

***Determinación de  $Zn^{2+}$  en cerveza mediante el espectrofotómetro de absorción atómica.***



## Objetivos:

- Determinar el contenido de  $Zn^{2+}$  en una muestra de cerveza.
- Realizar una disolución madre de zinc de concentración conocida.
- Realizar una disolución hija de zinc a partir de la disolución madre.
- Realizar una serie de patrones a partir de la disolución hija.
- Aprender a usar el espectrofotómetro de absorción atómica usando un método diferente.
- Poner en práctica los cálculos aprendidos en clase para hacer las disoluciones necesarias.
- Aplicar los conocimientos necesarios para hacer una recta de calibrado y determinar el contenido de  $Zn^{2+}$  teniendo en cuenta que es una calibración del tipo adición estándar.
- Familiarizarse con las técnicas y cálculos necesarios para la determinación de concentraciones de muestras problema.
- Comparar el resultado del zinc en cerveza con el resto de resultados de los diferentes grupos de trabajo

## Materiales y Reactivos:

Materiales	Reactivos
-Un matraz aforado de 500 mL -4 matraces aforados de 100 mL -5 matraces aforados de 50 mL -Espectrofotómetro de absorción atómica -Frasco lavador -Ultra sonido -Pipeta Pasteur -Micropipeta -Tubos de ensayo -Vasos de precipitado -Balanza analítica -Espátula -Tapones para las disoluciones -Rotulador para marcar -Ordenador para hacer la gráfica con el programa Excel -Soporte, aro, embudo y papel de filtro para filtrar la cerveza desgasificada	-Agua destilada -Cerveza - $ZnSO_4 \times 7 H_2O$

### **Procedimiento Realizado:**

Primero se tiene que desgasificar la cerveza, para ello la metemos en vasos de precipitado (que deben estar completamente limpios) y los ponemos dentro del ultrasonido, para que se pueda quitar todo el gas. Acto seguido se filtra usando para ello el soporte, aro, embudo y papel de filtro.

Para hacer las disoluciones y los patrones se debe limpiar muy bien todo el material antes de empezar para evitar problemas en el resultado.

Se prepara una disolución madre de 100 ppm de  $Zn^{2+}$  en un matraz de 500 mL, para ello, se pesa una cantidad concreta que se habrá calculado anteriormente de un bote de  $ZnSO_4 \times 7 H_2O$  puro en la balanza analítica, se disuelve en agua destilada, se enrasa con agua destilada en el matraz, ayudándose del frasco lavador y una pipeta Pasteur y se homogeniza. Si no se pesa exactamente lo que se ha calculado, se tendrá que recalcular la concentración real.

Después se tienen que preparar cuatro disoluciones hijas de 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm y 40 ppm de  $Zn^{2+}$  en matraces de 100 mL, para ello se tiene que calcular que volumen coger de la disolución madre para cada una, para poner los volúmenes usamos una micropipeta de 5 mL, se enrasa con agua destilada y se homogeniza.

Por último, se tienen que preparar 5 patrones de 0 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm y 0,8 ppm de  $Zn^{2+}$  en matraces de 50 mL. Para hacerlos, se debe tomar 1 mL de la disolución hija de 10 ppm para hacer el patrón de 0,2 ppm, la de 20 ppm para hacer el de 0,4 ppm, la de 30 ppm para hacer el de 0,6 ppm y la de 40 ppm para hacer el de 0,8 ppm. Para el de 0 ppm, se cogerá 1 mL de agua destilada. Todos los patrones se enrasan con cerveza y se homogenizan agitándolos.

A continuación se realizará una medición de cada patrón en el espectrofotómetro de absorción atómica, debido a que se rompió el capilar, se usarán tubos de ensayo en lugar de vasos de precipitado para medir.

Una vez se obtienen las absorbancias de todos los patrones, se hace una recta de calibrado y se calcula la concentración de  $Zn^{2+}$  que había en la muestra.

### **Cálculos**

Tenemos que hacer una disolución madre de 100 ppm de  $Zn^{2+}$  en 500 mL, para ello calculamos que cantidad se debe pesar de  $ZnSO_4 \times 7 H_2O$ .

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}} ; \text{mg} = \text{ppm} \times \text{L} ; \text{mg} = 100 \times 0,5 = 50 \text{ mg}$$

Se pasan los mg a g.

$$50 \text{ mg} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} = 0,05 \text{ g Zn}^{2+}$$

Esos gramos son de  $\text{Zn}^{2+}$ , pero tenemos que pesar del compuesto entero, por lo que usamos un factor gravimétrico que relacione la masa y los pesos moleculares.

$$Pm \text{ ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O} = 287,54 \text{ g/mol}$$

$$Pm \text{ Zn}^{2+} = 65,38 \text{ g/mol}$$

$$\text{Masa ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O} = \text{masa Zn}^{2+} \times \frac{Pm \text{ ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}}{Pm \text{ Zn}^{2+}}$$

$$\text{Masa ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O} = 0,05 \text{ g Zn}^{2+} \times \frac{Pm 287,54 \text{ g/mol}}{Pm 65,38 \text{ g/mol}} = 0,2199 \text{ g ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$$

$$\text{Nuestra pesada} = 0,2205 \text{ g ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$$

Al ser puro no se le aplica la riqueza.

Para calcular la concentración real de la disolución madre, hacemos todos estos cálculos al contrario.

$$\text{Masa Zn}^{2+} = \text{masa ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O} \times \frac{Pm \text{ Zn}^{2+}}{Pm \text{ ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}}$$

$$\text{Masa Zn}^{2+} = 0,2205 \text{ g ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O} \times \frac{Pm 65,38 \text{ g/mol}}{Pm 287,54 \text{ g/mol}} = 0,0501 \text{ g Zn}^{2+}$$

Pasamos g a mg.

$$0,0501 \text{ g} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 50,14 \text{ mg Zn}^{2+}$$

Sacamos los ppm reales.

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}} ; \text{ppm} = \frac{50,14}{0,5} = 100,26 \text{ ppm}$$

Al ser una práctica por adición estándar, haremos una serie de disoluciones hijas que enrasaremos con agua destilada y de ellas saldrán unos patrones que se enrasarán con la muestra, cerveza.

En total haremos 5 disoluciones en matraces de 100 mL con las siguientes concentraciones: 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm y 40 ppm.

Estas disoluciones salen directamente de la disolución madre, por lo que los cálculos serían los siguientes:

Para la disolución de 0 ppm, se enrasaría todo con agua destilada

Para la disolución de 10 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}}{100,26 \text{ ppm}} = 9,97 \text{ mL} \approx 10 \text{ mL}$$

Para la concentración de 20 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{20 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}}{100,26 \text{ ppm}} = 19,95 \text{ mL} \approx 20 \text{ mL}$$

Para la concentración de 30 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{30 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}}{100,26 \text{ ppm}} = 29,92 \text{ mL} \approx 30 \text{ mL}$$

Para la concentración de 40 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{40 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}}{100,26 \text{ ppm}} = 39,89 \text{ mL} \approx 40 \text{ mL}$$

Calculamos las concentraciones reales:

Para la concentración de 10 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

$$C_2 = \frac{100,26 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 10,026 \text{ ppm Zn}^{2+}$$

Para la concentración de 20 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

$$C_2 = \frac{100,26 \text{ ppm} \times 20 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 20,052 \text{ ppm Zn}^{2+}$$

Para la concentración de 30 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

$$C_2 = \frac{100,26 \text{ ppm} \times 30 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 30,078 \text{ ppm Zn}^{2+}$$

Para la concentración de 40 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

$$C_2 = \frac{100,26 \text{ ppm} \times 40 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 40,104 \text{ ppm Zn}^{2+}$$

De cada una de ellas sale un patrón de 50 mL al que le pondremos 1 mL de su correspondiente disolución hija y el resto será cerveza, calcularemos las concentraciones reales de los patrones:

El patrón que lleve 1 mL de la disolución de 0 ppm tendrá 0 ppm.

Para el patrón que lleve 1 mL de la disolución de 10, 026 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

$$C_2 = \frac{10,026 \text{ ppm} \times 1 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} = 0,2005 \text{ ppm Zn}^{2+}$$

Para el patrón que lleve 1 mL de la disolución de 20, 052 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

$$C_2 = \frac{20,052 \text{ ppm} \times 1 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} = 0,4010 \text{ ppm Zn}^{2+}$$

Para el patrón que lleve 1 mL de la disolución de 30,078 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

$$C_2 = \frac{30,078 \text{ ppm} \times 1 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} = 0,6016 \text{ ppm Zn}^{2+}$$

Para el patrón que lleve 1 mL de la disolución de 40,104 ppm:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

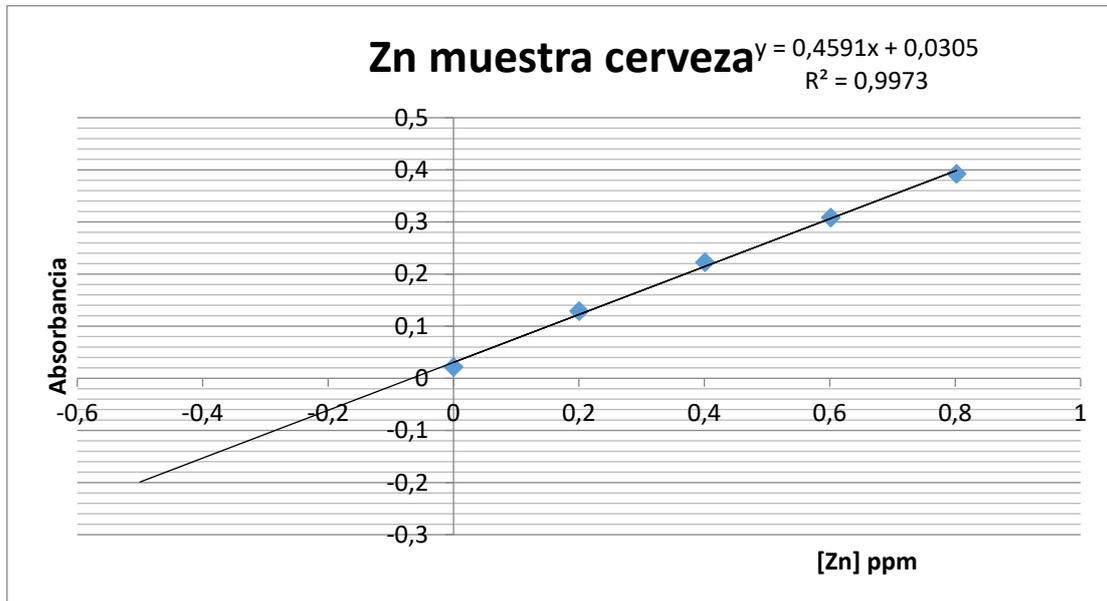
$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

$$C_2 = \frac{40,104 \text{ ppm} \times 1 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} = 0,8021 \text{ ppm Zn}^{2+}$$

Medimos estos patrones en el espectrofotómetro de absorción atómica y obtenemos la siguiente tabla:

Concentración	Absorbancia
0 ppm	0,0216
10,026 ppm	0,1287
20,052 ppm	0,2226
30,078 ppm	0,3083
40,104 ppm	0,3921

Con esos resultados hacemos una gráfica que refleje la concentración de  $Zn^{2+}$  frente a la absorbancia.



$$r = 0,9986$$

Par finalizar, debemos sacar que concentración de  $Zn^{2+}$  tenemos, para ello, al ser una calibración de adición estándar, debemos sacar la recta de calibrado e igualar está a 0, nos saldrá un resultado con signo negativo, solo tendremos que cambiarle el signo.

$$y = a + bx$$

$$y = 0,0305 + 0,4591x$$

$$y = 0 ; 0 = 0,0305 + 0,4591x$$

$$x = \frac{-0,0305}{0,4591} = -0,0664 \rightarrow 0,0664 \text{ ppm } Zn^{2+}$$

Deshacemos diluciones.

$$0,0664 \text{ ppm} \times \frac{50}{49} = 0,0678 \approx 0,068 \text{ ppm } Zn^{2+}$$

## Conclusiones y observaciones

Se pusieron en común todos los resultados de los diferentes grupos de la clase, por lo que quedó la siguiente tabla:

Grupo	Muestra (ppm)
1	0,068
2	0,057
3	0,067
4	0,057

Calcularé la Q de Dixon para el valor más bajo, ya que es el que más se aleja del resto.

$$Q_t = 0,831$$

$$Q = \left| \frac{V_{sospechoso} - V_{cercano}}{V_{mayor} - V_{menos}} \right|; Q = \left| \frac{0,057 - 0,067}{0,068 - 0,057} \right| = Q_{exp} = 0,9091$$

$Q_{exp} > Q_t$  por lo que sí se rechaza

Haré el límite de confianza con los datos de clase y luego calcularé el error relativo para comprobar cuanto se ha alejado mi resultado del dato "real", como dato real tomaré la media de los datos de la clase. Para la media de la clase no tendré en cuenta el resultado de los grupos 2 y 4 ya que la Q de Dixon hace que los rechace.

$$\text{Media} = \frac{\sum \text{datos}}{\text{número de datos}} = 0,0675 \text{ ppm Zn}^{2+}$$

Para calcular el límite de confianza necesitamos calcular la desviación estándar cuya fórmula es la siguiente:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x_{media})^2}{N-1}}$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x_{media})^2}{N-1}} = 7,07 \times 10^{-4}$$

Por último, sustituimos en la fórmula:

$$t_{n-1} = 12,706$$

$$\text{Límite de confianza} = \bar{X} \pm \frac{t_{n-1} \times S}{\sqrt{N}}$$

$$\text{Límite de confianza} = 0,0675 \pm \frac{12,706 \times 7,07 \times 10^{-4}}{\sqrt{2}}$$

$$\text{Límite de confianza} = 0,0675 \pm 6,35 \times 10^{-3} \text{ ppm}$$

A continuación, calcularemos el error relativo:

$$\text{Er (\%)} = \frac{|\text{Valor medio} - \text{Mi valor}|}{\text{Valor medio}} \times 100$$

$$\text{Er (\%)} = \frac{|0,0675 - 0,068|}{0,0675} \times 100 = 0,74\% \text{ (por exceso)}$$

El error cometido es aceptable debido a lo bajo que es, ya que entra en los parámetros permitidos (1%).

Los errores que han podido ocasionar este error por exceso han podido ser los siguientes:

Del espectrofotómetro que últimamente nos da bastantes problemas debido a su desgaste por el uso.

También hemos podido cometer errores de operador, ya que un mal enrase o un mal uso de las pipetas han podido ocasionar errores a la hora de medir.

En mi grupo usamos la micropipeta cuando necesitamos volúmenes no muy altos de disolución, si se ha usado de forma incorrecta o si se ha puesto mal la cantidad a tomar, también hemos podido ocasionar errores que nos afectarían más tarde al resultado final.

Además, tuvimos problemas al enrasar por la espuma de la cerveza, esto también ha podido alterar el resultado si al no ver bien la línea de enrase nos hemos pasado con el enrase.

En esta práctica se ha determinado la cantidad de **zinc** presente en una muestra cerveza, mediante el método de adiciones estándar por espectrofotometría de absorción atómica (EAA), empleando una llama de aire/ acetileno.

Para poder determinar la concentración de zinc de la muestra de cerveza se tiene que elaborar una recta de calibrado, a partir de disoluciones patrón con concentraciones crecientes del analito que se quiere analizar, en este caso se realizó unas disoluciones patrón primarias de Zn de 10, 20, 30, 40 ppm en 100 mL

a partir de una disolución madre de  $Zn^{+2}$  de 100 ppm, las cuáles se utilizaron para la realización de unas disoluciones patrón secundarias de menor concentración para medir en el EEA, siendo éstas de 0,2, 0,4, 0,6 y 0,8 ppm de Zn aproximadamente, ya que la concentración de Zn en cerveza generalmente es muy pequeña, y poder así además minimizar los errores en la preparación de dichos patrones. Para la medida de los patrones se calibra el aparato con un blanco (agua destilada) y posteriormente se mide la muestra (1 mL de agua destilada + 49 mL de cerveza), seguida del resto de los patrones ya que el método utilizado es por adiciones estándar.

Previo al enrase de los patrones, la cerveza debe desgasificarse en el aparato de ultrasonidos para eliminar posibles interferencias de carbonatos, enrasando posteriormente con cuidado para evitar la formación de espuma y cometer menor error en la concentración a la hora del enrase.

Una vez medidas las absorbancias de los patrones y de la muestra, se realiza la recta de calibrado correspondiente observándose la linealidad de dicha recta.

Tras comprobar la recta, calculamos la concentración de zinc en el matraz muestra (1 mL de agua destilada + 49 mL de cerveza), para ello debemos extrapolar al eje de abscisas la recta obtenida y de este modo obtenemos la concentración de la muestra, igualando  $Y=0$ , y obteniendo así el valor de  $X$ , que equivale a la concentración de zinc en el matraz muestra de 50 mL, que tras realizar los cálculos necesarios para deshacer la disolución, se obtuvo una que la concentración de zinc en la botella de cerveza de 0,068 ppm de  $Zn^{+2}$ .

Por último, se compartieron los datos con todos los grupos del laboratorio para poder así comparar los resultados determinando el error relativo propio con la media del laboratorio. El error relativo para la concentración de zinc en cerveza obtenido es del 0,74 % por exceso.

Además del error relativo, con los datos de los grupos de laboratorio se realizó un intervalo de confianza del 95%, para conocer el valor en el que la concentración de Zn de la muestra estaría el 95% de los casos, siendo el intervalo comprendido entre 0,052 – 0,072 ppm de  $Zn^{+2}$ .

Se puede concluir en vista a los resultados que la cerveza analizada según el parámetro de zinc es apta para su consumo, siendo el límite máximo tolerable establecido de 1 ppm por cada 100 mL de cerveza.

Como nuestro resultado ha sido 0,068 ppm, está dentro del límite permitido.

*El zinc normalmente es obtenido de la malta de cebada y suplementos, necesario para aumentar la tasa de fermentación en la elaboración de la cerveza y por ello*

*la concentración de zinc adecuada es de 0,3 ppm pero que por encima de 1 ppm podría producir la inactividad de la levadura y no producirse la fermentación.*

**Normas de seguridad:**

- Siempre debemos trabajar con bata abrochada.
- En caso de tener pelo largo, recogerlo para evitar accidentes.
- Llevar siempre zapatos cerrados y pantalones largos.
- Debemos tener cuidado con el uso del espectrofotómetro ya que podemos tener graves accidentes con él si no lo limpiamos o usamos con un debido y apropiado cuidado.