
7.2.9	Método para probeta	37
VIII.	Resultados y discusión	38
8.1.	Optimización del método de extracción	38
8.2.	Análisis por ATR-FTIR	42
8.3.	Biomarcadores de copal	44
8.4.	Otros biomarcadores	45
8.4.1	Marcadores de combustión	45
8.4.2	Marcadores de Resinas y Madera	46
8.4.3	Hipótesis del Chile	49
8.4.4	Probetas	53
8.5.	Resultados Generales	56
8.6.	Piezas de La Joya	57
8.7.	Piezas de El Zapotal y Nopiloa	60
8.7.1	Tapa 39-12889	60
8.7.2	Tapa 41-12892	61
8.7.3	Brasero 65-12450 (Borde) y 66-12450 (Fondo)	62
8.7.4	Tapa 21-5045	63
IX.	Conclusiones	64
X.	Perspectivas	64
XI.	Referencias	65
I.	Anexo: Ejemplos de cromatogramas obtenidos de piezas y blancos y listas de compuestos por pieza	i

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS

Ilustración III-1.	Reconstrucción de la momia de Similaun, analizada mediante CG-EM por Varmuza et al. (2005)	3
Ilustración III-2.	Tapa (A) y base (B) de un sarcófago con una capa de resina negra analizada mediante CG-EM.	3
Ilustración III-3.	Resinas de copal de distintos orígenes	5
Ilustración III-4.	Diferentes tipos de copal	6
Ilustración III-5.	Diversidad de Bursera en la República Mexicana.	6
Ilustración III-6.	Hojas de Bursera bipinnata.	7
Ilustración III-7.	Detalle del tronco de B. simaruba	8
Ilustración III-8.	Detalle del tronco de B. simaruba que muestra la recolección de copal mulato.	8
Ilustración III-9.	Estructura química de a) α -amirina b) β -amirina c) lupeol d) α -amirona e) β -amirona f) lupenona.	9
Ilustración III-10.	Isopreno	9
Ilustración III-11.	Regla del Isopreno: enlace cabeza-cola.	9
Ilustración III-12.	Estructura de a) Dimetilalil pirofosfato (DMAPP) b) Isopentil pirofosfato (IPP).	9

Ilustración III-13. a) Formación del Farnesil pirofosfato (FPP) por condensación de 3 moléculas de isopentil pirofosfato (IPP). b) Formación del escualeno por condensación de 2 moléculas de FPP.....	10
Ilustración III-14. Adquisición de la configuración silla-silla-silla-bote del escualeno previa a su ciclación.....	10
Ilustración III-15. Síntesis de diferentes cationes intermediarios durante la ciclación del escualeno.	11
Ilustración III-16. Reacciones finales para la biosíntesis de lupeol y amirinas..	11
Ilustración III-17. Representación del uso de copal con fines medicinales en braseros y sahumeros en el Códice Florentino.....	12
Ilustración III-18. Mural del sitio arqueológico de Bonampak en Chiapas, pintado con azul maya.	12
Ilustración III-19. Figurillas sonrientes del centro de Veracruz. Izquierda: Figurilla de El Zapotal (38 x 29 cm). Derecha: Figurilla de Nopiloa (14 x 16 cm).....	14
Ilustración III-20. Izquierda: Mapa que muestra la ubicación geográfica de los sitios El Zapotal y Nopiloa. Derecha: Mapa que muestra la ubicación geográfica del sitio La Joya.	15
Ilustración III-21. Altar policromático en barro sin cocer a Mictlantecuhtli en El Zapotal.....	16
Ilustración III-22. Representación de un brasero con copal en el Códice Borbónico.	16
Ilustración III-23. Representación de la quema de copal en sahumeros en el Códice Florentino.....	16
Ilustración III-24. Candelero teotihuacano.....	17
Ilustración III-25. Tapa 50-12522 proveniente de El Zapotal.	17
Ilustración III-26. De izquierda a derecha: a) Vista completa de la tapa 12889. b) Detalle de la parte superior de la tapa 12889. c)Tapa 12892 sostenida por la parte más angosta. d)Tapa 12892 sostenida por la parte más ancha. Todas las piezas provenientes de El Zapotal.....	18
Ilustración III-27. Brasero 12450 paredes (izq. y der.) y fondo (centro), El Zapotal.	18
Ilustración III-28. De izq. a derecha: Vista completa de la Tapa 5045 de frente. Vista completa de la tapa de lado. Vista del interior de la tapa. Proveniente de Nopiloa.	18
Ilustración III-29 Candelero 1 (izquierda) y 2 (derecha), La Joya.....	19
Ilustración III-30. Mecanismo del efecto de la cavitación de burbujas sobre la superficie de un objeto.....	21
Ilustración III-31. Micrografías de barrido electrónico que muestran el efecto del Ultrasonido en semillas de alcaravea.	22
Ilustración III-32. Cristal de ATR-FTIR.	23
Ilustración III-33. Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas marca Agilent.....	24
Ilustración III-34. Componentes principales de un cromatógrafo de gases.	24
Ilustración III-35. Partes de un inyector Split-Splitless.....	25
Ilustración III-36. Esquema de un espectrómetro de masas de sector magnético.....	26
Ilustración III-37. Funcionamiento de un analizador cuadrupolar.....	26
Ilustración III-38. Representación geométrica de un diseño factorial 2^3	28
Ilustración VII-1. Muestreo de las piezas arqueológicas realizado por la M. en Arqueol. Rocío Velasco Fuentes.....	33
Ilustración VII-2. Baño Ultrasónico Elma Easy Elmasonic 60 H.....	33
Ilustración VII-3. Programa de temperatura utilizado para el análisis cromatográfico.	36
Ilustración VIII-1. Gráfica de pareto, de efectos principales y de interacción para la primera optimización.	38
Ilustración VIII-2.Gráfica de pareto, de efectos principales y de interacción para la segunda optimización.	39

Ilustración VIII-3. Cromatogramas sobrepuestos de la tapa 21-5045, de Nopiloa. En verde se observa el cromatograma obtenido por el método optimizado y en negro, el obtenido por el método original.	41
Ilustración VIII-4. Estructura química del Tris-(2,4-diterbutilfenil) fosfito (Irgafos 168).....	42
Ilustración VIII-5. Espectro de IR de la pieza 41-12892 previo a su extracción.	42
Ilustración VIII-6. Espectro de IR de la pieza 41-12892 posterior a su extracción.....	43
Ilustración VIII-7. Espectro de IR del extracto orgánico de la pieza 41-12892.....	43
Ilustración VIII-8. Acetato de lupeol y acetato de β -amirina.....	44
Ilustración VIII-9. Ursa-9(11),12-dien-3-ol y Ursa-9(11),12-dien-3-ona.....	44
Ilustración VIII-10. Uso del humo de chile como castigo para los niños en la Historia General de las cosas de la Nueva España.....	49
Ilustración VIII-11. 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato.....	49
Ilustración VIII-12. Capsaicina.....	50
Ilustración VIII-13. Sustitución de la porción alifática de la capsaicina.	50
Ilustración VIII-14. Hidrólisis del enlace amida de la capsaicina para generar vainillilamina (a) y ácido nonanóico (b).....	50
Ilustración VIII-15. Oxidación enzimática de la vainillilamina.....	51
Ilustración VIII-16. Degradación radicalaria de la vainillilamina generada por el radical $O_2 \cdot -$	51
Ilustración VIII-17. Degradación radicalaria de la vainillilamina generada por el radical $HO \cdot$. 51	51
Ilustración VIII-18. Degradación radicalaria de la vainillilamina para formar nitrilos..	52
Ilustración VIII-19. Propuesta de formación de salicilatos.	52
Ilustración VIII-20. Catecoles y salicilatos encontrados en las piezas arqueológicas. (a) 2-etilhexil salicilato (b) n-hexil salicilato (c) n-pentil salicilato (d) o-(4-metoxibenzoil)-o'-(5-valeril)-1,2 bencenodiol (e) 3,4 dihidroxifenilglicol.....	52
Ilustración VIII-21. Cromatogramas de la probeta original y quemada	54
Ilustración VIII-22. a) Programa de temperatura de prueba. b) Cromatograma de la probeta quemada utilizando el segundo programa de temperatura.	55
Ilustración VIII-23. Cromatograma de la probeta original, split 10:1. Énfasis en los minutos 32 a 39.....	55
Ilustración VIII-24. Cromatograma de la probeta quemada, split 50:1. Énfasis en los minutos 32 a 39.....	56
Ilustración VIII-25. Cromatogramas del Candelero 1. Cámara 1, Cámara 2 y Tierra.	58
Ilustración VIII-26. Cromatogramas del Candelero 2. Cámara 1, Cámara 2 y Tierra.	59
Ilustración VIII-27. Cromatograma de la Tapa 39-12889 de El Zapotal.....	60
Ilustración VIII-28. Cromatograma de la Tapa 41-12892 de El Zapotal.....	61
Ilustración VIII-29. Cromatogramas del Brasero 12450 de El Zapotal. Borde y Fondo.....	62
Ilustración VIII-30. Cromatograma de la Tapa 21-5045 de Nopiloa.....	63

TABLAS

Tabla III-1. Claves de identificación de las piezas estudiadas.	19
Tabla VII-1. Variables de prueba y sus valores para la primera optimización.....	33
Tabla VII-2. Diseño aleatorizado para la primera optimización.....	34
Tabla VII-3. Variables de prueba y sus valores para la segunda optimización.	35
Tabla VII-4. Diseño aleatorizado para la segunda optimización.	35
Tabla VIII-1. PAHs utilizados como marcadores de combustión.	45
Tabla VIII-2. Marcadores de resinas, madera y otras especies.....	46

Tabla VIII-3. Distribución de posibles marcadores de chile en las piezas arqueológicas.	53
Tabla VIII-4. Distribución de marcadores en las probetas.	54
Tabla VIII-5. Resumen de todos los biomarcadores encontrados en las piezas arqueológicas.	56
Tabla VIII-6. Resumen de todos los biomarcadores encontrados en las piezas arqueológicas (Continuación).....	57
Tabla VIII-7. Distribución de biomarcadores en candeleros de La Joya.	58
Tabla VIII-8. Distribución de biomarcadores en la Tapa 39-12889 de El Zapotal.....	60
Tabla VIII-9. Distribución de biomarcadores en la Tapa 41-12892 de El Zapotal.....	61
Tabla VIII-10. Distribución de biomarcadores en el Braseró 12450 de El Zapotal.....	62
Tabla VIII-11. Distribución de biomarcadores en la Tapa 21-5045 de Nopiloa.	63

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
AcOEt	Acetato de etilo	MeOH	Metanol
ATR-FTIR	Espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier de reflectancia total atenuada (<i>Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)	mg	Miligramos
C	Carbono	min	Minutos
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	mL	Mililitros
cm	Centímetros	msnm	Metros sobre el nivel del mar
cm/s	Centímetros por segundo	N	Número de platos teóricos
CoA	[Acetil] Coenzima A	NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
DCM	Diclorometano	O ₂	Oxígeno (molecular)
DMAPP	Dimetil alil pirofosfato	PAHs	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (<i>Policyclic Aromatic Hydrocarbons</i>)
E.C.	Clasificación de Enzimas (<i>Enzyme classification</i>)	pm	Picómetros
EAU	Extracción asistida por ultrasonido	PTV	[Inyector de] temperatura de vaporización programable (<i>Programmable Temperature Vaporizing</i>)
EAM	Extracción asistida por microondas	Q	Cuadrupolo (<i>Quadrupole</i>)
ECD	Detector de captura de electrones (<i>Electron Capture Detector</i>)	rpm	Rotaciones por minuto

eV	Electrón Volts	SCOT	Columna tubular abierta de soporte recubierto (<i>Support Coated Open Tubular Column</i>)
FID	Detector de Ionización de Flama (<i>Flame Ionization Detector</i>)	SPE	Extracción en Fase Sólida (<i>Solid Phase Extraction</i>)
FPP	Farnesil pirofosfato	SPME	Micro Extracción en Fase Sólida (<i>Solid Phase Micro Extraction</i>)
H	Altura de plato teórico	spp.	Especies
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)	tr	Tiempo de retención
HXN	Hexano	TOF	Tiempo de Vuelo (<i>Time of Flight</i>)
INAH	Instituto Nacional de Antropología e Historia	UV	Ultravioleta
IPP	Isopentenil pirofosfato	UNESCO	Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura. (<i>United Nations Educational, Scientific & Cultural Organization</i>)
K	Kelvin	V	Volts
kHz	Kilo Hertz	WCOT	Columna tubular abierta de pared recubierta (<i>Wall Coated Open Tubular Column</i>)
km	Kilómetros	WM	[Rearreglo de] Wagner-Meerwein
MAX	Museo de Antropología de Xalapa	μL	Microlitros
m	Metros	μm	Micrómetros
m/z	[Relación] masa/carga		

I. RESUMEN

Como parte del estudio del patrimonio cultural mexicano y en apoyo al continuo descubrimiento de nuestro pasado indígena, se estudiaron 6 piezas arqueológicas, que incluyen braseros, candeleros y tapas provenientes de la región central de Veracruz. Los sitios de origen específicos son La Joya, El Zapotal y Nopiloa, todos pertenecientes al periodo Clásico Veracruzano (100-900 d.C.).

Las muestras se trataron raspando el interior de las piezas, obteniendo un polvo fino y posteriormente, se realizó una extracción con disolventes orgánicos asistida por ultrasonido (EAU). El método fue optimizado a partir de uno ya existente variando parámetros como: tipo de disolvente, número de extracciones, tiempo de sonicación y volumen de disolvente; los resultados se analizaron siguiendo un diseño de experimento 2³. Los extractos orgánicos fueron analizados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). El polvo obtenido fue analizado mediante espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier de reflectancia total atenuada (ATR-FTIR), para comparar sus espectros previa y posteriormente a la extracción orgánica, aunque se encontró que, debido a la cantidad tan pequeña de materia orgánica que poseen, no es posible obtener información relevante de éstos. Se realizó y analizó una probeta de resina de copal previa y posteriormente a sufrir un proceso de combustión, permitiendo identificar cambios químicos en los marcadores, así como nuevas moléculas que pueden funcionar como marcadores de copal de *Bursera* spp.

Con el método optimizado, se observó la presencia de triterpenos que pueden asociarse a resinas de copal del género *Bursera*. De manera fortuita, el método también permitió identificar marcadores de resinas de la familia Pinaceae, del género *Commiphora*, de combustión y, posiblemente, de huesos y chile.

II. INTRODUCCIÓN

Los sitios de Nopiloa, La Joya y El Zapotal, pertenecientes al periodo Clásico Veracruzano (100 d.C. – 900 d. C.) (Stark, 2010; Tiesler *et al.*, 2013). son de gran importancia para el conocimiento de la región central de Veracruz. Los primeros dos, Nopiloa y La Joya, se caracterizan por haber sido sitios con dominio político en su momento, mientras que el tercero, El Zapotal, es mayormente conocido por el santuario dedicado a Mictlantecuhtli donde se encuentra una representación policromática de éste, realizada en barro sin cocer (Wyllie, 2010).

El estudio de estos sitios, a pesar de haber comenzado a mediados del siglo pasado (1953), estuvo pausado por mucho tiempo. Las piezas obtenidas en las exploraciones originales estuvieron resguardadas en las bodegas del Museo de Antropología de Xalapa (MAX), Veracruz hasta que proyectos como la Tesis de Doctorado de la M. en Arqueol. Rocío Velasco Fuentes: “Análisis de los quemadores de incienso del Centro de Veracruz” (en prensa), retomaron su estudio, dándoles la importancia que merecen.

Algunas piezas obtenidas de estos sitios representan un problema arqueológico debido a que se desconoce con exactitud la función que pudieron llevar a cabo. La forma, la decoración y el contexto en el que fueron descubiertos, dan indicios de que pudieron haber sido utilizados como quemadores de manera ritual, siendo la resina de copal un elemento fundamental en estos actos. Los objetos estudiados en esta tesis son parte de un conjunto mayor de piezas pertenecientes a un proyecto conjunto entre el LANCIC-IQ y el proyecto doctoral avalado por el MAX y el Instituto Nacional de Antropología e Historia (INAH) de la M. en Arqueol. Rocío Velasco Fuentes mencionado anteriormente.

En la actualidad, las técnicas analíticas de gran sensibilidad como la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas son capaces de brindar información sobre el contenido de los recipientes, lo que permite corroborar hipótesis sobre el uso de este tipo de piezas. Teniendo en cuenta esto, se desarrolló una metodología optimizada para el análisis de piezas que contienen restos de materia orgánica que puede servir como evidencia del uso que se le dio a los contenedores, debido a que biomarcadores de resinas de copal pudieron ser detectados en cantidades de muestra del orden de miligramos (mg).

III. ANTECEDENTES

3.1. ARQUEOMETRÍA

“Arqueometría” es un término relativamente moderno, introducido en 1958, que describe a la disciplina que aplica principios y métodos científicos a la caracterización de materiales relacionados con el Patrimonio Cultural (Artioli, 2010; Martín-Torres *et al.*, 2015). El estudio de este patrimonio, materializado en objetos producidos por las diversas culturas prehispánicas que habitaron la región que ahora ocupa México, puede hacer uso de técnicas analíticas comunes en la química como un recurso para el entendimiento más profundo de nuestro pasado, así como para la planeación de técnicas de conservación y restauración. En México, la arqueometría es una disciplina joven, sin embargo, existen diversos centros de investigación a lo largo del territorio nacional dedicados a desarrollarla (Molina-Vázquez, 2014).



Ilustración III-1. Reconstrucción de la momia de Similau, analizada mediante CG-EM por Varmuza *et al.* (2005). Foto del usuario: 120, Wikimedia Commons, [CC BY-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/)

La amplia variedad de objetos que son estudiados mediante la arqueometría vuelve necesaria la implementación de técnicas poco invasivas y que sean adaptables al propio objeto. Entre éstas se encuentran la difracción de rayos X, para sustancias cristalinas como cerámicas, pigmentos, piedras y metales; espectrometría de absorción atómica para el estudio de la composición elemental; espectrometría de emisión óptica, para el análisis de bronce, cerámica y obsidiana; fluorescencia de rayos X y activación de neutrones. Es imposible enlistar todas las técnicas que han sido utilizadas o que serán utilizadas en el análisis del Patrimonio Cultural, pues cada pieza es tan única como el análisis que necesita (Artioli, 2010; Hall, 1970).

En este contexto, la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) ha demostrado ser una herramienta valiosa para el estudio de elementos arqueológicos encontrados en distintas partes del mundo y con una versatilidad que va desde el análisis de aceite recolectado de vasijas en el Mediterráneo, (Condamin *et al.*, 1976) hasta restos momificados de distintos orígenes (Varmuza *et al.*, 2005) (Ilustración III-1). En muestras biológicas, la CG-EM resulta de vital importancia debido a que permite una separación eficaz de los componentes, la elucidación estructural de compuestos desconocidos y la identificación inmediata de compuestos conocidos (Surowiec, 2008). La técnica de CG-EM, con algunos tratamientos previos de la muestra, ha sido utilizada exitosamente por algunos autores (Abdelmoniem *et al.*, 2020; Hayek *et al.*, 1991; Surowiec, 2008) para la búsqueda de marcadores para la identificación de resinas y pegamentos (Ilustración III-2), por lo que su aplicación al estudio del copal resulta evidente.

En este contexto, y de acuerdo con lo definido por la fundación ILAM (Instituto Latinoamericano de Museos y Parques) para el patrimonio Latinoamericano, se entiende por Patrimonio Cultural al “conjunto de bienes tangibles e intangibles que constituyen la herencia de un grupo humano, que refuerzan emocionalmente su sentido de comunidad con una identidad propia y que son percibidos por otros como característicos” (ILAM, n.d.). En México, se define como



Ilustración III-2. Tapa (A) y base (B) de un sarcófago con una capa de resina negra analizada mediante CG-EM. (Abdelmoniem *et al.* 2020)

Patrimonio Cultural lo establecido en la Declaración de México sobre Políticas Culturales: “[...] Las obras materiales y no materiales que expresan la creatividad de ese pueblo: la lengua, los ritos, las creencias, los lugares y monumentos históricos, la literatura, las obras de arte y los archivos y bibliotecas” (Coordinación Nacional de Patrimonio Cultural y Turismo, 2013, p. 5). Por último, una tercera definición más específica en lo relacionado al Patrimonio Cultural Arqueológico se encuentra definida en la minuta de la 17ª Conferencia General de la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) que la establece como:

Los monumentos: obras arquitectónicas, de escultura o de pintura monumentales, elementos o estructuras de carácter arqueológico, inscripciones, cavernas y grupos de elementos, que tengan un valor universal excepcional desde el punto de vista de la historia, del arte o de la ciencia; los conjuntos [...], los lugares: obras del hombre [...] así como las zonas, incluidos los lugares arqueológicos que tengan un valor universal excepcional desde el punto de vista histórico, estético, etnológico o antropológico (Coordinación Nacional de Patrimonio Cultural y Turismo, 2003, p. 11).

En México, algunos de los bienes arqueológicos enlistados como Patrimonio Cultural Mundial son la zona arqueológica de Monte Albán, en Oaxaca, las ciudades prehispánicas de Teotihuacán, en la Ciudad de México; Palenque, en Chiapas; Chichén-Itzá y Uxmal, en Yucatán; El Tajín, en Veracruz; Calakmul, en Campeche, entre otros (UNESCO & WHC, n.d.).

3.2. BIOMARCADORES ARQUEOLÓGICOS

Los biomarcadores arqueológicos son cualquier tipo de biomoléculas que provean información acerca de productos naturales asociados a la actividad humana en el pasado. Estos biomarcadores, considerados “huellas digitales químicas”, requieren de una apropiada separación e identificación por lo que la técnica de CG-EM resulta idónea en la búsqueda de éstos (R. P. Evershed, 2008; Hansel & Evershed, 2009; Kaal *et al.*, 2020). Estos biomarcadores pueden ser moléculas diferentes a las encontradas en la fuente original, pues al depositarse en entornos sedimentarios, pueden sufrir cambios derivados de la diagénesis y la descomposición. Algunos biomarcadores pueden llegar a perder grupos funcionales, pero el esqueleto de carbono suele permanecer intacto, lo que permite establecer una relación entre el precursor y el producto. Este tipo de moléculas brindan información acerca del origen biológico de las moléculas, las modificaciones antropogénicas y la degradación natural o provocada (Colombini & Modugno, 2009). En el caso de las resinas, la naturaleza química de sus biomarcadores está ligada a la fuente botánica, así como el método de obtención de ésta. Es posible diferenciar una resina constitutiva, obtenida sin dañar la planta de una resina inducida, obtenida dañando la planta. De la misma manera, es posible distinguir resinas provenientes de diferentes familias, géneros y en algunos casos, incluso de diferentes especies. Todo esto se logra a través del análisis de patrones de composición y abundancia de di- y triterpenoides, componentes mayoritarios en resinas fósiles (Artioli, 2010; R. P. Evershed, 2008).

3.3. COPAL

La palabra *copal* deriva del vocablo náhuatl *copalli*, que se utilizaba para designar cualquier tipo de goma, resina o incienso (Ilustración III-3). De manera coloquial, la palabra copal se utiliza para designar tanto a la resina como a los árboles que la producen, aunque originalmente, se utilizaba la palabra *copalquahuatl* o *copalcuahuatl* para hablar específicamente del árbol (Cházaro Basáñez *et al.*, 2010; Hernández de Toledo, 1580; Martínez Cortés, 1970). En un contexto académico, la palabra copal hace referencia a resinas duras semifosilizadas mediante procesos de oxidación y polimerización, las cuales poseen un punto de fusión y una dureza inferior a la del ámbar, que presentan una alta fracción de componentes volátiles, en su mayoría terpénicos y fenólicos, y que pueden solubilizarse en disolventes orgánicos como el éter (Artioli, 2010; Martínez Cortés, 1970).



Ilustración III-3. Resinas de copal de distintos orígenes. Foto: Laura Rojas Paredes. CONABIO.

Antes del descubrimiento de los polímeros sintéticos, las resinas tuvieron una amplia variedad de usos, de entre los que destaca su utilidad como adhesivos, recubrimientos hidrofóbicos, medicamentos y elementos ceremoniales. Artioli (2010) define a las resinas como una “exudación no modificada de una planta viva, de donde sólo los compuestos volátiles se pierden por vaporización natural.”, mientras que Gigliarelli (2015) las define como “una mezcla liposoluble de terpenoides volátiles y no volátiles y/o compuestos fenólicos secundarios que usualmente son secretados en estructuras especializadas localizadas en el interior o en la superficie de las plantas y que son de potencial relevancia en interacciones ecológicas”. Ambas definiciones son útiles para vislumbrar el origen y la composición de las resinas, sin embargo, la definición de Artioli implica que las resinas fósiles carecen de elementos volátiles, afirmación que, como se verá posteriormente en este trabajo, resulta falsa.

3.3.1 ORIGEN BIOLÓGICO

Estas resinas de copal son exudados que se producen en respuesta a condiciones específicas. Biológicamente, tienen funciones de defensa contra herbívoros o patógenos y pueden ayudar en la reparación de partes dañadas o quemadas, pues su hidrofobicidad ayuda a controlar la evaporación del agua y el desecamiento de las hojas. La resina se produce, por lo general, en canales de tejido secretorio ubicado en diferentes partes del tronco y se acumula debajo de la corteza de forma que, a veces, puede preservar la huella de ésta (Artioli, 2010). Ocasionalmente, la resina exudada crea gotas y estalactitas que reciben el nombre de “copal lágrima”, por la forma que adquiere la resina cuando solidifica antes de caer totalmente; o “copal oro”, cuando el color de las estalactitas es amarillo. Por otro lado, cuando el copal se recoge en forma de barras, por la ruptura de las ramas, recibe el nombre de “copal blanco”, y debe su color a la virtual ausencia de impurezas (Ilustración III-4). De forma contraria, cuando la resina es producida por la picadura o raspadura de algún insecto, se acumula en forma de bolas en el tronco y recibe el nombre de “copal negro” (Díaz González, 2016). Almárciga (no confundir con Almáciga, resina de *Pistacia lentiscus*, ni con Almácigo, nombre común de *Bursera simaruba*) por otro lado, es el nombre que se le da tanto al árbol de la especie *Bursera citronella* como a la resina de copal que se obtiene de éste.

La resina de copal es obtenida de árboles y arbustos de la familia Burseraceae, que incluye alrededor de 20 géneros y más de 600 especies repartidas en Asia, África y América. Las plantas de esta familia son arbóreas y arbustivas y, la mayoría, produce resinas terpénicas. Suelen ser especies dominantes o codominantes en selvas bajas caducifolias, creciendo en altitudes entre 0 y 1800 metros sobre el nivel del mar (msnm), aunque algunas especies pueden llegar a habitar hasta los 2400 msnm, siendo capaces de aguantar heladas (Cházaro Basáñez *et al.*, 2010; Díaz González, 2016; García Martínez, 2012). Las especies de esta familia resisten las sequías, su floración es rápida y, a finales de junio, dan frutos verdes que maduran en agosto. Sus frutos son drupáceos y, al secarse, exponen una semilla rodeada de un aro rojo que atrae aves frugívoras, las cuales, junto con las ardillas, son su principal agente dispersor, permitiéndole alcanzar un poder de desplazamiento de hasta 600 kilómetros (km). En cuanto al género *Bursera*, son característicos del Bosque Tropical Caducifolio, con clima cálido subhúmedo libre de heladas, con estación seca de 6 a 7 meses por año. Están desprovistos de hojas de enero a junio (Cházaro Basáñez *et al.*, 2010; Díaz González, 2016).



Ilustración III-4. Diferentes tipos de copal. Foto: Laura Rojas Paredes. CONABIO.

3.3.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

En México se encuentran presentes más de 100 especies de la familia Burseraceae, de las cuales, el 20% del género y el 80% de las especies son endémicas. Los géneros mexicanos son *Protium* (1 especie), *Beiselia* (1 especie), *Terebinthus* Mill. (1 especie), *Commiphora* (2 especies), y *Bursera* (80 especies). (Cházaro Basáñez *et al.*, 2010; Díaz González, 2016; García Martínez, 2012)

Los principales géneros son *Protium*, que se distribuye en los bosques subcaducifolios del Golfo de México; y *Bursera*, que se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Perú y Brasil (García Martínez, 2012). A pesar de esta amplia disposición, la mayor concentración de especies del género *Bursera* se encuentra en México, específicamente en los estados de Oaxaca,

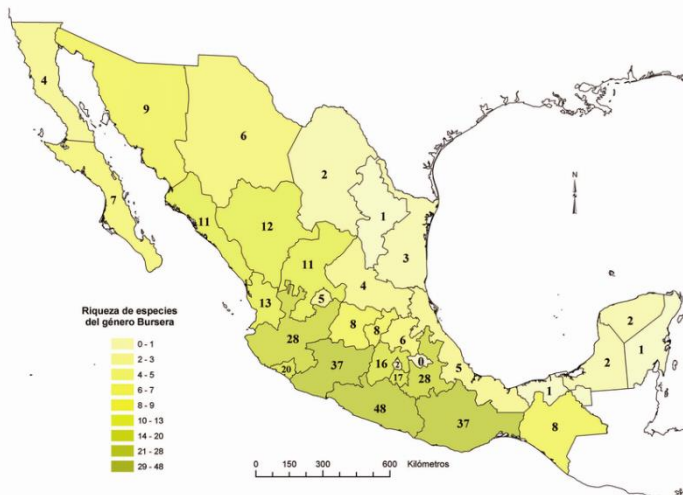


Ilustración III-5. Diversidad de *Bursera* en la República Mexicana. Reproducido de Rzedowski, (2005).

Guerrero y Michoacán (Ilustración III-5). En la costa este del país, en el Golfo de México, la humedad es mayor, con lluvias casi todo el año, un clima poco favorable para el desarrollo de los árboles del género *Bursera*, conociéndose sólo 7 especies (Cházaro Basáñez *et al.*, 2010; García Martínez, 2012): *Bursera simaruba*, *B. fagaroides*, *B. cinerea*, *B. graveolens*, *B. bipinnata*, *B. medranoana* (sólo en Barranca de Tolantongo, Hidalgo) y *B. morelensis* (sólo en Barranca de Mezquitlán, Hidalgo). En la región de Veracruz, se conocen únicamente 5 especies de *Bursera*, las cuales son (Rzedowski *et al.*, 2005):

- *B. bipinnata*

Conocida coloquialmente como copal chino, copal santo o copal blanco, es una de las especies de más amplia repartición y de las más comunes. Es conocido como copal chino debido a que su follaje es similar a una cabellera rizada (Ilustración III-6). Es un árbol bajo, ramificado, de corteza lisa y gris, que alcanza, en promedio, los 6 metros (m) de altura. Se localiza entre 800 y 1600 msnm, en un clima cálido subhúmedo o seco. Con frecuencia produce híbridos con *Bullockia* spp., identificados como *B. diversifolia* Rose (Hernández-Pérez *et al.*, 2011; Montúfar López, 2016; Rzedowski *et al.*, 2004).



Ilustración III-6. Hojas de *Bursera bipinnata*. Foto: Arturo Castro Castro. [CC-BY-NC](#)

- *B. cinerea* Engl.

Endémico de Oaxaca y Veracruz, resinoso y aromático. Su tronco alcanza hasta los 30 centímetros (cm) de diámetro, de corteza rojiza o anaranjada. Crece hasta 15 m. Se localiza en bosques tropicales caducifolios, especialmente en el estado de Veracruz, en altitudes entre 1100 y 1700 m. Florece de abril a junio, desprovisto de hojas de abril a mayo (Rzedowski *et al.*, 2004; Rzedowski & Calderón de Rzedowski, 1996).

- *B. fagaroides*

Conocida de manera común como borreguilla o cuajilote. Arbusto o árbol dioico de 0.5 a 8 m de alto, con tronco de hasta 30 cm de diámetro. Corteza externa de color amarillento con capas internas verdes o azules. Componente importante del bosque tropical caducifolio, encinares y matorrales xerófilos, en altitudes entre 700 a 2200 m. Se distribuye desde el suroeste de Estados Unidos hasta Oaxaca. Elemento central de un complejo con tres entidades subespecíficas: *fagaroides*, *purpusii* y *elongata*. Florece de abril a mayo y permanece con follaje de mayo a noviembre (Rzedowski *et al.*, 2004; Rzedowski & Guevara-Féfer, 1992).

- *B. graveolens*

Comúnmente conocido como aceitillo, coyoluche o palo santo. Árbol o arbusto de hasta 12 m de alto, resinoso y aromático, con un olor persistente por meses. Debido a esta cualidad, su madera se ha utilizado como incienso. Suele formar cercas vivas en calles, casas y plazas de algunos poblados en altitudes de 950 a 1650 m. Florece de abril a junio y permanece sin follaje de noviembre a mayo. Se distribuye desde el sureste mexicano hasta Colombia, Venezuela, Ecuador y Perú. Probablemente es un elemento no nativo de México, se cultiva en huertos familiares debido a su uso medicinal como analgésico y sedante (Rzedowski *et al.*, 2004; Young *et al.*, 2007; Yukawa *et al.*, 2006).

- *B. simaruba*

También conocida como chaca o palo mulato. Árbol dioico de 4 a 30 m de alto, resinoso y aromático. Su corteza externa es rojiza, café o verdosa (Ilustración III-7). Es la especie más ampliamente distribuida en ambas vertientes de México, a menudo componente de bosques tropicales caducifolios, subcaducifolios y perennifolios en altitudes inferiores a 1200 m. Se localiza desde el extremo sur de Estados Unidos hasta el noroeste de Sudamérica (Rzedowski & Guevara-Féfer, 1992).



Ilustración III-7. Detalle del tronco de *B. simaruba*. Foto de Monika Schwioren [CC BY-NC](#)

3.3.3 RECOLECCIÓN

De acuerdo con Montúfar López, (2012) la recolección de la resina sucede durante los meses de julio a octubre, cuando el temporal está establecido. Los “copaleros”, nombre con el que se conoce a las personas que se dedican a la recolección de la resina, realizan de 2 a 5 incisiones longitudinales en las ramas más gruesas del árbol (Ilustración III-8) con una cuchilla llamada “quichala” y cuelgan una penca de maguey (*Agave angustifolia*) seca en forma de “canao” con uno de sus extremos tapado con una pasta de ceniza, agua y excremento de ternera. Cuando empieza a fluir la resina, el proceso de cortado se repite cada tercer día. Cuando la penca se llena, se retira y se cambia hasta agotar la secreción de cada rama. Dependiendo de cada árbol, se le pueden colocar de 1 a 5 pares de pencas.



Ilustración III-8. Detalle del tronco de *B. simaruba* que muestra la recolección de copal mulato. Foto de: Rocío Velasco Fuentes.

3.3.4 MARCADORES DE COPAL

Algunos estudios (Hernández-Vázquez *et al.*, 2010; P. Lucero-Gómez *et al.*, 2014; Peraza-Sánchez *et al.*, 2004; Pérez-López *et al.*, 2021) mostraron la prevalencia de moléculas terpénicas que pueden servir como marcadores de copal y de resinas del género *Bursera*: α -amirina, β -amirina, lupeol, α -amirona, β -amirona y lupenona (Ilustración III-9), así como moléculas similares con modificaciones simples como la acetilación de los alcoholes. Estas moléculas se clasifican como triterpenoides.

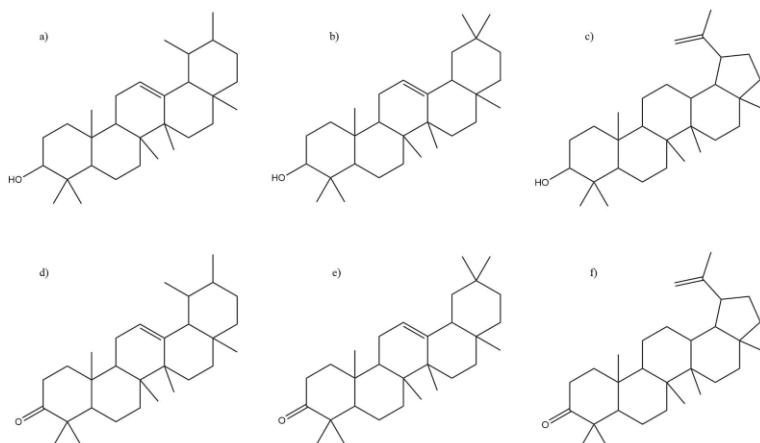


Ilustración III-9. Estructura química de a) α -amirina b) β -amirina c) lupeol d) α -amirona e) β -amirona f) lupenona. Imagen propia.

3.3.5 BIOSÍNTESIS DE LOS MARCADORES

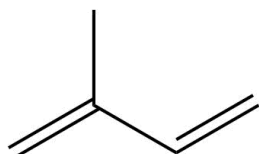


Ilustración III-10. Isopreno

La resina de copal está formada principalmente por compuestos terpénicos y fenólicos. Al hablar específicamente de copal mulato, destacan 3 compuestos triterpénicos característicos: el lupeol (Campos Soto, 2006) y las α y β amirinas (Peraza-Sánchez *et al.*, 2004). Los triterpenoides son moléculas con 30 átomos de carbono (C) en su estructura, que puede ser lineal, como el escualeno o tetra y pentacíclica (Evans & Evans, 2009). Todos los terpenoides derivan de unidades de isopreno (Ilustración III-10) unidas de forma lineal siguiendo la llamada “regla del isopreno” (Ilustración III-11), que se refiere al patrón de enlace “cabeza-cola” (Badal & Delgoda, 2017).

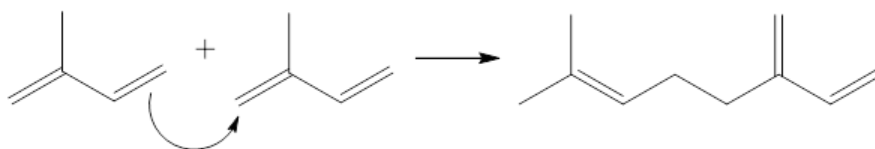


Ilustración III-11. Regla del Isopreno: enlace cabeza-cola. Imagen propia.

A pesar de que el isopreno es el “bloque de construcción” y se produce naturalmente, las verdaderas unidades bioquímicas que participan en la síntesis son el dimetilalil pirofosfato (DMAPP) y el isopentil pirofosfato (IPP) (Ilustración III-12).

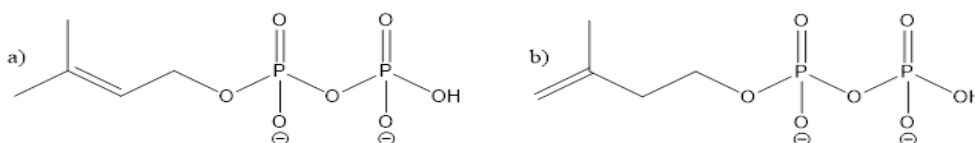


Ilustración III-12. Estructura de a) Dimetilalil pirofosfato (DMAPP) b) Isopentil pirofosfato (IPP). Imagen propia.

Las moléculas de IPP son sintetizadas en el citosol a través de la ruta del mevalonato, que consiste en la condensación de 3 moléculas de acetil coenzima A (CoA). Mediante la misma ruta, se unen 3 moléculas de IPP para dar lugar al farnesil pirofosfato (FPP), una molécula de 15 carbonos (Ilustración III-13). Los triterpenoides se forman mediante la unión de 2 moléculas de FPP para dar lugar a una molécula de escualeno (C₃₀) a través de la acción de la escualeno sintasa (Dewick, P.M Perroy & Careas, 2009; Stamellos *et al.*, 1993).

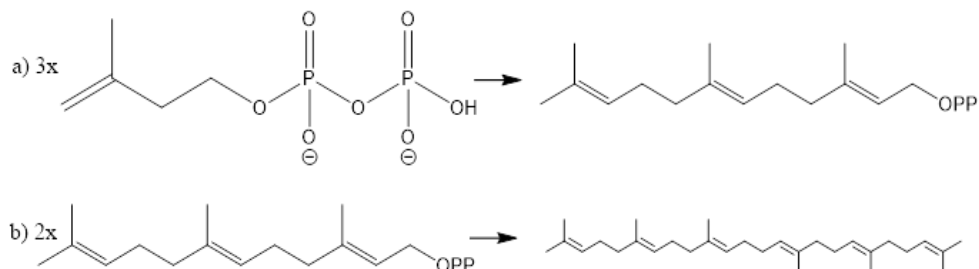


Ilustración III-13. a) Formación del Farnesil pirofosfato (FPP) por condensación de 3 moléculas de isopentil pirofosfato (IPP). b) Formación del escualeno por condensación de 2 moléculas de FPP. Imagen propia.

Una vez que se ha obtenido el escualeno, el siguiente paso es la formación del intermediario 2,3-óxidoescualeno mediante la acción de la enzima escualeno epoxidasa, una flavoproteína que requiere O₂ y NADPH como cofactores. El 2,3-óxidoescualeno posteriormente necesita obtener la configuración espacial adecuada para las reacciones de ciclación. Las enzimas encargadas de esto pertenecen a la familia de las 2,3-óxidoescualeno ciclasas (E.C. 5.4.99), y son la α -amirina sintasa, β -amirina sintasa y lupeol sintasa. Las tres enzimas participan en el mismo mecanismo inicial de ciclación, difiriendo únicamente en los pasos finales de la reacción, dando lugar a las 3 moléculas que les dan nombre (Haralampidis *et al.*, 2002). La reacción de ciclación comienza cuando el 2,3-óxidoescualeno adquiere una configuración de silla-silla-silla-bote (Mangas Alonso, 2009) (Ilustración III-14).

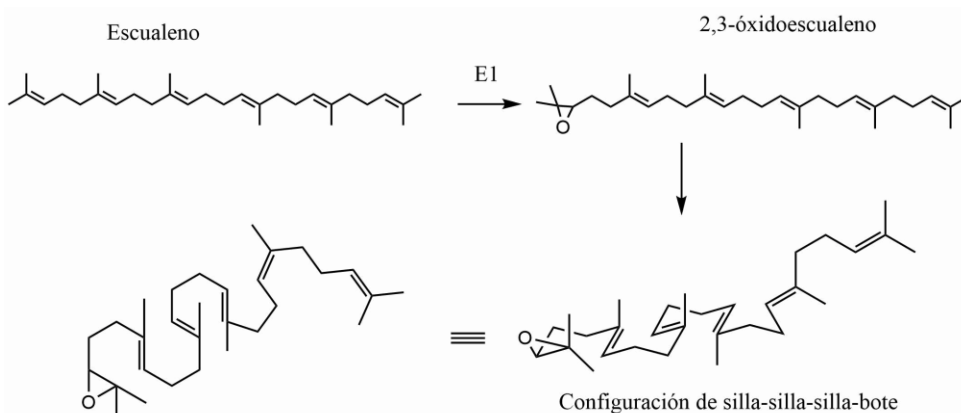


Ilustración III-14. Adquisición de la configuración silla-silla-silla-bote del escualeno previa a su ciclación. Imagen propia.

Esto sucede mediante una reacción secuencial de adiciones electrofílicas de carbocationes a dobles enlaces, donde primero se forma un anillo de 6 miembros con un carbocatión que da origen a la siguiente ciclación, hasta la formación de un núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno, que recibe el nombre de catión damarenilo. Una vez terminadas las ciclaciones, sucede una serie de rearrreglos de Wagner-Meerwein (WM) que permiten la expansión del anillo ciclopentano a un anillo ciclohexano, para obtener el catión bacaranilo. Con el nuevo arreglo, se puede formar un nuevo pentaciclo a través del mismo mecanismo, formando un catión lupenilo (Ilustración

III-15). En este punto es donde diverge la acción de las tres enzimas que sintetizan los biomarcadores.

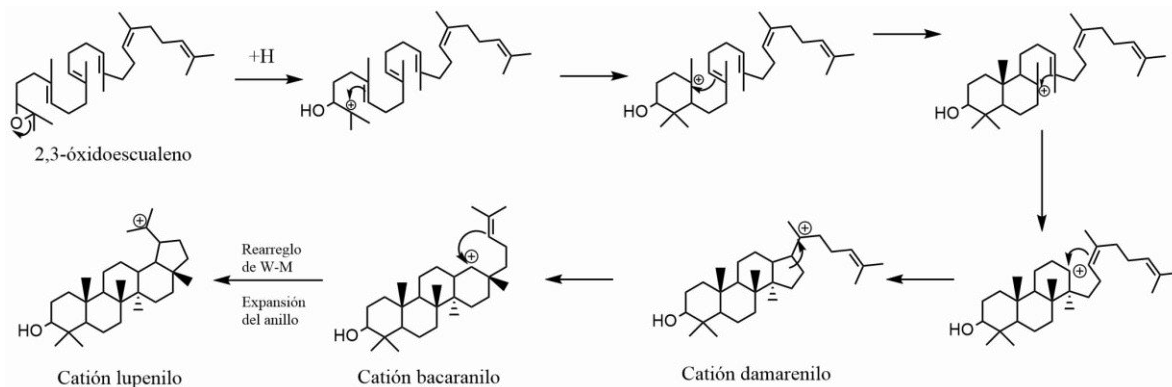


Ilustración III-15. Síntesis de diferentes cationes intermediarios durante la ciclación del escualeno. Imagen propia.

Mediante la acción de la enzima lupeol sintasa, se cataliza la pérdida de un hidrógeno adyacente al carbocatión, permitiendo la formación de un doble enlace y, por consiguiente, la obtención del lupeol. Si sucede un nuevo rearrreglo de WM y el anillo vuelve a expandirse, se obtiene el catión oleanilo, el cual es precursor de ambas amirinas. La β -amirina sintasa cataliza una migración de hidruros y la pérdida de un hidrógeno, formando el doble enlace que da origen a la β -amirina. En cambio, la α -amirina sintasa cataliza una migración de metilos en el catión oleanilo, formando el catión taraxasterilo, con el posterior reordenamiento de los hidruros y la pérdida de un hidrógeno, obteniendo la α -amirina (Dewick, P.M Perroy & Careas, 2009) (Ilustración III-16).

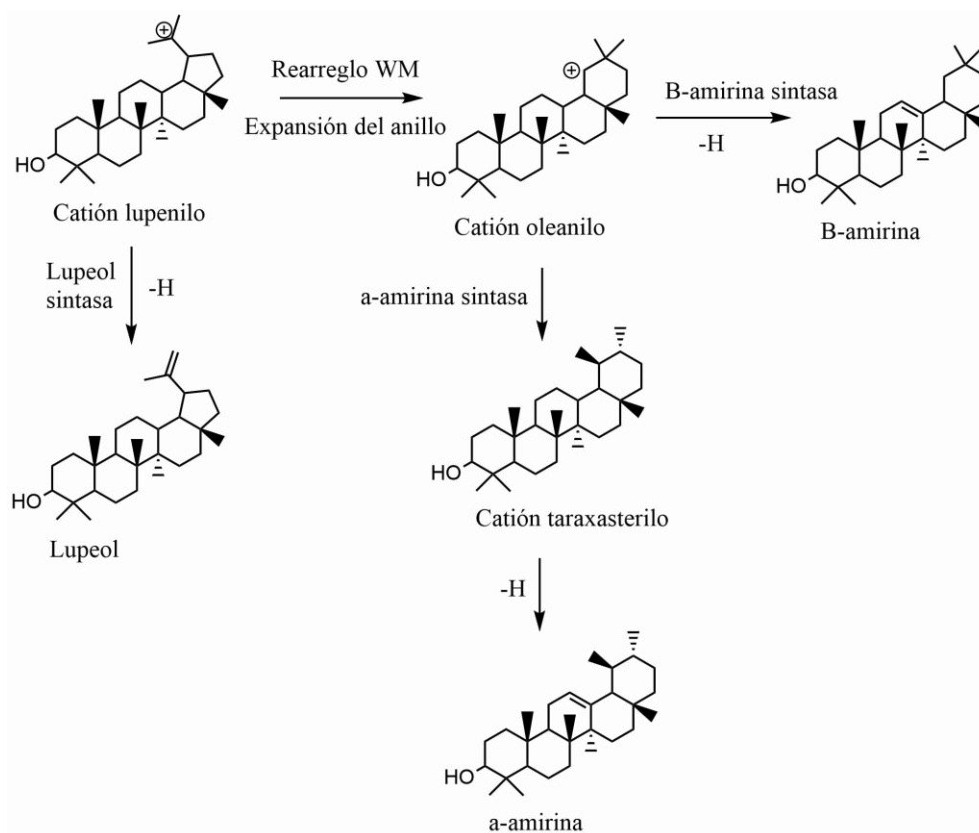


Ilustración III-16. Reacciones finales para la biosíntesis de lupeol y amirinas. Imagen propia.

3.3.6 USO RITUALÍSTICO EN LAS CULTURAS MESOAMERICANAS



Ilustración III-17. Representación del uso de copal con fines medicinales en braseros y sabumadores en el Códice Florentino.

III-17). Algunos estudios modernos se han encargado de verificar y comprobar algunas de estas propiedades medicinales (Coley Silva, 2019; da Cruz Albino *et al.*, 2021; Noguera *et al.*, 2004; Parga *et al.*, 2012; Robles *et al.*, 2005; Villa-Ruano *et al.*, 2018).

El copal, entre otras cosas, se utilizaba en la síntesis del azul maya (Ilustración III-18) debido a que se creía que era el alimento de los dioses y su uso favorecería la creación de este pigmento. Al obtenerse rasgando la corteza, la resina caía como si fuera “la sangre del árbol” y, al quemarse, el humo blanco desprendido sería la ofrenda (Arnold *et al.*, 2008). Sobre el copal, Fray Bernardino de Sahagún escribió en su obra *Historia de las cosas de la Nueva España* lo siguiente:



Ilustración III-18. Mural del sitio arqueológico de Bonampak en Chiapas, pintado con azul maya. Foto de Jacobolus (2004) [CC BY-SA 2.0](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/2.0/)

Ofrecían incienso en los cuales los sátrapas, de noche y de día, a ciertas horas, incensaban con unos incensarios hechos de barro cocido, que tenían a manera de cazos... con su astil de una vara de medir o poco menos, largo como un codo o poco más, hueco y de dentro tenía unas pedrezuelas por sonajas... Cogían con él brasas del fogón y luego echaban copal sobre las brasas y luego iban delante de la estatua del demonio y levantaban el incensario hacia las cuatro partes del mundo... y también incensaban la estatua.

Esto mismo hacían todos los del pueblo en sus casas, una vez a la mañana y otra a la noche, incensando a las estatuas que tenían en los oratorios o en los patios de sus

casas; y los padres y las madres compelián a sus hijos a que hiciesen lo mismo cada mañana y cada noche.

No sólo los sacerdotes y el pueblo usaban el copal para reverenciar a sus dioses; también los jueces lo empleaban, para pedir la ayuda divina antes de dictar alguna sentencia. Asimismo, los cantores, antes de empezar su canto, quemaban copal (1956, p. 242).

Las resinas más utilizadas por mayas, olmecas, totonacas y huastecos provienen de las especies *Protium copal*, que se distribuye desde San Luis Potosí hasta Quintana Roo; *Bursera bipinnata*, *Bursera copallifera* y *Bursera vejar-vazquezii*, de las cuales, los últimos tres siguen siendo las fuentes más importantes de copal (Cházaro Basáñez *et al.*, 2010; García Martínez, 2012).

3.4. ESTUDIOS PREVIOS

El nombre “copal” hace referencia a resinas de diversos orígenes biológicos distribuidos de manera mundial. Las especies de árboles que producen estas resinas han sido ampliamente estudiadas, especialmente en sus aspectos botánicos (Cházaro Basáñez *et al.*, 2010; Fuentes, 2009; Hernández-Pérez *et al.*, 2011; Langenheim, 1996; Matthew & Johnson, 1992), socioeconómicos (Castillo, 2016; García Martínez, 2012; Montúfar López, 2012, 2016; Purata Velarde, 2008) y medicinales (Alamgir, 2017; Badal & Delgoda, 2017; Dewick, P.M Perroy & Careas, 2009; Evans & Evans, 2009; Hernández-Vázquez *et al.*, 2010). En México, la pareja de investigadores Jerzy Rzedowski y Graciela Calderón de Rzedowski, del instituto de Ecología de Pátzcuaro, se han dedicado a describir de forma exhaustiva a las especies del género *Bursera* (Rzedowski *et al.*, 2004, 2005; Rzedowski & Calderón de Rzedowski, 1996; Rzedowski & Guevara-Féfer, 1992).

La caracterización química de las resinas de copal de diferentes orígenes geográficos ha sido un tema relevante en estudios con una orientación biológica, utilizando resinas de reciente extracción y técnicas variadas como la CG-EM y la espectroscopía Raman (Brody R.H. *et al.*, 2001; Case *et al.*, 2003; Hernández-Vázquez *et al.*, 2010; Jemmali *et al.*, 2016; McCoy *et al.*, 2017; Shashoua *et al.*, 2006). Sin embargo, es importante recordar que la caracterización de resinas de reciente obtención brinda resultados distintos de los que se pueden obtener de resinas fosilizadas o semifosilizadas, pues la degradación de éstas modifica la cantidad y la variedad de compuestos presentes, especialmente aquellos que son volátiles, como muestra la comparación entre las fracciones terpénicas de una muestra reciente y una muestra de 5 años de antigüedad en el estudio realizado por Gigliarelli *et al.* (2015). En el campo de la arqueometría, el estudio de las resinas encontradas en materiales arqueológicos es más reducido. La mayoría de los trabajos se ha centrado en su uso como adhesivo y como parte de ofrendas en el Templo Mayor y en la región Maya, compartiendo la característica de que las muestras obtenidas no sufrieron ninguna transformación química como consecuencia de reacciones de combustión (De La Cruz-Cañizares *et al.*, 2005; Paola Lucero-Gómez *et al.*, 2014; Stacey *et al.*, 2006). Algunos estudios enfocados en el análisis de ceras han detectado de forma colateral, la presencia de copal debido a sus metodologías de extracción (Pérez-López *et al.*, 2021), entre las que se encuentran la extracción asistida por ultrasonido (Rezić *et al.*, 2008). En México, se han realizado pocos trabajos de forma exclusivamente nacional (Díaz González, 2016; Noemi, 2007).

3.5. SITIOS ARQUEOLÓGICOS

El proyecto que se presenta se desprende de la Tesis de Doctorado en Estudios Mesoamericanos de la M. en Arqueol. Rocío Velasco Fuentes, titulada “Análisis de los quemadores de incienso del Centro de Veracruz”, avalada por el Instituto de Investigaciones Filológicas y la Facultad de Filosofía y Letras de la Universidad Nacional Autónoma de México, y se enfocará únicamente en piezas arqueológicas encontradas en la región central de Veracruz, correspondientes a los sitios de Nopiloa, La Joya y El Zapotal, los tres pertenecientes al periodo Clásico Veracruzano (100 d.C. – 900 d. C.) (Stark, 2010; Tiesler *et al.*, 2013).

Los primeros dos, Nopiloa y La Joya, se caracterizan por haber sido sitios de gran importancia política en su momento, mientras que el tercero, El Zapotal, es mayormente conocido por el santuario dedicado a *Mictlantecubtlí*, dios azteca de la muerte, donde se encuentra una representación policromática de éste, realizada en barro sin cocer (Wyllie, 2010). Las piezas más relevantes en esta zona, especialmente cuando se habla de Nopiloa, son las llamadas “figurillas sonrientes” (Ilustración III-19), que adornaron diversos tipos de piezas, que van desde silbatos hasta ollas, vasijas y figuras ceremoniales (Daneels, 2010; Medellín-Zenil, 1987; Stark, 2010; Tiesler *et al.*, 2013). Sin embargo, este trabajo se centrará únicamente en 3 tipos de piezas: braseros, tapas y candeleros.

3.5.1 NOPILOA

El nombre probablemente proviene de una degeneración de la palabra nahua *nopilwan*, que significa “mis príncipes” o “mis hijos”. Es una de las zonas arqueológicas más impresionantes por la planificación y proporciones de los monumentos de su centro ceremonial. Sobreviven grandes plazas rectangulares, montículos cónicos, plataformas y construcciones paralelas destinadas al juego de pelota. Otra característica destacable es la presencia de un monolito de basalto de las mismas dimensiones de una cabeza colosal Olmeca ubicado en el centro del recinto ceremonial que representa a *Tlaltecubtlí*: el monstruo de la tierra híbrido de jaguar y rana (Medellin-Zenil, 1987).



Ilustración III-19. Figurillas sonrientes del centro de Veracruz. Izquierda: Figurilla de El Zapotal (38 x 29 cm). Derecha: Figurilla de Nopiloa (14 x 16 cm). Fotos: INAH

Nopiloa fue la capital de una pequeña entidad política, cercano a la desembocadura del río Papaloapan (Ilustración III-20a). Durante sus inicios, estuvo subordinado a Cerro de las Mesas, pero cerca del 600 d.C. alcanzó su apogeo y su independencia. Uno de sus aspectos más destacables es el descubrimiento de las “figurillas sonrientes” (Ilustración III-19), descritas por primera vez por Alfonso Medellín (1987). Numerosas piezas, desde contenedores y silbatos, hasta juguetes, todas mostrando personas o animales antropomorfos sonrientes, posiblemente representando eventos rituales. Las figurillas sonrientes son identificativas de las culturas del centro de Veracruz (Medellin-Zenil, 1987; Stark, 2010). Las piezas fueron halladas, en su mayoría, en lo que Alfonso Medellín (1987) llama “El vertedero”, un lugar donde se depositaban materiales que fueron objetos de veneración y que, debido al abandono del sitio, fueron desechados a modo de ofrenda de terminación.

3.5.2 LA JOYA

La Joya fue el Sitio Mayor del centro de Veracruz (Ilustración III-20b). Contaba con una organización estatal que comenzó en el periodo protoclásico veracruzano (100 a.C. - 100 d.C.), que pudo funcionar como una forma de gobierno dual o alterno, entre poder político y religioso (Daneels, 2010).

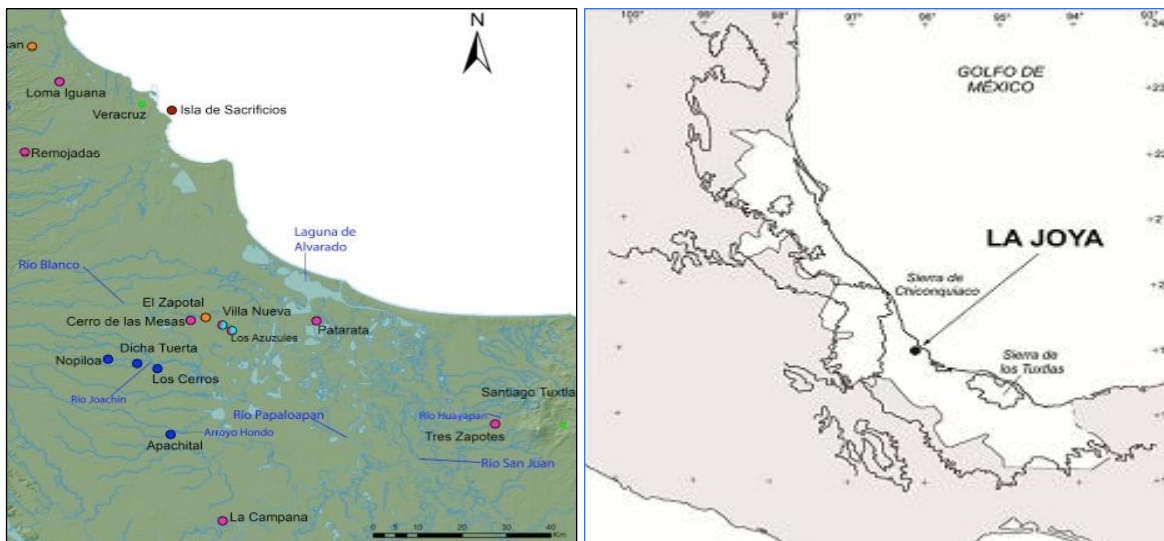


Ilustración III-20. Izquierda: Mapa que muestra la ubicación geográfica de los sitios El Zapotal y Nopiloa. Reproducido con permiso de Reyes (2014). Derecha: Mapa que muestra la ubicación geográfica del sitio La Joya. Reproducido con permiso de Liberotti y Daneels (2012).

La Joya contaba con una arquitectura monumental completamente hecha de tierra apisonada y adobes, las cuales se han conservado durante casi 2000 años. Esto es destacable pues la construcción con tierra se encuentra más asociada a regiones desérticas del norte del país. Para conformar las edificaciones, se utilizaban primero, basamentos de tierra compactada por capas. Las paredes se edificaban con adobe. Posteriormente, los elementos ornamentales se hacían con barro modelado. Los techos presentaban estructuras de madera y carrizos recubiertos de tierra. Por último, se le daba un recubrimiento de arcilla mezclada con material vegetal. El recubrimiento es de especial importancia, pues es la clave para su supervivencia durante tanto tiempo (Daneels & Guerrero, 2012). Algunos estudios apuntan a la presencia de un aglutinante orgánico que pudo servir tanto para la impermeabilización como para el control del crecimiento de flora y fauna parásita. Desafortunadamente, a pesar de haber identificado rastros de hidrocarburos, triglicéridos pentosas y éteres, no se ha podido identificar el origen de dicho aglutinante (Kita *et al.*, 2013).

Las piezas fueron encontradas en la Plataforma Este, donde se encontraron vasijas quebradas en un patrón que sugiere un desecho ritual (Daneels, 2010).

El estudio de este sitio es de vital importancia pues debido a la falta de excavaciones, estudios y protección del INAH, está siendo destruido de manera constante por los ladrilleros.

3.5.3 EL ZAPOTAL



Ilustración III-21. Altar policromático en barro sin cocer a *Mictlantecubtli* en El Zapotal. Foto: INAH.

El Zapotal es un sitio en el centro-sur de Veracruz que floreció entre los años 600 y 900 d.C. Durante su descubrimiento se encontró un gran altar a *Mictlantecubtli* (Ilustración III-21), rodeado por murales policromáticos. Al norte de éste, se encontró un osario cilíndrico con abundantes huesos humanos, presumiblemente provenientes de sacrificios. Los restos eran de mujeres que habían muerto durante el parto y cuyos cuerpos fueron ofrendados a *Tlazolteotl*, diosa azteca de las parteras, el sexo y la fertilidad. Asimismo, se encontraron representaciones de terracota de *Cihuateos*, la diosa de las mujeres, consideradas guerreras, que murieron durante el parto de su primogénito (Tiesler *et al.*, 2013). Las piezas fueron halladas en el santuario, asociándose en algunos casos con la figura de *Cihuateos*.

3.6. PIEZAS

Al referirnos a las piezas como braseros, sahumadores y candeleros, las definiciones utilizadas se muestran a continuación:

■ **Brasero:**

Objeto de barro, generalmente de pasta burda o de piedra, utilizado para contener brasas. Tenían un uso ritual como depósitos y quemadores de ofrendas, aunque también pudieron tener fines prácticos como alumbrar espacios o incluso ahuyentar mosquitos y calentar habitaciones. Pueden tener formas variadas como bicónica, cilíndrica y convexa (Ilustración III-22). Algunos de ellos presentan elementos estructurales como soportes y tapa y ornamentales como figuras zoomorfas, geométricas y antropomorfas. Su tamaño también varía, desde tamaños portátiles, hasta tamaños enormes que requerían estar fijos (Velasco-Fuentes, en prensa).



Ilustración III-22. Representación de un brasero con copal en el Códice Borbónico.

■ **Sahumadores:**

Son recipientes de barro formados por una cazoleta unida a un mango (Ilustración III-23) que puede ser simple o tener elementos zoomorfos. La forma más común es de cazoleta hemisférica, a veces con perforaciones en la base. La pasta utilizada para su manufactura es fina o media y servían para depositar brasas, a las que se les agregaba copal



Ilustración III-23. Representación de la quema de copal en sahumadores en el Códice Florentino.

para sahumar personas, espacios o esculturas. Su forma permitía caminar y quemar la ofrenda al mismo tiempo, por lo que representa una modificación en las prácticas rituales (Velasco-Fuentes, en prensa).

- **Candeleros:**

Los candeleros son piezas típicas de Teotihuacán y su presencia en sitios ajenos a esta urbe puede servir como indicador de contacto entre los sitios. Son objetos pequeños de barro, cuadrados u ovalados que se caracterizan por tener uno o dos huecos denominados cámaras (Ilustración III-24). Su función es incierta y se ha propuesto que fueron lámparas portátiles, braseros o incensarios portátiles (Velasco-Fuentes, en prensa).



Ilustración III-24. Candelero teotihuacano. Cortesía: Museo Amparo, Puebla.

- **Tapas:**

Las piezas nombradas como “tapas” en este proyecto son objetos de forma bicónica unida por los vértices cuyo uso es ambiguo pues por su forma y sus adornos, (Ilustración III-25) sugieren que su abertura mayor fue utilizada para cubrir otras piezas donde se quemaban objetos de forma ceremonial. Sin embargo, al voltearse 180°, también son capaces de sostenerse por sí mismos sobre su base menor, pudiendo funcionar como contenedores similares a copas, con funciones análogas a los braseros (Velasco-Fuentes, en prensa).



Ilustración III-25. Tapa 50-12522 proveniente de El Zapotal. Foto de: Rocío Velasco Fuentes.

A continuación, se presentan las piezas trabajadas en este proyecto. Provenientes de El Zapotal, se analizó la tapa 12889 y la tapa 12892, cuyas muestras provienen sólo de las paredes (Ilustración III-26).



Ilustración III-26. De izquierda a derecha: a) Vista completa de la tapa 12889. b) Detalle de la parte superior de la tapa 12889. c) Tapa 12892 sostenida por la parte más angosta. d) Tapa 12892 sostenida por la parte más ancha. Todas las piezas provenientes de El Zapotal. Fotos de: Rocío Velasco Fuentes.

También proveniente de El Zapotal, se analizó el Brasero 12450, con muestras provenientes de su borde (clave 65) y del fondo (clave 66) (Ilustración III-27).



Ilustración III-27. Brasero 12450 paredes (izq. y der.) y fondo (centro), El Zapotal. Fotos de: Rocío Velasco Fuentes.

Proveniente de Nopiloa, se analizó una muestra de las paredes internas de la tapa 5045 (Ilustración III-28).



Ilustración III-28. De izq. a derecha: Vista completa de la Tapa 5045 de frente. Vista completa de la tapa de lado. Vista del interior de la tapa. Proveniente de Nopiloa. Fotos de: Rocío Velasco Fuentes.

Proveniente de La Joya, se analizó el candelero 1 y el candelero 2, cuyas muestras provienen de la tierra que se encontraba adherida a las paredes externas, así como de la tierra depositada en cada una de las cámaras (Ilustración III-29) Es importante mencionar que los candeleros fueron encontrados en el piso de un edificio que fue quemado intencionalmente.



Ilustración III-29 Candelero 1 (izquierda) y 2 (derecha), La Joya. Fotos de: Rocío Velasco Fuentes.

Las claves utilizadas para identificar las piezas en el resto del proyecto se muestran en la tabla III-1.

Tabla III-1. Claves de identificación de las piezas estudiadas.

Procedencia	Nombre	Clave
El Zapotal	Tapa 12889	39-12889
	Tapa 12892	41-12892
	Brasero 12450 (Borde)	65-12450
	Brasero 12450 (Fondo)	66-12450
Nopiloa	Tapa 5045	21-5045
La Joya	Candelero 1 Tierra circundante	Cand1 TB
	Candelero 1 Cámara 1	Cand1 C1
	Candelero 1 Cámara 2	Cand1 C2
	Candelero 2 Tierra circundante	Cand2 TB
	Candelero 2 Cámara 1	Cand2 C1
	Candelero 2 Cámara 2	Cand2 C2

3.6.1 PROBETAS

Al trabajar con objetos del patrimonio cultural se vuelve necesario contar con herramientas que nos permitan realizar pruebas preliminares que minimicen el riesgo la integridad física de las obras y objetos pero que, a su vez, nos permitan aproximarnos a las características de éstas. Las probetas se pueden definir como muestras de características físicas y químicas similares a las del objeto original sobre las que se pueden realizar procesos de deterioro y degradación coherentes con aquellos que puede sufrir el original, o sobre los que se pueden realizar intervenciones analíticas sin que la integridad del original corra riesgo alguno (Carvajal Molina, 2018). Desde un punto de vista químico, el objetivo de una probeta es simular una matriz que sea capaz de emular las interacciones y propiedades fisicoquímicas del objeto de estudio con el analito incluso si este no es sometido a ningún proceso de deterioro.

3.7. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

La preparación de muestra es un punto clave en el proceso analítico. Este concepto abarca desde la selección de los objetos hasta cualquier cambio físico o químico realizado a las muestras previo a su análisis. La obtención de las muestras, su preparación y su análisis involucran cambios, a veces irreversibles, que deben tomar en cuenta el estado del objeto a analizar tanto en su cualidad de único, como en su fragilidad o estética. Al investigar objetos pertenecientes al patrimonio cultural, se debe evitar cualquier daño innecesario a las piezas y, en la medida de lo posible, es necesario optimizar la preparación para utilizar la menor cantidad posible de muestra de manera que se asegure la menor intervención de la pieza. Debido a esto, los análisis micro invasivos y no invasivos destacan sobre otras técnicas (Artioli, 2010).

La elección de los métodos de preparación de muestra depende fundamentalmente de la naturaleza química de los analitos de interés, de la interacción que tengan éstos con la matriz en la que se encuentren, de la información del analito que se desee conocer y de las particularidades de los equipos y materiales disponibles para realizar el análisis. Para una misma muestra existen distintas formas de preparar y realizar el análisis. (Artioli, 2010)

La extracción con disolventes orgánicos puede clasificarse en dos: la extracción líquido-líquido (L-L) y la extracción líquido-sólido (L-S). Esta clasificación representa, primero, el estado de agregación de la fase extrayente y después, el estado de agregación de la matriz que se extrae. El fundamento de la técnica es la transferencia del analito desde la matriz de extracción hacia una fase líquida en la que presenta una solubilidad mayor (IUPAC, 2014b, 2014a). La extracción puede llevarse a cabo por distintos métodos como la extracción en fase sólida (SPE, por sus siglas en inglés) en la que se aíslan analitos de fases líquidas adsorbiéndolos sobre una fase estacionaria sólida, lo que permite cambiar la matriz original por una más sencilla (Merck, 2022); la microextracción en fase sólida (SPME por sus siglas en inglés), que recoge los principios de la SPE pero aplicándolos a cantidades de muestra del orden de microgramos o microlitros. Además de la purificación, esta técnica también permite aumentar la concentración del analito, automatizar procesos y mejorar el desempeño de la técnica de SPE (Kataoka, 2017). La extracción Soxhlet, una de las más comunes en los laboratorios y consiste en la extracción continua de una fase sólida al colocarse en un sistema cerrado con un disolvente que, al calentarse, se evapora y posteriormente se condensa sobre la matriz de extracción, extrayendo un poco del analito. El disolvente entonces escurre y regresa a la cámara original, completando un ciclo que se repite constantemente y permite concentrar el analito tras varias extracciones sucesivas (Zyglar *et al.*, 2012). Otra posibilidad es la extracción asistida por microondas (EAM), que consiste en una extracción sólido-líquido que es irradiada por ondas electromagnéticas en la región de las microondas. Estas ondas poseen un campo eléctrico perpendicular a uno magnético. El primero de ellos permite el calentamiento mediante dos mecanismos: el primero de ellos es la rotación dipolar debido al alineamiento del campo eléctrico alternante con el momento dipolar de moléculas polares y el segundo de ellos es la migración iónica que genera fricción y, por lo tanto, calor (Kaufmann & Christen, 2002). Este principio puede aplicarse de tres formas diferentes dependiendo del caso estudiado: Si sólo el solvente es sensible a las microondas, este se calentará y dejará fría la matriz, permitiendo una extracción exhaustiva pero poco selectiva. Si, por el contrario, la matriz es la única sensible a las microondas, esta se calentará, provocando un aumento de la presión en su interior que puede llevar a la ruptura de la matriz y a la liberación de los analitos. Este caso presenta una ventaja clara para el tratamiento de especies termosensibles. Por último, si los analitos son los únicos sensibles a las microondas, estos se calentarán y se facilitará su difusión al disolvente frío (Veggi *et al.*, 2012). Las principales desventajas con estas técnicas de preparación de muestra es que SPE y SPME requieren una

matriz de extracción líquida, mientras que la extracción por soxhlet requiere de cantidades de muestra de órdenes de magnitud superiores a los utilizados en el estudio del Patrimonio Cultural (del orden de mg). Por otro lado, la desventaja que presenta la EAM en este caso es que tanto los analitos (triterpenoides) como la mayoría de los disolventes usados (DCM, AcOEt, HXN) presentan una constante dieléctrica baja y, por lo tanto, una baja susceptibilidad a las microondas.

Una de las variantes de la SPME es la extracción por *head space*, (HS-SPME) que consiste en la volatilización de analitos de la matriz sólida por calentamiento para retenerlos desde su fase gaseosa, sobre una fibra de extracción de SPME (J. M. Lee *et al.*, 2007). Esta técnica ha sido explorada en otros proyectos (Díaz González, 2016) para el análisis de piezas arqueológicas, con la desventaja de que el uso de las fibras de microextracción eleva los precios de los análisis, volviéndolos inaccesibles para proyectos arqueológicos pequeños. En este proyecto, se explora el uso de la extracción asistida por ultrasonido (EAU) como un método eficiente para el aislamiento de compuestos de interés.

3.7.1 EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO

La extracción asistida por ultrasonido es una técnica analítica de extracción que implica el uso de ondas mecánicas para generar compresiones de entre 20 y 100 kilo Hertz (kHz) para producir microburbujas que colapsan generando temporalmente sitios de alta presión (1000-2000 bar) y alta temperatura (4000-6000 K) llamados *Hot spots*. Este proceso, que recibe el nombre de cavitación, produce diversos efectos en la matriz sólida que mejoran los resultados de la extracción. Estos mecanismos son:

- **Fragmentación:**
Puede deberse a la colisión entre partículas o a las ondas de choque creadas por el colapso de las microburbujas. Esto reduce el tamaño de partícula, con el consecuente aumento del área superficial del sólido y una mejora en la transferencia de masa.
- **Erosión:**
Es un efecto conocido del ultrasonido provocado por el colapso de las burbujas y es aprovechado en la limpieza de metales (Ilustración III-30).

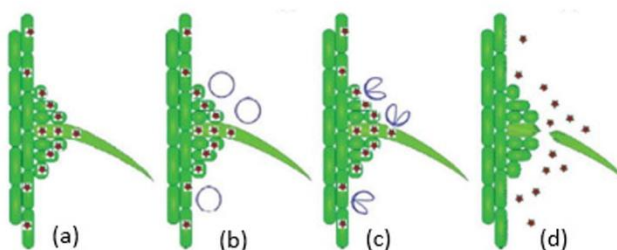


Ilustración III-30. Mecanismo del efecto de la cavitación de burbujas sobre la superficie de un objeto. a) Estructura original. b) Formación de microburbujas. c) Colapso de burbujas. d) Desgaste de la estructura debido a la erosión. Reproducido de Chemat (2017).

- **Sonocapilaridad:**
Bajo ciertas condiciones de sonicación, la velocidad y profundidad de la penetración del disolvente en canales y poros del sólido aumenta.

- **Sonoporación:**
Se refiere a la creación de poros en las membranas celulares que permite la liberación del contenido de las células al disolvente.
- **Tensión de corte:**
Durante la aplicación del ultrasonido, las micro corrientes y turbulencias generan tensión de corte que permite la ruptura de la superficie de estructuras frágiles (VanBavel, 2007).
- **Detexturación:**
Se observa en la forma de degradación de estructuras como la pared celular después de algunos minutos bajo el ultrasonicador. De manera similar al punto anterior, la destrucción de dichas barreras biológicas permite la extracción del contenido de las células al medio de extracción (Ilustración III-31).

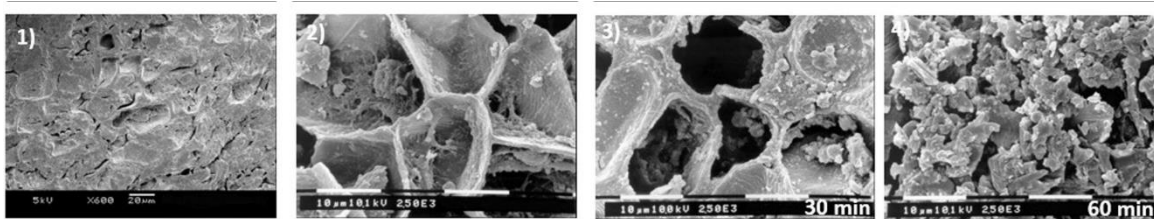


Ilustración III-31. Micrografías de barrido electrónico que muestran el efecto del Ultrasonido en semillas de alcaravea. 1) Semillas sin tratar. 2) Semillas después de una extracción tradicional (60 min, 69 °C) 3 y 4) Semillas después de EAU (20 KHz, 38 °C, 30 min y 60 min). Reproducido de Chemat (2017).

Es relevante mencionar que ninguno de estos efectos se presenta de manera aislada, sino que es una combinación de todos los anteriores lo que produce un aumento en la efectividad del método (Chemat *et al.*, 2017; Lucena Muñoz, 2019; Picó, 2013).

La extracción asistida por ultrasonido ha demostrado ser útil en el aislamiento de muestras biológicas, incluyendo aquellas que implican moléculas lipídicas y terpenoides (Soto-León *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2018; L. Yang *et al.*, 2011). Esta técnica presenta notables ventajas como alta reproducibilidad, tiempos cortos de extracción, fácil manipulación, volúmenes bajos de disolvente y poco consumo de energía (Rezić *et al.*, 2008; L. Yang *et al.*, 2011). Algunas comparaciones de esta técnica frente a otros tipos de extracciones (Da Porto & Decorti, 2009; Pères *et al.*, 2006) para la obtención de compuestos terpénicos, la sitúan como una mejor opción que la hidrodestilación, pero que se encuentra a la par que la extracción soxhlet y que es superada por la extracción con líquidos presurizados. Sin embargo, por la metodología descrita, no se menciona ninguna variación ni optimización en los parámetros de extracción asistida por ultrasonido.

3.8. TÉCNICAS ANALÍTICAS

Como se mencionó en la sección de Estudios Previos, se han utilizado diversas técnicas para el análisis de las resinas de copal entre las cuales se encuentra la CG-EM y la espectroscopía infrarroja (Brody R.H. *et al.*, 2001; Case *et al.*, 2003; Gigliarelli *et al.*, 2015; Hernández-Vázquez *et al.*, 2010; Jemmali *et al.*, 2016; McCoy *et al.*, 2017; Shashoua *et al.*, 2006). Ambas técnicas comparten como característica requerir cantidades de muestra mínimas, siendo técnicas micro destructivas, algo deseable para el análisis de piezas del Patrimonio Cultural.

Además de estas técnicas, otras similares, como la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) se han utilizado para el análisis de resinas de copal (Paola Lucero-Gómez *et al.*, 2014; Merali *et al.*, 2018; Piña-Torres *et al.*, 2018; Romero-Estrada *et al.*, 2016).

3.8.1 ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA DE TRANSFORMADA DE FOURIER DE REFLECTANCIA TOTAL ATENUADA (ATR-FTIR)

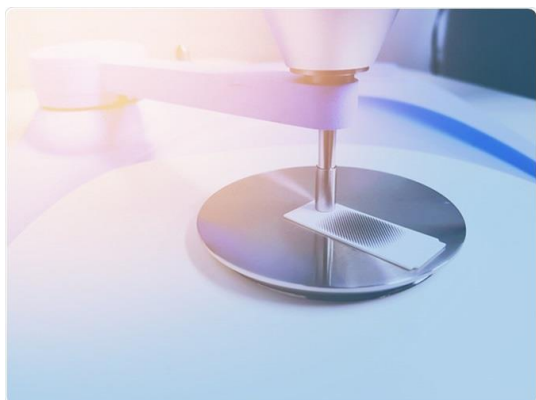


Ilustración III-32. Cristal de ATR-FTIR. Foto de Stock.

La Espectroscopía Infrarroja de Transformada de Fourier de Reflectancia Total Atenuada, o ATR-FTIR, por sus siglas en inglés, se ha perfilado en los últimos años como una técnica provechosa tanto para el estudio de biomoléculas (Bayarı *et al.*, 2020; Sarroukh *et al.*, 2013), como para el estudio de sistemas arqueológicos y de conservación (Chércoles Asensio *et al.*, 2009; Glavcheva *et al.*, 2014; Shashoua *et al.*, 2006), debido principalmente a 3 razones: no necesita ninguna preparación de la muestra, es una técnica no destructiva, y requiere muy poca cantidad de muestra para el análisis.

En la técnica de ATR-FTIR, las muestras pueden encontrarse en fase líquida o como sólidos pulverizados, que se ponen en contacto con la superficie de un cristal de alto índice de refracción, comúnmente de germanio, selenuro de zinc o diamante (Ilustración III-32). El cristal permite crear un efecto de reflexión total interna dentro de sí, durante el cual, el haz de luz infrarroja penetra unos micrómetros en la muestra antes de reflejarse. La profundidad de penetración depende de la longitud de onda del haz, los índices de refracción del cristal y la muestra y del ángulo del haz, describiéndose con la siguiente ecuación (Skoog *et al.*, 2018):

$$d_p = \frac{\lambda_c}{2\pi \sqrt{\text{sen}^2\theta - \left(\frac{n_s}{n_c}\right)^2}}$$

Donde:

d_p es la longitud de penetración

λ_c es la longitud de onda del cristal, calculada como la longitud de onda del haz incidente sobre el índice de refracción del cristal $\lambda_c = \frac{\lambda}{n_c}$

n_s y n_c son los índices de refracción de la muestra y del cristal, respectivamente.

La radiación que penetra la muestra se denomina onda evanescente y, a las longitudes de onda en las que la muestra absorbe dicha radiación, ocurre una atenuación del haz, brindándole el nombre a la técnica. Los espectros de reflectancia obtenidos son similares a los espectros de absorción de infrarrojo ordinarios, aunque las intensidades de las señales pueden variar. La cantidad de muestra requerida es mínima ya que la radiación incide una distancia muy corta, permitiendo el análisis de películas finas de líquido o sólido (Artioli, 2010; Skoog *et al.*, 2018).

3.8.2 CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)

La cromatografía de gases es una técnica analítica de separación en la que los componentes de una muestra vaporizada se reparten entre una fase gaseosa y una fase estacionaria (Ilustración III-33). Esta separación se lleva a cabo gracias a la vaporización de la muestra, su elución mediante el flujo de un gas inerte y su retención según la afinidad que tenga con la fase estacionaria. Esta técnica suele estar acoplada a un detector de espectrometría de masas, que permite medir la relación masa/carga (m/z) de los iones que se producen en la muestra (Skoog *et al.*, 2018). Al igual que la técnica de ATR-FTIR, la CG-EM ha demostrado ser una herramienta valiosa en el análisis de muestras arqueológicas de origen orgánico, especialmente en resinas y



Ilustración III-33. Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas marca Agilent. Imagen propia

maderas, lo que la vuelve de especial interés en el análisis del copal (Abdelmoniem *et al.*, 2020; Richard P. Evershed *et al.*, 1990; Hayek *et al.*, 1991; Puchinger, L. Sauter, F. Leder, 2007; Surowiec, 2008; Trojanowicz, 2008). Las técnicas de separación como la CG permiten separar mezclas terpénicas e identificar sus cantidades relativas, haciendo posible compararlas con estándares de diferentes géneros. Sin embargo, la presencia en dichos materiales de moléculas con grupos funcionales como alcoholes y ácidos carboxílicos, así como compuestos polares, no volátiles y termolábiles, en muchas ocasiones vuelve necesaria

una derivatización previa al análisis cromatográfico. La reducción de la polaridad mejora la definición de las señales debido a la disminución de las absorciones no específicas (Colombini & Modugno, 2009).

Un cromatógrafo de gases está compuesto por 7 partes principales (Ilustración III-34): un sistema de almacenamiento del gas acarreador, un regulador de flujo para el gas, un sistema de inyección de muestra, la columna donde sucede la separación, un horno, un detector y un sistema de recolección de datos. Adicionalmente, existen diversos equipamientos que pueden ampliar la ya versátil gama de aplicaciones de la cromatografía o facilitar algunos aspectos del manejo del equipo.

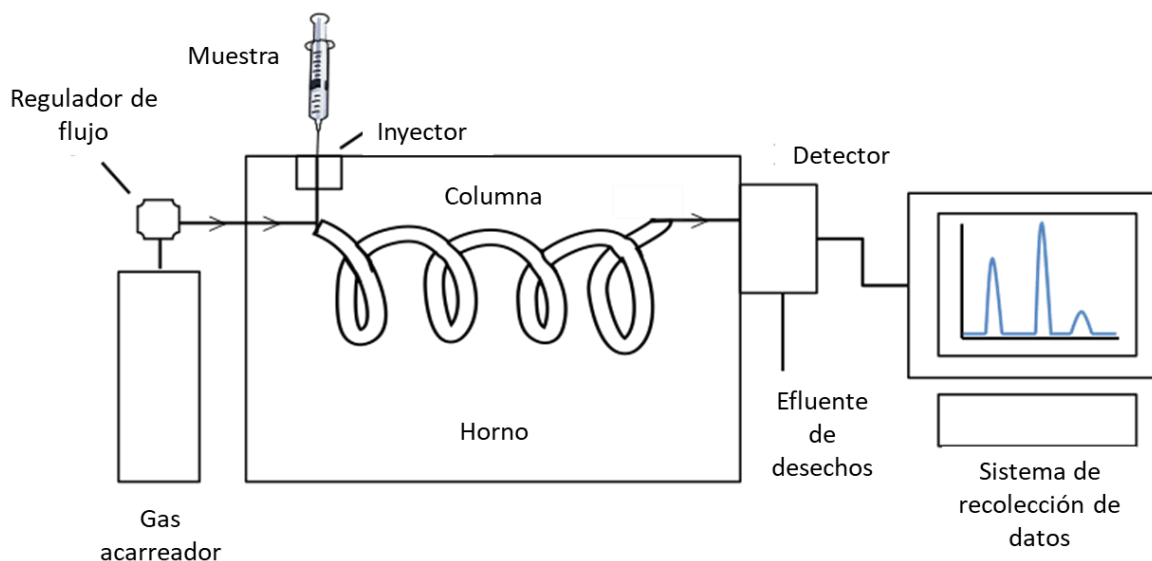


Ilustración III-34. Componentes principales de un cromatógrafo de gases. Imagen original de [BiteSizeBio](#). Traducida.

El gas acarreador es un gas inerte, comúnmente helio, argón o nitrógeno, que se encuentra contenido en tanques a presión. La corriente de gas se controla mediante reguladores, manómetros y medidores de flujo. La velocidad de flujo de la fase móvil modifica el tiempo que ésta se encuentra en contacto con la fase estacionaria, modificando el ensanchamiento de las bandas de elución. Una velocidad de flujo lenta ensanchará las bandas y disminuirá la eficiencia. El sistema de inyección de la muestra es uno de los componentes más variados de la CG y tiene como función vaporizar la muestra y permitir su incorporación en el sistema cromatográfico. Existen diferentes tipos como el *cold on column*, *Split-splitless*, de desorción térmica, de *Headspace*,

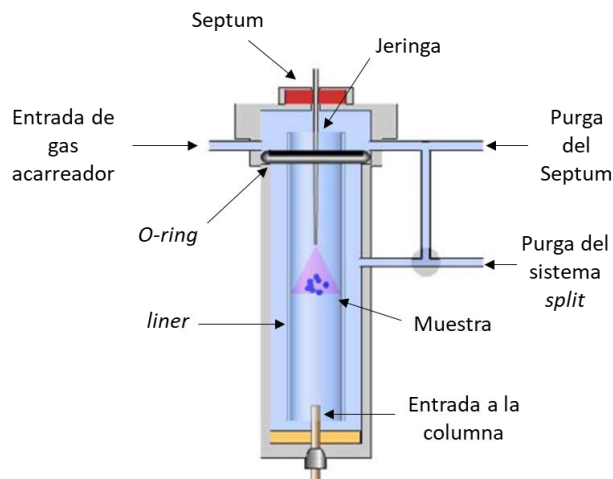


Ilustración III-35. Partes de un inyector Split-Splitless. Imagen de: Nadjib Hamuom. Modificada para agregar nombres.

de Vaporización de temperatura programable (PTV) entre otros. De entre éstos, uno de los más comunes es el sistema Split-splitless (Ilustración III-35), que consiste en un inyector con un sistema de división de flujo que permite separar el vapor de la muestra generado en dos fracciones. Una fracción controlada se dirige a la columna para su separación y otra se expulsa del sistema. Esta separación es opcional y, si no se desea realizarla, el modo splitless permite introducir la totalidad de la muestra vaporizada en el sistema cromatográfico, disminuyendo el límite de detección de los analitos. Al inyector,

independientemente de cuál sea, se le puede acoplar un automuestreador que permite una mayor reproducibilidad y la realización continua de análisis sin necesidad de un analista que inyecte cada muestra individualmente.

Las columnas de separación son el corazón de la cromatografía de gases. Existen dos tipos: empacadas y capilares, que se diferencian en su longitud, su diámetro y su eficiencia. Las columnas capilares cuentan con diámetros internos del orden de micrómetros cuya fase estacionaria es una película de líquido de décimas de micrómetros de espesor y son más eficientes que las columnas empacadas. Estas columnas capilares, a su vez, pueden dividirse en dos: las *columnas tubulares abiertas de paredes revestidas* (WCOT por sus siglas en inglés), que consisten en columnas capilares con paredes revestidas con fase estacionaria; y las *columnas tubulares abiertas revestidas con soporte* (SCOT por sus siglas en inglés), que consisten en capilares revestidos de un soporte sólido que a su vez sostiene a la fase estacionaria líquida (M. Lee *et al.*, 1984). La fase estacionaria puede ser de distinta polaridad, dependiendo de los requerimientos del análisis. Las más comunes son polidimetilsiloxano, Fenil-polidimetilsiloxano 5%, Fenil-polidimetilsiloxano 50%, Trifluoropropil-polidimetilsiloxano 50%, Polietilenglicol y Cianopropil-polidimetilsiloxano 50%. Cada una de estas fases tiene un límite de temperatura que puede ir desde 240 °C hasta 350 °C. La temperatura de la columna se modifica a través de un horno en función del punto de ebullición de la muestra y del grado de separación requerido. Estos cambios pueden ser planeados a través de un programa que aumente, disminuya o mantenga la temperatura.

El sistema de detección es lo que permite cuantificar o identificar un analito. Existen distintos detectores de entre los cuales los más comunes son los de Ionización de Flama (FID), de conductividad térmica, de captura de electrones (ECD), termoiónicos, de conductividad electrolítica, de fotoionización, de emisión atómica, de espectrometría de masas, de UV-visible y de infrarrojo. Los sistemas de detección pueden colocarse en serie siempre que no sean destructivos, con el costo de que cada detector registrará un tiempo de retención ligeramente diferente (Skoog *et al.*, 2018).

Por último, el sistema de adquisición de datos es la interfaz que permite que el usuario controle todos los parámetros de operación del cromatógrafo y registre la información obtenida del análisis. Estos sistemas son propios de cada equipo o marca de equipos y algunos pueden contener programas de procesamiento y análisis de datos (Agilent Technologies, n.d.).

3.8.3 DETECTOR DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS (EM)

La espectrometría de masas es uno de los detectores más sensibles que existen. El fundamento consiste en ionizar la muestra mediante diferentes técnicas y medir la relación masa/carga (m/z) de los iones producidos y separados. De cierta forma, el funcionamiento de un espectrómetro de masas es análogo al de un cromatógrafo de gases. Consta de un sistema de introducción de muestra, una fuente de iones, un analizador de masas y un detector (Ilustración III-36).

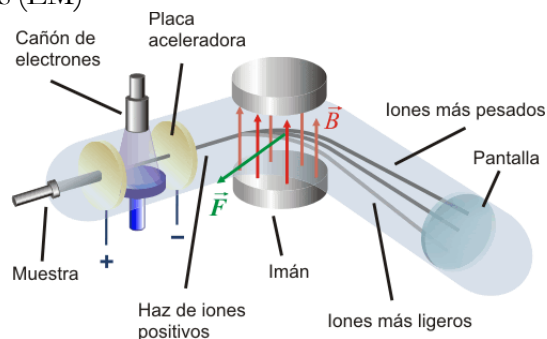
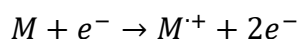


Ilustración III-36. Esquema de un espectrómetro de masas de sector magnético. Fuente: Espectrometría.

Los sistemas de introducción de muestra dependen de si el equipo de EM está conectado al efluente de un cromatógrafo de gases o de líquidos o si funciona de manera independiente. En el caso del acoplamiento con un sistema de cromatografía de gases, se necesita una interfaz que permita trasladar el efluente sin disminuir la temperatura, de forma que no se condense. Las fuentes más comunes de ionización son la ionización química (CI) y el impacto electrónico (EI). La primera de éstas se clasifica como un método blando, que confiere energía suficiente para romper un enlace, pero genera muy poca fragmentación, de manera que es ideal para observar el ion molecular. Es un método muy utilizado para el análisis de moléculas de alta masa molar, generalmente de origen biológico. Por otro lado, la ionización electrónica consiste en someter a la muestra vaporizada ante un haz de electrones de alta energía, producidos por un filamento de tungsteno o renio. El potencial mediante el cual se les acelera se ha estandarizado en 70 eV debido a que a energías alrededor de los 70 eV, la longitud de onda de los electrones coincide con la longitud promedio de los enlaces orgánicos (140 pm), llevándolas a un estado energético excitado que, al relajarse, produce la liberación de 2 electrones, con la consiguiente ionización de la molécula siguiendo el esquema:



Esta ionización a altas energías produce posteriormente una serie de rupturas estructurales que dan lugar a fragmentos moleculares que aún poseen energía suficiente para seguir fragmentándose, generando un espectro que puede funcionar como una huella digital del compuesto analizado (Dass, 2007). Los iones positivos son conducidos mediante una diferencia de potencial hacia el analizador de masas.

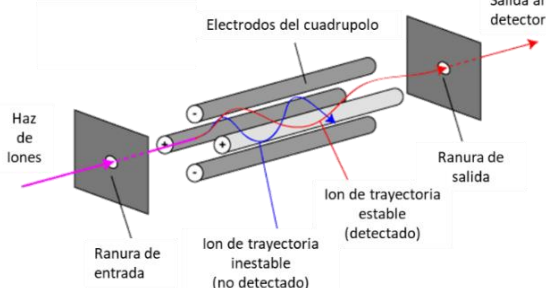


Ilustración III-37. Funcionamiento de un analizador cuadrupolar. Fuente: Universidad de Bristol. Traducida.

Los analizadores de masas (Ilustración III-37) son componentes encargados de separar los iones de acuerdo con su relación m/z . Existen distintos analizadores como sector magnético, cuadrupolares (Q), de tiempo de vuelo (TOF), de trampa de iones y algunos más complejos que combinan los analizadores ya mencionados, como el Q-TOF. El analizador cuadrupolar consiste en cuatro electrodos cilíndricos paralelos que aceleran los iones con un potencial de entre 5 y 10 V. Cada electrodo opuesto está conectado a una fuente variable de potencial que aplica un voltaje de corriente alterna de radiofrecuencia. Los voltajes se incrementan de manera que sólo algunos iones con

determinado valor de m/z , denominados iones resonantes, pasen mientras que el resto es acelerado hacia los electrodos, generando moléculas neutras. El potencial aplicado en los electrodos varía de manera sinusoidal permitiendo que los iones resonantes se muevan con una trayectoria oscilante estable y con una trayectoria inestable para cualquier ion no resonante, lo cual permite la cuantificación de iones con valores específicos de m/z (Paul, 1990). Las moléculas que pasan al analizador de masas alcanzan el detector, generando una corriente de iones, la cual puede visualizarse en el software que controla el equipo como una corriente iónica total, permitiendo obtener un cromatograma tradicional, o como una corriente iónica en función de la m/z del ion, permitiendo obtener un fragmentograma de masas de cada compuesto separado (Skoog *et al.*, 2018).

3.9. DISEÑO DE EXPERIMENTOS

El diseño de experimentos se refiere a la planeación de pruebas cimentada en estadística para estudiar variables de interés y cuantificar los cambios que éstas generan en las variables respuesta. El objetivo de esto es obtener datos que, al analizarse estadísticamente, proporcionen evidencias objetivas acerca de los procesos que se están estudiando. Alternativamente, el diseño de experimentos elimina la necesidad de realizar pruebas exploratorias mediante “ensayo y error” y puede ayudar a minimizar el efecto de variables no controlables (Gutiérrez Pulido & De La Vara Salazar, 2016; Melo *et al.*, 2020).

El diseño de experimentos puede presentarse en 2 etapas, como señalan Melo *et al.* (2020):

- Caracterización: es una etapa exploratoria en la que se busca determinar las variables de mayor influencia en la respuesta.
- Optimización: es una etapa en la que se hallan los niveles óptimos de los factores relevantes determinados en la etapa anterior.

De entre los diversos diseños de experimentos, uno de los más extendidos son los experimentos factoriales, que consisten en el estudio simultáneo del efecto de varios factores de igual interés sobre la respuesta. Una de las cualidades destacables del diseño factorial es que permite medir la interacción entre los factores estudiados, lo cual es de especial importancia en etapas exploratorias en las que se desconoce el efecto de las variables sobre la respuesta. Una de las grandes ventajas de este tipo de diseños es que permite obtener información sobre varios factores sin aumentar demasiado el tamaño del experimento, economizando el uso del material (Melo *et al.*, 2020).

3.9.1 DISEÑO 2^k

El diseño factorial 2^k consiste en un experimento que estudia una cantidad k factores, cada uno con dos niveles de prueba: uno alto y uno bajo. Estos factores pueden ser continuos o discretos. La mayor utilidad de estos diseños se obtiene cuando el número de factores se encuentra entre 2 y 5, pues con una mayor cantidad de factores, demanda una cantidad poco manejable de experimentos. La mayor desventaja de este diseño es que, al únicamente contener 2 puntos, asume que el efecto de los factores e interacciones sobre la respuesta es de carácter lineal, lo que conlleva problemas de ajuste cuando el efecto en realidad es de carácter cuadrático o exponencial.

Cuando se tienen 3 factores, el diseño experimental recibe el nombre de 2^3 . En este tipo de diseño, se evalúa el efecto de 3 factores (A, B y C) con 2 niveles cada uno, utilizando un total de

8 experimentos. Esto puede representarse geoméricamente como se muestra en la Ilustración III-38.

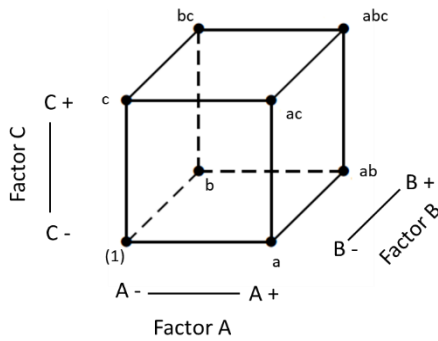


Ilustración III-38. Representación geométrica de un diseño factorial 2^3 .

En esta representación, los signos (-) representan los niveles bajos y los signos (+), los altos. También se utiliza la notación de Young para representar las aristas. En esta notación, el tratamiento en el que todos los niveles son bajos se representa con un (1), y en el resto de los tratamientos, se representa con una letra minúscula los factores que tengan un nivel alto. A través de este diseño, se pueden evaluar 7 factores: los tres principales, las tres interacciones dobles entre los efectos (AB, AC, BC) y una interacción triple (ABC).

Cuando el ajuste del modelo no es adecuado a los datos debido a la desventaja mencionada anteriormente, se puede agregar un punto para verificar o modificar la linealidad de los datos. Un diseño 2^k puede complementarse al agregar un nivel de prueba intermedio (cuando los factores lo permiten) llamado punto central. Este nivel extra permite medir el efecto de la curvatura y se representa mediante un cero (0). Si existen repeticiones de los puntos centrales, pueden identificarse mediante subíndices (0₁, 0₂, 0₃, etc.).

Una vez obtenidos los resultados de cada experimento del diseño, el análisis se realiza utilizando tres herramientas principales: el gráfico de Pareto, el gráfico de efectos principales y los gráficos de interacción. El gráfico de Pareto representa mediante barras la relevancia estadística de cada una de las variables estudiadas, así como de las interacciones entre variables y las compara con la varianza propia del diseño. Si el efecto de la variable es mayor que el de la varianza, entonces la variable es estadísticamente significativa y tiene relevancia sobre el resultado final. De lo contrario, la variable es poco significativa y su efecto sobre el resultado final es mínimo. La gráfica de efectos principales permite observar la relación, directa o inversa, que tiene una variable sobre el resultado y es en este punto donde se puede observar si algún efecto presenta curvatura en su relación con la respuesta. Por último, la gráfica de interacciones permite observar si existe algún par de variables que generen un efecto sinérgico sobre la respuesta. Para interpretar este gráfico, debe observarse si las líneas que representan a cada efecto se cruzan, en cuyo caso sí existe una interacción; o si no se cruzan, en cuyo caso no existe ninguna interacción entre las variables (Gutiérrez Pulido & De La Vara Salazar, 2016; Melo *et al.*, 2020; Montgomery, 2013).

IV. JUSTIFICACIÓN

A pesar de que la arqueometría lleva existiendo más de 50 años, su implementación en México, como disciplina no sólo es reciente, sino que no ha logrado establecerse como un estudio básico en cualquier investigación arqueológica. La información que puede obtenerse mediante el análisis visual de las piezas en su contexto puede verse altamente enriquecida y respaldada por la información química que se obtiene de estudios analíticos como el presente. Queda más que claro la importancia que cobra la colaboración entre diversas disciplinas pues, por sí mismas, las moléculas brindan datos crudos que deben analizarse bajo la perspectiva integradora de la química, capaz de encontrar relaciones entre ellas y su origen, para posteriormente ahondar en el sentido y en el contexto arqueológico de las piezas y poder así, obtener información clara y veraz sobre la cosmovisión de las culturas prehispánicas.

Los sitios arqueológicos estudiados en este trabajo se encuentran en peligro constante debido a la destrucción continua por parte de la industria ladrillera que ha mermado la materialidad de los sitios como La Joya hasta en un 95%, de acuerdo con lo denunciado en un informe de la arqueóloga Annick Daneels (Daneels & Guerrero, 2012). Debido a esto, es relevante continuar con el estudio de las piezas encontradas en estos sitios para atraer la atención en cuanto a su conservación y reafirmar su importancia como parte del patrimonio cultural de nuestro país.

La naturaleza única de las piezas arqueológicas, así como la importancia de su conservación y preservación, muchas veces se encuentran en contraposición a la necesidad de estudiarlas a profundidad mediante métodos químicos. Por esta razón, es necesario optimizar las opciones en cuanto al estudio microanalítico de las piezas de modo que los análisis destructivos hagan el menor daño posible a éstas.

V. HIPÓTESIS

Utilizando la técnica analítica de CG-EM, se puede determinar la presencia de biomarcadores de copal que muestren evidencia del uso ritual de braseros, sahumeros y candeleros provenientes de los sitios arqueológicos Veracruzanos de La Joya, Nopiloa y El Zapotal.

VI. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Identificar, mediante CG-EM, compuestos característicos de copal que permitan determinar si las piezas analizadas fueron utilizadas como quemadores.

6.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Optimizar las condiciones de extracción asistida por ultrasonido requeridas para la preparación de la muestra, incluyendo: disolventes a utilizar, volumen de disolvente, tiempo de sonicación y número de extracciones.
- Proporcionar evidencia que ayude a determinar la función de los objetos analizados.
- Analizar una resina de copal identificada botánicamente (*Bursera bipinnata*).
- Estudiar, mediante una probeta, el cambio de las especies químicas presentes en una muestra de copal antes y después del proceso de combustión.
- Complementar el estudio mediante espectroscopía infrarroja ATR-FTIR.

VII. DESARROLLO EXPERIMENTAL

7.1. MATERIALES Y EQUIPOS

7.1.1 MATERIALES

- Vidrio de reloj
- Pipetas Pasteur
- Propipetas
- Micropipeta Ohaus® Across AO-1000
- Micropipeta Ohaus® Across AO-100
- Puntas para micropipeta de 250 y 1000 μL
- Tubos de ensaye con tapa de plástico con rosca de 10 mL
- Espátula de Cr-Ni
- Gradillas para tubos de ensaye
- Viales para CG-EM de 2 mL
- Insertos de vidrio de 250 μL
- Mortero y pistilo de ágata

7.1.2 EQUIPOS E INFRAESTRUCTURA

- Balanza analítica A&D Phoenix GH-202
- Cromatógrafo Agilent Technologies 7890B con columna HP-5MS (5% fenil metil siloxano) de 30 m x 250 μm x 0.25 μm y automuestreador Agilent Technologies 7693 acoplado a un analizador de masas Agilent Technologies 5977A
- Baño ultrasónico Elma Easy Elmasonic 60 H
- Centrífuga Hermle Z306
- Espectrómetro de Infrarrojo ATR-FTIR Agilent Technologies Cary 670 con diamante monolítico PIKE Technologies GladiATR
- Cronómetro
- Biblioteca NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 14)
- Agilent Technologies Qualitative Analysis
- Agilent MassHunter Unknown Analysis
- Statgraphics® 19

7.1.3 REACTIVOS Y DISOLVENTES

- Diclorometano (DCM)¹
- Metanol (MeOH)¹
- Acetato de Etilo (AcOEt)¹
- Hexano (HXN)¹
- Helio (He)
- Nitrógeno (N₂)

¹ Todos los disolventes son de grado HPLC, de la marca J.T. Baker

7.1.4 MUESTRAS

- Tapa 39-12889 (El Zapotal)
- Tapa 41-12892 (El Zapotal)
- Brasero 65-12450 Borde (El Zapotal)
- Brasero 66-12450 Fondo (El Zapotal)
- Tapa 21-5045 (Nopiloa)
- Candelero 1 cámara 1 (La Joya)
- Candelero 1 cámara 2
- Candelero 1 Tierra de bolsa
- Candelero 2 cámara 1 (La Joya)
- Candelero 2 cámara 2
- Candelero 2 Tierra de bolsa
- Resina de *Bursera bipinnata*

7.2. MÉTODOS

7.2.1 SELECCIÓN DE LAS PIEZAS

La totalidad de las piezas se encontraban resguardadas en las bodegas del Museo de Antropología de Xalapa y fueron seleccionadas de acuerdo con parámetros como las huellas de uso, su forma y su contexto arqueológico, en concordancia con los objetivos establecidos en el proyecto “Análisis de los quemadores de incienso del Centro de Veracruz” (Velasco-Fuentes, en prensa). Es decir, se seleccionaron piezas que muestran evidencia de que algo fue quemado allí, ya sea en forma de desgaste o de hollín o piezas que, debido a su forma, se intuye que pudieron ser quemadores o contenedores rituales y piezas que, por el sitio específico en el que se encontraron, como santuarios y templos, pudieron desempeñar un papel importante en rituales. Por otro lado, se seleccionaron también piezas, como los candeleros de La Joya, cuya función es incierta tanto por la falta de huellas de uso como por la ambigüedad de su forma y que, por lo tanto, constituyen un problema arqueológico aún sin solución.

7.2.2 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Para estudiar los residuos químicos que pudieron impregnarse en el barro, fue necesario raspar aproximadamente 1 cm de espesor de las paredes interiores de las piezas, que son aquellas que pudieron tener contacto con las resinas y objetos quemados. Para esta tarea se utilizó un mini taladro *Dremel MultiPro* lavado previamente con agua destilada y manejado en todo momento con guantes de nitrilo (Ilustración VII-1). Se obtuvieron alrededor de 3 gramos de polvo de barro de cada pieza que fueron guardados en bolsas de plástico selladas y etiquetadas con el número de registro de la pieza. De algunas piezas, se muestreó tanto el fondo como las paredes, en la parte media y en la parte más cercana a la superficie con el objetivo de comparar el enriquecimiento químico de los recipientes. Se esperaba encontrar una mayor concentración de biomarcadores en el centro de los recipientes. La solicitud de autorización y realización de estos dos pasos iniciales fueron llevadas a cabo por la M. en Arqueol. Rocío Velasco Fuentes con permiso del INAH y el Museo de Antropología de Xalapa.

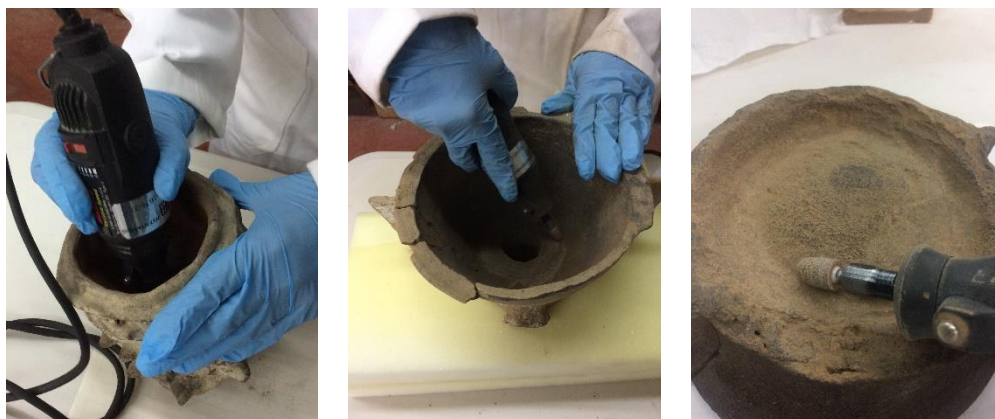


Ilustración VII-1. Muestreo de las piezas arqueológicas realizado por la M. en Arqueol. Rocío Velasco Fuentes.

7.2.3 EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO: MÉTODO PRELIMINAR



Ilustración VII-2. Baño Ultrasonico Elma Easy Elmasonic 60 H. Imagen: Elma.

El método preliminar utilizado en el laboratorio para verificar si las muestras contenían biomarcadores se describe a continuación: Se pesaron aproximadamente 50 mg de muestra, se colocaron en un tubo de ensaye con rosca, al cual se le añadió 1 mL de HXN utilizando una micropipeta Ohaus AO-1000 y se tapó. Se colocó en un baño ultrasónico (Ilustración VII-2) a temperatura ambiente durante 20 minutos utilizando una gradilla, cuidando que quede sumergido a una altura superior al líquido contenido. Posteriormente, se centrifugó durante 15 min a 3500 rpm, cuidando el balance de la centrífuga. A continuación, el contenido líquido del tubo se trasvasó en intervalos a un vial con inserto de vidrio

de 250 μ L utilizando una pipeta Pasteur, evaporando el disolvente con una línea de nitrógeno entre intervalos hasta completar el volumen total, llevándolo a sequedad. Para finalizar, el extracto seco se resuspendió en 100 μ L de HXN utilizando una micropipeta Ohaus AO-100 para su inyección en el cromatógrafo.

7.2.4 EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO: OPTIMIZACIÓN

Para la optimización del método antes descrito, se identificaron puntos clave que pudieran afectar el desempeño de la extracción, siendo estos el tipo de disolvente, el tiempo de sonicación, el número de extracciones y el volumen de extracción.

El método elegido para la optimización fue el diseño de experimentos 2^k , utilizando únicamente 3 variables de prueba, volviéndolo un diseño factorial 2^3 con 8 experimentos en total. Estas variables de prueba en la primera optimización y sus valores se resumen en la Tabla VII-1.

Tabla VII-1. Variables de prueba y sus valores para la primera optimización.

	Número de extracciones (a)	Tiempo de sonicación (min) (b)	Tipo de disolvente (c)
Valor alto (+)	3	20	DCM
Valor intermedio (0)	2	15	Mezcla 1:1
Valor bajo (-)	1	10	AcOEt

Los tipos de disolvente fueron seleccionados debido a la consulta de estudios de solubilidad de compuestos triterpénicos (Cely Veloza *et al.*, 2014; De La Cruz-Cañizares *et al.*, 2005; Pérez-López *et al.*, 2021; Yukawa *et al.*, 2004, 2006). Los tiempos de sonicación fueron seleccionados pensando en reducir la cantidad de tiempo y energía gastadas en el estudio, y finalmente, las extracciones sucesivas fueron propuestas conforme a la idea de que, con un volumen constante, las extracciones sucesivas son más eficientes que una única extracción. Las variables que se eligieron mantener constantes en este estudio fueron la temperatura (30 °C) y el volumen de disolvente (1.5 mL). Para la optimización se utilizó la muestra 66-12450 debido a que, con los análisis preliminares se confirmó la presencia de biomarcadores de copal y a que era la muestra con más masa.

Debido a la cualidad de único de las muestras con las que se trabaja, es difícil permitirse realizar una gran cantidad de experimentos que permitan replicar el diseño varias veces. Por este motivo, y con el objetivo de aumentar los grados de libertad del error, se decidió añadir 4 puntos centrales. De este modo, el total de experimentos es 12, organizados en 2 bloques diferentes, obteniendo el diseño aleatorizado presentado en la Tabla VII-2.

Tabla VII-2. Diseño aleatorizado para la primera optimización.

Bloque	Número de extracciones	Tiempo de sonicación	Disolvente	Clave
1	+	-	+	ac
	+	+	-	ab
	0	0	0	0 ₁
	-	-	-	1
	-	+	+	bc
	0	0	0	0 ₂
2	+	+	+	abc
	-	+	-	b
	-	-	+	c
	0	0	0	0 ₃
	+	-	-	a
	0	0	0	0 ₄

De modo que la metodología quedó organizada de la siguiente manera:

Se pesaron aproximadamente 50 mg de muestra, se colocaron en un tubo de ensaye con rosca, al cual se le añadió la cantidad indicada del disolvente adecuado a cada experimento utilizando una micropipeta Ohaus AO-1000 y se tapó. En el caso de los experimentos que requerían una única extracción, el volumen total (1.5 mL) fue despachado por completo, mientras que a los experimentos que requerían múltiples extracciones sólo se les colocó un tercio o un medio del volumen total, respectivamente. Cada tubo se colocó en el baño ultrasónico utilizando una gradilla y se ajustó el calentamiento a 30 °C durante 20 minutos, el tiempo máximo. A la par, se tomó el tiempo con un cronómetro para retirar los tubos que requerían un tiempo menor en el momento indicado. Posteriormente, todos los tubos se centrifugaron durante 10 min a 3500 rpm, cuidando el balance de la centrifuga. A continuación, el contenido líquido de los tubos se trasvasó en intervalos a viales con insertos de vidrio de 250 µL utilizando pipetas Pasteur, evaporando el disolvente con líneas de nitrógeno entre intervalos hasta completar el volumen total, llevándolo a sequedad. En el caso de los experimentos que requerían extracciones sucesivas, el procedimiento se repitió la cantidad de veces indicada para llegar a un volumen total de 1.5 mL. Para finalizar, los extractos secos se resuspendieron en 50 µL del disolvente que les correspondía utilizando una micropipeta Ohaus AO-100 para su inyección en el cromatógrafo.

Los resultados obtenidos, que se explicarán a detalle en la siguiente sección, llevaron al desarrollo de una segunda optimización, modificando los parámetros como se muestra en la Tabla VII-3.

Tabla VII-3. Variables de prueba y sus valores para la segunda optimización.

	Volumen de extracción (mL) (a)	Tiempo de sonicación (min) (b)	Tipo de disolvente (c)
Valor alto (+)	1	5	DCM
Valor intermedio (0)	0.75	3	Mezcla 1:1
Valor bajo (-)	0.5	1	MeOH

Para esta segunda optimización, se mantuvo la misma metodología, con las respectivas variaciones de acuerdo al nuevo diseño de experimento, a excepción de que se disminuyó la cantidad de muestra a 30 mg y se realizó en un bloque único. El diseño aleatorizado se muestra en la Tabla VII-4.

Tabla VII-4. Diseño aleatorizado para la segunda optimización.

Volumen de extracción	Tiempo de sonicación	Disolvente	Clave
+	-	+	ac
+	-	-	a
+	+	+	abc
-	-	+	c
-	+	+	bc
-	-	-	1
+	+	-	ab
-	+	-	b
0	0	0	0 ₁
0	0	0	0 ₂

7.2.5 MÉTODO OPTIMIZADO

Finalmente, el método optimizado con el que se analizaron el resto de las muestras se describe a continuación. Se pesaron aproximadamente 30 mg de cada muestra, se colocaron en un tubo de ensaye con rosca, al cual se le añadió 1 mL de DCM utilizando una micropipeta Ohaus AO-1000 y se tapó. Se colocaron en el baño ultrasónico con calentamiento a 30 °C utilizando una gradilla y el temporizador se ajustó a 5 minutos. Posteriormente, se centrifugaron durante 10 min a 3500 rpm. A continuación, el contenido líquido de los tubos se trasvasó en intervalos a viales con insertos de vidrio de 250 µL utilizando pipetas Pasteur, evaporando el disolvente con líneas de nitrógeno entre intervalos hasta completar el volumen total, llevándolo a sequedad. Para finalizar, los extractos secos se resuspendieron en 50 µL de DCM utilizando una micropipeta Ohaus AO-100, para su inyección en el cromatógrafo. Los residuos sólidos se dejaron secar y se guardaron para su análisis por ATR-FTIR.

7.2.6 MÉTODO CROMATOGRÁFICO

Los viales se colocaron en el automuestreador del cromatógrafo de gases para su análisis. La temperatura del inyector es de 300 °C, en modo splitless, utilizando He como fase móvil a un flujo de 1 mL/min. La inyección fue de 1 µL, utilizando un programa de temperatura que consistió en una valor inicial de 80 °C por un minuto, seguido de una rampa inicial de 10 °C/min hasta alcanzar una temperatura de 150 °C, que se mantuvo por un minuto más y, finalmente, una segunda rampa de 6 °C/min hasta alcanzar una temperatura de 310 °C, que se mantuvo por

6 minutos (Ilustración VII-3). Las condiciones del espectrómetro de masas se establecieron a 70 eV en modo Scan, en un intervalo de 25 a 500 m/z.

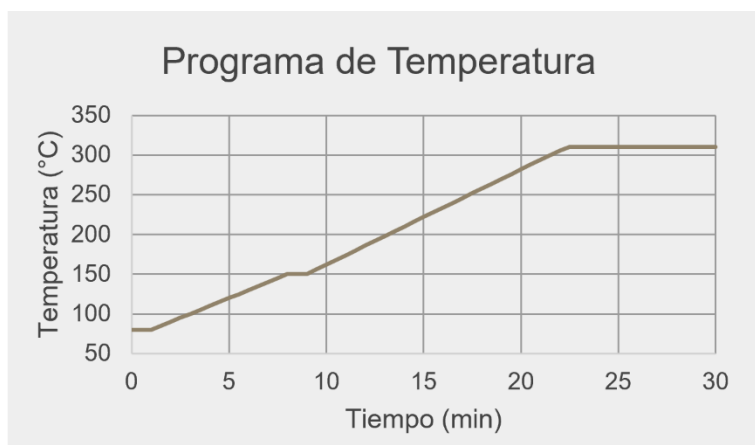


Ilustración VII-3. Programa de temperatura utilizado para el análisis cromatográfico.

7.2.7 CONTROLES

En algunos casos, el sistema cromatográfico, los disolventes, las bolsas contenedoras y el método utilizado pueden ser fuente de moléculas que pueden interferir con el análisis, introduciendo en la matriz elementos externos a ésta y pudiendo llevar a identificaciones erróneas en el contenido de la muestra. Para asegurar que no existen interferencias o, en dado caso, identificar y eliminar las interferencias producidas por estas condiciones, se realizaron una serie de blancos en cada análisis, consistentes en un blanco de columna, un blanco de disolventes, un blanco de método y un blanco de bolsa.

El blanco de columna se realizó con el objetivo de identificar las moléculas que la degradación del polímero de la fase estacionaria, también llamado sangrado de la columna pudiera introducir en el análisis. El procedimiento consistió en la inyección de 1 μL de aire con el método cromatográfico antes descrito.

El blanco de disolventes se realizó con el objetivo de asegurar que el disolvente de grado cromatográfico efectivamente estuviera libre de impurezas y se realizó inyectando 1 μL de DCM, HXN, AcOEt y MeOH con el método estándar.

El blanco de método consistió en realizar todo el procedimiento optimizado, pero sin colocar muestra en el tubo de ensaye, con el objetivo de analizar si alguna molécula contaminante podría ser extraída de las paredes de los tubos de ensaye, de las pipetas Pasteur o de las puntas de micropipeta. Como se menciona en el procedimiento optimizado, se inyectó 1 μL de la “resuspensión” de DCM.

Por último, el blanco de bolsa se realizó colocando 5.4 mg de la bolsa de plástico que contenía las muestras, recortada de una zona donde no hubiera tenido contacto con éstas, y extrayéndola con el método optimizado, con el objetivo de evaluar si algunos residuos poliméricos pudieron adsorberse sobre la superficie porosa del barro. También se inyectó 1 μL .

7.2.8 ANÁLISIS POR ATR-FTIR

Antes de colocar cualquier muestra, se realizó un *background*, que consiste en una lectura sin ninguna muestra sobre el cristal con el objetivo de medir cualquier posible interferencia del ambiente y que después es sustraída de la medida final de la muestra. Este blanco se realizó con 64 barridos. Una pequeña cantidad de muestra previa a su extracción fue pulverizada finamente utilizando un mortero de ágata y posteriormente, se colocó sobre el cristal del equipo de ATR-FTIR. Se realizó una lectura de 64 barridos también y se limpió el cristal utilizando isopropanol. Se realizó un nuevo *background* y se colocó sobre el cristal la muestra pulverizada después de haber sido extraída realizando una nueva lectura. Finalmente, se volvió a limpiar el cristal, se realizó un nuevo *background* y se colocó una muestra del extracto resuspendido.

7.2.9 MÉTODO PARA PROBETA

Con el fin de estudiar la retención de compuestos sobre matrices porosas y el efecto de la combustión, se propuso la realización de una probeta como se describe a continuación:

Se pesaron aproximadamente 2 mg de resina pura obtenida de *Bursera bipinnata*, se disolvieron en 750 μL de DCM y se inyectó 1 μL en el cromatógrafo para tener una referencia de los compuestos presentes. Posteriormente, 5.8 mg de resina pura se pulverizaron y homogeneizaron con 30.1 mg de polvo ya extraído en un mortero de ágata. Esta mezcla se colocó sobre un vidrio de reloj y, con ayuda de un encendedor se colocó a llama directa durante 1 minuto. Posteriormente, el polvo resultante se extrajo utilizando el método optimizado.

La matriz sin fortificar se obtuvo realizando una segunda extracción con el método optimizado de 30 mg de polvo, con el objetivo de asegurar que no presentara señales de compuestos orgánicos después de la primera extracción. Este polvo sin señales se utilizó como blanco para el método.

La resina de *Bursera bipinnata* fue proporcionada por el Dr. Ricardo Reyes Chilpa, del Departamento de Productos Naturales del Instituto de Química de la UNAM y fue recolectada el 13 de enero del 2021 en la localidad de Los Sauces, en el municipio de Huautla, Morelos por la M. en C. Dulce Yehimi López Miranda, del Doctorado en Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias de la UNAM. La especie de copal fue identificada por la M. en B.I. Itzel Abad Fitz y por el Dr. José Blancas Vázquez.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN

Al realizarse la primera optimización, los resultados obtenidos arrojaron la presencia de biomarcadores de copal sin modificaciones por degradación, como lo son la α -amirina, β -amirina y la β -amirona. Estas tres moléculas fueron seleccionadas para analizar el diseño del experimento. Sin embargo, también es notable la presencia de marcadores de combustión, marcadores de degradación de terpenos, e incluso monoterpenos volátiles, de los cuales se hablará en una sección posterior.

Para el primer diseño, las variables respuesta seleccionadas fueron el área de pico de los siguientes compuestos: α -amirina, β -amirina y β -amirona obteniendo los resultados mostrados en la Ilustración VIII-1.

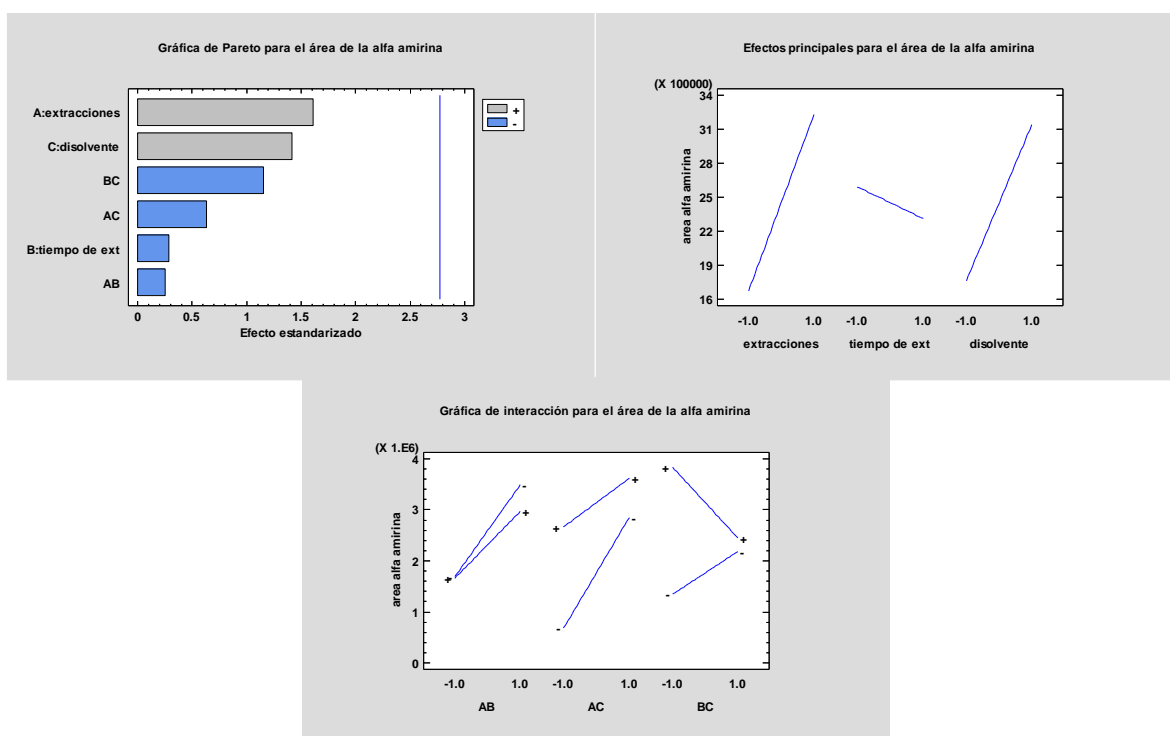


Ilustración VIII-1. Gráfica de Pareto (sup. izq.), de efectos principales (sup. der.) y de interacción (inf.) para la primera optimización.

Como se puede observar en la gráfica de Pareto, no existe ningún efecto individual ni combinación que sean significativas en la respuesta para la α -amirina. En la gráfica de efectos principales se puede observar que, a pesar de que son efectos no significativos, existe una mejora en la respuesta cuando hay más extracciones y cuando se utiliza DCM, pero contraintuitivamente, cuando se aumenta el tiempo de sonicación, el efecto disminuye. Este efecto, aparentemente extraño, puede explicarse debido a que durante la creación de *hot spots*, las altas presiones y temperaturas generadas momentáneamente pueden llevar a la degradación de las moléculas en fragmentos más pequeños que no tienen relación con la molécula original en un proceso conocido como *Microwave Catalytic Degradation* (Mishra et al., 2020; Riaz & Ashraf, 2015). Por último, en la gráfica de interacción se observa que, debido a que no se cruzan ninguna línea, no existen interacciones entre los efectos. Desafortunadamente, este comportamiento no

significativo se repite en las respuestas respecto a β -amirina y β -amirona. Los resultados pueden deberse a dos razones, la primera de ellas es que al no haber replicado el diseño y tener pocos grados de libertad en el error, la estimación de la varianza se eleva, sobreestimando el efecto estandarizado. La segunda razón puede ser que los niveles seleccionados para estudiar los efectos sean demasiado altos, de manera que no existe una diferencia relevante entre éstos, dando la sensación de que no son significativos. Para explorar esta última posibilidad, y ante la restricción de replicar un diseño de experimentos varias veces, se decidió elegir un nuevo grupo de variables y niveles, dando lugar al segundo diseño de experimentos.

En este segundo diseño, las variables respuesta planteadas también fueron el área de pico de la α -amirina, β -amirona y β -amirina, sin embargo, con este nuevo diseño, se dejó de observar la β -amirina en los cromatogramas, a excepción de una de las repeticiones de los puntos centrales que no pudo ser replicada. Debido a la baja concentración de algunos compuestos y a su adsorción desigual en la matriz sólida, es imposible asegurar una homogeneidad total en el polvo analizado, lo que lleva a problemas como el anteriormente descrito. Otro motivo que podría explicar la ausencia de este marcador es la relajación de las condiciones de extracción respecto a la primera optimización: menor volumen de disolvente, menor tiempo de sonicación y menor cantidad de extracciones sucesivas. Los resultados se muestran en la Ilustración VIII-2.

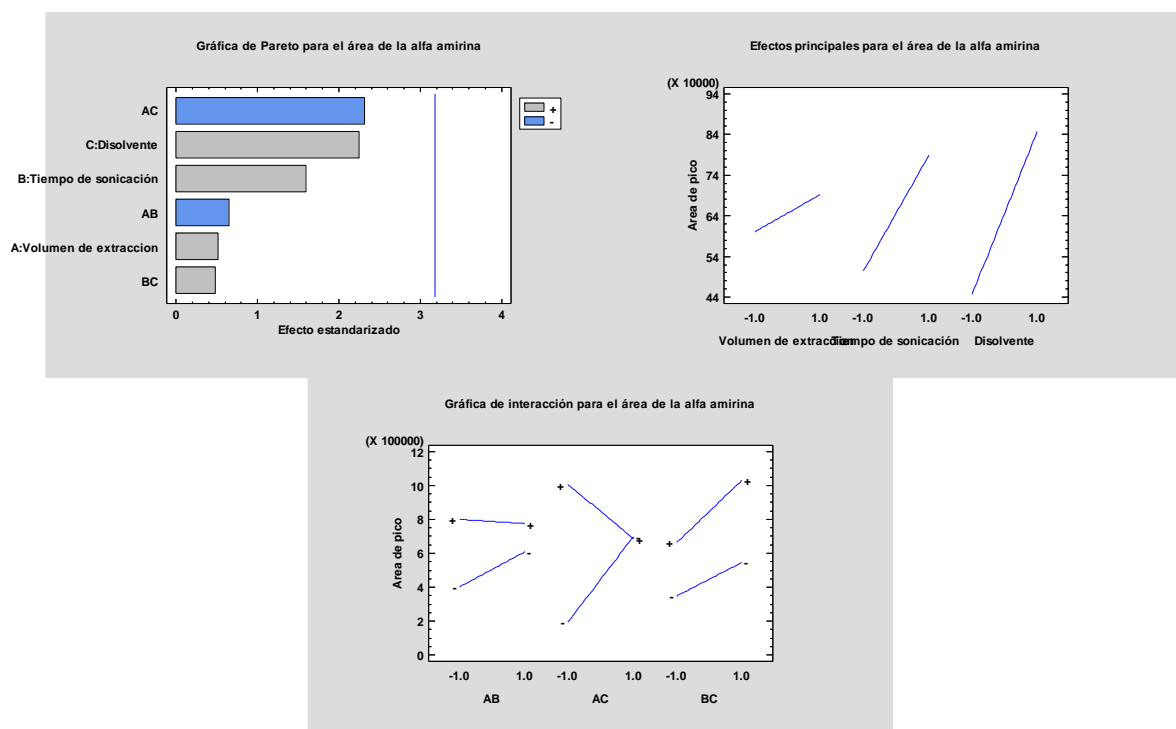


Ilustración VIII-2. Gráfica de Pareto (sup. izq.), de efectos principales (sup. der.) y de interacción (inf.) para la segunda optimización.

En este grupo de gráficas podemos observar rápidamente que, una vez más, ninguno de los efectos es significativo a pesar de que su efecto estandarizado creció. El comportamiento de los efectos principales con estos nuevos valores es similar al observado en la optimización anterior, colocando al DCM como un disolvente que incrementa el área de pico de la α -amirina. En cuanto al volumen de extracción, al ser una pendiente menor que la observada para los otros dos efectos, se interpreta que su efecto es menor y no hay diferencia entre utilizar 500 μ L o 1 mL. El efecto del tiempo de sonicación se invierte a valores menores que los del diseño de experimentos

anterior, pues mientras que en el primero se observaba una ligera disminución en el área cuando se dejaba en sonicación por 20 minutos, en este diseño se observa un aumento en el área cuando se deja en sonicación por 5 minutos. En la gráfica de interacción podemos observar que los efectos A y C (volumen y tipo de disolvente) presentan interacción a valores altos, siendo este efecto secundario AC el que más se acerca a ser significativo en los valores estudiados.

La ecuación que describe el área de pico de la α -amirina como función de las variables estudiadas es la siguiente:

$$\text{Área}_{\alpha\text{-amirina}} = 646637 + 45608.3 A + 141279 B + 199748 C - 58042.8 AB - 205125 AC + 42862.8 BC$$

Donde:

A: Volumen de disolvente

B: Tiempo de sonicación

C: Tipo de disolvente

Todos las variables se encuentran en unidades estandarizadas (-1 a 1)

Esta ecuación describe los datos en un 82.21%. El estadístico de Durbin-Watson para este modelo es de 2.37602 con un P-valor de 0.8961, indicando que no existe autocorrelación en los datos y, por lo tanto, no existe un error sistemático.

De acuerdo con esta ecuación, los valores óptimos para maximizar el área de pico es un volumen de extracción de 500 μL , un tiempo de sonicación de 5 minutos y DCM como disolvente.

A pesar de que la disminución en los valores estudiados sí presentó una ligera mejora en el efecto estandarizado de las variables analizadas, no se logró una modificación significativa en el área de pico, por lo que la idea planteada anteriormente se vuelve más relevante. Cuando se trabaja con objetos del patrimonio cultural, no siempre es posible contar con las condiciones experimentales óptimas para desarrollar metodologías analíticas que proporcionen la mayor calidad estadística. En este caso, la gran varianza de los resultados puede deberse a que, desde el origen de la muestra, el polvo no contiene una distribución homogénea del analito, lo que puede afectar en los resultados a pesar de realizar un muestreo lo más aleatorio posible. Por otro lado, la cantidad de muestra presente es tan pequeña que, incluso disminuyendo los valores de las variables, pueden seguir siendo demasiado altos para notar un cambio significativo. Existe un límite en el volumen que es posible operar en el laboratorio utilizando los materiales con los que se contaban y 500 μL de disolvente está muy cerca de él, por lo que disminuir aún más el volumen de extracción, a pesar de que podría representar una ventaja respecto al gasto de reactivos que se realiza, complicaría innecesariamente la experimentación. A pesar de esto, los resultados no deberían observarse como un fracaso, pues permitieron demostrar que no es necesario gastar un exceso de recursos cuando se puede obtener información importante con cantidades de muestra y volúmenes de disolvente muy bajos, tiempos de sonicación muy cortos y sin necesidad de realizar extracciones sucesivas.

A pesar de que estrictamente no se puede hablar de una optimización del método, debido a que ninguno de los parámetros estudiados fue estadísticamente significativo, sí existen factores cualitativos al borde de lo que se estudió de forma matemática que presentan claras ventajas a ciertas variaciones del método. El primero de estos factores fue la observación de algunos analitos de interés que no aparecían con el método original o con algunas variaciones del diseño de experimentos. Uno de los ejemplos más notorios es el timol, un monoterpeno volátil que no

es originario del copal, que pudo ser observado únicamente cuando se utilizaba DCM como disolvente. Otro de estos ejemplos es el pireno, un hidrocarburo aromático policíclico que puede servir como marcador de combustión o de alquitrán, que sólo pudo ser observado en las variaciones que, a la vez, utilizaban DCM como disolvente y eran extraídas por 10 o más minutos. Por otro lado, al disminuir el volumen de extracción y el tiempo de sonicación por debajo de 1 mL y 10 minutos, se dejaron de observar biomarcadores triterpénicos como la β -amirina y el acetato de β -amirina, como también el pireno y el timol, dejando visibles únicamente la α -amirina y la β -amirona. Conforme a estos datos, se puede interpretar que, aunque cualquier variación en el método es útil para la extracción de los biomarcadores α -amirina y β -amirona, indicativos del copal, hay mucha información que se pierde al disminuir los parámetros hasta las condiciones más suaves. Por este motivo, las razones para seleccionar el método descrito en la sección anterior como el óptimo para extraer la mayor cantidad de biomarcadores, no sólo de copal, son las siguientes: El DCM presenta la mayor aptitud para extraer compuestos mono y triterpénicos. Es necesario sonicar por 10 minutos para poder observar marcadores de combustión como el pireno; un tiempo mayor no representó ninguna ventaja y un tiempo menor no permite observarlos. Un volumen de 1 mL de disolvente facilita las operaciones en el laboratorio al disminuir el riesgo de contaminar los extractos con polvo que no se haya asentado al centrifugar y que pudiera tapar la jeringa del cromatógrafo, además de permitir la extracción de más biomarcadores triterpénicos. Las extracciones sucesivas no aseguraron la extracción de una mayor cantidad ni variedad de compuestos por lo que no es necesario realizarlas.

El método optimizado propuesto presenta una amplia mejora respecto al método original en cuanto a la cantidad y abundancia de marcadores encontrados. Específicamente respecto a los biomarcadores de copal, la diferencia entre los métodos original y optimizado puede observarse en la Ilustración VIII-3, que muestra la comparación de los cromatogramas obtenidos a partir de la extracción de la misma pieza, con cantidades de muestra similares y el mismo método cromatográfico, con la única diferencia de que el cromatograma verde muestra la metodología de extracción optimizada y el negro, la original.

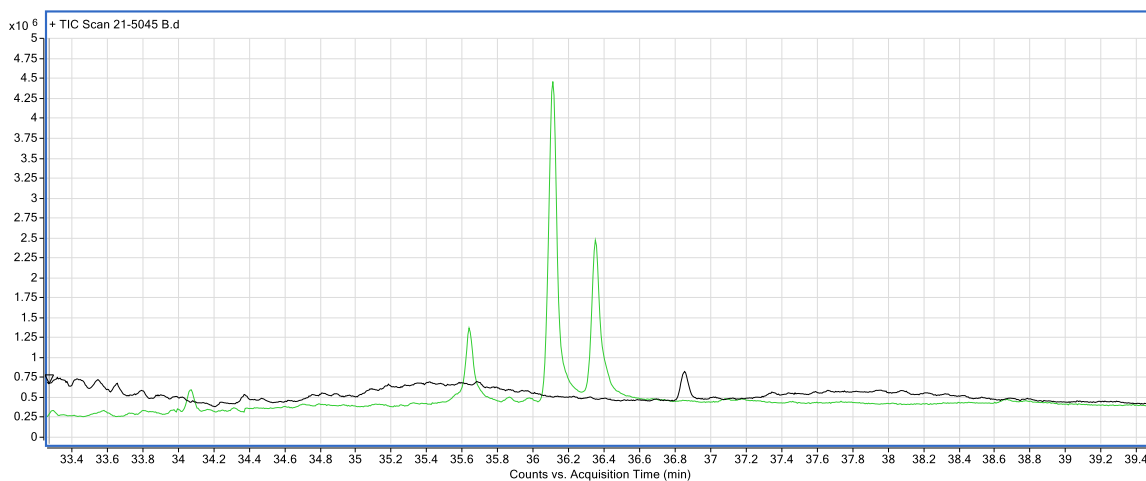


Ilustración VIII-3. Cromatogramas sobrepuestos de la tapa 21-5045, de Nopíloa. En verde se observa el cromatograma obtenido por el método optimizado y en negro, el obtenido por el método original. La señal observada en el minuto 35.64 corresponde a la β -amirina; en el min 36.11, corresponde al lupeol; en el minuto 36.35, a la α -amirina y en el minuto 36.85, a la molécula contaminante Tris(2,4-di-terbutilfenil) fosfito.

En esta ilustración, los tres triterpenos característicos son observables únicamente con el método optimizado. Asimismo, el método propuesto permite reducir ampliamente la cantidad de muestra necesaria para los análisis. Mientras que otros proyectos (Díaz González, 2016;

Hernández Lara *et al.*, 2018; Powis *et al.*, 2013) requieren el uso de 200 mg hasta 2 g de muestra por análisis, cantidades difíciles de conseguir cuando se busca minimizar el daño a las piezas, esta propuesta reduce la cantidad de muestra hasta 30 mg.

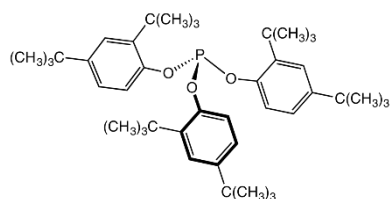


Ilustración VIII-4. Estructura química del Tris-(2,4-ditertbutilfenil) fosfito (Irgafos 168).

En el cromatograma del método original (color negro, Ilustración VIII-3), se observa una señal correspondiente a la molécula Tris-(2,4-ditertbutilfenil) fosfito, comercialmente conocida como *Irgafos 168* (Ilustración VIII-4). Esta molécula es un aditivo común en polímeros plásticos como el polietileno y funciona como antioxidante y antidecolorante (Celiz *et al.*, 2020; Y. Yang *et al.*, 2016). La ausencia de una señal para esta molécula en el cromatograma del método optimizado (color

verde, Ilustración VIII-3) puede deberse a dos razones; la primera de ellas es que la ausencia de grupos funcionales polares dentro de la molécula, la vuelve más afín a disolventes totalmente apolares como el hexano. La segunda razón es que, al ser un contaminante proveniente de la bolsa que contenía el polvo y no una molécula presente originalmente en la muestra, su distribución no es necesariamente homogénea y por lo tanto, puede aparecer sólo en algunas fracciones de muestra.

8.2. ANÁLISIS POR ATR-FTIR

Se realizaron análisis por ATR-FTIR de la totalidad de las piezas previa y posteriormente a su extracción, obteniendo que ninguno de los espectros resultantes tenía diferencias observables en ambos momentos (Ilustración VIII-5 e Ilustración VIII-6). Partiendo de esta información, es posible establecer dos hipótesis: la cantidad de materia orgánica presente es tan minúscula que su absorción se encuentra enmascarada por las señales de la matriz sólida encontrada en abundancia, o que la materia orgánica, al encontrarse retenida en el seno de la matriz sólida, se encuentra protegida de la onda infrarroja evanescente, impidiendo su absorción y detección. En cualquiera de los casos, no es posible observar señales de los analitos mediante este método.

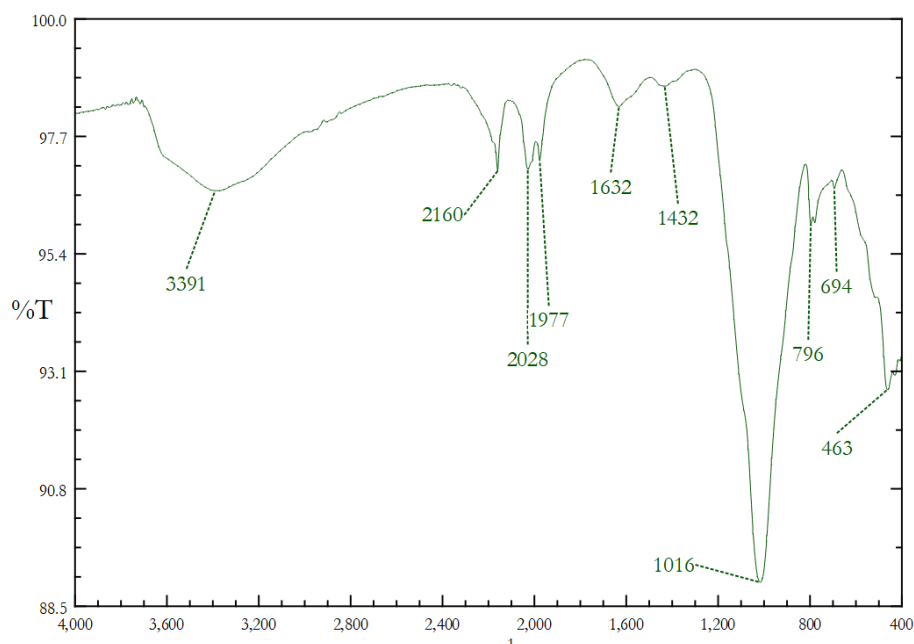


Ilustración VIII-5. Espectro de IR de la pieza 41-12892 previo a su extracción.

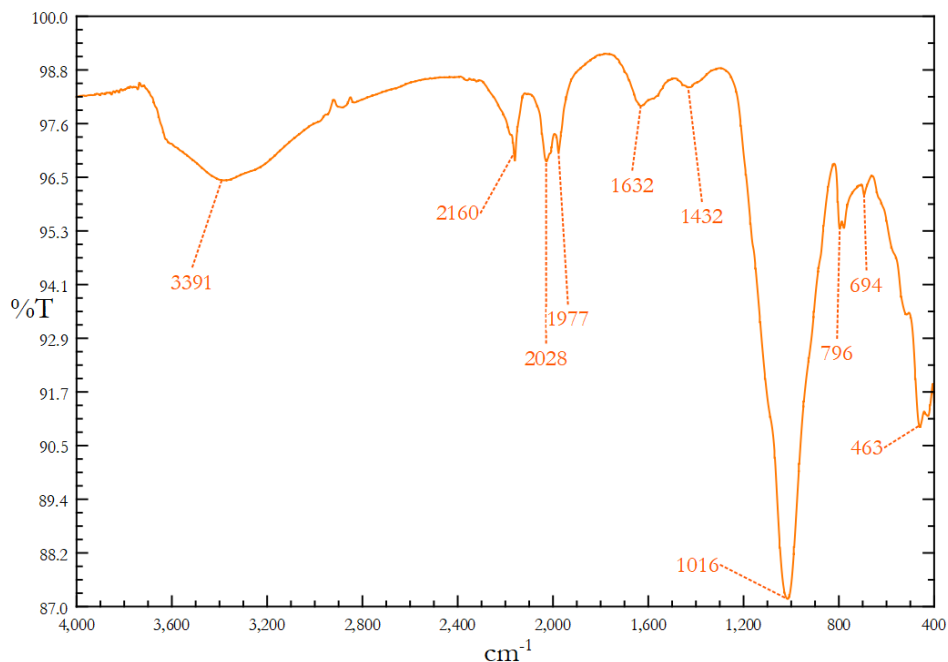


Ilustración VIII-6. Espectro de IR de la pieza 41-12892 posterior a su extracción.

Las señales encontradas en las piezas corresponden a estiramientos inorgánicos entre 1000 y 1100 cm^{-1} , identificados como característicos de silicatos y sales de fósforo, componentes comunes del suelo. Por otro lado, se encuentra una señal ancha presente en 3390 cm^{-1} que puede deberse simplemente a los estiramientos O-H de la humedad (Nakanishi, 1977).

Al analizar el espectro de infrarrojo del extracto, se puede observar que, si se elimina el bloqueo de la matriz inorgánica, se puede detectar con claridad la presencia de materia orgánica (Ilustración VIII-7), evidenciada por las señales angostas e intensas en 2923 cm^{-1} y 2856 cm^{-1} ,

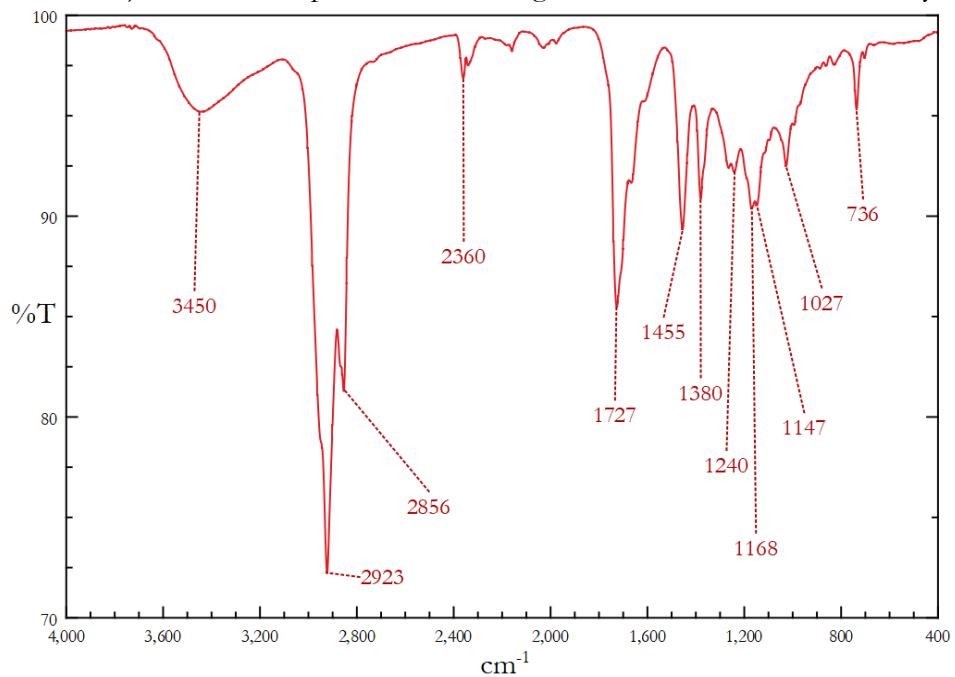


Ilustración VIII-7. Espectro de IR del extracto orgánico de la pieza 41-12892.

correspondientes a estiramientos C-H de metilos y metilenos, respectivamente, confirmadas por las señales angostas y medianas de 1380 y 1455 cm^{-1} que pueden utilizarse para identificar metilos específicamente. En 3450 cm^{-1} se observa una señal que puede deberse tanto a la presencia de humedad como a la presencia de grupos OH en la mezcla. La señal mediana y angosta presente en 1727 cm^{-1} evidencia la presencia de grupos carbonilo (Nakanishi, 1977).

La claridad con la que se observan las señales en el extracto, a pesar de tener la misma cantidad de materia orgánica que se encontraba presente en el sólido, indica que la hipótesis correcta es que la adsorción de la materia orgánica sobre la matriz inorgánica porosa, bloquea la capacidad de absorción de las ondas infrarrojas, de manera que es necesario extraer dicha materia orgánica antes de su análisis por IR. Por otro lado, el hecho de que el extracto analizado sea una mezcla y no un compuesto puro, impide la elucidación estructural de sus componentes y únicamente es capaz de brindar información superficial sobre su contenido. Esto también impide elucidar si hay presencia de amirinas o de lupeol, pues las señales características, que se encuentran reportadas en 3450, 3408, 3360, 2895, 2865, 1645 y 1311 cm^{-1} para ambas amirinas y en 3325, 2958, 1645 y 1229 cm^{-1} para el lupeol (Hamid et al., 2017; Vázquez et al., 2012), se sobreponen con señales de otras moléculas orgánicas comunes.

8.3. BIOMARCADORES DE COPAL

Otros biomarcadores que pueden relacionarse con el copal, distintos a los discutidos en las secciones 3.3.5 y 3.3.6, encontrados en las muestras se representan a continuación.²

Acetato de lupeol y Acetato de β -amirina

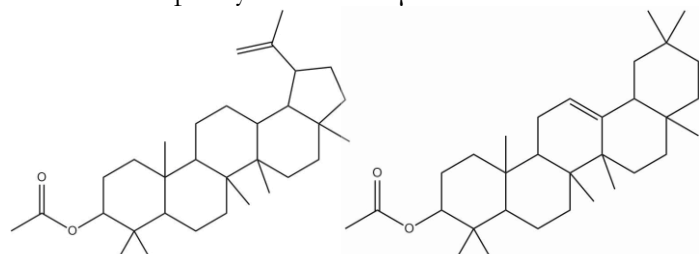


Ilustración VIII-8. Acetato de lupeol (izq.) y acetato de β -amirina (der.).

En estas especies, el grupo hidroxilo del triterpenoide se encuentra acetilado (Ilustración VIII-8). En los cromatogramas correspondientes a la probeta, se encontró que la concentración del acetato de β -amirina aumenta después de la combustión, lo que sugiere que su formación se favorece con ésta. A pesar de que ni el lupeol ni sus variantes aparecen en el análisis de la resina, el mismo razonamiento podría seguirse para la formación del acetato de esta molécula.

Ursa-9(11),12-dien-3-ol y Ursa-9(11),12-dien-3-ona

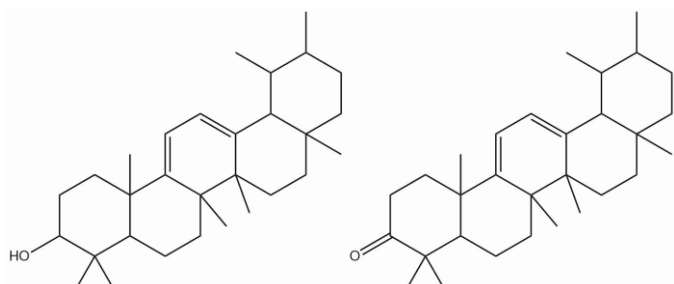


Ilustración VIII-9. Ursa-9(11),12-dien-3-ol (izq.) y Ursa-9(11),12-dien-3-ona (der.)

Las moléculas Ursa-9(11),12-dien-3-ol y su versión oxidada como cetona, la Ursa-9(11),12-dien-3-ona, (Ilustración VIII-9) se han encontrado presentes en especies de la familia Burseraceae (Albino *et al.*, 2020; da Cruz Albino *et al.*, 2021). Es notable su similitud estructural con la α -amirina, destacando que la única diferencia es la adición de una segunda insaturación

² Los cromatogramas y una lista completa de las moléculas con tr y match halladas se adjunta en el anexo 1.

en el tercer anillo de la molécula. Su presencia en la probeta sin quemar y posterior desaparición en la probeta quemada, indica que la molécula sufre algún tipo de modificación al exponerse al calor que podría dar lugar a otros triterpenos o a productos de descomposición más pequeños.

8.4. OTROS BIOMARCADORES

8.4.1 MARCADORES DE COMBUSTIÓN

En una reacción de combustión, especialmente cuando es incompleta, además de dióxido de carbono y agua, se generan subproductos que pueden clasificarse en alcanos y en hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs). Debido a que los alcanos poco ramificados pueden provenir de distintas fuentes bióticas y abióticas, la información que proveen es inespecífica y, por lo tanto, no pueden utilizarse como marcadores. Por el contrario, es poco común que los PAHs se generen de manera natural, y suelen asociarse con actividades antropogénicas como la combustión (Ciešlik & Fabiańska, 2021; Howsam & Jones, 2022). Los PAHs utilizados como marcadores de combustión en este trabajo ya han sido reportados previamente en estudios de combustión controlada (Vicente *et al.*, 2016) y se encuentran enlistados en la Tabla VIII-1. Los tiempos de retención y el *match* de cada compuesto varían ligeramente y se encuentran enlistados en los resultados de cada pieza.

Tabla VIII-1. PAHs utilizados como marcadores de combustión.

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
2,6-dimetoxi-9-metil-antraceno		Benzimidazo [2,1-a] isoquinolina	
2-isopropil-10-metilfenantreno		1-metil-criseno	
8-isopropil-1,3-dimetil-fenantreno		Ciclopenta[cd]pireno	
9-metilen-9H-fluoreno		Fluoranteno	

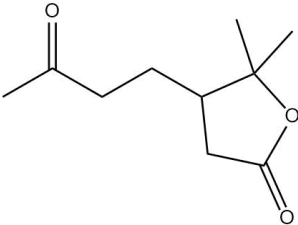
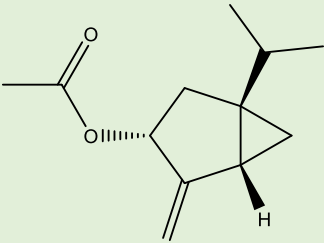
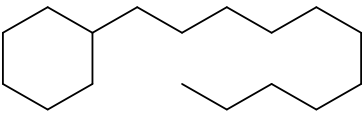
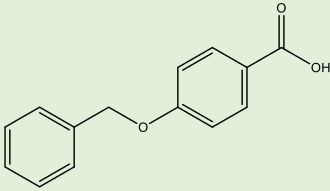
9-metil-antraceno		1,6-dimetil-naftaleno	
4,7-dimetil-Benz(a)antraceno		1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-naftaleno	
Benz[a]antraceno		2,3,5-trimetil-fenantreno	
3,6-dimetil-fenantreno		Pireno	

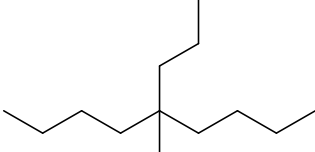
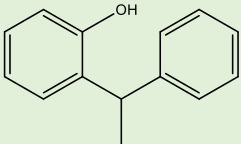
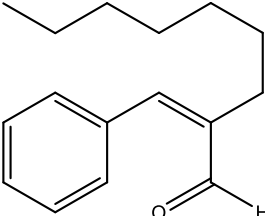
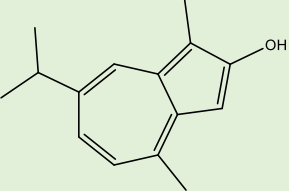
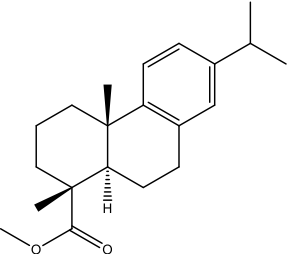
8.4.2 MARCADORES DE RESINAS Y MADERA

Otros marcadores interesantes, así como la información que proporcionan se encuentran enlistados en la Tabla VIII-2. Los tiempos de retención y el *match* de cada compuesto varían ligeramente y se encuentran enlistados en los resultados de cada pieza.

Tabla VIII-2. Marcadores de resinas, madera y otras especies.

Nombre	Estructura	Información
Timol		<p>El timol es un monoterpeneo que constituye el principal componente del aceite esencial del tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>), de donde obtiene su nombre y el cual es nativo del mediterráneo (Majdi <i>et al.</i>, 2017; Šegvić Klarić <i>et al.</i>, 2007).</p> <p>También es constituyente de otras especies como las saturejas (<i>Satureja táurica</i>, <i>S. hortensis</i> L.) (Bahirifar <i>et al.</i>, 2016), utilizadas como hierbas aromáticas en distintas gastronomías europeas; y del Ajowán (<i>Trachyspermum ammi</i>), una planta medicinal originaria de la India y Pakistán (Gujar <i>et al.</i>, 2010). Se ha encontrado como componente de plantas del género <i>Bursera</i> como la <i>B. graveolens</i>, en un porcentaje tan bajo como 0.47% (Sotelo Méndez <i>et al.</i>, 2017) y como su isómero</p>

		<p>constitucional p-cymene-8-ol en <i>B. slechtendalii</i> (Villa-Ruano <i>et al.</i>, 2018). A pesar de estos orígenes confusos, esta molécula también se encontró en la resina analizada en las probetas, apareciendo únicamente después de la combustión de ésta, lo que podría indicar que es un producto de la descomposición térmica de otros monoterpenos aromáticos encontrados en las resinas de <i>Bursera</i> como el 3-metil-4-isopropilfenol o el p-cymene-2,5-diol, entre otros.</p>
<p>Dihidro-5,5-dimetil-4-(3-oxobutil)-2(3H)-furanona</p>		<p>De acuerdo con algunos artículos, (Ishida <i>et al.</i>, 1981; Levis <i>et al.</i>, 2016; Rindelaub <i>et al.</i>, 2016; Thomas & Perret, 1986) esta molécula (Ilustración VIII 6) corresponde a la degradación del monoterpeno α-pineno y sus isómeros por oxidación atmosférica, por ozonólisis en agua o incluso por degradación metabólica. Su presencia sugiere la presencia de monoterpenos adheridos a la superficie que se degradaron previo a su volatilización. Es importante recordar que los monoterpenos son la fracción más volátil de las resinas y la que usualmente se pierde primero.</p>
<p>(1α,3α,5α)-4-metilen-1-(1-metiletil)-biciclo [3.1.0] hexan-3-ol</p>		<p>También conocido como sabinol, es un monoterpeno reportado en aceites esenciales de Enebras (<i>Juniperus</i> spp.) y Salvia (<i>Salvia officinalis</i>) (Adams <i>et al.</i>, 1993; Croteau <i>et al.</i>, 2006), especies no reportadas en la región. Sin embargo, también se encontró presente en la probeta previa a su combustión, por lo que puede asociarse al copal de <i>Bursera</i>.</p>
<p>Undecil ciclohexano</p>		<p>Es un alcano que puede encontrarse como producto natural de la sábila (<i>Aloe vera</i>) (Sanada <i>et al.</i>, 1993), aunque otro artículo lo señala como un producto de la combustión de componentes grasos del corazón y de la médula ósea, pudiendo servir como un marcador de combustión de huesos (Buonasera <i>et al.</i>, 2019).</p>
<p>Ácido 4-benciloxibenzoico</p>		<p>Estas tres moléculas son producto de la descomposición térmica, enzimática o bacteriana de la lignina, uno de los componentes principales de la madera, de manera que indican que los objetos que las posean contuvieron en algún momento madera en combustión o</p>

5-metil-5-propil-nonano		descomposición. Debido a que la lignina está ampliamente distribuida, no es posible determinar el origen biológico específico de la madera quemada (Chiranjeevi <i>et al.</i> , 2020; Choi <i>et al.</i> , 2016; Guo <i>et al.</i> , 2022; Riyadi <i>et al.</i> , 2020).
2-(1-feniletil)-fenol		
2-(fenilmetil)-Octanal		Producto natural de la flor de manzanilla (<i>Chamaemelum nobile</i>) que le brinda su olor y sabor característicos. Es también un producto comúnmente sintetizado y utilizado por dichas propiedades (Zure & Pinjari, 2018).
1,4-dimetil-7-(1-metiletil)-Azuleno		Se encuentra presente en resinas de la familia Burseraceae (Mohamed <i>et al.</i> , 2014).
Metil dehidroabietato		Funciona como un biomarcador de resinas de la familia Pinaceae. También es componente del ámbar de <i>Agathis</i> , originario de Eurasia y se ha encontrado en algunas resinas de la familia Burseraceae (Cartoni <i>et al.</i> , 2004; Grimalt <i>et al.</i> , 1987; Hamm <i>et al.</i> , 2004).

8.4.3 HIPÓTESIS DEL CHILE

Uno de los elementos con más valor para las culturas mesoamericanas es el chile, fruto de las plantas de *Capsicum* spp., tanto por sus usos cotidianos en la alimentación como por los significados que se le atribuyeron en algunas culturas (Ilustración VIII-10). La presencia de moléculas provenientes del chile ya ha sido reportada en piezas pertenecientes a sitios arqueológicos de la cultura Olmeca del preclásico inferior en la zona sur de Veracruz (Hernández Lara *et al.*, 2018) y del preclásico medio y tardío en Chiapa de Corzo (Powis *et al.*, 2013). Sin embargo, no ha sido reportada en la región central de Veracruz. En el contexto de las piezas estudiadas en ambos artículos, se establece su importancia como objeto de tributo, como componente medicinal, y como objeto de representación de lo masculino y lo caliente (Murrieta *et al.*, 2014). Por este motivo, no resulta extraño que pueda haber sido utilizado en piezas de carácter ritual.



Ilustración VIII-10. Uso del bumo de chile como castigo para los niños en la Historia General de las cosas de la Nueva España.

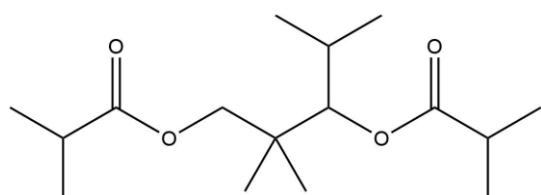


Ilustración VIII-11. 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato.

Ambos estudios citados anteriormente utilizaron como método de identificación la comparación del tiempo de retención de las moléculas identificadas contra estándares, ambos estudiados a través de la técnica de cromatografía de líquidos de ultra alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS). De forma simple, el analizador de masas en tándem permite realizar, de manera inicial una ionización suave por ionización química (CI), electrospray (ESI) o ionización/desorción por láser (MALDI) que genera poca o ninguna fragmentación en la molécula y, por lo tanto, permite observar el ion molecular, y posteriormente, elige un ion generado para seguir fragmentándolo mediante métodos de ionización más energéticos, como la disociación por colisión, la fotodisociación o la reacción ion-molécula, el cual genera un patrón de fragmentación que permite su identificación de manera similar a la utilizada con la ionización por impacto electrónico. La desventaja de este tipo de identificación es que, a pesar de que el analizador de masas en tándem permite obtener información de los fragmentos después de la segunda ionización, en ninguno de los dos artículos se realiza una comparación de los fragmentogramas experimentales con los que se pueden encontrar en bibliotecas. Aunado a esto, debido a que la identificación se realiza por comparación con estándares, no permite identificar ni reportar moléculas que surgen de la degradación de la capsaicina y la dehidrocapsaicina y que podrían servir como marcadores de descomposición de chile. Por último, es importante mencionar que, a pesar de que las piezas arqueológicas que se analizaron en dichos artículos sí poseen biomarcadores intactos, las condiciones de preservación de cualquier pieza son irrepetibles y no implican que todas las piezas que contuvieron chile en su origen contendrán capsaicina y dehidrocapsaicina intactas al momento de su análisis.

En los cromatogramas de las piezas 39-12889, 41-12892, 65-12450 y 66-12450, se encontró la molécula 2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato, (Ilustración VIII-11) un componente volátil del chile (*Capsicum* spp.) que aumenta su concentración después del secado y la combustión (Kim *et al.*, 2022). Esta molécula por sí misma no puede considerarse un

biomarcador del chile, pues no se encuentra exclusivamente en esta planta, sino que se utiliza como intermediario en la manufactura de plastificantes, surfactantes, pesticidas y resinas para empaques alimenticios, así como contaminación cerca de plantas de coque (Beccaria *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022).

Elaborando sobre la hipótesis del chile, la molécula más característica de las especies del género *Capsicum* es la capsaicina, (Ilustración VIII-12) responsable de la sensación de picor al consumir este tipo de frutos. La capsaicina es una molécula lipofílica del grupo de los vainilloides, que se caracterizan por un anillo aromático sustituido con un grupo hidroxilo y un grupo metoxi en una posición relativa meta-, junto con un tercer sustituyente variable en posición relativa para- al grupo hidroxilo. En el caso específico de la capsaicina, el tercer sustituyente es una metil amida. El producto de la hidrólisis de dicho enlace es el ácido 8-metil-6-en nonanóico.

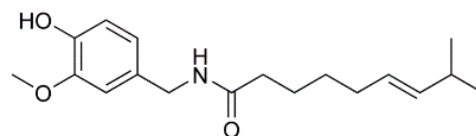


Ilustración VIII-12. Capsaicina.

Debido a la variedad de grupos funcionales reactivos presentes en esta molécula, su degradación por oxidación o catálisis enzimática es esperada. La primera parte de esta degradación se plantea en la cadena lineal de la amida, (Ilustración VIII-13) la cual, por efecto de la descomposición térmica, incluso a temperaturas tan bajas como 40 °C, puede perder el grupo metilo y el doble enlace, o sufrir reacciones de transamidación para sustituir la cadena de ácido 8-metil-6-en nonanóico con una cadena simple de ácido nonanóico (Arifin & Djaeni, 2018).

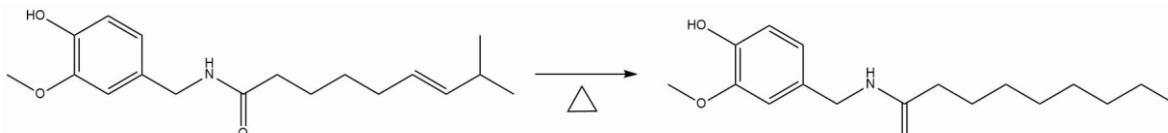


Ilustración VIII-13. Sustitución de la porción alifática de la capsaicina. Imagen propia.

La segunda parte de esta degradación es la hidrólisis, abiótica o enzimática, del enlace amida para generar una cadena de ácido nonanóico y vainillilamina (Ilustración VIII-14). La degradación enzimática se debe a la enzima capsaicina acilasa, presente en bacterias asociadas a plantas del género *Capsicum*. (Flagan & Leadbetter, 2006)

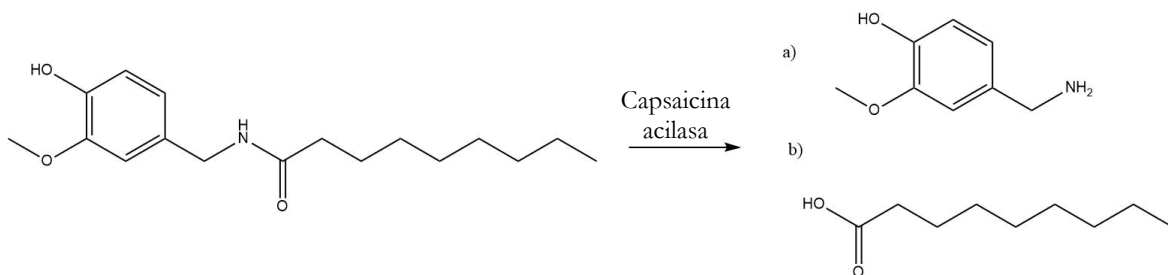


Ilustración VIII-14. Hidrólisis del enlace amida de la capsaicina para generar vainillilamina (a) y ácido nonanóico (b). Imagen propia.

El ácido nonanóico ($tr=7.17$, $match=88.9$) puede encontrarse en los cromatogramas de las piezas 41-12892 y 66-12450.

La degradación de la vainillilamina continúa mediante procesos que pueden seguir dos mecanismos diferentes: oxidación abiótica o enzimática del grupo amina para transformarse en un aldehído o ácido carboxílico, o una transformación más profunda mediante un mecanismo de radicales libres.

En el primer caso, (Ilustración VIII-15) la transformación del grupo amina en aldehído, dando como resultado vainillina, es catalizada por la enzima vainillilamina amidasa, encontrada en bacterias como *Pseudomonas putida*, presentes de manera natural en diversas especies de *Capsicum*, mientras que su posterior oxidación a ácido carboxílico (ácido vainílico) o dióxido de carbono es catalizada por diversas bacterias (Flagan & Leadbetter, 2006).

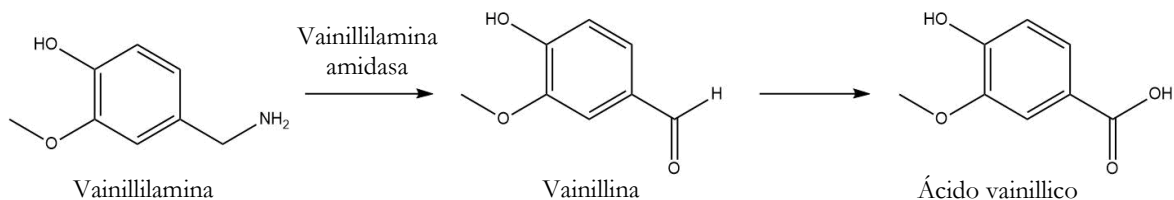


Ilustración VIII-15. Oxidación enzimática de la vainillilamina. Imagen propia.

En el caso de la transformación radicalaria, la estructura de la vainillilamina sufre modificaciones más profundas (Ilustración VIII-16). Las fuentes de radicales libres pueden ser peróxidos producidos por diversos tipos de células o el oxígeno atmosférico. De acuerdo con Yue *et al.* (2021), dependiendo de los radicales que reaccionen con la molécula, se pueden perder u obtener diversos grupos funcionales nuevos. Si el radical que reacciona es el $O_2 \cdot^-$, se pueden obtener catecoles y benzoquinonas, que pueden continuar degradándose para formar cadenas lineales de dioles y dionas de menor masa molecular.

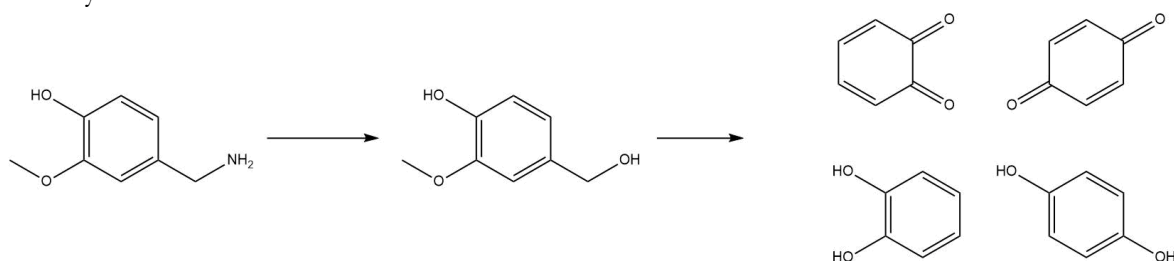


Ilustración VIII-16. Degradación radicalaria de la vainillilamina generada por el radical $O_2 \cdot^-$. Imagen propia.

Por otro lado, si el radical que reacciona es $HO \cdot$, el anillo aromático puede sustituirse con un nuevo grupo hidroxilo, el cual, si se encuentra en posición orto- respecto a la amina, puede ciclarse para formar 1,2-benzoxazoles (Ilustración VIII-17).

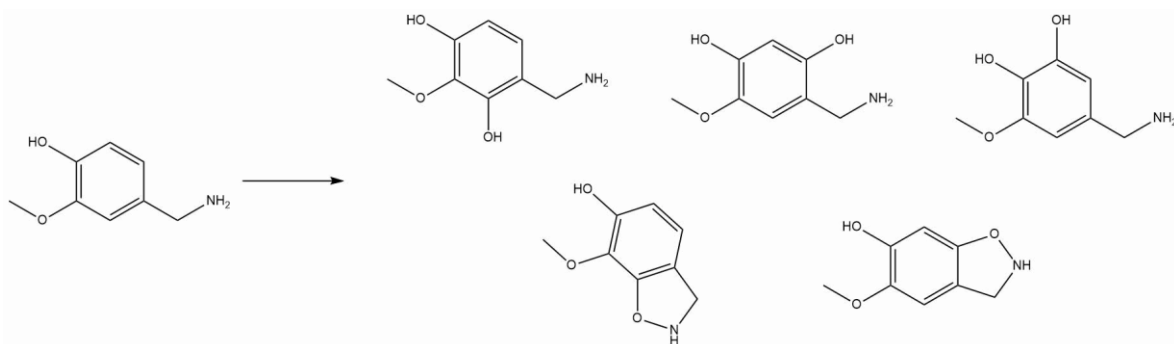


Ilustración VIII-17. Degradación radicalaria de la vainillilamina generada por el radical $HO \cdot$. Imagen propia.

Las últimas dos posibilidades son la oxidación del grupo amina para formar nitrilos (Ilustración VIII-18) o la dimerización mediante enlaces diazo, sin embargo, en este estudio no se han encontrado moléculas que cumplan con estas características.

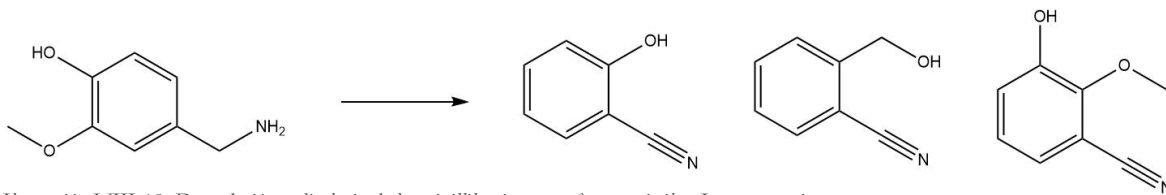


Ilustración VIII-18. Degradación radicalaria de la vainillilamina para formar nitrilos. Imagen propia.

A pesar de no encontrar nitrilos entre los resultados, este grupo funcional puede sufrir hidrólisis para formar ácidos carboxílicos, y si pierden algunos grupos OH, como se plantea en las moléculas mostradas en el artículo, es capaz de dar origen a salicilatos (Ilustración VIII-19).

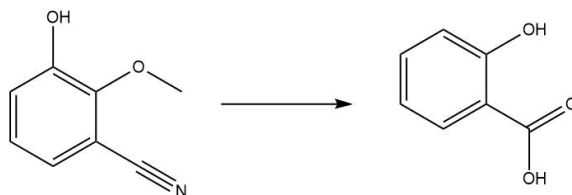


Ilustración VIII-19. Propuesta de formación de salicilatos. Imagen propia.

Sobre esta línea de pensamiento, algunas moléculas encontradas que pueden provenir de la descomposición de la vainillilamina son tres salicilatos: el 2-etilhexil salicilato, el n-hexil salicilato, el n-pentil salicilato y dos catecoles, el o-(4-metoxibenzoil)-o'-(5-valeril)-1,2-bencenodiol, y el 3,4-dihidroxifenilglicol (Ilustración VIII-20).

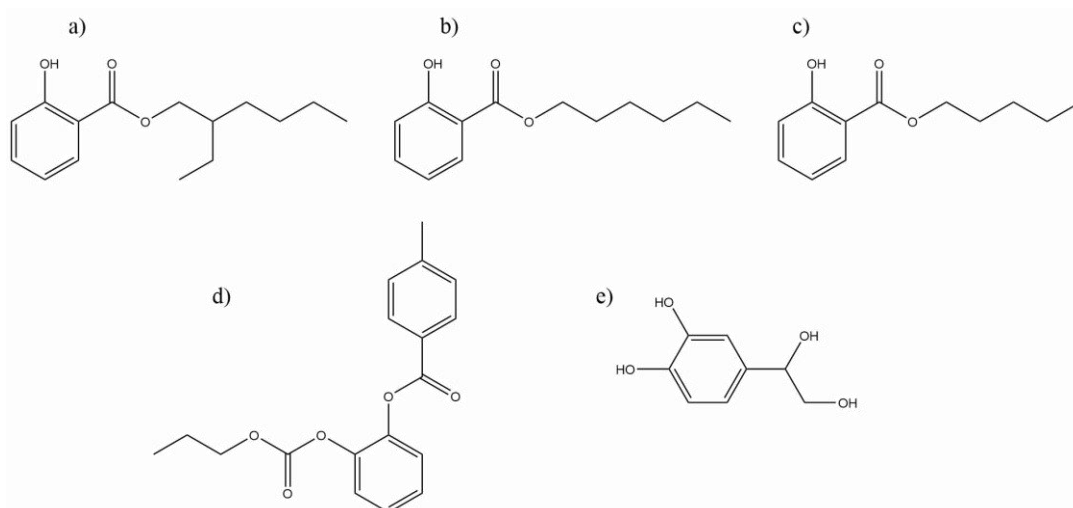


Ilustración VIII-20. Catecoles y salicilatos encontrados en las piezas arqueológicas. (a) 2-etilhexil salicilato (b) n-hexil salicilato (c) n-pentil salicilato (d) o-(4-metoxibenzoil)-o'-(5-valeril)-1,2 bencenodiol (e) 3,4 dihidroxifenilglicol. Imagen propia.

La distribución de estos marcadores en las piezas estudiadas se representa en la Tabla VIII-3.

Tabla VIII-3. Distribución de posibles marcadores de Chile en las piezas arqueológicas.

Nombre	39-12889	41-12892	65-12450	66-12450	21-5045	tr	match	Marcador de
2,2,4-Trimetil-1,3-pentanediol diisobutirato	x	x	x	x	x	12.52	89.8	chile
2-etilhexil salicilato	x	x	x	x		16.11	90.6	chile
3,4-dihidroxifenilglicol				x		5.73	85.5	chile
Ácido nonanóico		x		x		7.22	86	chile
n-hexil salicilato	x		x	x		13.91	86.6	chile
n-pentil salicilato	x		x	x		12.09	93.5	chile
o-(4-metoxibenzoil)-o'-(5-valeril)-1,2-Benzenodiol				x		14.37	86.3	chile

La presencia de marcadores de forma mayoritaria en las piezas de El Zapotal, contrastante con la ausencia de marcadores de degradación de vainillina en la pieza de Nopiloa, sugiere que el posible uso de Chile pudo ser local. La presencia de diisobutirato en la pieza de Nopiloa puede deberse a contaminación durante el muestreo. La presencia de la totalidad de los marcadores descritos en el fondo del brasero 12450 sugiere que sí pudo existir un origen común a éstos.

8.4.4 PROBETAS

A través del análisis de la resina de *B. bipinnata* se identificaron moléculas que no se encuentran reportadas como componentes de las resinas de copal pero que fueron encontradas en las piezas arqueológicas estudiadas, como el timol y el (1 α ,3 α ,5 α)-4-metilen-1-(1-metiletil)-biciclo [3.1.0]hexan-3-ol. Asimismo, se identificaron cambios en algunos componentes después de la combustión de las resinas, como el aumento en la abundancia de acetato de β -amirina, la aparición de PAHs y la aparición de timol como posible producto de degradación de monoterpenos aromáticos como el p-cimen-2,5-diol. La recolección reciente del copal, así como su almacenamiento hermético, permitieron estudiar la porción más volátil de la resina, constituida por monoterpenos. Los componentes encontrados en las probetas original y quemada se encuentran enlistados en la Tabla VIII-4 y su correspondencia con las señales en los cromatogramas se muestra en la Ilustración VIII-21.

Tabla VIII-4. Distribución de marcadores en las probetas.

tr	Nombre	Match	Clave	Probeta original	Probeta quemada	tr	Nombre	Match	Clave	Probeta original	Probeta quemada
6.03	Carvenona	89.9	1	x	x	13.46	Epóxido de isoaromadendreno	87.7	16	x	x
6.43	(1 α ,3 α ,5 α)-4-metil-1-(1-metiletil)-biciclo[3.1.0]hexan-3-ol	91.3	2	x	x	13.7	Óxido de (1) aloaromadendreno	89.9	17	x	x
7.62	3-Metil-4-isopropilfenol	87.7	3	x		13.77	1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-naftaleno	88.2	18		x
7.65	Timol	90.3	4		x	14.82	α -felandreno (dímero)	91.3	19	x	x
9.49	Cariofileno	95.3	5	x		15.52	9-metilen-9H-fluoreno	95.1	20		x
9.65	3,3-dimetil-1(3H)-isobenzofuranona	86.6	6		x	19.8	Kaur-16-eno	89.5	21	x	x
9.871	4-hidroxi-3-metil-6-(1-metiletil)-trans-2-ciclohexen-1-ona	89.8	7		x	20.01	Fluoranteno	90.9	22		x
10.39	1-(2-hidroxi-5-metilfenil)-etanon	87.8	8		x	20.39	Pireno	96.5	23		x
11.25	2-hidroxi-5-(1-metiletil)-2,4,6-cicloheptatrien-1-ona	89.1	9	x		25.48	Ciclopenta[cd]pireno	85.9	24		x
11.3	2'-Hidroxi-4',5'-dimetilacetofenona	87	10		x	25.7	Benz[<i>a</i>]antraceno	90.2	25		x
11.5	p-cimen-2,5-diol	95.5	11	x	x	32.64	acetato de β -amirina	87.6	26	x	x
11.7	Óxido de cariofileno	90.8	12	x	x	34.15	Benzimidazo[2,1- <i>a</i>]isoquinolina	85	27	x	x
12.07	Óxido de 1-diepicedreno	89	13		x	34.79	Ursa-9(11),12-dien-3-ol	88.9	28	x	
12.7	(1R,3E,7E,11R)-1,5,8-tetrametil-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-dieno	95.4	14	x	x	35.34	Ursa-9(11),12-dien-3-ona	87.8	29	x	
13.14	10,10-Dimetil-2,6-dimetilen-biciclo[7.2.0]undecan-5 β -ol	96	15	x	x	35.73	β -amirina	92	30	x	

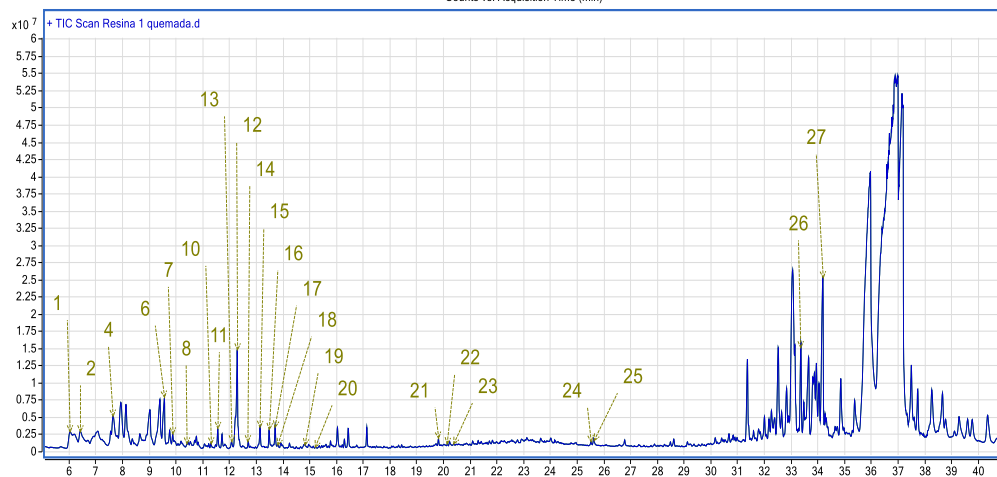
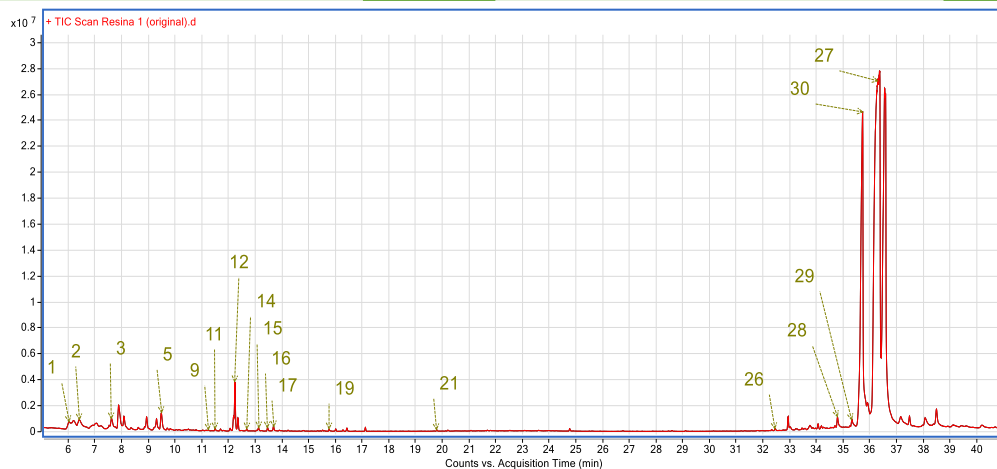


Ilustración VIII-21. Cromatogramas de la probeta original (arriba) y quemada (abajo).

Como puede observarse en ambos cromatogramas, las señales que aparecen entre el minuto 35 y el minuto 37 son anchas, lo que indica que puede haber varias señales sobreponiéndose entre sí. Esto dificulta el análisis de los patrones de fragmentación de masas, impidiendo que se puedan identificar correctamente los analitos. El problema puede resolverse mediante dos métodos: disminuyendo la concentración de la muestra o modificando el programa de temperatura para que cada analito sobrepuesto eluya con tiempos de retención diferentes.

Para probar la segunda solución, se propuso disminuir la velocidad de calentamiento durante el tramo final obteniendo el siguiente programa (Ilustración VIII-22a): 80 °C durante un minuto, seguido de un calentamiento de 10 °C/min hasta alcanzar los 150 °C, manteniendo esta última temperatura por un minuto más. Posteriormente, una segunda rampa de calentamiento de 6 °C/min hasta alcanzar los 270 °C, mantenida un minuto y, por último, una tercera rampa de 3 °C/min hasta los 310 °C sostenida un minuto más. Al probar esta solución, el problema no mejoró, las señales se ensancharon (Ilustración VIII-22b) y la identificación presentó aún más problemas.

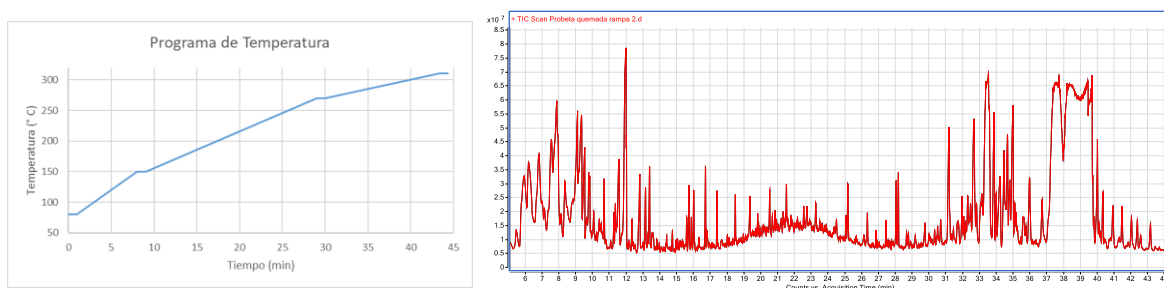


Ilustración VIII-22. a) Programa de temperatura de prueba. b) Cromatograma de la probeta quemada utilizando el segundo programa de temperatura.

Por este motivo, se exploró como solución, el uso de diferentes relaciones de Split (5:1, 10:1, 50:1) para el análisis de ambas probetas con el objetivo de encontrar una mejor resolución de las señales. Para la probeta original, la relación de Split más adecuada fue 10:1, con la cual, las señales se resolvieron en tres (Ilustración VIII-23): β -amirina (tr: 35.21 min, match: 97.2), Lupeol (tr: 35.72 min, match: 91) y α -amirina (tr: 35.94 min, match: 96.9).

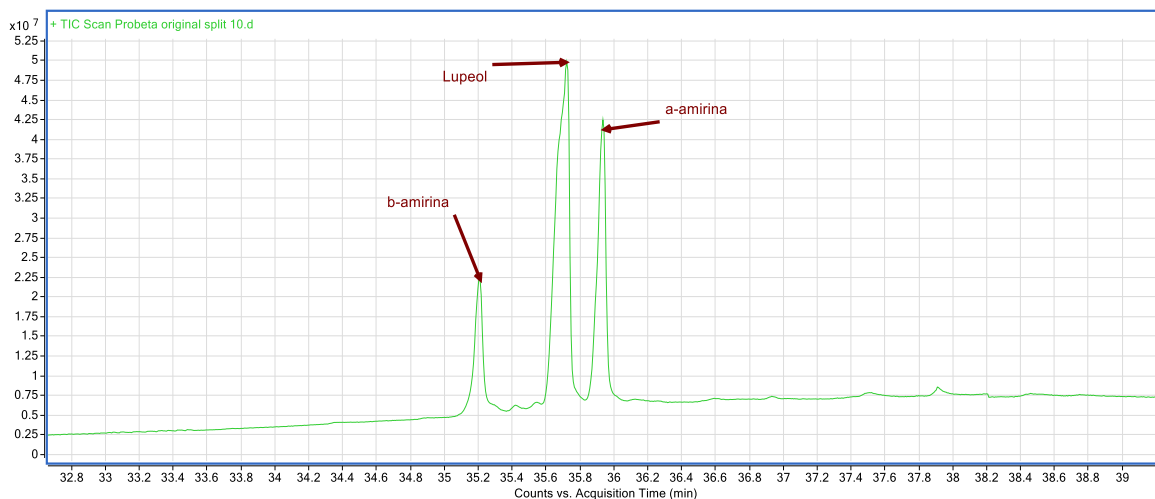


Ilustración VIII-23. Cromatograma de la probeta original, split 10:1. Énfasis en los minutos 32 a 39.

Para la probeta quemada, la relación de Split más adecuada fue 50:1, con la cual, las señales se resolvieron en tres (Ilustración VIII-24), nuevamente: Ursa-9(11),12-dien-3-ol (tr: 35.25 min, match: 86.3), β -amirina (tr: 35.77 min, match: 86.8), y acetato de β -amirina (tr: 36.06 min, match: 90.5).

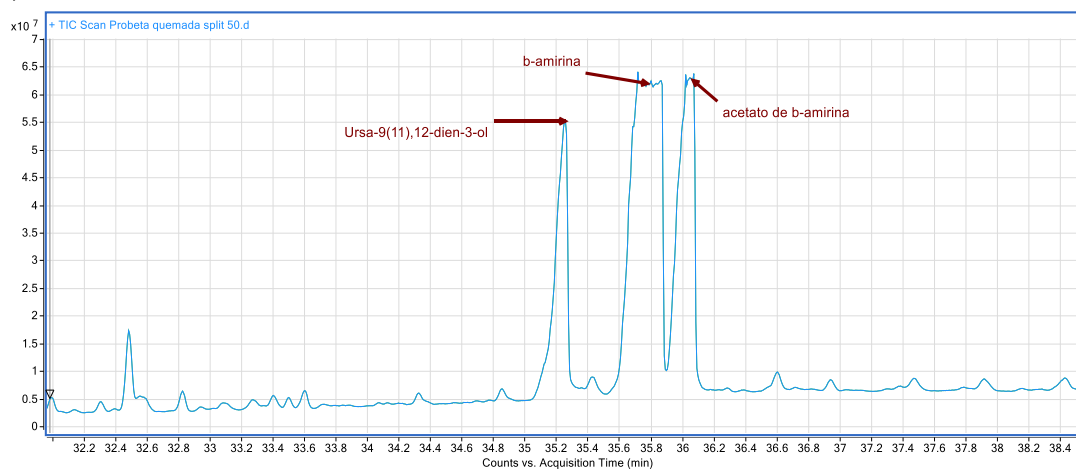


Ilustración VIII-24. Cromatograma de la probeta quemada, split 50:1. Énfasis en los minutos 32 a 39.

8.5. RESULTADOS GENERALES

En las Tabla VIII-5 y VIII-6 se presenta un resumen de todos los biomarcadores encontrados en las piezas arqueológicas analizadas y posteriormente se presentan los resultados de cada pieza, junto con sus tiempos de retención y *match* de forma individual.

Tabla VIII-5. Resumen de todos los biomarcadores encontrados en las piezas arqueológicas.

Nombre	39-12889	41-12892	65-12450	66-12450	21-5045	Marcador de
Metil dehidroabietato	x	x				Pinaceae
2-(fenilmetil)-octanal	x	x	x	x	x	manzanilla
2-(1-feniletíl)-fenol	x			x		madera
5-metil-5-propil-nonano				x		madera
Ácido 4-benziloxibenzoico	x		x	x		madera
Undecil-ciclohexano				x		huesos
Dihidro-5,5-dimetil-4-(3-oxobutil)-2(3H)-furanona	x		x	x	x	Resinas jóvenes
12-dien-3-ol-ursa-9(11)	x					copal
12-dien-3-one-ursa-9(11)	x					copal
Acetato de β -amirina	x	x		x		copal
lupeol	x					copal
Lupeol					x	copal
Timol				x		copal
α -Amirina	x		x	x	x	copal
β -Amirina	x	x	x	x	x	copal
β -Amirina	x			x		copal
1,4-dimetil-7-(1-metiletíl)-Azuleno		x				Burseraceae
1,6-dimetil-4-(1-metiletíl)-naftaleno,		x				combustión
1,6-dimetil-naftaleno		x				combustión

Tabla VIII-6. Resumen de todos los biomarcadores encontrados en las piezas arqueológicas (Continuación).

Nombre	39-12889	41-12892	65-12450	66-12450	21-5045	Marcador de
1-metil-criseno		x				combustión
2,3,5-trimetil-fenantreno		x				combustión
2-Isopropil-10-metilfenantreno		x	x		x	combustión
3,6-dimetil-fenantreno		x				combustión
4,7-dimetil-benz(a)antraceno		x				combustión
8-Isopropil-1,3-dimetilfenantreno		x				combustión
9-metil-antraceno		x				combustión
9-metilen-9H-fluorene,		x				combustión
Pireno	x	x		x		combustión

8.6. PIEZAS DE LA JOYA

A diferencia de las otras piezas estudiadas en este trabajo, la totalidad de las muestras obtenidas de los candeleros 1 y 2 corresponde únicamente a tierra depositada sobre la superficie o en el interior de los orificios nombrados como cámaras. Debido a la fragilidad de las piezas, a su visible deterioro y fragmentación, así como a la ausencia de señales que pudieran sugerir que la pieza contenía algún marcador, no se autorizó el raspado de las paredes para la obtención de muestras. Sin embargo, los resultados de esta investigación podrían conducir a un nuevo muestreo de las piezas para obtener una mayor cantidad de información.

La presencia de marcadores de copal como el timol, la β -amirina y su acetato, el lupeol y la α -amirina (Tabla VIII-7) indican que ambos candeleros estuvieron en contacto con resinas de este tipo, sin embargo, no se encontraron PAHs como marcadores de combustión, lo cual pone en duda si estas resinas fueron quemadas ahí. Únicamente se encontró como marcador de combustión el 2,6-dimetoxi-9-metil-antraceno en la cámara 2 del candelero 2.

Es importante notar la diferencia en el enriquecimiento químico de los marcadores en las cámaras. En el candelero 1 (Ilustración VIII-25), se encuentran como marcadores de copal el timol, la β -amirina, la α -amirina y el lupeol, hallándose únicamente en la cámara 1, mientras que la cámara 2, se encuentra completamente desprovista de cualquier marcador. En cuanto a la tierra que rodeaba al candelero 1, se encontraron exactamente los mismos marcadores que en la cámara 1, aunque se encuentran en mayor concentración en la cámara que en la tierra.

Por otro lado, en el candelero 2 (Ilustración VIII-26), la cámara 1 posee únicamente timol como marcador de copal, mientras que la cámara 2 sólo hay presencia del PAH antes mencionado. En la tierra que rodeaba al candelero 2, además de los marcadores que aparecen en su respectiva cámara 1, también se encuentran el acetato de β -amirina y la α -amirina. A diferencia del candelero 1, en éste, la concentración de los marcadores es mayor en la tierra que en la propia cámara.

La presencia de marcadores similares en la tierra circundante y solamente una de las cámaras en cada candelero puede sugerir que el enriquecimiento químico de las cámaras proviene realmente del exterior y no tuvo que ver con el uso original de la pieza. Sin embargo, esta hipótesis debe tomarse con cuidado pues si la presencia de estos marcadores fuese contaminación de la tierra circundante y no fuese proveniente de la propia pieza, quedarían dos preguntas abiertas: ¿Por qué solamente una cámara en cada candelero fue contaminada mientras que la otra no? Y ¿Por qué la tierra circundante tiene presentes marcadores de copal? Las respuestas a estas preguntas se encuentran fuera del campo de la química y es más pertinente que sean abordadas mediante la interpretación arqueológica de un experto.

Tabla VIII-7. Distribución de biomarcadores en candeleros de La Joya.

Nombre	tr	Match	Clave	Cand 1 C1	Cand 1 C2	Cand 1 TB	Cand 2 C1	Cand 2 C2	Cand 2 TB	Marcador de:
Timol	7.47	92.7	1	x		x	x		x	copal
2-(fenilmetil)-octanal	14.91	86.9	2				x		x	manzanilla
Acetato de β -amirina	35.63	85.5	3						x	copal
β -amirina	35.64	89.8	4	x		x				copal
Lupeol	36.1	86.2	5	x		x				copal
2,6-dimetoxi-9-metil-antraceno	36.21	87.8	6					x		combustión
α -amirina	36.34	93.6	7	x		x			x	copal

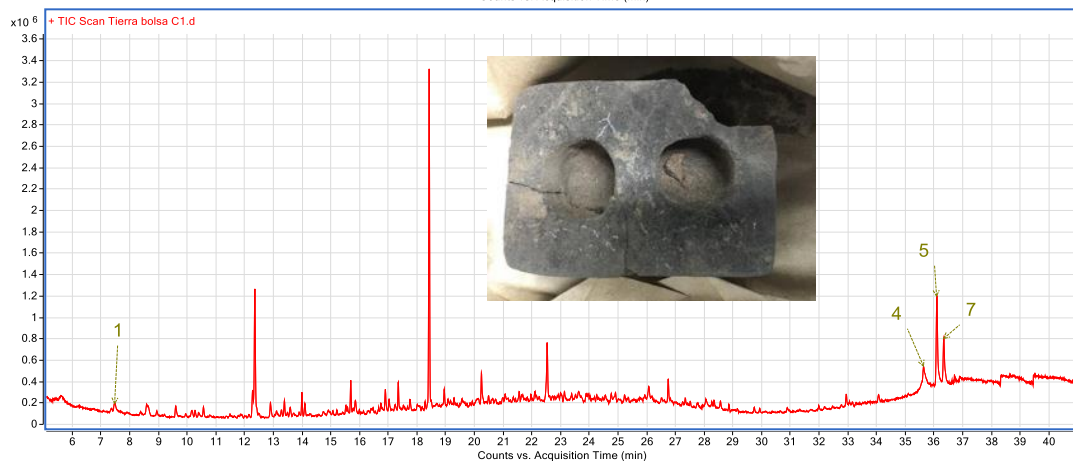
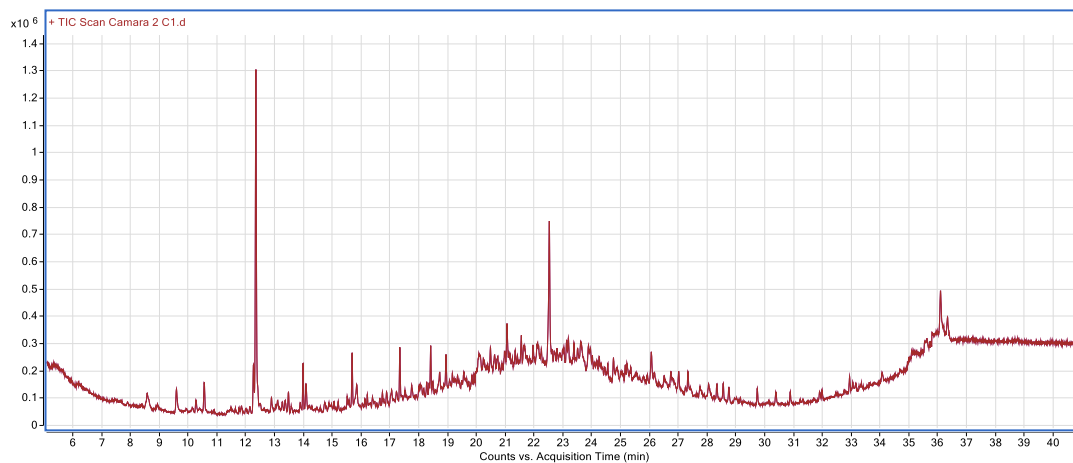
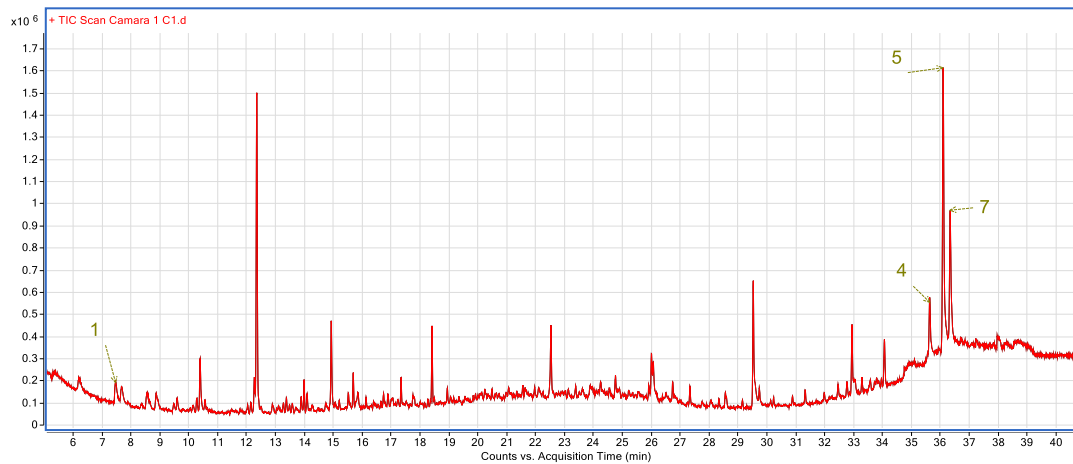


Ilustración VIII-25. Cromatogramas del Candelero 1. Cámara 1 (arriba), Cámara 2 (medio) y Tierra (abajo).

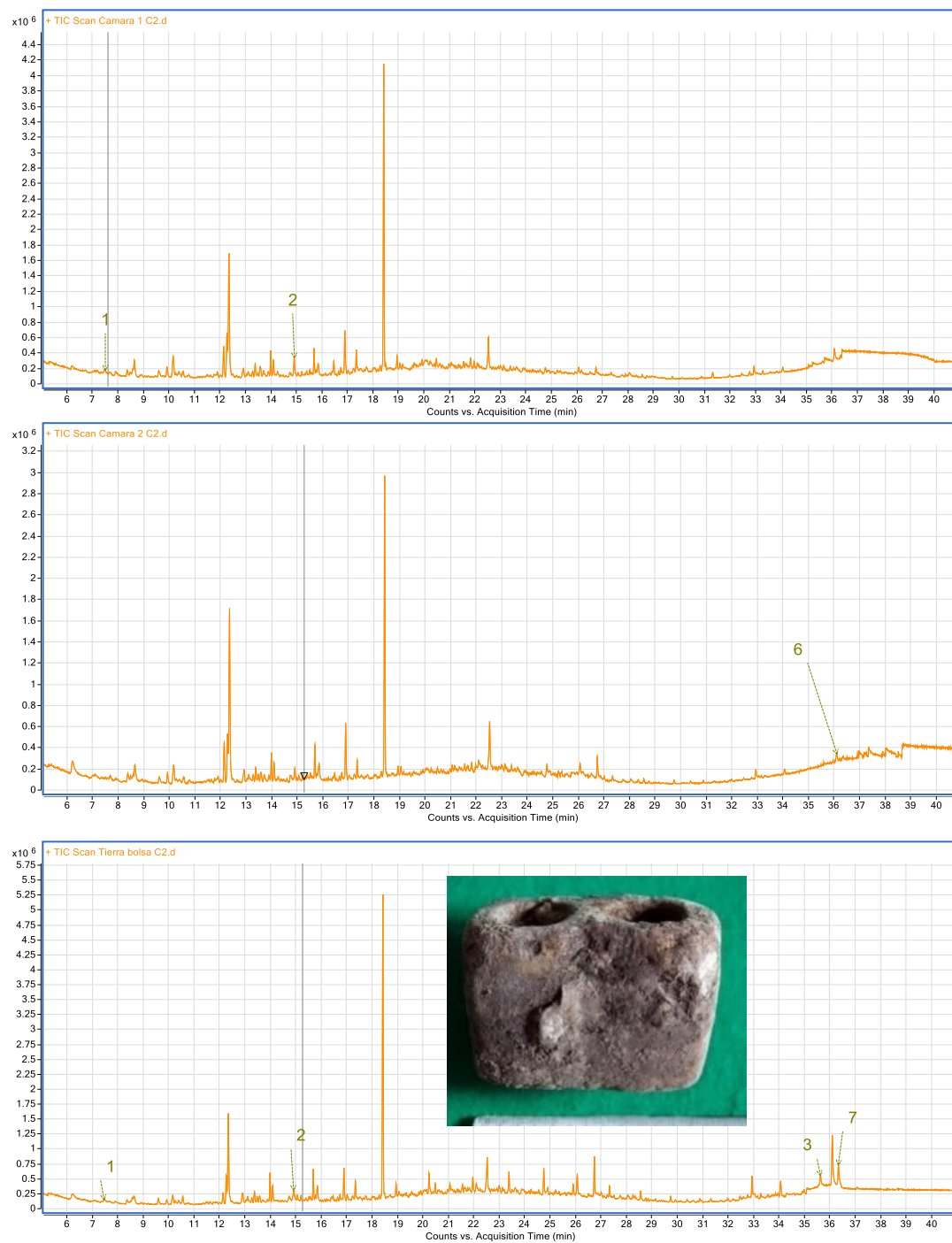


Ilustración VIII-26. Cromatogramas del Candelero 2. Cámara 1 (arriba), Cámara 2 (medio) y Tierra (abajo).

8.7. PIEZAS DE EL ZAPOTAL Y NOPILOA

8.7.1 TAPA 39-12889

En esta pieza se encontraron diversos marcadores de copal (Tabla VIII-8) como lo son la α -amirina, la β -amirina y su acetato, la β -amirona, la Dihidro-5,5-dimetil-4-(3-oxobutil)-2(3H)-furanona, el lupeol, así como la 12-dien-3-ol-ursa-9(11) y 12-dien-3-ona-ursa-9(11). Junto a esto se encontró únicamente un PAH como marcador de combustión (pireno). Se encontraron también marcadores de lignina como el ácido 4-benciloxibenzóico y el 2-(1-feniletíl)-fenol; el 2-(fenilmetilén)-octanal como marcador de manzanilla y el metil dehidroabietato como marcador de resinas de Pinaceae. En la Ilustración VIII-27 se muestra la distribución en el cromatograma de estos marcadores.

Estos marcadores en conjunto sugieren que en este brasero se quemaron indistintamente resinas de copal y pino junto con trozos de madera, probablemente como iniciador del fuego o para mantener una llama viva.

Tabla VIII-8. Distribución de biomarcadores en la Tapa 39-12889 de El Zapotal.

tr	Nombre	Match	Clave	Marcador de:
11.63	Dihidro-5,5-dimetil-4-(3-oxobutil)-2(3H)-furanona	95.2	1	resinas jóvenes
14.57	2-(1-feniletíl)-fenol	86.6	2	madera
15.02	2-(fenilmetilén)-octanal	92.4	3	manzanilla
17.09	Ácido 4-benciloxibenzóico	87.3	4	madera
20.93	Pireno	87	5	combustión
24.24	Metil dehidroabietato	86.7	6	Pinaceae
32.63	Acetato de β -amirina	87.9	7	copal
35.17	Ursa-9(11),12-dien-3-ol	89.4	8	copal
35.42	Ursa-9(11),12-dien-3-ona	89.8	9	copal
36.03	β -amirina	85.2	10	copal
36.26	β -amirona	87.1	11	copal
36.53	α -amirina	94.7	12	copal
37.69	Acetato de lupeol	87.1	13	copal

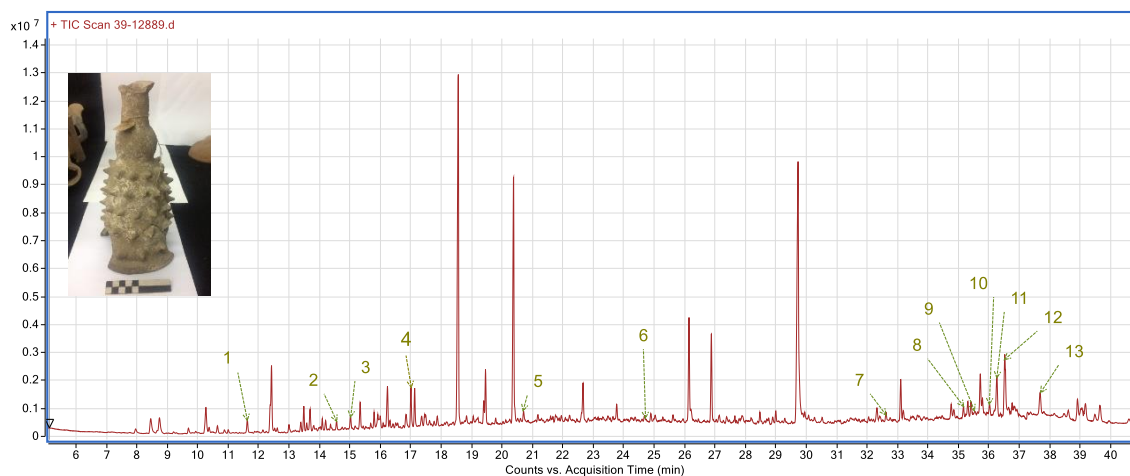


Ilustración VIII-27. Cromatograma de la Tapa 39-12889 de El Zapotal.

8.7.2 TAPA 41-12892

De la misma forma que con la tapa anterior, la presencia de marcadores de copal, de resinas de pino y de *Commiphora*, (Tabla VIII-9) indica que quemaron de manera indistinta resinas de varios orígenes, sin embargo, la ausencia de marcadores de degradación de lignina indica que no se utilizó madera de manera auxiliar durante la combustión. La amplia variedad de PAHs encontrados en esta tapa indica que pudo estar sometida con más frecuencia a procesos de combustión que la tapa 39-12889. Esta última afirmación se ve reforzada con el hecho de que, de la totalidad de las piezas analizadas, ésta es la que contiene, con diferencia, la mayor abundancia de biomarcadores de copal (Ilustración VIII-28).

Tabla VIII-9. Distribución de biomarcadores en la Tapa 41-12892 de El Zapotal.

tr	Nombre	Match	Clave	Marcador de
9.6	1,6-dimetil-naftaleno,	92.5	1	combustión
13.87	1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-naftaleno	86	2	combustión
14.57	1,4-dimetil-7-(1-metiletil)-Azuleno	86.2	3	Burseraceae
15.03	2-(fenilmetilen)-octanal	88.2	4	manzanilla
15.63	9-metilen-9H-fluoreno	92.2	5	combustión
18.01	9-metil-antraceno	88.3	6	combustión
19.92	3,6-dimetil-fenantreno	95.1	7	combustión
20.94	Pireno	94.5	8	combustión
22.49	2-Isopropil-10-metilfenantreno	91.7	9	combustión
22.74	Phenanthrene, 2,3,5-trimethyl-	92.3	10	combustión
23.92	8-Isopropil-1,3-dimetilfenantreno	90.2	11	combustión
24.26	Metil dehidroabietato	85.4	12	Pinaceae
27.87	1-metil-criseno	90	13	combustión
29.45	4,7-dimetil-benz(a)antraceno	86.1	14	combustión
36.13	β -Amirina	90	15	copal
37.74	Acetato de β -amirina	85.6	16	copal

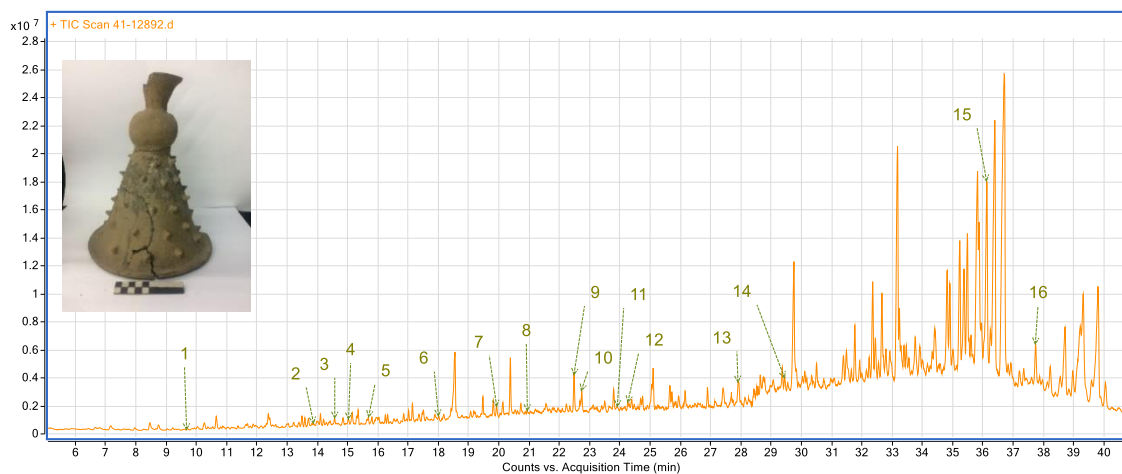


Ilustración VIII-28. Cromatograma de la Tapa 41-12892 de El Zapotal.

8.7.3 BRASERO 65-12450 (BORDE) Y 66-12450 (FONDO)

El brasero 12450 se estudió en dos partes: en los bordes de la pieza y en el fondo, (Ilustración VIII-29) catalogado como 66-12450. En los bordes podemos encontrar marcadores de copal, madera y combustión, mientras que, en el fondo, aparte de éstos, podemos encontrar el undecil-ciclohexano, un marcador que puede dar un indicio de la quema de huesos (Tabla VIII-10). Los marcadores de copal se encuentran en una mayor proporción que todos los demás, indicando que, posiblemente, hayan sido la mayor fuente de combustible. Como se planteó antes, la madera y, en dado caso, los huesos, pudieron servir únicamente como coadyuvantes en el inicio de la combustión o para mantener la llama encendida. Llama la atención, sin embargo, que la concentración de los marcadores de copal es mayor en los bordes que en el centro de la pieza, lo que abre paso a la posibilidad de que las resinas fueran colocadas en las orillas del brasero mientras que el centro estuviera ocupado por otras cosas. Los marcadores de lignina, por el contrario, se encuentran en ligeramente mayor proporción al centro que en las orillas.

Tabla VIII-10. Distribución de biomarcadores en el Brasero 12450 de El Zapotal.

tr	Nombre	Match	Clave	Marcador de:
7.6	Timol	97.1	1	copal
11.72	Dihidro-5,5-dimetil-4-(3-oxobutil)-2(3H)-furanona	92.7	2	resinas juvenes
15.12	2-(fenilmetilén)-octanal	88	3	manzanilla
16.03	2-(1-feniletíl)-fenol	85.4	4	madera
17.14	Ácido 4-benziloxibenzoico	88.8	5	madera
21.05	Pireno	91.5	6	combustión
21.87	Undecil-ciclohexano	87.1	7	huesos
22.46	2-Isopropil-10-metilfenantreno	88.2	8	combustión
32.25	5-metil-5-propil-nonano	85.1	9	madera
32.75	Acetato de β -amirina	87.5	10	copal
36.18	β -Amirina	91.7	11	copal
36.41	β -Amirona	87.4	12	copal
36.69	α -Amirina	94.8	13	copal

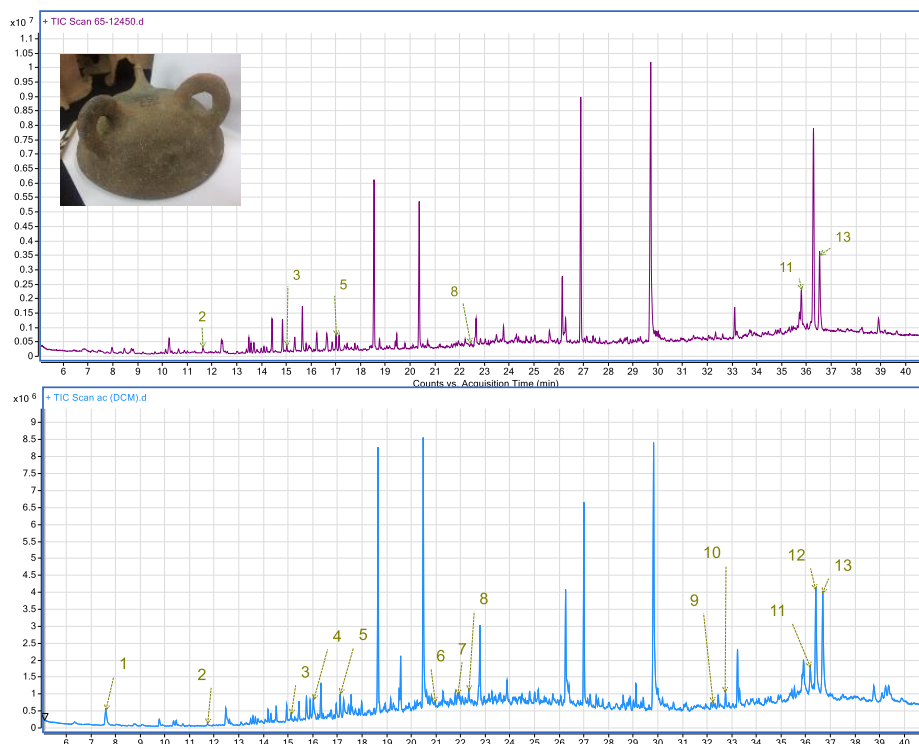


Ilustración VIII-29. Cromatogramas del Brasero 12450 de El Zapotal. Borde (superior) y Fondo (inferior)

8.7.4 TAPA 21-5045

La tapa 21-5045 únicamente contiene marcadores de copal y de combustión (Tabla VIII-11, Ilustración VIII-30). Destaca que la cantidad encontrada de marcadores triterpénicos es elevada respecto a los encontrados en las piezas de El Zapotal. A diferencia de éstos, también es notable que no se encuentran marcadores de chile, de madera ni de resinas de diferente origen. Esto puede significar que en Nopiloa se utilizaba únicamente copal de *Bursera* y no se quemaba en conjunto con piezas de madera.

Tabla VIII-11. Distribución de biomarcadores en la Tapa 21-5045 de Nopiloa.

tr	Nombre	match	Clave	Marcador de:
11.53	Dihidro-5,5-dimetil-4-(3-oxobutil)-2(3H)-furanona	85.3	1	resinas juvenes
14.91	2-(fenilmetileno)-octanal	86.3	2	manzanilla
22.34	2-Isopropil-10-metilfenantreno	87	3	combustión
35.64	β -Amirina	92.7	4	copal
36.11	Lupeol	88.5	5	copal
36.35	α -Amirina	94.1	6	copal

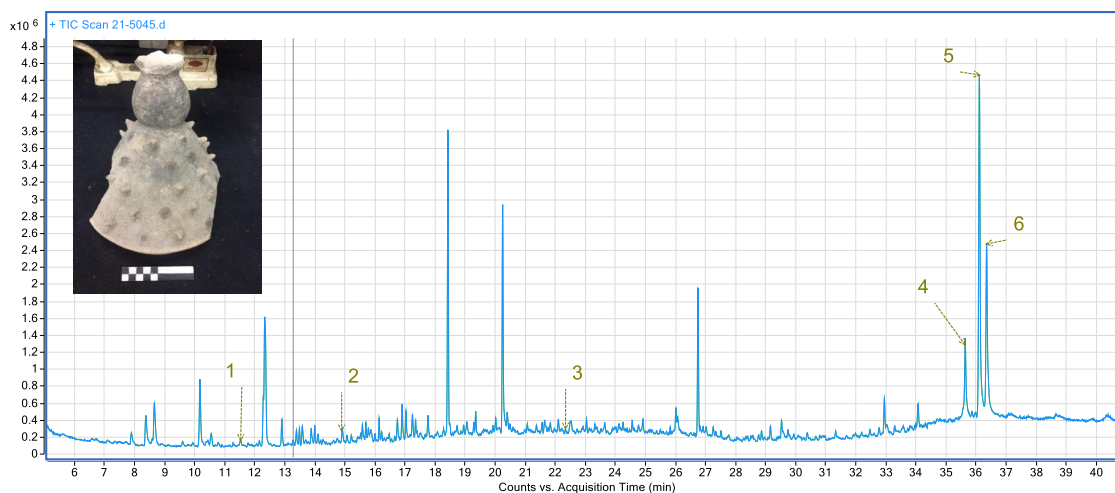


Ilustración VIII-30. Cromatograma de la Tapa 21-5045 de Nopiloa.

IX. CONCLUSIONES

- La técnica de CG-EM es útil para identificar moléculas que pueden servir como biomarcadores con cantidades de muestra tan pequeñas como 30 mg.
- Se optimizó el método de extracción asistida por ultrasonido para obtener la mayor cantidad de marcadores de copal y de otras especies.
- Se propone a los acetatos de triterpenos, Ursa-9(11),12-dien-3-ol y Ursa-9(11),12-dien-3-ona como nuevos biomarcadores de copal.
- Se propone al timol y a la 5,5-dimetil-4-(3-oxobutil)-oxolan-2-ona como marcadores de resinas jóvenes.
- Se encontraron 1,4-dimetil-7-(1-metiletil)-Azuleno y Metil dehidroabietato como marcadores de resinas de Burseraceae y Pinaceae, respectivamente; Ácido 4-benciloxibenzoico, 5-metil-5-propil-nonano y 2-(1-feniletil)-fenol como marcadores de descomposición térmica o bacteriana de madera y Undecil ciclohexano como posible marcador de combustión de huesos.
- Se estableció un precedente para el posible uso del chile en piezas rituales en la región central de Veracruz durante el periodo Clásico.
- A través del análisis de probetas de *Bursera bipinnata*, se estudió el cambio en la composición química de una resina previo y posteriormente a sufrir un proceso de combustión.
- Se lograron identificar marcadores de combustión y de resinas de copal de *Bursera*, Burseraceae y Pinaceae en las piezas pertenecientes a Nopiloa y El Zapotal, respaldando la hipótesis de que fueron utilizados como quemadores rituales, mientras que en los candeleros de La Joya sólo se identificaron marcadores de resinas sin combustión.

X. PERSPECTIVAS

- Profundizar en la interpretación arqueológica de los resultados obtenidos, considerando el contexto de las piezas y la información que brindan como un conjunto más que como entidades individuales.
- Ahondar en las hipótesis del chile y de los huesos modificando la técnica para identificar otras moléculas que pudieran confirmar o refutar las hipótesis.
- Estudiar un conjunto mayor de piezas que hayan sido muestreadas en distintos sitios de la misma pieza para comparar el enriquecimiento químico en el fondo y los extremos para establecer si existió algún acomodo específico de los elementos quemados en ellas.

XI. REFERENCIAS

- Abdelmoniem, M., Mahmoud, N., & Mohamed, W. (2020). Archaeometric study of black resin of a late period coffin by gas chromatography-mass spectrometry. *International Journal of Conservation Science*, 11(4), 1031–1040.
- Adams, R., Shao-Zhen, Z., & Ge-lin, Z. (1993). The Volatile Leaf Oil of *Juniperus saltuaria* Rehd. & Wils. from China. *Journal of Essential Oil Research*, 5(6), 675–677.
- Agilent Technologies. (n.d.). *Data Acquisition Software for LC/MS and GC/MS* | Agilent. Retrieved July 31, 2022, from <https://www.agilent.com/en/product/software-informatics/mass-spectrometry-software/data-acquisition>
- Alamgir, A. N. M. (2017). Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts. In *Progress in Drug Research* (Vol. 73). <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-63862-1>
- Albino, R. da C., Simas, R. C., da Silva Martins, K., Bizzo, H. R., Rodrigues da Silva, E., Dal Sasso, M. A., Santana da Silva, R. V., Leitão, S. G., & Oliveira, D. R. de. (2020). Differentiation of black and white pitch (Burseraceae) oleoresins: A mass spectrometry-based chemoethnotaxonomic study. *Journal of Ethnopharmacology*, 259(May), 112968. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112968>
- Arifin, U. F., & Djaeni, M. (2018). Thermal degradation kinetics of capsaicin on drying of blanching-Brine-Calcium pretreatment red chili pepper. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering Catalysis*, 13(2), 365–372. <https://doi.org/10.9767/bcrec.13.2.1660.365-372>
- Arnold, D. E., Branden, J. R., Williams, P. R., Feinman, G. M., & Brown, J. P. (2008). The first direct evidence for the production of Maya Blue: Rediscovery of a technology. *Antiquity*, 82(315), 151–164. <https://doi.org/10.1017/S0003598X00096514>
- Artioli, G. (2010). *Scientific Methods and Cultural Heritage: An introduction to the application of materials science to archaeometry and conservation science*. Oxford University Press.
- Badal, S., & Delgoda, R. (2017). *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy*. Elsevier.
- Bayarı, S. H., Özdemir, K., Sen, E. H., Araujo-Andrade, C., & Erdal, Y. S. (2020). Application of ATR-FTIR spectroscopy and chemometrics for the discrimination of human bone remains from different archaeological sites in Turkey. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 237. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118311>
- 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 feedstock (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). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.123019>
- Brody R.H., Edwards H.G.M., & Pollard A.M. (2001). A study of amber and copal samples using FT-Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 57(6), 1325–1338. www.elsevier.nl/locate/saa
- Buonasera, T., Herrera-Herrera, A. V., & Mallol, C. (2019). Experimentally Derived Sedimentary, Molecular, and Isotopic Characteristics of Bone-Fueled Hearths. *Journal of Archaeological Method and Theory*, 26(4), 1327–1375. <https://doi.org/10.1007/s10816-019-09411-3>
- Campos Soto, L. M. (2006). *Estudio fitoquímico de la resina de Bursera simaruba (Palo mulato)*. Universidad Autónoma de Querétaron.
- Cartoni, G., Russo, M. V., Spinelli, F., & Talarico, F. (2004). GC-MS characterisation and identification of natural terpenic resins employed in works of art. *Annali Di Chimica*, 94(11), 767–782. <https://doi.org/10.1002/adic.200490098>
- Carvajal Molina, S. (2018). *Protocolo de ensayo de envejecimiento artificial acelerado de masillas de relleno para material cerámico: el procedimiento metodológico*. Universidad de Sevilla.
- Case, R. J., Tucker, A. O., Maciarello, M. J., & Wheeler, K. A. (2003). Chemistry and ethnobotany of commercial incense copals, copal blanco, copal oro, and copal negro, of North America. *Economic Botany*, 57(2), 189–202. [https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2003\)057\[0189:CAEOCI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0013-0001(2003)057[0189:CAEOCI]2.0.CO;2)
- Castillo, D. (2016). El uso del copal en la Península de Yucatán, México. *Desde El Herbario CICY*, 8, 73–76.
- Celiz, M. D., Morehouse, K. M., deJager, L. S., & Begley, T. H. (2020). Concentration changes of polymer additives and radiolysis products in polyethylene resins irradiated at doses applicable to fresh produce. *Radiation Physics and Chemistry*, 166(May 2019), 108520. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2019.108520>
- Cely Veloza, W. F., Matulevich, J., & Castellón, W. (2014). Triterpenos y Esteroles de *Salvia leucantha* (Lamiaceae) y evaluación de su capacidad antioxidante. *Revista de La Facultad de Ciencias Básicas de La Universidad Militar Nueva Granada*, 10(1), 68–79.
- Cházaro Basáñez, M., Mostul, B., & García Lara, F. (2010). Los copales mexicanos (*Bursera* spp.). *Bouteloua*, 7(XII),

- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chércoles Asensio, R., San Andrés Moya, M., De La Roja, J. M., & Gómez, M. (2009). Analytical characterization of polymers used in conservation and restoration by ATR-FTIR spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *395*(7), 2081–2096. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3201-2>
- Chiranjeevi, T., Jose, S., Ramachandrarao, B., & Ravindra Velankar, H. (2020). Introduction of a Preconditioning Step Prior to Assisted Single-Step Acid Pretreatment Influences the Structural Integrity of Lignin in Rice Straw. *Energy and Fuels*, *34*(6), 7170–7182. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c00967>
- Choi, Y. S., Singh, R., Zhang, J., Balasubramanian, G., Sturgeon, M. R., Katahira, R., Chupka, G., Beckham, G. T., & Shanks, B. H. (2016). Pyrolysis reaction networks for lignin model compounds: Unraveling thermal deconstruction of β -O-4 and α -O-4 compounds. *Green Chemistry*, *18*(6), 1762–1773. <https://doi.org/10.1039/c5gc02268a>
- Ciešlik, E., & Fabiańska, M. J. (2021). Preservation of geochemical markers during co-combustion of hard coal and various domestic waste materials. *Science of the Total Environment*, *768*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144638>
- Coley Silva, L. F. (2019). Modelo de uso de la planta medicinal *Bursera simaruba* y su actividad antiinflamatoria. In *Universidad Libre Seccional Barranquilla*.
- Colombini, M. P., & Modugno, F. (2009). *Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology*. Wiley.
- Condamine, J., Formenti, F., Metais, M. O., Michel, M., & Blond, P. (1976). The Application of Gas Chromatography To the Tracing of Oil in Ancient Amphorae. *Archaeometry*, *18*(2), 195–201. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.1976.tb00160.x>
- Coordinación Nacional de Patrimonio Cultural y Turismo. (2003). Patrimonio Cultural y Turismo. Pensamiento acerca del Patrimonio Cultural. Antología de textos. *Cuadernos*, *3*, 1–302. https://patrimonioculturalyturismo.cultura.gob.mx/publi/Cuadernos_19_num/cuaderno3.pdf
- Coordinación Nacional de Patrimonio Cultural y Turismo. (2013). El ABC del Patrimonio Cultural y Turismo. *Conaculta*, *16*. <https://patrimonioculturalyturismo.cultura.gob.mx/cuadernos/ABC/abc.pdf>
- Croteau, R., Harris, J., & Karp, F. (2006). Metabolism of monoterpenes: Demonstration of the hydroxylation of (+)-sabinene to (+)-cis-sabinol by an enzyme preparation from sage (*Salvia officinalis*) leaves. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *256*, 179–193.
- da Cruz Albino, R., Braz, M. M., Bizzo, H. R., Santana da Silva, R. V., Leitão, S. G., & Ribeiro de Oliveira, D. (2021). Amazonian medicinal smokes: Chemical analysis of Burseraceae pitch (breu) oleoresin smokes and insights into their use on headache. *Journal of Ethnopharmacology*, *276*(April). <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114165>
- Da Porto, C., & Decorti, D. (2009). Ultrasound-assisted extraction coupled with under vacuum distillation of flavour compounds from spearmint (carvone-rich) plants: Comparison with conventional hydrodistillation. *Ultrasonics Sonochemistry*, *16*(6), 795–799. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.03.010>
- Daneels, A. (2010). *Arquitectura monumental hecha de tierra en La Joya, Veracruz, México*. Fundación para el Avance de los Estudios Mesoamericanos.
- Daneels, A., & Guerrero, L. (2012). La Joya, Veracruz, un sitio prehispánico construido con tierra: sistemas constructivos y pruebas de preservación en trópico húmedo. *Intervención. Revista Internacional de Conservación, Restauración y Museología*, *3*(6), 34–43.
- Dass, C. (2007). Modes of Ionization. In *Fundamentals of Contemporary Mass Spectrometry* (pp. 15–65). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470118498.ch2>
- De La Cruz-Cañizares, J., Doménech-Carbó, M. T., Gimeno-Adelantado, J. V., Mateo-Castro, R., & Bosch-Reig, F. (2005). Study of Burseraceae resins used in binding media and varnishes from artworks by gas chromatography-mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, *1093*(1–2), 177–194. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.058>
- Dewick, P.M Perroy, R., & Careas, S. (2009). *Medicinal Natural Products: A biosynthetic Approach* (Vol. 1). Wiley.
- Díaz González, A. (2016). *Análisis de resina de copal por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y microextracción en fase sólida. Aplicación en el análisis de muestras arqueológicas*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Evans, W., & Evans, D. (2009). *Pharmacognosy* (15th ed.). W.B. Saunders.
- Evershed, R. P. (2008). Organic residue analysis in archaeology: The archaeological biomarker revolution. *Archaeometry*, *50*(6), 895–924. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2008.00446.x>

- Evershed, Richard 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>
- Flagan, S. F., & Leadbetter, J. R. (2006). Utilization of capsaicin and vanillylamine as growth substrates by Capsicum (hot pepper)-associated bacteria. *Environmental Microbiology*, 8(3), 560–565. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00938.x>
- Fuentes, A. (2009). Identidad Taxonómica y Aspectos sobre la Historia Natural y Usos del “Copal de los Yungas” en Bolivia. *Kempffiana*, 5(2), 3–19.
- García Martínez, L. E. (2012). *Aspectos socio-ecológicos para el manejo sustentable del copal en el Ejido de Acateyahualco, Gro.pdf*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gigliarelli, G., Becerra, J. X., Curini, M., Marcotullio, M. C., & Forti, L. (2015). Chemical composition and biological activities of fragrant mexican copal (*Bursera* spp.). *Molecules*, 20(12), 22383–22394. <https://doi.org/10.3390/molecules201219849>
- Glavcheva, Z. I., Yancheva, D. Y., Kancheva, Y. K., Velcheva, E. A., & Stamboliyska, B. A. (2014). Development of FTIR spectra database of reference art and archaeological materials. *Bulgarian Chemical Communications*, 46(Special Issue A), 164–169.
- Grimalt, J. O., Simoneit, B. R. T., Hatcher, P. G., & Nissenbaum, A. (1987). The molecular composition of ambers. *Advances in Organic Geochemistry*, 13(4), 677–690.
- Guo, J. P., Liu, F. J., Bie, L. L., Si, X. G., Li, Y. H., Song, P., Liu, N., Zhao, Y. P., Huang, Z. X., Cao, J. P., & Wei, X. Y. (2022). Selective cleavage of C–O bond in lignin and lignin model compounds over iron/nitrogen co-doped carbon supported Ni catalyst. *Fuel*, 316(September 2021), 123338. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.123338>
- Gutiérrez Pulido, H., & De La Vara Salazar, R. (2016). *Análisis y diseño de experimentos* (2nd ed.). McGrawHill. <https://doi.org/10.3906/sag-1507-147>
- Hall, E. T. (1970). Analytical Techniques Used in Archaeometry. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 269(1193), 135–141.
- Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., Kaneez, F., Luqman, S., & Negi, A. S. (2017). Isolation, characterization and antiproliferative evaluation of constituents from stem extracts of *Alafia barteri* Oliv. Hook. F. *Medicinal Chemistry Research*, 26(12), 3407–3416. <https://doi.org/10.1007/s00044-017-2033-4>
- Hamm, S., Bleton, J., & Tchaplá, A. (2004). Headspace solid phase microextraction for screening for the presence of resins in Egyptian archaeological samples. *Journal of Separation Science*, 27(3), 235–243. <https://doi.org/10.1002/jssc.200301611>
- Hansel, F. A., & Evershed, R. P. (2009). Formation of dihydroxy acids from Z-monounsaturated alkenoic acids and their use as biomarkers for the processing of marine commodities in archaeological pottery vessels. *Tetrahedron Letters*, 50(40), 5562–5564. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2009.06.114>
- Haralampidis, K., Trojanowska, M., & Osbourn, A. E. (2002). Biosynthesis of triterpenoid saponins in plants. In *History and Trends in Bioprocessing and Biotransformation* (Vol. 75, pp. 31–49). https://doi.org/10.1007/3-540-44604-4_2
- Hayek, E. W. H., Krenmayr, P., Lohninger, H., Jordis, U., Sauter, F., & Moche, W. (1991). GC/MS and chemometrics in archaeometry - Investigation of glue on copper-age arrowheads. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 340(3), 153–156. <https://doi.org/10.1007/BF00324471>
- Hernández-Pérez, E., González-Espinosa, M., Trejo, I., & Bonfil, C. (2011). Distribución del género *Bursera* en el estado de Morelos, Mexico y su relación con el clima. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(3), 964–976. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2011.3.694>
- Hernández-Vázquez, L., Mangas, S., Palazón, J., & Navarro-Ocaña, A. (2010). Valuable medicinal plants and resins: Commercial phytochemicals with bioactive properties. *Industrial Crops and Products*, 31(3), 476–480. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.01.009>
- Hernández de Toledo, F. (1580). *Historia Natural de la Nueva España I. Tomo II. Libro Cuarto*. Universidad Nacional Autónoma de México. http://www.franciscohernandez.unam.mx/02_indice_tomo02.html
- Hernández Lara, L. F., Cyphers, A., & Gaikwad, N. (2018). El Chile y los olmecas de San Lorenzo. *Anales de Antropología*, 51(1), 111–125.
- Howsam, M., & Jones, K. (2022). Sources of PAHs in the Environment. In *The Handbook of Environmental Chemistry* (pp. 137–174). Springer.
- ILAM. (n.d.). *Patrimonio Cultural*. Retrieved July 28, 2022, from <https://ilamdir.org/patrimonio/cultural>
- IUPAC. (2014a). “Distribution.” *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology*. <https://doi.org/10.1351/GOLDBOOK.D01811>
- IUPAC. (2014b). “liquid-liquid extraction.” *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology*.

- <https://doi.org/10.1351/GOLDBOOK.L03587>
- Jemali, Z., Chartier, A., & Elfakir, C. (2016). Development of a gas chromatography-mass spectrometry method to monitor in a single run, mono- to triterpenoid compounds distribution in resinous plant materials. *Journal of Chromatography A*, *1443*, 241–253. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.03.031>
- Kaal, J., Martín Seijo, M., Oliveira, C., Wagner-Wysiecka, E., McCoy, V. E., Solórzano Kraemer, M. M., Kerner, A., Wenig, P., Mayo, C., & Mayo, J. (2020). Golden artefacts, resin figurines, body adhesives and tomb sediments from the pre-Columbian burial site El Caño (Gran Coclé, Panamá): Tracing organic contents using molecular archaeometry. *Journal of Archaeological Science*, *113*(November 2019). <https://doi.org/10.1016/j.jas.2019.105045>
- Kataoka, H. (2017). Sample preparation for liquid chromatography. In *Liquid Chromatography: Applications: Second Edition* (Vol. 2, pp. 1–37). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805392-8.00001-3>
- Kaufmann, B., & Christen, P. (2002). Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis*, *13*(2), 105–113. <https://doi.org/10.1002/pca.631>
- Kim, D., Park, H., & Hee, I. (2022). The effect of roasting on capsaicinoids, volatile compounds, and fatty acids in *Capsicum annuum* L. (red pepper) seeds. *Food Science and Biotechnology*, *31*(2), 211–220. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-01023-6>
- Kita, Y., Daneels, A., & Vivar, A. R. De. (2013). Chemical analysis to identify organic compounds in pre-Columbian monumental earthen architecture. *The Online Journal of Science and Technology*, *3*(1), 39–45.
- Langenheim, J. H. (1996). *Biology of Amber-Producing Trees: Focus on Case Studies of Hymenaea and Agathis*. 1–31. <https://doi.org/10.1021/bk-1995-0617.ch001>
- Lee, J. M., Kim, D. H., Chang, P. S., & Lee, J. H. (2007). Headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) analysis of oxidized volatiles from free fatty acids (FFA) and application for measuring hydrogen donating antioxidant activity. *Food Chemistry*, *105*(1), 414–420. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.059>
- Lee, M., Yang, F., & Bartle, K. (1984). *Open tubular column gas chromatography: Theory and practice*. Wiley.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151278>
- Lucena Muñoz, N. (2019). *Extracción de productos naturales asistida por ultrasonidos*. Universidad de Jaén.
- Lucero-Gómez, P., Mathe, C., Vieillescazes, C., Bucio, L., Belio, I., & Vega, R. (2014). Analysis of Mexican reference standards for *Bursera* spp. resins by Gas Chromatography-Mass Spectrometry and application to archaeological objects. *Journal of Archaeological Science*, *41*, 679–690. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2013.07.021>
- Lucero-Gómez, Paola, Mathe, C., Vieillescazes, C., Bucio-Galindo, L., Belio-Reyes, I., & Vega-Aviña, R. (2014). Archaeobotanic: HPLC molecular profiles for the discrimination of copals in mesoamerica application to the study of resin materials from objects of aztec offerings. *Archeosciences*, *38*(1), 119–133. <https://doi.org/10.4000/archeosciences.4204>
- Mangas Alonso, S. (2009). *Producción de saponinas triterpénicas en cultivos in vitro de centella asiatica* [Universitat de Barcelona]. <http://hdl.handle.net/2445/42679>
- Martínez Cortés, F. (1970). *Pegamentos, gomas y resinas en el México prehispánico* (Resistol (ed.)).
- Martinón-Torres, M., Killick, D., Martinón-Torres, M., & Killick, D. (2015). Archaeological Theories and Archaeological Sciences. *The Oxford Handbook of Archaeological Theory, December 2018*, 1–26. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780199567942.013.004>
- Matthew, B., & Johnson, M. B. (1992). The Genus *Bursera* (Burseraceae) in Sonora, Mexico and Arizona, USA. *Desert Plants*, *10*(3), 126–144.
- McCoy, V. E., Boom, A., Solórzano Kraemer, M. M., & Gabbott, S. E. (2017). The chemistry of American and African amber, copal, and resin from the genus *Hymenaea*. *Organic Geochemistry*, *113*, 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2017.08.005>
- Medellín-Zenil, A. (1987). *Nopiloa: Exploraciones Arqueológicas*. Universidad Veracruzana.
- Melo, O. O., López, L. A., & Melo, S. E. (2020). *Diseño de Experimentos: Métodos y Aplicaciones* (2nd ed.). Facultad de ciencias de la Universidad Nacional de Colombia.
- Merali, Z., Cayer, C., Kent, P., Liu, R., Cal, V., Harris, C. S., & Arnason, J. T. (2018). Sacred Maya incense, copal (Protium copal - Burseraceae), has anti-anxiety effects in animal models. *Journal of Ethnopharmacology*, *216*, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.01.027>
- Merck. (2022). *Extracción en fase sólida (SPE)*. <https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/applications/analytical-chemistry/sample-preparation/solid-phase-extraction>
- Mishra, S., Kumar, P., & Samanta, S. K. (2020). Microwave Catalytic Degradation of Antibiotic Molecules by 2D Sheets of Spinel Nickel Ferrite. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, *59*(36), 15839–15847.

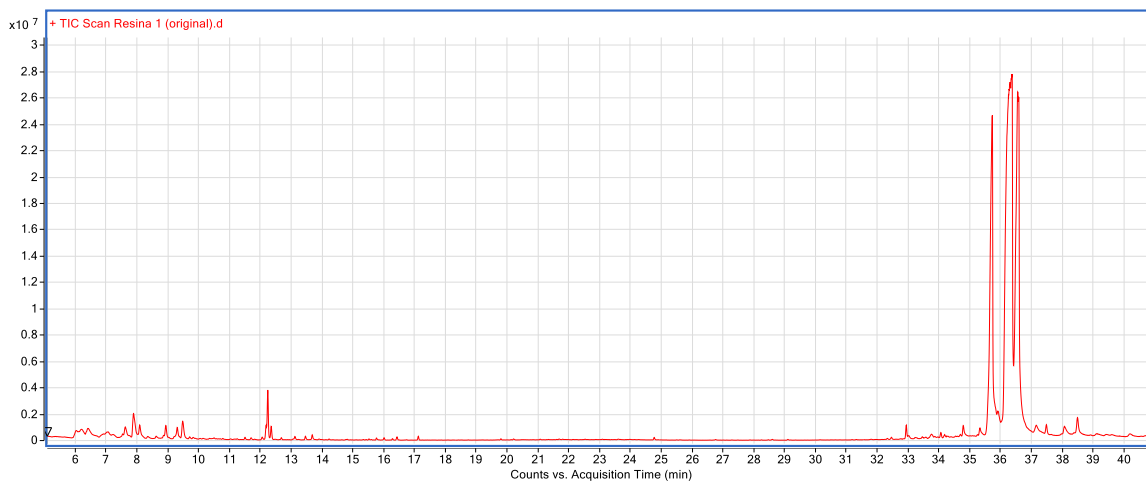
- <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c02352>
- Mohamed, A. A., Ali, S. I., EL-Baz, F. K., Hegazy, A. K., & Kord, M. A. (2014). Chemical composition of essential oil and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts of *Commiphora myrrha* resin. *Industrial Crops and Products*, 57, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.017>
- Molina-Vázquez, R. O. (2014). Nuestra Historia: Arqueometría en México. *La Ciencia y El Hombre-Universidad Veracruzana*, XXVII(1). <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol27num1/articulos/arqueometria-en-mexico.html>
- Montgomery, D. C. (2013). Design and Analysis of Experiments. In *Copyright* (Vol. 2009, Issue 2005).
- Montúfar López, A. (2012). *Ofrendas de copal: un estudio comparativo entre el Templo Mayor de Tenochtitlán y Temalacatzingo, Guerrero*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Montúfar López, A. (2016). Copal de *Bursera bipinnata*. Una resina mesoamericana de uso ritual. *OpenEdition Journals*, 70, 1–24.
- Murrieta, E. G., Powis, T. G., Lesure, R., Grivetti, L., Kucera, H., Gaikwad, N. W., & Bravo, R. L. (2014). El uso prehispánico de los chiles en Chiapas. *Arqueología Mexicana*, 22(130), 74–79.
- Nakanishi, K. (1977). *Infrared Absorption Spectroscopy*. Emerson-Adams Press.
- Noemi, O. A. M. (2007). *Copal: microestructura, composición y algunas propiedades relevantes*. 85.
- Noguera, B., Díaz, E., García, M. V., Feliciano, A. S., López-Perez, J. L., & Israel, A. (2004). Anti-inflammatory activity of leaf extract and fractions of *Bursera simaruba* (L.) Sarg (Burseraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 92(1), 129–133. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.009>
- Parga, C., Guardo, L., & Acuña, M. (2012). Respuesta celular producida por una infusión de *Bursera* sp. *Biosalud*, 11(1), 34–38.
- Paul, W. (1990). Electromagnetic Traps for Charged and Neutral Particles (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition in English*, 29(7), 739–748. <https://doi.org/10.1002/anie.199007391>
- Peraza-Sánchez, S. R., Salazar-Aguilar, N. E., & Peña-Rodríguez, L. M. (2004). A New Triterpene from the Resin of *Bursera simaruba*. *Journal of Natural Products*, 58(2), 271–274. <https://doi.org/10.1021/NP50116A019>
- Péres, V. F., Saffi, J., Melecchi, M. I. S., Abad, F. C., De Assis Jacques, R., Martínez, M. M., Oliveira, E. C., & Caramão, E. B. (2006). Comparison of soxhlet, ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of terpenes, fatty acids and Vitamin E from *Piper gaudichaudianum* Kunth. *Journal of Chromatography A*, 1105(1-2 SPEC. ISS.), 115–118. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.113>
- Pérez-López, K. J., Tiesler, V., Quintana, P., Hernández-Núñez, E., & Hernández-Bolio, G. I. (2021). An Insight to the Composition of Pre-Hispanic Mayan Funerary Pigments by 1H-NMR Analysis. *Molecules*, 26(10), 2972. <https://doi.org/10.3390/molecules26102972>
- Picó, Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 43, 84–99. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.005>
- Piña-Torres, C., Lucero-Gómez, P., Nieto, S., Vázquez, A., Bucio, L., Belio, I., Vega, R., Mathe, C., & Vieillescazes, C. (2018). An analytical strategy based on Fourier transform infrared spectroscopy, principal component analysis and linear discriminant analysis to suggest the botanical origin of resins from *Bursera*. Application to archaeological Aztec Samples. *Journal of Cultural Heritage*, 33, 48–59. <https://doi.org/10.1016/J.CULHER.2018.02.006>
- Powis, T. G., Murrieta, E. G., Lesure, R., Bravo, R. L., Grivetti, L., Kucera, H., & Gaikwad, N. W. (2013). Prehispanic use of chili peppers in Chiapas, Mexico. *PLoS ONE*, 8(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079013>
- Puchinger, L., Sauter, F., Leder, V. K. (2007). Studies in organic archaeometry VII- Differentiation of wood and bark pitches by pyrolysis capillary Gas Chromatography (PY-CGC). *Annali Di Chimica*, 97(September), 513–525.
- Purata Velarde, S. E. (2008). Uso y manejo de los copales aromáticos: resinas y aceites. *Colección Manejo Campesino de Recursos Naturales*, September 2016, 60.
- Rezić, I., Krstić, D., & Bokić, L. (2008). Ultrasonic extraction of resins from an historic textile. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(1), 21–24. <https://doi.org/10.1016/j.jultsonch.2007.06.013>
- Riaz, U., & Ashraf, S. M. (2015). Microwave-induced catalytic degradation of a textile dye using bentonite-poly(o-toluidine) nanohybrid. *RSC Advances*, 5(5), 3276–3285. <https://doi.org/10.1039/c4ra08054h>
- Riyadi, F. A., Tahir, A. A., Yusof, N., Sabri, N. S. A., Noor, M. J. M. M., Akhir, F. N. M. D., Othman, N., Zakaria, Z., & Hara, H. (2020). Enzymatic and genetic characterization of lignin depolymerization by *Streptomyces* sp. S6 isolated from a tropical environment. *Scientific Reports*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64817-4>
- Robles, J., Torrenegra, R., Gray, A., Piñeros, C., Ortiz, L., & Sierra, M. (2005). Triterpenos aislados de corteza de *Bursera graveolens* (Burseraceae) y su actividad biológica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 15(4), 283–286.
- Romero-Estrada, A., Maldonado-Magaña, A., González-Christen, J., Bahena, S. M., Garduño-Ramírez, M. L.,

- Rodríguez-López, V., & Alvarez, L. (2016). Anti-inflammatory and antioxidative effects of six pentacyclic triterpenes isolated from the Mexican copal resin of *Bursera copallifera*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *16*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1397-1>
- Rzedowski, J., & Calderón de Rzedowski, G. (1996). Nota sobre *Bursera Cinerea* Engl (Burseraceae) en el estado de Veracruz. *Acta Botanica Mexicana*, *37*, 33–38.
- Rzedowski, J., & Guevara-Féfer, F. (1992). Burseraceae. *Flora Del Bajío y de Regiones Adyacentes*, *3*, 1–46. <https://doi.org/10.4102/abc.v37i1.299>
- Rzedowski, J., Medina Lemos, R., & Calderón de Rzedowski, G. (2005). Inventario del Conocimiento Taxonómico, así como de las Especies Mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). *Acta Botanica Mexicana*, *70*, 85–111.
- Rzedowski, J., Medina Lemus, R., & Calderón de Rzedowski, G. (2004). Las Especies de *Bursera* (Buseraceae) en la Cuenca Superior del Río Papaloapan (México). *Acta Botanica Mexicana*, *66*, 23–151.
- Sahagún, B. de. (1956). *Historia de las cosas de la Nueva España* (E. Porrúa (ed.)).
- Sanada, H., Yamaguchi, I., & Mega, N. (1993). Components of the Gel of *Aloe vera* (L.) Burm. f. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, *57*(8), 1350–1352. <https://doi.org/10.1271/bbb.57.1350>
- Sarroukh, R., Goormaghtigh, E., Ruyschaert, J. M., & Raussens, V. (2013). ATR-FTIR: A “rejuvenated” tool to investigate amyloid proteins. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, *1828*(10), 2328–2338. <https://doi.org/10.1016/j.bbmem.2013.04.012>
- Shashoua, Y., Lund Degn Berthelsen, M.-B., & Fauriskov Nielsen, O. (2006). Raman and ATR-FTIR spectroscopies applied to the conservation of archaeological Baltic amber. *Journal of Raman Spectroscopy*, *37*, 1221–1227. <https://doi.org/10.1002/jrs>
- Skoog, D., Holler, J., & Crouch, S. (2018). *Principios de Análisis Instrumental* (7a ed). Cengage.
- Soto-León, S., Zazueta-Patrón, I. E., Piña-Valdez, P., Nieves-Soto, M., Reyes-Moreno, C., & Contreras-Andrade, I. (2014). Extracción de lípidos de *Tetraselmis suecica*: proceso asistido por ultrasonido y solventes. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *13*(3), 723–737.
- Stacey, R. J., Cartwright, C. R., & Mcewan, C. (2006). Chemical Characterization of Ancient Mesoamerican ‘Copal’ Resins: Preliminary Resuls. *Archaeometry*, *48*(2), 323–340.
- Stamellos, K. D., Shackelford, J. E., Shechter, I., Jiang, G., Conrad, D., Keller -, G. A., & Krisans, S. K. (1993). Subcellular localization of squalene synthase in rat hepatic cells. Biochemical and immunochemical evidence. *Journal of Biological Chemistry*, *268*(17), 12825–12836. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)31462-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)31462-5)
- Stark, B. (2010). Nopiloa. In *La morada de nuestros ancestros* (1a ed, pp. 147–152). Consejo Veracruzano de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico.
- Surowiec, I. (2008). Application of high-performance separation techniques in archaeometry. *Microchimica Acta*, *162*(3–4), 289–302. <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0911-z>
- Tiesler, V., Romano-pacheco, A., Valdés, J. G., & Daneis, A. (2013). Posthumous Body Manipulation in the Classic Period Mixtequilla: Reevaluating the Human Remains of Ossuary I from El Zapotal, Veracruz. *Latin American Antiquity*, *24*(1), 47–71.
- Trojanowicz, M. (2008). Modern chemical analysis in archaeometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *391*(3), 915–918. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2077-x>
- UNESCO, & WHC. (n.d.). *Centro del Patrimonio Mundial - México*. Retrieved July 28, 2022, from <https://whc.unesco.org/es/list/?iso=mx&search=&>
- VanBavel, E. (2007). Effects of shear stress on endothelial cells: Possible relevance for ultrasound applications. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, *93*(1–3), 374–383. <https://doi.org/10.1016/J.PBIOMOLBIO.2006.07.017>
- Varmuza, K., Makristathis, A., Schwarzeier, J., Seidler, H., & Mader, R. M. (2005). Exploration of anthropological specimens by GC-MS and chemometrics. *Mass Spectrometry Reviews*, *24*(3), 427–452. <https://doi.org/10.1002/mas.20020>
- Vázquez, L. H., Palazon, J., Navarro-ocaña, A., Metropolitana, A., Xochimilco, U., & Biológicos, D. S. (2012). The Pentacyclic Triterpenes α , β -amyrins: A Review of Sources and Biological Activities. In *Phytochemicals: A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health* (pp. 487–502).
- Veggi, P. C., Martínez, J., & Meireles, A. (2012). Fundamentals of Microwave Extraction. In *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds* (pp. 15–52).
- Velasco-Fuentes, R. (n.d.). *Análisis de los quemadores de incienso del Centro de Veracruz*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Vicente, E. D., Vicente, A. M., Musa Bandowe, B. A., & Alves, C. A. (2016). Particulate phase emission of parent polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their derivatives (alkyl-PAHs, oxygenated-PAHs, azaarenes and nitrated PAHs) from manually and automatically fired combustion appliances. *Air Quality, Atmosphere and Health*, *9*(6), 653–668. <https://doi.org/10.1007/s11869-015-0364-1>

- Villa-Ruano, N., Pacheco-Hernández, Y., Becerra-Martínez, E., Zárate-Reyes, J. A., & Cruz-Durán, R. (2018). Chemical profile and pharmacological effects of the resin and essential oil from *Bursera schlechtendalii*: A medicinal “copal tree” of southern Mexico. *Fitoterapia*, 128(May), 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.05.009>
- Wu, Z., Wang, W., He, F., Li, D., & Wang, D. (2018). Simultaneous Enrichment and Separation of Four Flavonoids from *Zanthoxylum bungeanum* Leaves by Ultrasound-Assisted Extraction and Macroporous Resins with Evaluation of Antioxidant Activities. *Journal of Food Science*, 83(8), 2109–2118. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14282>
- Wyllie, C. (2010). The mural paintings of El Zapotal, Veracruz, Mexico. *Ancient Mesoamerica*, 21(2), 209–227. <https://doi.org/10.1017/S0956536110000337>
- Yang, L., Wang, H., Zu, Y., Zhao, C., Zhang, L., Chen, X., & Zhang, Z. (2011). Ultrasound-assisted extraction of the three terpenoid indole alkaloids vindoline, catharanthine and vinblastine from *Catharanthus roseus* using ionic liquid aqueous solutions. *Chemical Engineering Journal*, 172(2–3), 705–712. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.06.039>
- Yang, Y., Hu, C., Zhong, H., Chen, X., Chen, R., & Yam, K. L. (2016). Effects of Ultraviolet (UV) on Degradation of Irgafos 168 and Migration of Its Degradation Products from Polypropylene Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(41), 7866–7873. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03018>
- Young, D. G., Chao, S., Casablanca, H., Bertrand, M. C., & Minga, D. (2007). Essential oil of *Bursera graveolens* (kunth) triana et planch from Ecuador. *Journal of Essential Oil Research*, 19(6), 525–526. <https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699322>
- Yue, L., Cheng, J., Hua, J., Dong, H., & Zhou, J. (2021). A sodium percarbonate/ultraviolet system generated free radicals for degrading capsaicin to alleviate inhibition of methane production during anaerobic digestion of lipids and food waste. *Science of the Total Environment*, 761, 143269. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143269>
- Yukawa, C., Imayoshi, Y., Iwabuchi, H., Komemushi, S., & Sawabe, A. (2006). Chemical composition of three extracts of *Bursera graveolens*. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2), 234–238. <https://doi.org/10.1002/ffj.1563>
- Yukawa, C., Iwabuchi, H., Kamikawa, T., Komemushi, S., & Sawabe, A. (2004). Terpenoids of the volatile oil of *Bursera graveolens*. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(6), 565–570. <https://doi.org/10.1002/ffj.1356>
- Zure, C. V., & Pinjari, R. V. (2018). Development and validation of 2D GC-FID method for quantitative analysis of cis- and trans-hexyl cinnamic aldehyde and its major impurity 2-hexyl-2-decenal. *Asian Journal of Chemistry*, 30(5), 1088–1092. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2018.21196>
- Zyglar, A., Słomińska, M., & Namieśnik, J. (2012). Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec. In *Comprehensive Sampling and Sample Preparation* (Vol. 2, pp. 65–82). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00037-5>

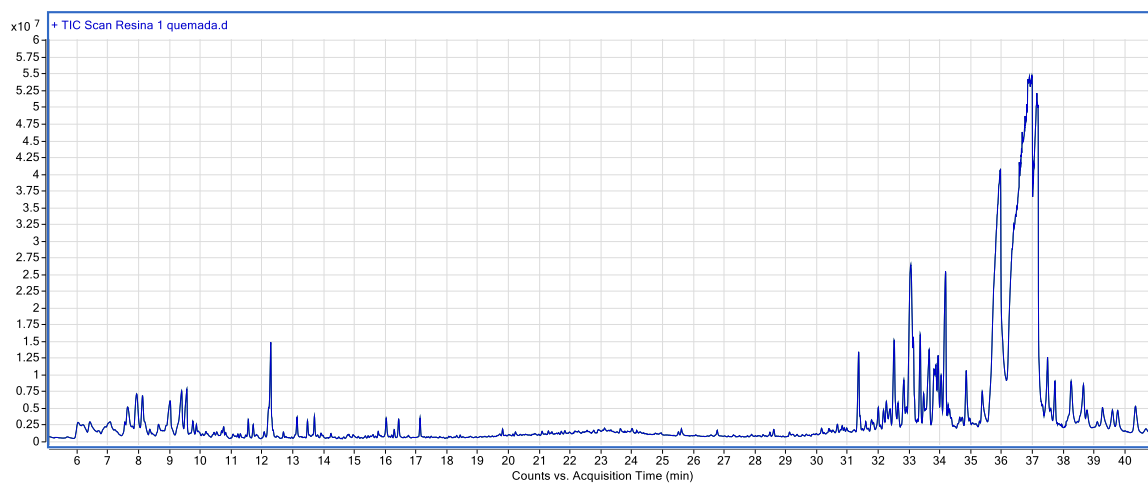
I. ANEXO: EJEMPLOS DE CROMATOGRAMAS OBTENIDOS DE PIEZAS Y BLANCOS Y LISTAS DE COMPUESTOS POR PIEZA

Probeta original



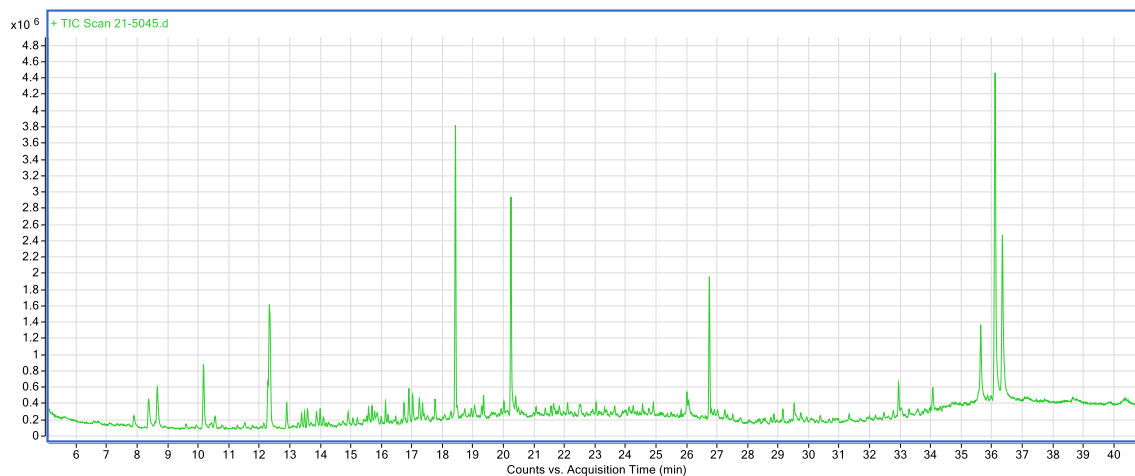
rt (min)	Nombre	Match	rt (min)	Nombre	Match
6.03	Carvenone	85.3	24.77	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	96.1
6.43	Bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,3.alpha.,5.alpha.)-	89	32.46	Olean-12-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	87.8
7.62	3-Methyl-4-isopropylphenol	87.7	34.79	Ursa-9(11),12-dien-3-ol	88.9
9.49	Caryophyllene	95.3	35.34	Ursa-9(11),12-dien-3-ol	87.8
11.25	2,4,6-Cycloheptatrien-1-one, 2-hydroxy-5-(1-methylethyl)-	89.1	35.73	.beta.-Amyrin	92
11.3	Thiophene, 2,3-dimethyl-	85.9	36.19	Benzimidazo[2,1-a]isoquinoline	86.5
11.5	p-Cymene-2,5-diol	90.6	37.49	Olean-12-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	87.6
11.7	Caryophyllene oxide	90.8	19.35	Isopropyl palmitate	85.2
12.06	Alloaromadendrene oxide-(1)	86.2	19.81	Kaur-16-ene	96.1
12.24	Caryophyllene oxide	97.9	20.01	Fluoranthene	90.9
12.68	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene	94.5	20.39	Pyrene	90
13.12	10,10-Dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo[7.2.0]undecan-5.beta.-ol	95.7	20.81	Pyrene	96.5
13.46	Isoaromadendrene epoxide	87.7	22.55	1-Naphthalenamine, N-phenyl-	95
13.68	Alloaromadendrene oxide-(1)	89.6	25.48	Cyclopenta[cd]pyrene	85.9
13.9	Methanol, [(4-nitrophenyl)sulfonyl]-, 4-methylbenzenesulfonate	86.7	25.7	Benz[a]anthracene	90.2
14.82	.alpha.-Phellandrene, dimer	92.9	26.08	Pentacosane	89
15.52	Phosphinic fluoride, diphenyl-	90.2	32.64	Olean-12-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	87.6
15.77	.alpha.-Phellandrene, dimer	96.6	33.66	Olean-12-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	87
16.01	.alpha.-Phellandrene, dimer	94.3	34.15	Benzimidazo[2,1-a]isoquinoline	85
16.29	.alpha.-Phellandrene, dimer	93.6	36.34	Benzimidazo[2,1-a]isoquinoline	85.2
16.43	.alpha.-Phellandrene, dimer	90.5	37.17	Silane, diethylisohexyloxyoctadecyloxy-	87.9
19.8	Kaur-16-ene	89.5	37.73	12-Oleanen-3-yl acetate, (3.alpha.)-	87.9
22.53	2-Naphthalenamine, N-phenyl-	89.6			

Probeta Quemada



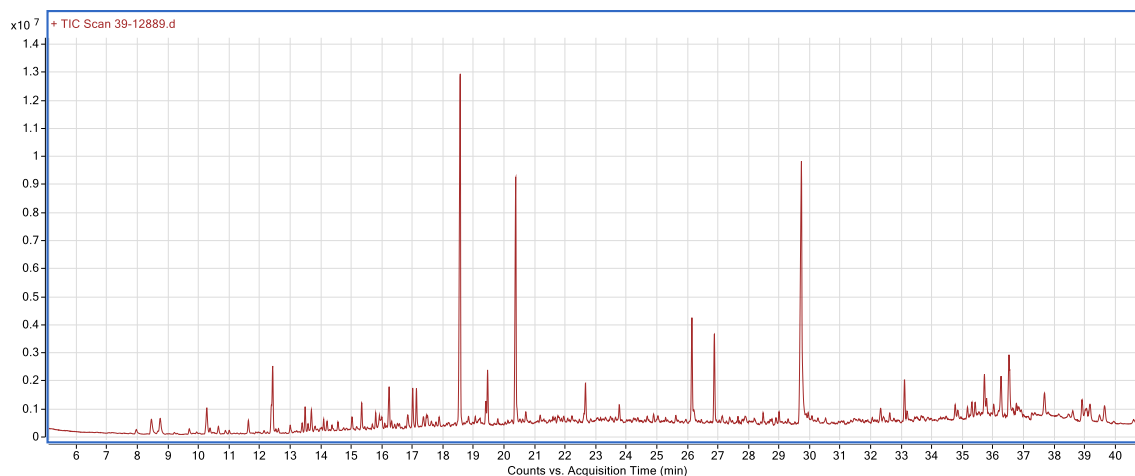
rt (min)	Nombre	Match	rt (min)	Nombre	Match
6.03	Carvenone	89.9	15.77	.alpha.-Phellandrene, dimer	95.2
6.43	Bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,3.alpha.,5.alpha.)-	91.3	16.02	.alpha.-Phellandrene, dimer	89.2
6.71	1H-Pyrazole, 5-methoxy-1,3-dimethyl-	85.6	16.29	.alpha.-Phellandrene, dimer	90.4
7.55	1,3-Cyclopentadiene, 1,3-bis(1-methylethyl)-	86.2	16.44	.alpha.-Phellandrene, dimer	88.7
7.65	Thymol	90.3	17.35	Nonadecane	85.9
9.56	2-Cyclohexen-1-one, 4-hydroxy-3-methyl-6-(1-methylethyl)-, trans-	94.2	18.32	n-Hexadecanoic acid	92.8
9.65	1(3H)-Isobenzofuranone, 3,3-dimethyl-	86.6	18.43	Phthalic acid, 6-ethyl-3-octyl butyl ester	88.7
9.87	2-Cyclohexen-1-one, 4-hydroxy-3-methyl-6-(1-methylethyl)-, trans-	89.8	19.35	Isopropyl palmitate	85.2
10.39	Ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-	87.8	19.81	Kaur-16-ene	96.1
11.3	2'-Hydroxy-4',5'-dimethylacetophenone	87	20.01	Fluoranthene	90.9
11.56	p-Cymene-2,5-diol	95.5	20.39	Pyrene	90
11.72	Caryophyllene oxide	89.2	20.81	Pyrene	96.5
12.07	Diepicedrene-1-oxide	89	22.55	1-Naphthalenamine, N-phenyl-	95
12.28	Caryophyllene oxide	96	25.48	Cyclopenta[cd]pyrene	85.9
12.7	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene	95.4	25.7	Benz[a]anthracene	90.2
13.05	Benzene, 1,1'-(1,2-ethynediyl)bis[4-methoxy-	85.1	26.08	Pentacosane	89
13.14	10,10-Dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo[7.2.0]undecan-5.beta.-ol	96	32.64	Olean-12-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	87.6
13.48	Isoaromadendrene epoxide	88	33.66	Olean-12-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	87
13.7	Alloaromadendrene oxide-(1)	89.9	34.15	Benzimidazo[2,1-a]isoquinoline	85
13.77	Naphthalene, 1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	88.2	36.34	Benzimidazo[2,1-a]isoquinoline	85.2
14.82	.alpha.-Phellandrene, dimer	91.3	37.17	Silane, diethylisohexyloxyoctadecyloxy-	87.9
15.36	Caryophyllene oxide	86.2	37.73	12-Oleanen-3-yl acetate, (3.alpha.)-	87.9
15.52	9H-Fluorene, 9-methylene-	95.1			

Tapa 21-5045 (Nopiloa)



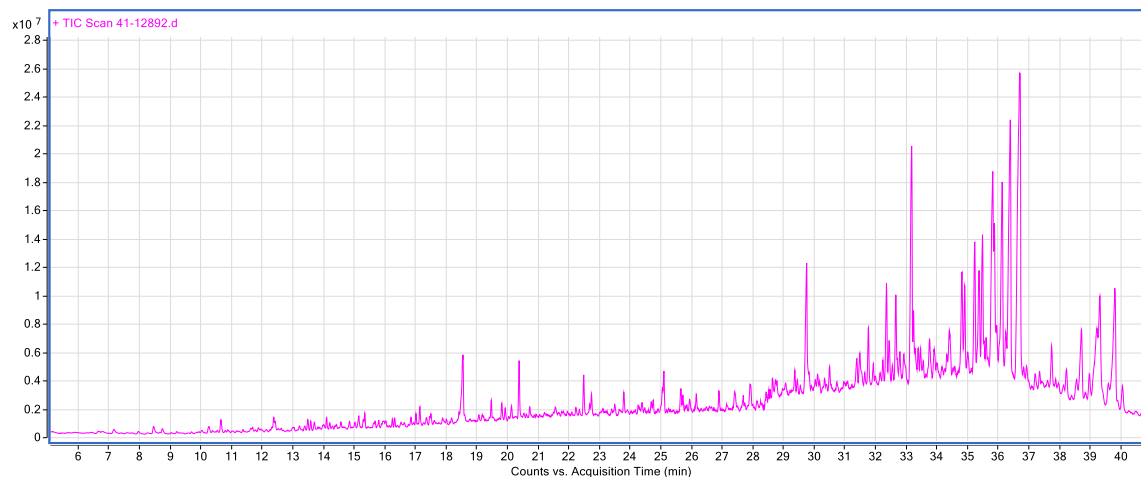
rt (min)	Nombre	Match	rt (min)	Nombre	Match
5.63	Cyclopentasiloxane, decamethyl-	90.5	16.14	Isopropyl myristate	94.2
7.89	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	95.7	16.22	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	86.3
8.37	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	86.9	16.9	Phthalic acid, hept-4-yl isobutyl ester	96.3
8.66	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester	95.2	16.94	Tonalid	88.3
9.6	Ethanone, 1,1'-(1,4-phenylene)bis-	92.4	17.03	1-Hexadecanol	96.6
10.17	2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	95.6	17.24	1-Decanol, 2-hexyl-	92.5
10.44	1-Tetradecanol	90.5	17.35	Nonadecane	92.7
10.55	Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-	86.7	17.76	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	90.3
11.53	2(3H)-Furanone, dihydro-5,5-dimethyl-4-(3-oxobutyl)-	85.3	18.43	Dibutyl phthalate	97.2
12.05	Benzamide, N,N-diethyl-4-methyl-	87.8	19.29	Eicosanal-	88.9
12.28	Diethyl Phthalate	95.8	19.35	Isopropyl palmitate	90.2
12.32	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	93.6	20.25	1-Octadecanol	97.1
12.93	Benzophenone	93.8	20.4	1-Hexadecanol	88.3
12.99	2,5-Cyclohexadien-1-one, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-ethylidene-	87	21.56	Heneicosane, 3-methyl-	88
13.39	Octane, 1,1'-oxybis-	95.1	21.64	n-Pentadecylcyclohexane	87.8
13.49	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	90.8	22.34	2-Isopropyl-10-methylphenanthrene	87
13.87	1-Nonadecene	93.8	22.54	1-Naphthalenamine, N-phenyl-	91.4
13.99	Hexadecane	86.5	24.56	n-Heptadecylcyclohexane	89.7
14.38	Methyl nonyl phthalate	87.6	25.17	Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane	86.5
14.91	Octanal, 2-(phenylmethylene)-	86.3	26.75	Phthalic acid, di(2-propylpentyl) ester	97.5
15.45	Phthalic acid, ethyl hept-2-yl ester	86.1	27.25	Cyclohexane, nonadecyl-	86.7
15.53	Phosphinic fluoride, diphenyl-	86.9	29.16	1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	95.1
15.58	Trifluoroacetoxy hexadecane	86	35.64	.beta.-Amyrin	92.7
15.69	Octadecane	96	36.11	Lupeol	88.5
15.81	2-Propanol, 1-chloro-, phosphate (3:1)	85.6	36.35	.alpha.-Amyrin	94.1
15.99	1-Hexadecanol	85.7			

Tapa 39-12889 (El Zapotal)



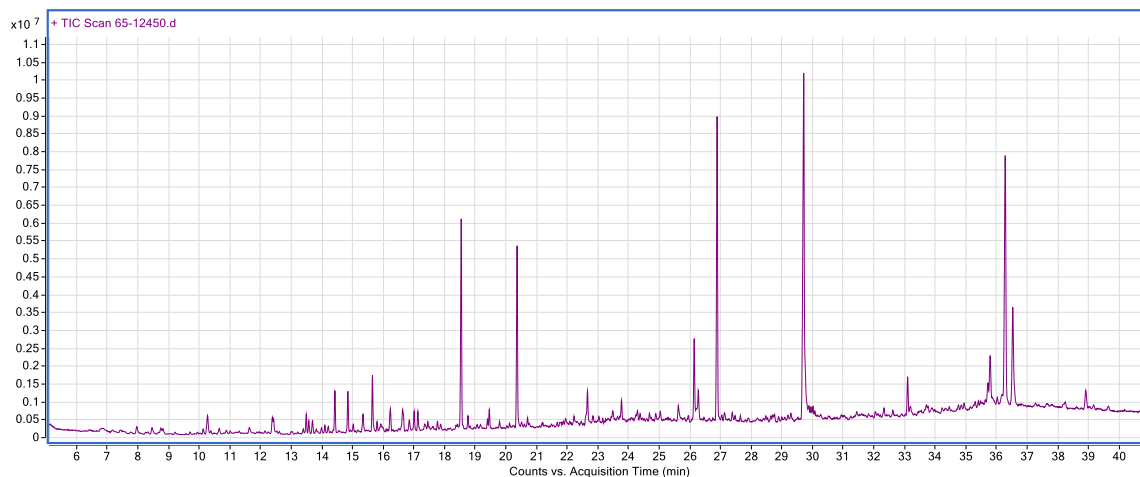
rt (min)	Nombre	Match	rt (min)	Nombre	Match
7.42	Benzene, 1,3-bis(1-methylethenyl)-	88.9	16.1	Pentadecanal-	88.9
7.96	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	92.7	16.22	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxyacetophenone	91.8
8.46	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	88	16.24	Isopropyl myristate	96
8.68	Ethanone, 1-(2,3-dihydro-1H-inden-5-yl)-	91.2	16.33	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	89.2
8.75	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester	94.5	16.84	Cyclopenta[g]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-	86
9.21	Dodecanal	86	17.01	Phthalic acid, hept-4-yl isobutyl ester	97.1
9.7	Ethanone, 1,1'-(1,4-phenylene)bis-	95.7	17.04	7-Acetyl-6-ethyl-1,1,4,4-tetramethyltetralin	88.5
10.24	1-Dodecanol	88.4	17.09	4-Benzoyloxybenzoic acid	87.3
10.27	2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	89.8	17.13	1-Hexadecanol	97.4
10.65	Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-	90.4	17.46	Nonadecane	85.2
11	Butylated Hydroxytoluene	88.9	17.77	Phthalic acid, butyl hept-4-yl ester	93.6
11.63	2(3H)-Furanone, dihydro-5,5-dimethyl-4-(3-oxobutyl)-	95.2	17.87	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	87.2
11.96	n-Tridecan-1-ol	88.5	18.56	Dibutyl phthalate	96.2
12.06	Benzoic acid, 2-hydroxy-, pentyl ester	88.1	19.06	Eicosane	88.4
12.15	Benzamide, N,N-diethyl-4-methyl-	96.7	19.4	Octadecanal	93.2
12.38	Diethyl Phthalate	95.7	19.46	Isopropyl palmitate	94.9
12.43	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	98.4	19.8	4-Oxazocarboxylic acid, 4,5-dihydro-2-phenyl-, 1-methylethyl ester	88.3
12.62	Tetradecanal	94.3	20.38	1-Octadecanol	97.7
13.04	Benzophenone	93.4	20.93	Pyrene	87
13.39	Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-pentyl-, methyl ester	87.9	21.6	1-Propene-1,2,3-tricarboxylic acid, tributyl ester	91.2
13.49	Octane, 1,1'-oxybis-	95.2	21.65	2-Ethylhexyl trans-4-methoxycinnamate	89.2
13.58	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	89.1	22.67	2-Naphthalenamine, N-phenyl-	95.5
13.7	1-Tetradecanol	97.7	24.24	Methyl dehydroabietate	86.7
13.82	n-Hexyl salicylate	89	26.88	Phthalic acid, di(2-propylpentyl) ester	97.1
13.98	1-Dodecanol	86.4	28.48	Octocrylene	89.9
14.1	Heptadecane	89.3	29.3	1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	91.8
14.49	Decyl methyl phthalate	91.3	29.73	13-Docosenamide, (Z)-	95.9
14.57	Phenol, 2-(1-phenylethyl)-	86.6	32.63	Olean-12-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	87.9
15.02	Octanal, 2-(phenylmethylene)-	92.4	35.17	Ursa-9(11),12-dien-3-ol	89.4
15.25	Adipic acid, butyl isobutyl ester	87	35.42	Ursa-9(11),12-dien-3-one	89.8
15.34	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde	93.4	36.03	.beta.-Amyrin	85.2
15.8	Octadecane	90.5	36.26	4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-Octamethyl-1,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-octadecahydro-2H-picen-3-one	87.1
15.92	2-Propanol, 1-chloro-, phosphate (3:1)	94.3	36.53	.alpha.-Amyrin	94.7
16	2-Ethylhexyl salicylate	93.7	37.69	Lup-20(29)-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	87.1

Tapa 41-12892 (El Zapotal)



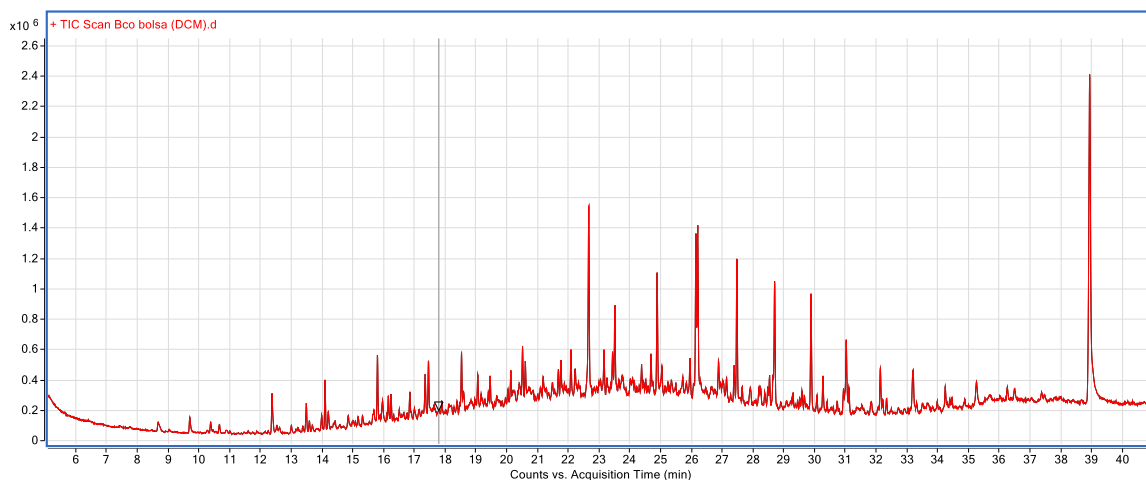
rt (min)	Nombre	Match	rt (min)	Nombre	Match
5.72	Cyclopentasiloxane, decamethyl-	88.7	15.93	2-Propanol, 1-chloro-, phosphate (3:1)	89.8
6.42	Decanal	85.5	16.01	2-Ethylhexyl salicylate	86.2
6.66	Ethanol, 2-phenoxy-	91.3	16.23	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxyacetophenone	88.6
6.81	1,2-Benzisothiazole	88.2	16.25	Isopropyl myristate	89.3
7.17	Nonanoic acid	88.9	16.86	Octadecyl octyl ether	87.3
7.6	Phenol, m-tert-butyl-	87.3	17.02	Phthalic acid, hept-4-yl isobutyl ester	95.8
7.96	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	90.9	17.14	n-Pentadecanol	95.6
8.67	Ethanone, 1-[4-(1-methylethenyl)phenyl]-	86.3	17.61	1H-Indene, 1-phenyl-	87.9
8.75	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester	90.6	18.01	Anthracene, 9-methyl-	88.3
9.03	Tetradecane	85.3	18.52	n-Hexadecanoic acid	94.2
9.6	Naphthalene, 1,6-dimethyl-	92.5	18.55	Dibutyl phthalate	95.4
9.7	Ethanone, 1,1'-(1,4-phenylene)bis-	92.5	19.47	Isopropyl palmitate	94.2
9.85	Coumarin	85.1	19.81	Ethane, 1,2-diphenyl-1,2-bis(azetidiny-1)-	86.7
10.24	1-Dodecanol	95.1	19.92	Phenanthrene, 3,6-dimethyl-	95.1
10.54	1-Pentadecene	87.8	20.38	1-Octadecanol	95.9
12.15	Benzamide, N,N-diethyl-4-methyl-	94.5	20.94	Pyrene	94.5
12.37	Hexadecane	89.9	21.54	Phenanthrene, 2,3,5-trimethyl-	86.8
12.39	Diethyl Phthalate	93.1	22.49	2-Isopropyl-10-methylphenanthrene	91.7
12.43	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	94.4	22.74	Phenanthrene, 2,3,5-trimethyl-	92.3
12.62	Tetradecanal	91.6	23.92	8-Isopropyl-1,3-dimethylphenanthrene	90.2
13.04	Benzophenone	92.8	24.26	Methyl dehydroabietate	85.4
13.71	1-Tetradecanol	96.7	26.9	Phthalic acid, di(2-propylpentyl) ester	89.6
13.87	Naphthalene, 1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	86	27.87	Chrysene, 1-methyl-	90
14.1	Heptadecane	89.1	29.32	1,4-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	87.5
14.57	Azulene, 1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	86.2	29.45	Benz(a)anthracene, 4,7-dimethyl-	86.1
15.03	Octanal, 2-(phenylmethylene)-	88.2	29.76	13-Docosenamide, (Z)-	95.3
15.15	Tetradecanoic acid	91.9	36.13	.beta.-Amyrin	90
15.35	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde	92.7	37.74	12-Oleanen-3-yl acetate, (3.alpha.)-	85.6
15.63	9H-Fluorene, 9-methylene-	92.2	39.43	Silane, dimethyl[(2-naphthoxy)hexadecyloxy]-	86.9
15.8	Octadecane	92.5			

Brasero 65-12450 (El Zapotal)



rt (min)	Nombre	Match	rt (min)	Nombre	Match
6.41	Decanal	85.2	16	2-Ethylhexyl salicylate	88.2
6.67	Ethanol, 2-phenoxy-	88	16.22	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxyacetophenone	96.9
7.96	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	91.1	16.24	Isopropyl myristate	95.1
8.67	Ethanone, 1-(2,3-dihydro-1H-inden-5-yl)-	88.6	17.01	Phthalic acid, hept-4-yl isobutyl ester	97.2
8.75	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester	87.6	17.05	Tonalid	85.1
9.7	Ethanone, 1,1'-(1,4-phenylene)bis-	91.1	17.09	4-Benzyloxybenzoic acid	91
9.82	Pentanoic acid, 5-hydroxy-, 2,4-di-t-butylphenyl esters	85.1	17.13	1-Hexadecanol	96.5
10.24	1-Dodecanol	90.2	17.35	Pentadecafluorooctanoic acid, octadecyl ester	88.9
10.27	2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	91.3	17.77	Phthalic acid, butyl hept-4-yl ester	94.5
10.65	Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-	87.6	18.54	Dibutyl phthalate	95.5
10.88	Tridecanal	85.5	19.4	Octadecanal	90.4
11.01	Butylated Hydroxytoluene	90.9	19.46	Isopropyl palmitate	94.1
11.63	2(3H)-Furanone, dihydro-5,5-dimethyl-4-(3-oxobutyl)-	92.7	19.79	Ethane, 1,2-diphenyl-1,2-bis(azetidiny-1)-	86.2
11.95	n-Tridecan-1-ol	89	20.37	1-Octadecanol	97.9
12.06	Benzoic acid, 2-hydroxy-, pentyl ester	89.7	20.71	2(3H)-Furanone, 5-dodecyldihydro-	88.7
12.15	Benzamide, N,N-diethyl-4-methyl-	89.2	22.46	2-Isopropyl-10-methylphenanthrene	88.2
12.38	Diethyl Phthalate	94.9	22.66	2-Naphthalenamine, N-phenyl-	95.5
12.42	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentenediol diisobutyrate	92.6	23.31	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	85.2
12.62	Tetradecanal	91.6	23.77	2(3H)-Furanone, dihydro-5-tetradecyl-	92.6
13.04	Benzophenone	87.4	25.29	Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane	85.2
13.39	Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-pentyl-, methyl ester	85.1	25.66	Phthalic acid, 6-ethyloct-3-yl 2-ethylhexyl ester	85.9
13.49	Octane, 1,1'-oxybis-	94.7	26.28	Diisooctyl phthalate	94.2
13.7	1-Tetradecanol	94.7	26.89	Diisooctyl phthalate	96.6
13.82	n-Hexyl salicylate	90.9	29.3	1,4-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	93.8
13.99	Dodecyl acrylate	86.1	29.71	13-Docosenamide, (Z)-	95
14.1	Heptadecane	89.6	30.02	Decanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	85.9
15.02	Octanal, 2-(phenylmethylene)-	93.8	35.79	.beta.-Amyrin	89.8
15.34	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde	92.7	36.53	.alpha.-Amyrin	90.7

Blanco de bolsa



rt (min)	Nombre	Match	rt (min)	Nombre	Match
8.68	Ethanone, 1-(2,3-dihydro-1H-inden-5-yl)-	88.9	22.09	Docosane	93.5
9.03	Hexane, 3,3-dimethyl-	87.4	22.33	Cyclohexane, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, trans-	86.9
9.71	Ethanone, 1,1'-(1,4-phenylene)bis-	95.1	22.67	2-Naphthalenamine, N-phenyl-	97.4
10.38	Ethanone, 1-[4-(1-hydroxy-1-methylethyl)phenyl]-	86.6	23.16	Behenic alcohol	88.9
12.16	Benzamide, N,N-diethyl-4-methyl-	94.1	23.44	1-Nonadecene	91.1
12.38	Hexadecane	92.8	23.51	Tricosane	95
13.49	Octane, 1,1'-oxybis-	94.9	24.69	n-Heptadecylcyclohexane	89.5
13.99	1-Tetradecanol	91.8	24.89	Tetracosane	97.8
14.1	Heptadecane	97.2	25.04	3-Methyltetracosane	85.5
14.2	Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	92.4	25.96	Methyl tetracosyl ether	86.9
15.8	Octadecane	97.8	26.21	Pentacosane	94.4
15.97	Octadecane	85.6	26.88	Phthalic acid, di(2-propylpentyl) ester	94.8
16.25	Isopropyl myristate	87.7	27.39	Cyclohexane, nonadecyl-	90.1
17.01	Phthalic acid, isobutyl 4-octyl ester	87.1	27.48	Hexacosane	96.5
17.35	Pentadecafluorooctanoic acid, heptadecyl ester	92.3	28.7	Tetratriacontane	93.2
17.46	Nonadecane	96.2	29.3	1,4-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl)	91.3
18.53	Phthalic acid, butyl hept-4-yl ester	95.6	29.89	Octacosane	92.1
19.06	Eicosane	92.9	30.28	Squalene	86.9
19.46	Isopropyl palmitate	88.5	31.03	Nonacosane	92.3
20.04	Octadecane, 1-iodo-	89.4	31.12	Cholest-5-en-3-ol (3.beta.-), propanoate	85.8
20.51	1-Heneicosyl formate	92.2	32.14	Triacontane	92.3
20.61	Heneicosane	95.5	33.21	Pentatriacontane	89.5
21.68	Heneicosane, 3-methyl-	90.8	34.25	Hexacosane	90.8
21.76	n-Pentadecylcyclohexane	89.1	35.26	Dotriacontyl isobutyl ether	88.8

Blanco de método

