



MÁSTER EN ARQUEOLOGÍA PREHISTÓRICA

**Departamento de Química Analítica
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Complutense de Madrid**

Elaborado por: Profesor Dr. Jorge Caceres Gianni

ÍNDICE

	Pág
Recomendaciones Generales.....	3
Prevención general de riesgos y Símbolos de peligrosidad.....	4
Símbolos de peligrosidad.....	5
Resumen de estadística.....	6
Practica 1. Análisis de suelos. Determinación de humedad, pH, conductividad y fósforo extraíble.....	9
Seminario: Discusión y validación de los resultados obtenidos en diferentes análisis realizados	

RECOMENDACIONES GENERALES

Para lograr un máximo aprovechamiento de las actividades a realizar, será necesario cumplir ciertas pautas mínimas que a continuación se resumen:

- 1.- Los alumnos deberán entrar puntualmente en el laboratorio y no lo podrán abandonar sin permiso del profesor.
- 2.- Los alumnos deberán acudir cada día al laboratorio sabiendo lo que se va a hacer en el mismo. Esto incluye conocer el tema teórico vinculado con la actividad a realizar y haber leído el guión de la práctica correspondiente. Se dispondrá de un ejemplar del guión de prácticas en el campus virtual. La bibliografía general necesaria será indicada en cada caso.
- 3.- La asistencia a las prácticas es obligatoria y la falta de asistencia injustificada se puntúa con un cero en la práctica correspondiente.
- 3.- Los alumnos deben revisar el material de la taquilla que les corresponda cada día, al llegar y antes de irse. Si al llegar, observan la falta de material deberán ponerlo en conocimiento del Técnico de Laboratorio. Antes de marcharse comprobarán que todo el material queda en su sitio, limpio y en condiciones de utilización para el siguiente alumno.
- 4.- En caso de desaparición o rotura del material, se debe rellenar y firmar un vale que será proporcionado por el Técnico de Laboratorio que, a su vez, repondrá el material. Los vales quedarán en poder de los Técnicos de Laboratorio.
- 5.- Los alumnos comunicarán a los Técnicos de Laboratorio el agotamiento de un reactivo o disolución preparada por ellos, con objeto de que les sea repuesto lo antes posible.
- 6.- No se deben devolver reactivos a los recipientes de donde se han tomado. No se deben introducir espátulas ni pipetas en los envases que contienen los reactivos.
- 7.- No se debe abusar del consumo de reactivos. Se debe considerar las instrucciones del guión de prácticas a la hora de tomar una cantidad de reactivo. Deberán cumplirse rigurosamente todas las normas de seguridad que se indiquen, sobre todo en lo referente a la utilización de productos químicos.
- 9.- Al día siguiente de realizar cada práctica, cada alumno debe entregar la hoja de datos y resultados correspondiente al profesor que le haya impartido la práctica. Todas las magnitudes informadas deberán expresarse con el número de cifras significativas correctas de acuerdo a su forma de obtención. Estas hojas no se devuelven, por lo que se aconseja fotocopiarlas previamente. Se dispondrá de ejemplares en reprografía y en el campus virtual.
- 11.- Cada alumno debe llevar al día su cuaderno de laboratorio que podrá ser consultado por los profesores en cualquier momento. No se pueden utilizar hojas sueltas para hacer anotaciones. Absolutamente todas las anotaciones, cálculos, etc., que se relacionen con el experimento deberán anotarse inmediata y directamente en un cuaderno o libreta de laboratorio.

14.- La calificación de las prácticas se obtendrá a partir del cuaderno de laboratorio, de la actitud del alumno en éste y de las hojas de datos y resultados.

PREVENCIÓN GENERAL DE RIEGOS

1.- Es obligatorio llevar puesta y abrochada la **bata de laboratorio** durante todo el tiempo que se permanezca en éste. Conviene llevar calzado que cubra totalmente los pies y el pelo largo recogido. Se aconseja no llevar lentillas.

2.- Es obligatorio utilizar **gafas de seguridad** en todas las operaciones llevadas a cabo en el laboratorio.

3.- Cuando se lleven a cabo tratamientos en los que se prevea el desprendimiento de gases o vapores, las operaciones deberán realizarse en **vitrina cerrada** y con el extractor funcionando.

4.- No debe acercarse el mechero a productos orgánicos. No deben dejarse recipientes de productos inflamables cerca del fuego o fuentes de ignición.

5.- Todos los productos de laboratorio deben ser **manipulados con precaución**. Algunos productos químicos son extremadamente tóxicos o peligrosos. Los productos peligrosos se describen con los símbolos de peligrosidad establecidos por las directrices de la Unión Europea que se muestran en la hoja anexa. Si es posible deben conocerse características, peligrosidad y normas de actuación en caso de accidente.

6.- Hay que prestar especial atención al manejo de ácidos fuertes, fundamentalmente ácido sulfúrico. **Nunca se debe verter agua o una disolución sobre estos ácidos**. Hay que verter el ácido sobre el agua y siempre muy lentamente para evitar peligrosas salpicaduras.

7.- No aspirar nunca con la boca cuando se utilicen pipetas para tomar volúmenes de las disoluciones de trabajo.

8.- Si se produce contacto de algún producto peligroso con la piel o mucosas, **lavar** la parte afectada con agua abundante y **avisar al profesor**. Las quemaduras de ácidos y bases deben lavarse con agua abundante. Las producidas por calor no. Se dispone de un pequeño botiquín en el laboratorio. Si el accidente es serio el alumno sería acompañado al hospital.

9.- Los residuos **no se deben verter en los desagües**, debiendo depositarse en los recipientes destinados a tal efecto. En ningún caso deben lanzarse materiales sólidos a las pilas.

10.- En caso de incendio utilice el extintor más cercano.

11.- En caso de duda sobre cualquier operación consultar previamente con el profesor.

12.- Está **prohibido fumar, beber y comer** en el laboratorio.

SÍMBOLOS DE PELIGROSIDAD		
SÍMBOLOS DE PELIGROSIDAD IMPLANTADOS EN 2010		
Los nuevos símbolos de peligro forman parte del Reglamento europeo (CE) 1272/2008, sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.		
Explosivo		<p>Clasificación: Sustancias y preparaciones que reaccionan exotérmicamente también sin oxígeno y que detonan según condiciones de ensayo fijadas, pueden explotar al calentar bajo inclusión parcial.</p> <p>Precaución: Evitar el choque, percusión, fricción, formación de chispas, fuego y acción del calor.</p>
Inflamable		<p>Clasificación: Líquidos con un punto de inflamación inferior a 0°C y un punto de ebullición de máximo de 35°C. Gases y mezclas de gases, que a presión normal y a temperatura usual son inflamables en el aire.</p> <p>Precaución: Mantener lejos de llamas abiertas, chispas y fuentes de calor.</p>
Comburente		<p>Clasificación: (Peróxidos orgánicos). Sustancias y preparados que, en contacto con otras sustancias, en especial con sustancias inflamables, producen reacción fuertemente exotérmica.</p> <p>Precaución: Evitar todo contacto con sustancias combustibles.</p> <p>Peligro de inflamación: Pueden favorecer los incendios comenzados y dificultar su extinción.</p>
Gas		<p>Gas: Envase con gas a presión. Algunos pueden explotar con el calor, como los gases comprimidos, licuados o disueltos. Los licuados refrigerados pueden causar quemaduras o heridas criogénicas, al estar a muy baja temperatura. En la anterior normativa no había un símbolo para estos productos a presión o comprimido, tan solo una frase de peligro.</p>
Corrosivo		<p>Corrosivo: el producto puede atacar o destruir metales y causar daños irreversibles a la piel, ojos u otros tejidos vivos, en caso de contacto o proyección.</p>
Toxicidad aguda		<p>Toxicidad aguda: Producto que genera efectos adversos para la salud, incluso en pequeñas dosis, y con consecuencias inmediatas. Al entrar en contacto con el mismo se pueden sentir náuseas, vómitos, dolores de cabeza, pérdida de conocimiento. En un caso extremo, puede causar la muerte.</p>

Irritación cutánea		Irritación cutánea: el signo de exclamación es una advertencia de los efectos adversos que el producto puede provocar en dosis altas. Algunas de estas consecuencias negativas son irritación en ojos, garganta, nariz y piel, alergias cutáneas, somnolencia o vértigo
Peligroso por aspiración		Peligroso por aspiración: Estos productos pueden llegar al organismo por inhalación y causar efectos negativos muy diversos a largo plazo. Pueden provocar efectos cancerígenos, mutágenos, tóxicos, alérgicos y alteración de las funciones reproductora y el sistema nervioso.
Peligroso para el medio ambiente acuático		Peligroso para el medio ambiente acuático: El producto provoca efectos adversos a organismos del medio acuático (peces, crustáceos, algas, otras plantas acuáticas, etc.). La anterior clasificación consideraba los efectos tóxicos también sobre el medio terrestre e incluía una frase de riesgo indicativa del peligro del producto sobre la capa de ozono.

ESTADISTICA

Precisión

Se define como el grado de concordancia entre datos obtenidos de manera independiente al aplicar repetidamente el mismo método analítico a alícuotas de la misma muestra.

La precisión se puede evaluar numéricamente de diversas formas:

- desviación estándar $s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$
- desviación estándar relativa $RSD = \frac{s}{\bar{x}}$
- coeficiente de variación $CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$
- varianza s^2

Intervalo de confianza

El intervalo de confianza es una expresión que indica los límites alrededor de la media experimental (\bar{x}) dentro de los cuales puede esperarse encontrar el valor verdadero de la media (μ) con un cierto grado de probabilidad. Se calcula mediante la expresión:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

donde s es la desviación estándar de la media, t es el valor de la distribución t de Student a un nivel

de confianza determinado y $n-1$ grados de libertad, y n es el número de determinaciones.

Límite de detección (LD)

Por límite de detección de un método analítico se entiende la concentración más pequeña que se puede detectar con un cierto nivel de confianza. La mínima señal analítica detectable será un múltiplo de la desviación estándar de la señal del blanco. De acuerdo con las reglas de la IUPAC de 1987, el límite de detección se puede calcular mediante la siguiente expresión:

$$LD = k \frac{s_b}{b}$$

siendo k un factor de confianza, s_b la desviación estándar de 10 medidas de la señal del blanco y b la pendiente del calibrado. En la mayoría de los métodos analíticos al coeficiente k se le da el valor de 3.

Límite de cuantificación (LQ)

Por límite de cuantificación de un método analítico se entiende la concentración más pequeña que se puede cuantificar con una precisión dada, normalmente expresada mediante la desviación estándar de la señal del blanco. Se calcula de forma análoga al límite de detección dando al coeficiente k el valor de 10.

Comparación de las pendientes de dos rectas de calibrado

Para establecer estadísticamente si existen diferencias significativas de las pendientes de dos rectas de calibrado se utiliza una prueba de significación basada en la distribución t de *Student* para un determinado nivel de confianza. Para ello, se calcula un parámetro estadístico (t_{cal}) según la expresión:

$$t_{cal} = \frac{|b_1 - b_2|}{\sqrt{s_{b_1}^2 + s_{b_2}^2}}$$

donde s_b es el error estándar de cada pendiente calculada según la expresión:

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} = \frac{\sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

Se compara este parámetro estadístico t_{cal} con el valor tabulado de la t de *Student* para un determinado nivel de confianza y n_1+n_2-4 grados de libertad ($t_{tab, v=n_1+n_2-4}^\alpha$). Si $t_{cal} < t_{tab, v=n_1+n_2-4}^\alpha$ se considera que no existen diferencias significativas entre ambas pendientes.

**Valores de la distribución *t* de Student para diversos niveles de confianza
(dos colas)**

Grados de libertad	Nivel de significación (probabilidad)		
	0.10 (90%)	0.05 (95%)	0.01 (99%)
1	6.314	12.706	63.657
2	2.920	4.303	9.925
3	2.353	3.182	5.841
4	2.132	2.776	4.604
5	2.015	2.571	4.032
6	1.943	2.447	3.707
7	1.895	2.365	3.499
8	1.860	2.306	3.355
9	1.833	2.262	3.250
10	1.812	2.228	3.169
11	1.796	2.201	3.106
12	1.782	2.179	3.055
13	1.771	2.160	3.012
14	1.761	2.145	2.977
15	1.753	2.131	2.947
20	1.725	2.086	2.845
25	1.708	2.060	2.787
30	1.697	2.042	2.750

**Rechazo de Resultados:
Valores de Q para diferentes niveles de confianza**

Número de medidas, n	90 %	95 %	99 %
3	0.941	0.970	0.994
4	0.765	0.829	0.926
5	0.642	0.710	0.821
6	0.560	0.625	0.740
7	0.507	0.568	0.680
8	0.468	0.526	0.634
9	0.437	0.493	0.598
10	0.412	0.466	0.568

Cálculo de la Q experimental

Resultado dudoso	Fórmula
Valor más bajo (x_1)	$Q = \frac{x_2 - x_1}{x_n - x_1}$
Valor más alto (x_n)	$Q = \frac{x_n - x_{n-1}}{x_n - x_1}$

$Q_{exp} < Q_{tab}$ el resultado no se rechaza

PRÁCTICA 1

ANÁLISIS DE SUELOS. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD, pH, CONDUCTIVIDAD Y FÓSFORO EXTRAÍBLE.

Objetivos

Llevar a cabo la determinación cuantitativa por espectrometría UV-vis del contenido de fósforo extraíble de una muestra de suelo y la determinación de su pH y conductividad y humedad. Se utilizará un calibrado, con cinco puntos para cuantificar una muestra de contenido desconocido.

Introducción

La detección de altos valores de concentración de fosfatos que contrasten con su contexto y su comparación con información de áreas no afectadas, permite obtener un diagnóstico confiable para maximizar la eficiencia en la excavación de forma puntual y dirigida, lo que reduce los costos de trabajo arqueológico y recursos.

El uso del análisis de P en Arqueología tiene su origen en los primeros años del siglo XX y supone un buen ejemplo de adaptación de una técnica desarrollada en un campo científico diferente. El hecho de que la ocupación humana incrementara los niveles de P en el suelo de un yacimiento por encima de los niveles de la roca natural, fue en principio tomado como un resultado secundario en las investigaciones de agronomía.

Aunque el primero que aparentemente observó este fenómeno fue Hughes en 1911 trabajando en Egipto [1], el primer intento de aplicación sistemática del análisis de P fue llevado a cabo por el agrónomo sueco Olof Arrhenius [2] en 1926 trabajando en un campo de cultivo para evaluar la fertilidad de las tierras, se dio cuenta de la existencia de niveles de P demasiado altos. La causa del aumento de P en el suelo era que se encontraba sobre un asentamiento vikingo, en Ancylus y Litorina. El análisis de P puede utilizarse también para diferenciar asentamiento con economías diferentes o de la edad del hierro, donde los desechos se concentran en lugares concretos de asentamiento agrícolas modernos en las cuales los desechos se distribuyen en una área más amplia (Woods 1975). Por otra parte la determinación de P ha permitido determinar el incremento de la intensidad de la ocupación y el crecimiento de la población en el perfil estratigráfico del tell de Sitagroi (NE Grecia) [3] y sugerir un abandono del lugar en dos momentos muy concretos (fases III y IV y fases Va y Vb).

Aunque el estudio del contenido, uso y función de los recipientes cerámicos a través del análisis de P es más discutido, es posible determinar si los recipientes han sido utilizados para almacenar o para cocinar alimentos y que tipo de alimento se trata.

PARTE EXPERIMENTAL

Aparatos y material

- pH-metro
- Conductímetro
- Agitador mecánico
- Centrífuga
- Botes de plástico de tapa azul
- Estufa de secado a $100\pm 5^{\circ}\text{C}$.
- Tubos centrífuga

Reactivos

- Solución de KCl 0,01 M para calibrar el conductímetro. Disolver 0,7456 g KCl en 100ml de agua desionizada y diluir hasta 1 litro
- Soluciones patrón de pH para calibrar el pH-metro

Muestras: Muestra de suelo

DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD.

Pesar en balanza analítica tres cápsulas cerámicas pequeñas, previamente identificadas y secas. Pesar en cada una de ellas aproximadamente 1 g de suelo con precisión de 0.1 mg. Introducir en estufa a $100\pm 5^{\circ}\text{C}$ durante un mínimo de 2 h. Dejar enfriar en desecador (mínimo 20 min.) y pesar.

RESULTADOS: Expresar el contenido de humedad en %. Emplear este dato para expresar los contenidos de fósforo y potasio extraíbles sobre materia seca.

DETERMINACIÓN DE pH Y CONDUCTIVIDAD

El pH y la conductividad de un extracto acuoso de un suelo dependen del número de iones disueltos y de la temperatura. Ambos parámetros se utilizan para clasificar los suelos.

Preparación de la disolución de la muestra

Pesar 10 g de suelo en un frasco de tapa azul y añadir 25 ml de agua Milli-Q. Agitar 10 minutos en un agitador mecánico y dejar reposar durante 30 minutos (hacer tres réplicas)

Procedimiento

pH: Agitar la suspensión antes de medir el pH, pero no durante la medida

Conductividad: medir la **conductividad a 20° C**, en el mismo extracto acuoso que se ha preparado para la determinación del pH, una vez filtrado o centrifugado (4000 rpm, t=20 minutos)

Observaciones:

- Tener calibrado tanto el pHmetro como el conductímetro con soluciones patrón de pH y de KCl 0,01M, respectivamente, a la temperatura de la medida
- Cuando no se obtenga una suspensión fluida (caso de suelos con un alto contenido orgánico) se debe medir el pH unas 2 horas después de haber preparado la muestra

Concentración de KCl patrón (M)	Conductividad en $\mu\text{S/cm}$
10^{-4}	13,4
$5 \cdot 10^{-4}$	66,5
10^{-3}	132
$5 \cdot 10^{-3}$	645
10^{-2}	1271
$5 \cdot 10^{-2}$	2488
10^{-1}	5996

RESULTADOS

pH: Expresar los resultados como unidades de pH en la suspensión suelo/agua 1/2,5 y a la temperatura a la que se realizó la medida

Conductividad: Expresar los resultados en $\mu\text{S/cm}$ a 20° C

DETERMINACIÓN DE FÓSFORO SOLUBLE EN BICARBONATO SÓDICO

INTRODUCCIÓN

En medio ácido y en presencia de molibdato amónico, los ortofosfatos forman ácido fosfomolibdico. El ácido fosfomolibdico en presencia de un agente reductor adecuado se reduce a azul de molibdeno, producto fuertemente coloreado de composición muy poco definida en el cual el estado de oxidación del molibdeno está entre 5 y 6. Con el agente reductor, en condiciones apropiadas, sólo se reduce el molibdeno combinado con el fósforo, mientras que el exceso de ácido molibdico libre no se ve afectado.

En esta práctica se utiliza como reductor ácido ascórbico. El desarrollo de la coloración se acelera utilizando como catalizador, tartrato doble de antimonio y potasio. La determinación se lleva a cabo mediante medida espectrofotométrica a 882 nm..

PARTE EXPERIMENTAL

Aparatos y material

- Agitador mecánico
- pHmetro
- Embudo de vidrio cónico
- Papel de filtro Whatman nº 40
- Espectrofotómetro capaz de efectuar lecturas a 882 nm
- Cubeta de vidrio
- Botes azules (1 por muestra analizada)
- Matraces aforados de 25 mL (1 por muestra analizada y 7 para calibrado)
- Pipeta de 5 mL y Micropipeta de volumen variable (100-1000 µL)

Reactivos

- Bicarbonato sódico
- Ácido sulfúrico
- Hidróxido sódico
- Molibdato amónico
- Tartrato de antimonio y potasio
- Ácido ascórbico
- Fosfato diácido de potasio
- Muestra de suelo

Disoluciones

- Disolución de NaHCO₃ 0.5 M.- pesar 42 g de sal, disolver en agua, ajustar el pH a 8,5 con NaOH 1M y enrasar hasta 1 L con agua destilada
- Disolución de NaOH 1 M.- pesar 20 g de hidróxido sódico, disolver en agua y diluir hasta 500 mL con agua destilada
- Disolución de sulfúrico 1.5 M.- en un vaso de precipitados de 1 L añadir agua destilada y 83 mL de H₂SO₄ concentrado, dejar enfriar y llevar hasta 1 L con agua destilada
- Reactivo I.- disolver 6 g de molibdato amónico en unos 100 mL de agua. Disolver 0.1454 g de tartrato de antimonio y potasio en 50 mL de agua. Mezclar estas dos disoluciones con 500 mL de H₂SO₄ 2.5 M y enrasar a 1 L con agua destilada. Guardar en botella color topacio y en un lugar frío.
- Reactivo II.- Disolver 0,528 g de ácido ascórbico en 100 mL del reactivo I y mezclar. Este reactivo debe prepararse antes de usarlo con una antelación inferior a 24 horas.
- Disolución patrón de fósforo de 1000 mg/l.- Pesar 4.393 g de KH₂PO₄ y disolver en unos 500 mL de agua destilada, añadir cinco gotas de tolueno para disminuir la actividad microbiana y diluir a 1 litro con agua destilada.
- Disolución de trabajo de fósforo de 25 mg/l preparada por dilución de la disolución patrón de 1000 mg/l (preparar 10 mL)

Preparación de la disolución de la muestra

Pesar por triplicado alrededor de 2.5 g (con 4 cifras significativas) de muestra de suelo en un bote de plástico de tapa azul y añadir 50 mL de NaHCO₃ 0.5 M. Agitar durante 30 minutos en un agitador mecánico. Filtrar la suspensión a través de un papel de filtro, agitando el recipiente inmediatamente antes de verter la suspensión en el embudo con papel de filtro (la disolución debe quedar transparente, si no fuese así volver a filtrar o pasar la suspensión a través de un filtro de nylon).

Tomar entre 3 y 5 mL del extracto (dependiendo del contenido en fósforo) en un vaso de precipitados, añadir un poco de agua y ajustar el pH alrededor de 5 con H₂SO₄ 1.5 M. Transvasar cuantitativamente a un matraz aforado de 25 mL, añadir 4 mL de reactivo II y enrasar con agua destilada.

Medir la absorbancia a 882 nm transcurridos **20** minutos e interpolar en la curva de calibrado.

Obtención de la recta de calibrado

Añadir a matraces de 25 mL distintas alícuotas de la disolución de trabajo de fósforo para obtener disoluciones que contengan entre 0.1 y 0,5 mg/L de fósforo. A continuación añadir a cada matraz 4 mL del reactivo II y enrasar con agua destilada. Preparar un blanco con los reactivos.

Medir la absorbancia de las disoluciones transcurridos **20** minutos a una longitud de onda de 882 nm.

Observaciones

Se requiere una limpieza cuidadosa del material utilizando detergente que no contenga fosfato.

Sí el extracto del suelo es coloreado hay que corregir el valor obtenido restándole la absorbancia del suelo a la longitud de onda de medida (se realiza igual que con la muestra pero sustituyendo el reactivo II por el reactivo I)

RESULTADOS

- Calcular el contenido de fósforo en el suelo, expresado en mg/kg sobre materia seca, así como su intervalo de confianza
- Proponer un método para determinar fósforo basado en absorción atómica

[1] P. Bethell and I. Máté. The use of soil phosphate analysis in archaeology: a critique, J. Henderson (ed), Scientific analysis in Archaeology. Oxford University Committee for Archaeology and UCLA Institute for Archaeology. Los Angeles 1-29 (1989).

[2] Olof Arrhenius. Investigation of soil from old indian sites, Ethnos 28 (2-4). 122-136- (1963)

[3] D.A. Davidson. The particle size and phosphate analysis evidence for the evolution of a tell. Archaeometry. 15 (1), 143-152 (1973).