

**OBJETOS DE RESINA EN LOS AJUARES DE EL CAÑO  
(PANAMÁ): DISEÑO DE UN PROTOCOLO  
DE ANÁLISIS Y PRIMEROS RESULTADOS**

JOERI KAAL, CÉSAR OLIVEIRA  
MARÍA MARTÍN SEIJO  
JULIA MAYO TORNÉ  
CARLOS MAYO TORNÉ

# OBJETOS DE RESINA EN LOS AJUARES DE EL CAÑO (PANAMÁ): DISEÑO DE UN PROTOCOLO DE ANÁLISIS Y PRIMEROS RESULTADOS

## I. INTRODUCCIÓN

Esta comunicación recoge los resultados del estudio de la composición de resinas y gomas procedentes de una serie de especies arbóreas tropicales, así como algunos resultados del estudio químico-taxonómico de muestras arqueológicas recuperadas de El Caño (Panamá). El objetivo de la colección de referencia (plantas vivas) es la definición de biomarcadores (compuestos únicos en cada planta considerada) o perfiles de compuestos que caracterizan una especie o serie de especies. Posteriormente, esta información puede ser utilizada para identificar los orígenes (en términos de materia prima) de objetos arqueológicos (figuras de resina y algunos sedimentos de tumbas), y en este caso presentamos los resultados de tres objetos concretos, del yacimiento El Caño (provincia de Coclé, Panamá).

Los métodos aplicados forman una combinación novedosa en este tipo de investigación. Hemos analizado las fracciones solubles de los materiales vegetales y muestras arqueológicas con la combinación de cromatografía de gases (GC) y espectrometría de masas (MS). El método de introducción de GC-MS, conlleva el fraccionamiento entre compuestos solubles y no-solubles. El en caso de resinas actuales, la solubilidad suele ser (aproximadamente) integral, pero en el caso de materiales alterados (por ejemplo, polimerizados) o componentes macromoleculares (como polisacáridos y proteínas en las gomas), la GC-MS representa solamente una fracción de los compuestos orgánicos presentes en una muestra. Por lo tanto, además de GC-MS, hemos aplicado pirólisis analítica (Py-GC-MS). Con esta técnica, los compuestos macromoleculares se fragmentan como resultado de un pulso térmico en ambiente inerte (pirólisis) y los productos de esta reacción son analizados, en conjunto con compuestos volátiles no-macromoleculares, con GC-MS. Aunque esto facilita la caracterización de compuestos orgánicos invisibles con GC-MS sin pirólisis, la pirólisis también produce reacciones secundarias asociados con la elevada temperatura (>500 °C) y por lo tanto la “traducción” de las moléculas detectadas a información sobre la composición molecular de la muestra es más complicado que en el caso de GC-MS. Por último, se ha aplicado *thermally assisted hydrolysis and methylation* (THM-GC-MS), método en cierto modo similar a la Py-GC-MS pero se utiliza un reactivo de hidrólisis y derivatización para impedir reacciones secundarias y aumentar el nivel de información de compuestos polares como los ácidos y alcoholes. Además de la descripción de los resultados obtenidos, en este trabajo ponemos el enfoque en los aspectos metodológicos, es decir las ventajas y desventajas de cada técnica, y en especial su complementariedad.

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

### II.1 Colección de referencia y muestras arqueológicas

Se ha elaborado una colección de resinas y otros exudados vegetales actuales a partir de las especies productoras de este tipo de sustancias presentes en el entorno de El Caño (Tabla 1). Las muestras fueron recogidas sobre árboles vivos por Carlos Mayo entre 2016 y 2018. El criterio seguido ha sido incluir las principales especies de las que se obtienen resinas en esta área geográfica, aquellas de la familia de las Fabaceae-Caesalpinoideae (*Copaifera aromatica*, *Hymenaea courbaril*) y de la familia Burseraceae (*Bursera tomentosa*, *B. simaruba*, *Tetragastris panamensis*); así como otras especies que producen exudados vegetales susceptibles

de ser utilizados en bruto o mezclados con resinas como *Spondias mombim*, *Albizia adinocephala*, *A. guachapele*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Castilla elastica* y *Pachira quinata*.

TABLA 1. LISTADO DE RESINAS Y OTROS EXUDADOS RECOLECTADAS EN EL ENTORNO DEL YACIMIENTO DE EL CAÑO.

Familia	Especies	Año	Código
Anacardiaceae	<i>Spondias mombim</i>	2018	RES10
Burseraeae	<i>Bursera tomentosa</i>	2016	RES05
	<i>Bursera simaruba</i>	2016	RES08
	<i>Tetragastris panamensis</i>	2016	RES01
Fabaceae-Caesalpinoideae	<i>Copaifera aromatica</i>	2018	RES11
	<i>Hymenaea courbaril</i>	2016	RES07
Fabaceae-Mimosoideae	<i>Albizia adinocephala</i>	2016	RES09
	<i>Albizia guachapele</i>	2016	RES03
	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	2016	RES06
Moraceae	<i>Castilla elastica</i>	2016	RES02
Malvaceae	<i>Pachira quinata</i>	2016	RES04

Las muestras arqueológicas han sido recuperadas del yacimiento de El Caño durante las intervenciones realizadas entre 2008 y 2016, y están asociadas a ajuares funerarios (Mayo & Carles 2015). De la tumba T2 se ha analizado la figura 10248 que representa a un cuadrúpedo (Fig. 1) con una cronología entre el 900 y el 1020 cal. AD; con dos submuestras, una interior (10248-1) y otra exterior (10248-2). De la tumba T7 se han recuperado residuos del interior de una orejera tubular de oro (12021). Finalmente, la muestra 9321 fue recuperada del interior de una funda de oro aplicada sobre un diente canino de felino que formaría parte de un cinturón.

FIG. 1. FIGURA ZOOMORFA Y OBJETOS DE ORO ANALIZADOS EN ESTE ESTUDIO (FOTOS: JULIA MAYO -9321, 10248-, MERCEDES GUINEA -12021-).



## II.2 GC-MS

Se han recogido aproximadamente 5 mg de material de la superficie de cada muestra, que posteriormente se trituraron en forma de polvo fino en un mortero de ágata previamente limpiado para incrementar el área de contacto y mejorar la eficiencia de la extracción. Los restos orgánicos se extrajeron dos veces en mezclas de cloromorfo/metanol en proporción 2:1 en un aparato ultrasónico. Los extractos combinados fueron filtrados en una jeringuilla PTFE de 0,20  $\mu\text{m}$  y secados mediante un flujo de nitrógeno suave, y se disolvieron nuevamente en piridina y derivatizados con N, O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA): trimetilclorosilano (TMCS) 99:1 para el análisis de la mayoría de los compuestos polares.

Los análisis cromatográficos se llevaron a cabo en un sistema Thermo Scientific™ ISQ cuádruplo simple GC-MS, utilizado en modo de escaneo completo con las siguientes condiciones experimentales: a) columna HP-5MS, 60 m × 0.25 mm × 0.25 μm utilizando helio como gas portador con un flujo constante de 1 mL min<sup>-1</sup>; b) volumen de inyección de μL; c) temperatura del inyector de 250°C; d) modo de ionización, impacto electrónico a 70 eV; e) línea de transferencia a 290°C; f) fuente de iones a 280°C; g) rango de masas de m/z 50 a 650. Cada serie cromatográfica totalizó 65 minutos. Después de una retención isotérmica de 2 min a 190°C el horno se programó a una temperatura de hasta 265°C a 3°C/minuto, después hasta 285°C a 10°C/min y hasta 300°C a 0.5°C/min. Esta temperatura se mantuvo durante 8 minutos. La identificación de componentes se basó en la biblioteca de espectros NIST2014 y en los patrones de análisis de fragmentación.

### II.3 Py-GC-MS y THM-GC-MS

Py-GC-MS ha sido ejecutado mediante un pirolizador Pyroprobe 5000 (CDS) acoplado a un GC-MS de Agilent Technologies (6890/5975). Las condiciones de análisis son descritas en Kaal et al. 2014. Las muestras con un peso aproximado en el rango 10-500 μg son posicionadas en un tubo de cuarzo con lana de cuarzo. Una vez metido el tubo de cuarzo con la muestra en la interfase del pirolizador, el análisis se inicia con el calentamiento instantáneo (rampa de temperatura 10°C/ms) a 650°C, temperatura que se mantiene 20s. Los productos de la fragmentación de macromoléculas y de la volatilización de compuestos de bajo peso molecular (“productos de pirólisis”), son llevados desde la cámara de pirólisis hacia el cromatógrafo, mediante un flujo de helio (1ml/min). El cromatógrafo opera en modo *split* (1:10). El programa de temperatura del horno tiene una T<sup>a</sup> inicial de 60 °C y una final de 325 °C, con rampa de calentamiento a 20 °C/min. La columna cromatográfica es un HP5-MS. El espectrómetro cuádrupolo opera en modo de ionización por impacto de electrones (EI) a 70 eV, escaneando masas en el rango *m/z* de 50 a 500 amu. Dada la dificultad de estimar la cantidad de muestra óptima para generar un cromatograma de alta calidad, consecuencia de la enorme diferencia en productividad de compuestos en resinas (alta), gomas (mediana) y muestras de sedimento (bajo, salvo aquellas que contienen resina), en la mayoría de los casos se ha realizado el análisis de Py-GC-MS una segunda o incluso tercera vez.

El protocolo de THM-GC-MS es similar al de Py-GC-MS, a excepción de que antes de introducir los tubos de cuarzo con la muestra, se añade una alícuota de hidróxido de tetrametilamonio (TMAH, Sigma-Aldrich, 25% en agua) mediante una pipeta de vidrio. Se deja la muestra en contacto con la disolución TMAH durante media hora para promocionar la derivatización y se introduce en el pirolizador para proceder a su análisis en las mismas condiciones que las aplicadas en la Py-GC-MS. En el caso de la THM-GC-MS, no se han analizado réplicas.

## III. RESULTADOS

### III.1 GC-MS

Uno de los problemas asociados al análisis cromatográfico por GC-MS se relaciona con la necesidad de solubilizar las muestras sólidas; los análisis se efectúan sobre materiales líquidos (o muestras sólidas solubilizadas) que son vaporizadas al introducirse en el inyector del equipo. Al tratarse de resinas en elevados estados de polimerización, esta solubilización no siempre es posible, incluso utilizando diferentes solventes o mezclas de éstos. Por este motivo, no fue posible efectuar análisis por GC-MS de las muestras insolubles.

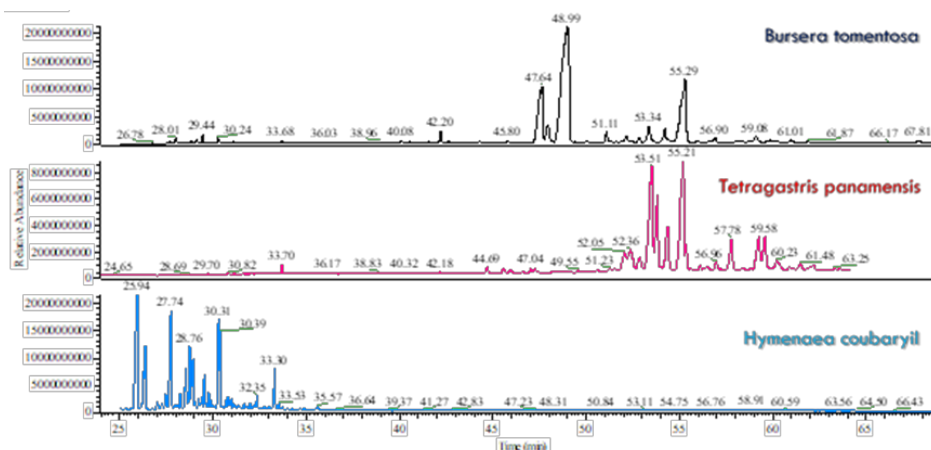
### III.1.1 Plantas vivas

En la Tabla 2 se presenta un resumen del análisis de muestras de la colección de referencia obtenida de plantas vivas. Se disponía para análisis de muestras de 11 especies diferentes, de las que solamente se pudieron solubilizar cinco. Ejemplos de cromatogramas (la parte de la señal di- y triterpénica) están facilitados en Fig. 2.

TABLA 2. MUESTRAS ANALIZADAS DE LA COLECCIÓN DE REFERENCIA Y PRINCIPALES RESULTADOS OBTENIDOS.

Familia	Especies	Código	Composición (GC-MS)
Anacardiaceae	<i>Spondias mombim</i>	RES10	Resina negra muy dura y quebradiza. Insoluble.
Burseraceae	<i>Bursera tomentosa</i>	RES05	Diterpenos como ácido Kolavénico. Triterpenos como $\alpha$ -amirina y acetato de lupeol. Sesquiterpenos como estigmasterol y isolongifolol.
	<i>Bursera simaruba</i>	RES08	Triterpenos como $\alpha$ -amirina, lupeol acetato, lanosterol, Olean-12-en-3-one ( $\beta$ -amirenona).
	<i>Tetragastris panamensis</i>	RES01	Triterpenos como $\alpha$ -amirina, $\beta$ -amirina, acetato de lupeol, germanicol y betulina.
Fabaceae-Caesalpinoideae	<i>Copaifera aromatica</i>	RES11	Sesquiterpenos como $\alpha$ -copaeno, $\alpha$ -selineno, $\alpha$ -caryophylleno, $\alpha$ -muuroleno, aromadendrene, germacrene D, longipinane, óxido caryophylleno, isolongifolol. Diterpenos como ácido Kolavénico.
	<i>Hymenaea courbaril</i>	RES07	Sesquiterpenos como isolongifolol. Ácido isopimárico.
Fabaceae-Mimosoideae	<i>Albizia adinocephala</i>	RES09	Insolubles
	<i>Albizia guachapele</i>	RES03	
	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	RES06	
Moraceae	<i>Castilla elastica</i>	RES02	
Malvaceae	<i>Pachira quinata</i>	RES04	

FIG. 2. EJEMPLOS DE CROMATOGRAMAS (GC-MS) DE MUESTRAS DE LA COLECCIÓN DE REFERENCIA.



### III.1.2 Muestras arqueológicas

La muestra 10248-1 (interna) es muy rica en sesquiterpenos como isolongifolol, farnesol,  $\alpha$ -bisaboleno y  $\alpha$ -eudesmol. Existen vestigios de lípidos degradados, detectándose monoacilglicérols, glicerol, oleanitrilo y oleamida. La presencia de ácido isopimárico hace este perfil compatible con la presencia de resina de *Hymenaea courbaril* L. La parte exterior (10248-2) genera un cromatograma similar a 10248-1, compatible con *Hymenaea courbaril* L. Se detectaron vestigios de Burseraceae por la presencia de triterpenos como  $\alpha$ -amirina y  $\alpha$ -amirona.

En la muestra 12021 se ha podido verificar la presencia de ácidos palmítico y esteárico, monopalmitina, monoestearina y oleanitrilo, que sugieren degradación de grasas vegetales. Se detectaron vestigios de  $\alpha$ -amirina (picos de intensidad reducida) así como picos muy intensos de alcanos de cadena elevada (no están presentes los alcanos de cadena reducida). El perfil parece compatible con la utilización de resinas del tipo Burseraceae.

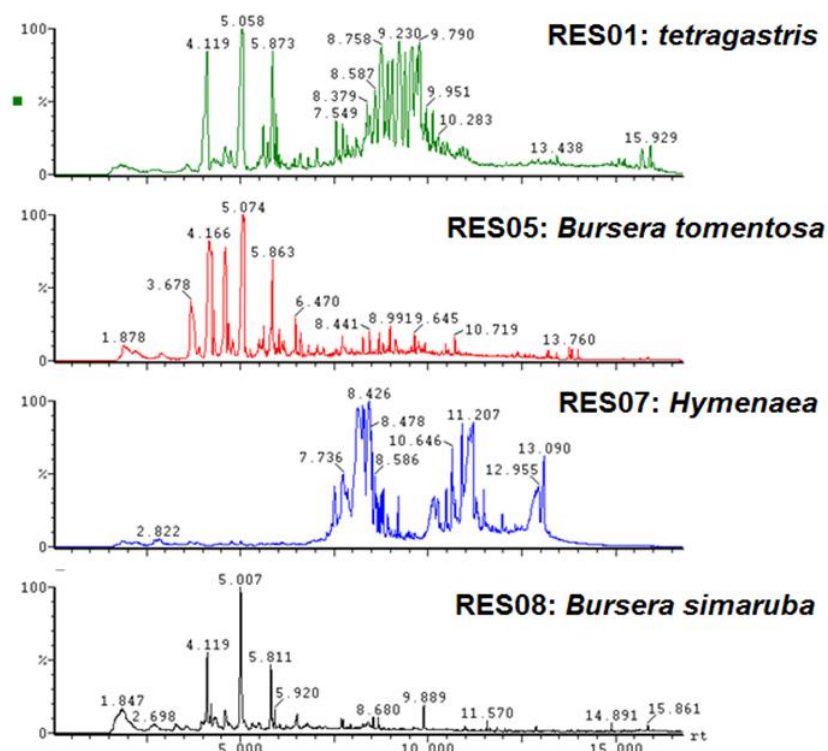
Finalmente, en la muestra 9321 no se detectó evidencia de resinas tampoco. Se verificó la presencia de ácidos palmítico y esteárico, glicerol, monopalmitina, monoestearina y oleanitrilo, que sugieren degradación de grasas vegetales. El pico más intenso es la oleamida, que deriva de la reacción del ácido oleico en medio básico, soportando la hipótesis de utilización de aceites vegetales.

## III.2 Py-GC-MS y THM-GC-MS

### III.2.1 Plantas vivas

Las muestras de la colección de referencia han dado cromatogramas de Py-GC-MS y THM-GC-MS de diversa índole. En primer lugar, las muestras RES01, RES05, RES07, RES008 y RES11 (las Burseraceae, *Hymenaea courbaril* y *Copaifera aromatica*) son prolíficas de diferentes proporciones relativas de monoterpenoides, sesquiterpenoides y, en menor medida, di- y triterpenoides de sustancias resinosas. Las muestras con más similitudes en sus espectros de Py-GC-MS son las muestras del género *Bursera*, es decir, RES05 (*B. tomentosa*) y RES08 (*B. simaruba*). Sus cromatogramas de Py-GC-MS están dominados por monoterpenos  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -felandreno y limoneno 8 (Fig. 3; 3-6 minutos de tiempo de retención). *B. tomentosa* (RES05) produce algunos picos abundantes de otros monoterpenos con peso molecular ( $M^+$ ) de 136 amu que no se detectan en *B. simaruba*, mostrando que Py-GC-MS puede usarse para distinguir las diferentes resinas de *Bursera* en base a sus monoterpenoides. En términos generales, RES05 (*B. simaruba*) también presenta mayores proporciones de derivados de sesquiterpenoides con  $M^+$  en el rango 198-204. La muestra de RES01 (*Tetragastris panamensis*), también de la familia Burseraceae, muestra grandes picos para los productos de monoterpeno, pero se puede diferenciar de RES05 y RES08 gracias a una contribución mucho mayor de sesquiterpeno (cadaleno, caryophyllo, cadineno) (Fig. 3, 7-10 min tiempo de retención). Se detectaron amirinas, en proporciones mucho más bajas que los terpenos, y fueron relativamente abundantes en las muestras de *Bursera* (RES05 y RES08), pero la eficacia de la detección de triterpenos polares es muy inferior al de GC-MS de compuestos derivados. Las amirinas y los compuestos de neooleanano representan la fracción triterpenoide que se usa a menudo para la identificación de resinas de copal (De la Cruz et al., 2015), pero en el caso de Py-GC-MS, las fracciones de monoterpeno y sesquiterpeno también son de valor diagnóstico. No se identificaron productos de eudesmol o elemol de resinas tipo elemí (De la Cruz et al., 2015), confirmando el tipo copal de estas resinas de Burseraceae.

FIG. 3. CROMATOGRAMAS DE IONES TOTALES DE PY-GC-MS DE LAS MUESTRAS RES01, RES05, RES07 Y RES08.

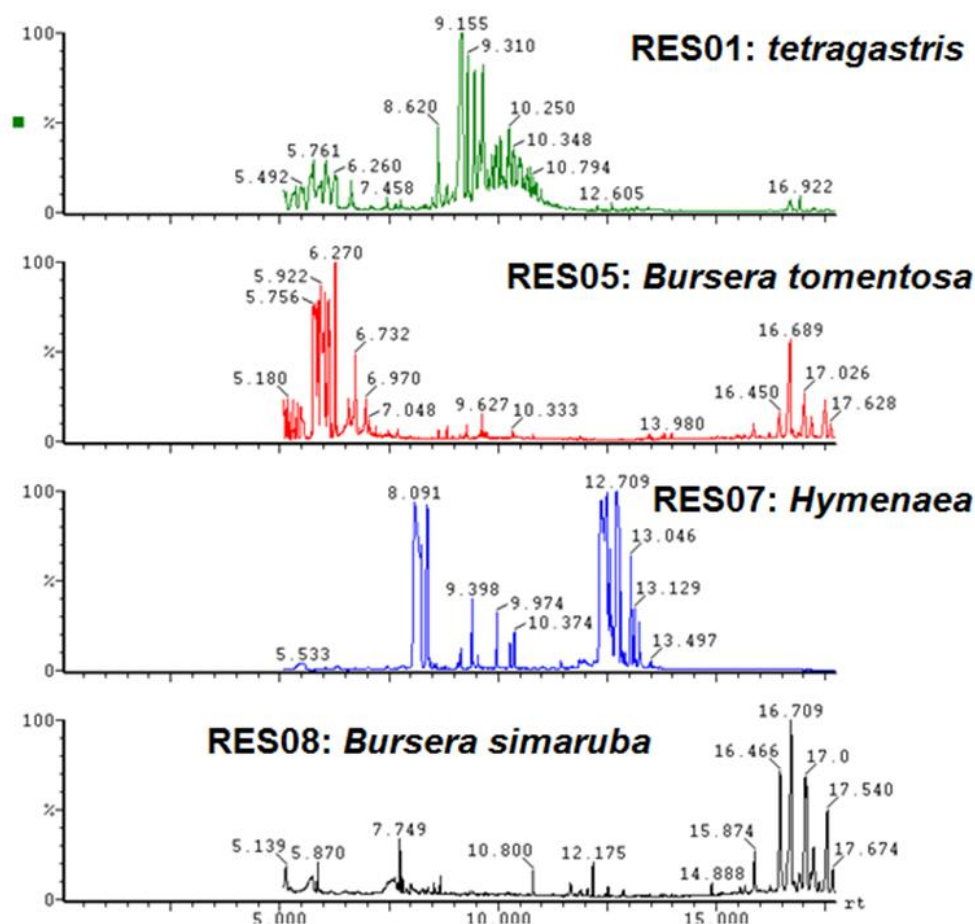


La muestra RES07 (*Hymenaea courbaril*, Fabaceae) tiene un contenido muy bajo de monoterpenos y grandes proporciones de sesquiterpenos y diterpenos con una estructura labdánica (labdanos) (McCoy et al. 2017, Domenèch-Carbo et al. 2009), lo que sugiere una discrepancia considerable con las resinas de las Burseraceae que permiten su distinción. La resina de RES07 *Hymenaea* estrictamente no es una resina de copal, sino de animé: similar en apariencia, pero en absoluto en las huellas digitales Py-GC-MS. Finalmente, la muestra de *Copaifera aromatica* (RES11) produce algunos sesquiterpenos pero principalmente diterpenos que además son diferentes a los que caracterizan *Hymenaea courbaril*.

Con THM-GC-MS de estas muestras de composición resinosa, una de las diferencias es la falta de señal para los monoterpenos, ya que eluyen en el período que coincide con el reactivo TMAH (<5 min). Con el THM, el alto contenido de amirina de las muestras de *Bursera* RES05 y RES08 se vuelve más claro debido a que la metilación del grupo hidroxílico que mejora su rendimiento cromatográfico (Fig. 4, >15 min). Las diferencias en la abundancia de sesquiterpenoides y la distribución del peso molecular detectadas por Py-GC-MS también pueden observarse por THM, diferenciando las resinas prolíficas principalmente de diterpenos (*Hymenaea*) o de monoterpenos. En conclusión, las muestras de resina de plantas se pueden distinguir claramente por su composición molecular detectada mediante Py-GC-MS o THM-GC-MS, y cabe esperar que las resinas arqueológicas también puedan diferenciarse, incluso sin el uso de análisis estadístico.

FIG. 4. CROMATOGRAMAS DE IONES TOTALES DE THM-GC-MS DE LAS MUESTRAS RES01, RES05, RES07 Y RES08.

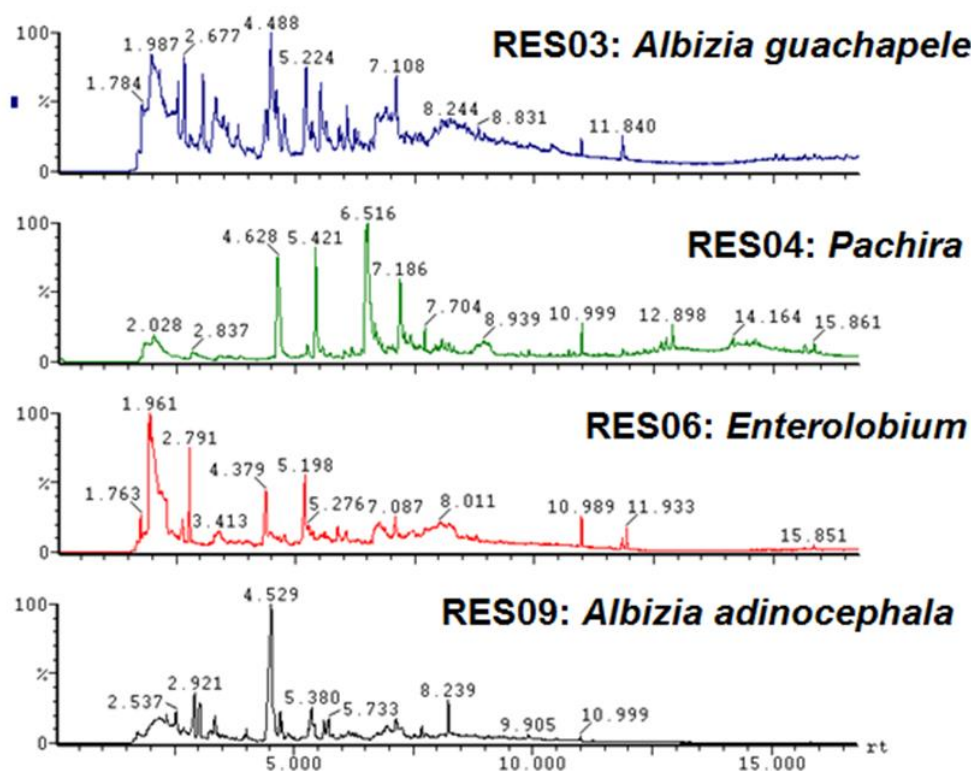
La señal de los primeros 5 minutos falta debido al período de atraso del solvente. Obsérvense la abundancia de amirinas (triterpenos, tiempo de retención >15 min) para las muestras res05 y res08, claro indicador de la naturaleza copal de las resinas de bursera, y los labdanos (diterpenos, tiempo de retención 11-14 min) de la naturaleza animé de hymenaea.



En segundo lugar, las muestras RES03, RES04, RES06 y RES09 y RES10 no producen derivados terpenoides o su abundancia es muy minoritaria. En cambio, estos materiales producen principalmente productos de carbohidratos, y compuestos fenólicos, muchos de los últimos parecen estar asociados con el tanino (Fig. 5). Las muestras de este grupo también tienen un contenido de proteína considerable. La muestra RES04 (*Pachira quinata*) se caracteriza por un fuerte dominio de fenol, metilfenoles y catecol. Estos compuestos pueden originarse a partir de lignina, pero THM-GC-MS demuestra claramente que tienen un precursor en tanino, más específicamente taninos condensados (reconocidos como 1,3,5-trimetoxibenceno y 2,4,6-trimetoxitolueno, típicos del anillo A de los taninos condensados). Este resultado está en concordancia con el trabajo de Aguilar et al. (2012) sobre *Pachira quinata*. El tanino también se puede detectar en las otras muestras de exudados/gomas, pero en proporciones más bajas.

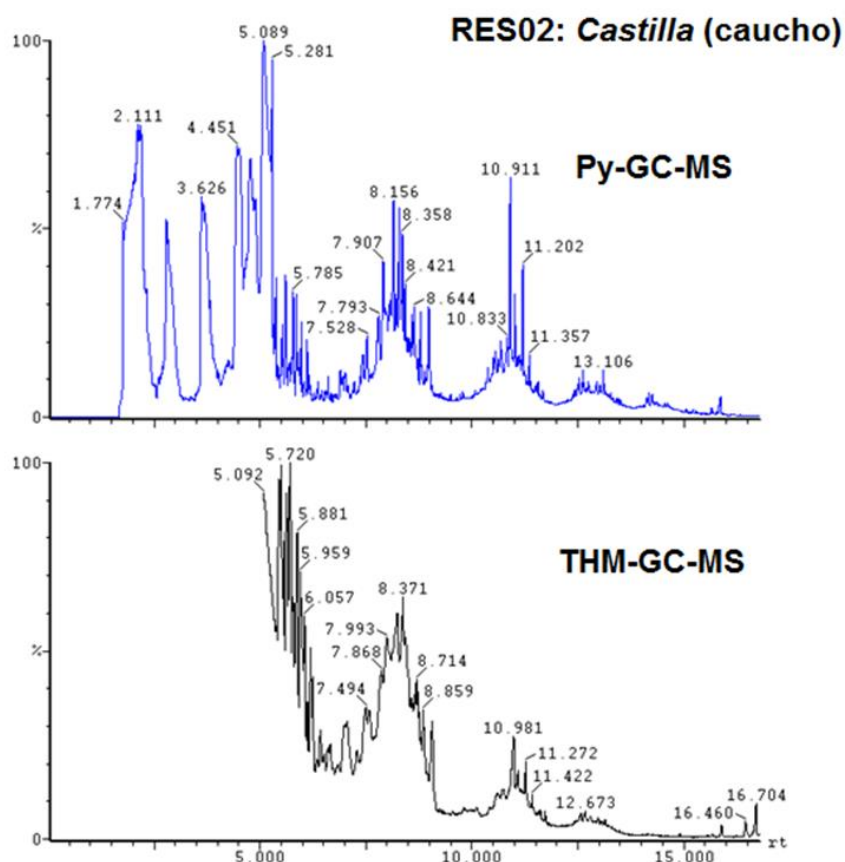


FIG. 5. CROMATOGRAMAS DE IONES TOTALES DE PY-GC-MS DE LAS MUESTRAS RES03, RES04, RES06, RES09 (LIGNINA) Y RES009 (EXUDADO)



Las muestras RES03, RES06 y RES09 tienen un elevado contenido de polisacáridos, que se refleja en furaldehídos, ácido acético, piranos, ciclopentenonas y anhidroazúcares mediante Py-GC-MS. Las huellas moleculares de los polisacáridos de estas muestras se pueden distinguir fácilmente. Por ejemplo, RES09 (goma de *Albizia adinocephala*) produjo picos principales de 5-metil-2-furaldehído. Por su parte, RES03 (*A. guachapele*) es prolífico de 3/2-furaldehído, RES06 (*Enterolobium cyclocarpum*) es prolífico de un carbohidrato no identificado con  $m/z$  (57, 73, 55, 84) y  $M^+$  124, etc. Los productos de lignina también se pueden usar para diferenciar estas muestras. La materia orgánica proteica se refleja por compuestos con nitrógeno como piridina, diquetodipirrol, indol y un compuesto no identificado con  $M^+$  192 (probablemente una diquetopiperazina). Interesantes derivados de quinolona fueron identificados entre los productos de la muestra RES09. Los productos terpenoides no se detectaron en los cromatogramas. Los datos de THM-GC-MS (no mostrado) evidenciaron que la muestra RES04 es principalmente tanino, mientras que las otras muestras están dominadas por polisacáridos (p. ej., 1,2,4-trimetoxibenceno y ácidos sacarínicos metilados  $C_5/C_6$ ) junto con algunas proteínas. Finalmente, la muestra de *Spondias mombim* (RES10) produce una intensa señal de diquetodipirrol y otros derivados de materia orgánica compuesta por principalmente hidroxiprolina entre sus aminoácidos. Esta característica de los exudados de *Spondias* ha sido observada anteriormente (Martínez et al. 2008). Las muestras de gomas/exudados podrían identificarse fácilmente, probablemente también en muestras de origen desconocido, si están suficientemente bien conservadas. Las muestras RES03 y RES06 (*Albizia guachapele* y *Enterolobium cyclocarpum*) son probablemente las muestras con huellas moleculares más similares y, por lo tanto, presentarían mayores dificultades para distinguirlas. Esta serie es precisamente la parte de las muestras que no se podrían analizar con GC-MS.

FIG. 6. CROMATOGRAMAS DE IONES TOTALES DE PY-GC-MS (GRÁFICO SUPERIOR) Y THM-GC-MS (GRÁFICO INFERIOR) DE LA MUESTRA RES02.



Finalmente, los cromatogramas de la muestra RES02 (*Castilla elastica*) están compuestos prácticamente en su totalidad por productos con una estructura de isopreno, típica de un polímero puro de [poli] isopreno, como es el caucho, o su materia prima, el látex (Fig. 6). Por lo tanto, y a excepción de algunos alquilbencenos no diagnósticos (tolueno y dimetilbencenos), la huella molecular de la muestra RES02 es completamente diferente de cualquier otra muestra. Los principales picos son isopreno (2-metil-1,3-butadieno) y derivados de isopreno y limoneno que se forman durante la pirólisis. También se pueden reconocer dímeros, trímeros, tetrameros e incluso pentámeros en el patrón ondulatorio del cromatograma de Py-GC-MS. A pesar de la posibilidad de la presencia de monoterpenos en esta muestra de caucho natural, las señales reflejan claramente la naturaleza del polímero de [poli] isopreno del caucho. Con THM-GC-MS, los resultados son similares porque este material apenas contiene grupos derivatizables tales como restos hidroxilo, éter, carboxilo o éster.

### III.2.2 Muestras arqueológicas

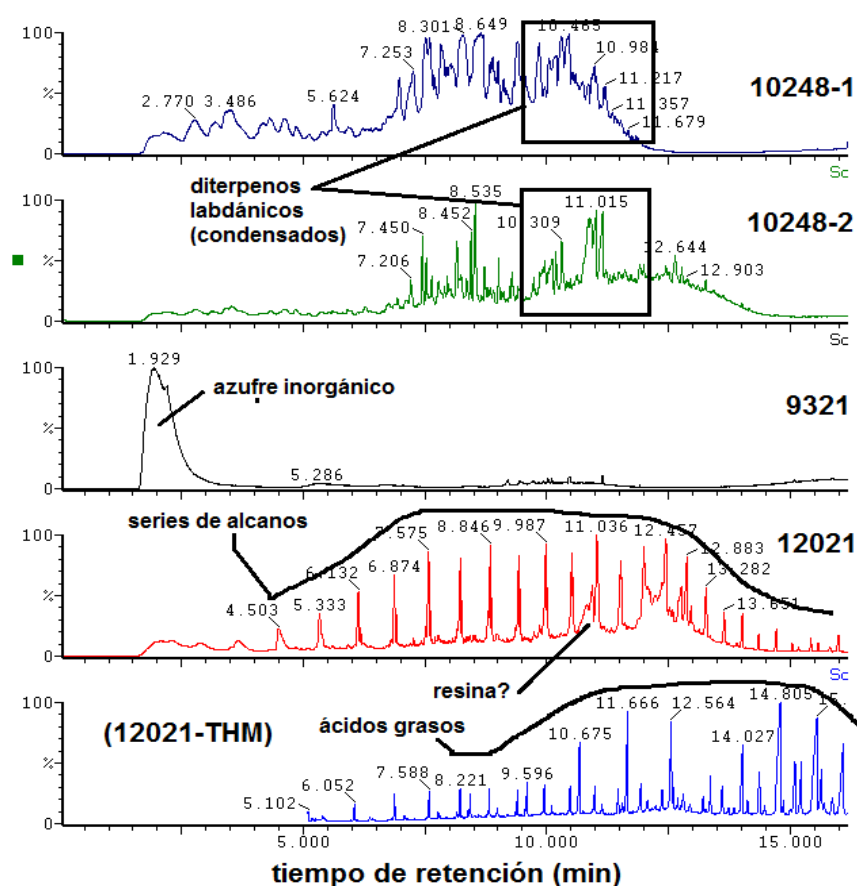
Los cromatogramas de la muestra 10248 (10248-1, 10248-2) generan principalmente diterpenos con un esqueleto labdánico (Fig. 7), y por lo tanto su mayor similitud es con *Hymenaea courbaril*. Ya que estas resinas se analizan bien mediante Py-GC-MS, THM-GC-MS no se ha utilizado con estas muestras. Las muestras 10248-01 y 10248-2 producen cromatogramas casi idénticos (la diferencia entre la parte interior y exterior es que el primero produce algo más de ácidos grasos, por razones desconocidas). Este objeto está constituido por resina de *Hymenaea*, ya sea no manipulada, manipulada, o incluso ámbar. El impacto de

la pirólisis puede simular la fosilización natural (principalmente aromatización de las estructuras cíclicas de los labdanos). Aparte de estos compuestos (pentametilhidroindenos con  $m/z$  173+188; referidos como humuleno por dichos autores), observamos más compuestos condensados como los tri- y tetrametilnaftalenos (abundancia más elevada de grupos aromáticos frente a grupos alicíclicos), que también puede ser resultado de los procesos de fosilización de la resina, y por lo tanto la conversión de resina a ámbar. En resumen, la distribución típica entre sesquiterpenos y diterpenos labdánicos de las muestras arqueológicas de figura de resina 10248 se relaciona con los cromatogramas de Py-GC-MS y GC-MS de *Hymenaea*, pero la abundancia relativa de los compuestos es distinta posiblemente por reacciones de condensación durante la fosilización.

La orejera 12021 genera una clara señal de cera, es decir un cromatograma dominado por una serie de alcanos y alquenos en el rango de longitud de cadena C<sub>11</sub>-C<sub>33</sub> (Fig. 12). Obviamente, esta característica no la comparte ninguna muestra de la colección de referencia. Los alcanos son acompañados por los metilésteres de ácidos grasos (con Py-GC-MS), sugiriendo un grado de polimerización de ácidos grasos. Además, se detectan amirinas, tanto con Py-GC-MS como con THM-GC-MS, lo que puede indicar que esta muestra contiene incluso algo de resina de *Bursera*.

Finalmente, la funda de oro del canino 9321 ha sido analizada mediante Py-GC-MS hasta tres veces. En todos sus cromatogramas no se observan otros compuestos que el S<sub>2</sub> (azufre), sugiriendo que esta muestra no contiene materia orgánica (sino el mineral FeS<sub>2</sub>, pirita).

FIG. 7. CROMATOGRAMAS DE PY-GC-MS DE LAS MUESTRAS ARQUEOLÓGICAS: 10248 (FIGURA DE RESINA), 9321 Y 12021 (OBJETOS DE ORO). LA GRÁFICA INFERIOR SON DE THM-GC-MS (SOLAMENTE DE LA MUESTRA 12021).



#### IV. DISCUSIÓN

Para la caracterización molecular de resinas, la GC-MS es un método habitual y fiable. Las huellas moleculares de las resinas de las Burseraceae y de *Hymenaea* son claramente distinguibles en base de relaciones de tipos de terpenos, aparte de biomarcadores concretos como las amirinas. La solubilización de las resinas de estas muestras no genera problemas y el análisis GC-MS no es invasivo, es decir, las estructuras moleculares detectadas (como derivados de TMS) parecen ocurrir como tal en la muestra. Sin embargo, GC-MS no ha podido dar información sobre la composición de las gomas, incluyendo el látex del caucho, debido a componerse principalmente de polímeros no-solubles.

Aquí es donde entran el valor los métodos de pirólisis, que dan acceso a huellas moleculares de cada uno de estos constituyentes: polisacáridos, proteínas y taninos, principalmente. Si se encuentran derivados de estas gomas en muestras arqueológicas (que hasta ahora no es el caso en El Caño), seguramente se pueden identificar su origen. La Py-GC-MS no solo contribuye a la caracterización de las gomas. En el caso de las resinas, la Py-GC-MS tiene la ventaja sobre GC-MS que no requiere disolución y facilita un primer escaneo general de la composición molecular. En este caso, este primer escaneo es suficientemente resolutorio para distinguir las resinas de las plantas vivas, ya que hay grandes diferencias. En el caso de las resinas de copal, sin embargo, la detección de amirinas está dificultada por la polaridad de estos compuestos y su alto peso molecular, facilitando su condensación entre el pirolizador y el inyector del GC. Aunque la derivatización con TMAH (THM-GC-MS) de los grupos polares (hidroxílicos) resuelve parcialmente este problema, el análisis adecuado de estos triterpenos se debería de realizar con GC-MS. Por lo tanto, estos tres métodos son claramente complementarios si el objetivo es caracterizar resinas o gomas vegetales.

Esta complementariedad es notoria también en el caso de las muestras arqueológicas. La funda de oro 9321 no da señales con Py-GC-MS o THM-GC-MS, con la excepción de un marcador de azufre inorgánico (S<sub>2</sub>), lo que indica que materia orgánica es escasa en este material. Con GC-MS, la disolución concentra la materia orgánica, generando una señal débil de ácidos grasos vegetales.

La caracterización molecular de la muestra 12021 ha facilitado algo más de información sobre el origen de esta muestra. Tanto Py-GC-MS como GC-MS evidenciaron una intensa señal de alcanos, y tanto GC-MS como THM-GC-MS de ácidos grasos. La distribución de los compuestos indica, con total certidumbre, que se trata de una muestra en que la cera es el componente principal. Sin embargo, las amirinas son detectables, especialmente con GC-MS y THM-GC-MS, lo que probablemente se debe a la presencia de resina de Burseraceae. La identificación de cera asociada a objetos de oro podría estar relacionada con el proceso de producción de este tipo de artefactos, ya que en la mayor parte de los casos se plantea que las figuras y objetos de oro más complejos fueron elaborados a partir de la técnica de la cera perdida (Bray 1978); en el caso de El Caño también parece documentarse la utilización de la cera como relleno en el caso de la elaboración de algunas cuentas de oro.

Finalmente, se ha podido demostrar que el perfil resínico de la figura 10248 sólo se asemeja al de *H. courbaril*. Con una amplia distribución en el Neotrópico, esta especie crece en las áreas secas del Pacífico en Panamá, en formaciones relativamente densas a lo largo de los ríos (Langenheim 2003). En contextos arqueológicos funerarios de Costa Rica con cronologías comprendidas entre el 700 y el 1400 AD se han localizado figuras de resina similares (Langenheim 2003); sus análisis químicos sugieren que también fueron talladas en resina de *Hymenaea*, probablemente *H. courbaril* (Langenheim and Balser 1975).

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por la Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT) (Contrato de Mérito N°80-2014-4-COL12-005 suscrito entre Julia Mayo y la SENACYT). JK, CO y MMS quieren expresar su agradecimiento a Carlos Mayo por la recogida de muestras actuales; a Julia Mayo por confiarnos el análisis de estas muestras; a Ainslie Harrison poner a nuestra disposición parte de las muestras arqueológicas; y a Paola Lucero haber compartido su experiencia al inicio de nuestros análisis. María Martín-Seijo está financiada por una beca post-doctoral Plan I2C mod. B con el Proyecto “MATERIAL-Materiality and Material Culture: Wood and Other Plant-based Materials in Archaeological Contexts”. César Oliveira agradece al Instituto de Ciências e Tecnologias Agrárias e Agro-Alimentares - Porto (ICETA) por su contrato en el marco del proyecto NORTE-01-0145-FEDER-000011.

## V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar-López, J.; Jaén-Jiménez, J. C.; Vargas-Abarca, A. S.; Jiménez-Bonilla, P.; Vega-Guzmán, I.; Herrera-Núñez, J.; Borbón Alpizar, H.; Soto-Fallas, R. M. 2012. Extracción y evaluación de taninos condensados a partir de la corteza de once especies maderables de Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha*, 25(4), 15-22.

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, 177–194.

Doménech-Carbó, M. T.; de La Cruz-Cañizares, J.; Osete-Cortina, L.; Doménech-Carbó, A.; David, H. 2009. Ageing behaviour and analytical characterization of the Jatobá resin collected from *Hymenaea stigonocarpa* Mart. *International Journal of Mass Spectrometry*, 284(1-3), 81-92.

Kaal, J.; Schellekens, J.; Nierop, K. G.; Cortizas, A. M.; & Muller, J. 2014. Contribution of organic matter molecular proxies to interpretation of the last 55 ka of the Lynch's Crater record (NE Australia). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 414: 20–31.

Langenheim, J. H. 2003. *Plant resins: chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany*. Timber Press.

Langenheim, J. H.; Balsler, C. A. 1975. Botanical origin of resin objects from aboriginal Costa Rica. *Vinculos. Revista de Antropología del Museo Nacional de Costa Rica*, 1(2), 72-82.

Martínez, M.; de Pinto, G. L.; de González, M. B.; Herrera, J.; Oulyadi, H., & Guilhaudis, L. 2008. New structural features of *Spondias purpurea* gum exudate. *Food hydrocolloids*, 22(7), 1310-1314.

Mayo, J.; Carles, J.A. (eds.) 2015. *Guerreros de Oro: Los Señores de Coclé*. Ed. Caribe, Panamá.

McCoy, V. E.; Boom, A.; Kraemer, M. M. S.; Gabbott, S. E. 2017. The chemistry of American and African amber, copal, and resin from the genus *Hymenaea*. *Organic Geochemistry*, 113, 43-54.