

ESTUDIO ESPECTROFOTOMETRICO
DE DIACETILMONOTIOSEMICARBAZONA.
APLICACION A LA DETERMINACION DE DIACETILO

M.^a R. FÁTIMA OLEA y R. GARCÍA-VILLANOVA

RESUMEN

Se ha realizado un estudio espectrofotométrico de la reacción de diacetilo con tiosemicarbácida. La Ley de Beer se cumple para concentraciones de diacetilo comprendidas entre 170 y 680 μg . Se ha determinado el coeficiente de extinción de diacetilmonotiosemicarbazona y los valores encontrados son $E_{305} = 8950 \text{ Ml}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a $\text{pH} = 2$ y $E_{350} = 6800 \text{ Ml}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a $\text{pH} = 12$.

Se confirma la posibilidad de determinación de diacetilo por el método espectrofotométrico ensayado.

SUMMARY

A spectrophotometric study of the reaction of 2-3 butanedione and thiosemicarbamide has been realized. Beer's law is obeyed for the range 170-680 μg of butadione. The extinction coefficient of diacetylmonothiosemicarbazone has been determined. The values found are: $\lambda_{\text{max}} = 305 \text{ nm}$, $\epsilon = 8950 \text{ Ml}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ to $\text{pH} = 2$ and $\lambda_{\text{max}} = 350 \text{ nm}$, $\epsilon = 6800 \text{ Ml}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ to $\text{pH} = 12$.

The possibility of determination of 2-3 butanedione by this method has been confirmed.

RESUME

On étudie par spectrophotométrie la réaction de la 2,3-butanedione avec la thiosemicarbazide. La loi de Beer est suivie pour concentrations de 2,3-butanedione comprises entre 170 et 680 μg . On a déterminé le coefficient d'extinction de la diacetylthiosemicarbazone, et les valeurs trouvés sont $E_{305} = 8950 \text{ Ml}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ à $\text{pH} = 2$ et $E_{350} = 6800 \text{ Ml}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a $\text{pH} = 12$.

On a constaté la possibilité de détermination de la 2,3-butanedione par celle-ci methode spectrophotométrique.

INTRODUCCION

La determinación de diacetilo ha sido motivo de interés por parte de los investigadores ya que se trata de un producto frecuente en los alimentos y condimentos a causa de fermentaciones, como ocurre en la fermentación alcohólica a partir del acetaldehído, que da origen por condensación acetoinica a acetoina, que puede pasar a 2-3butilenglicol y por fermentación acética a diacetilo.

Asimismo, se puede formar —como en la mantequilla, durante el proceso de maduración— a partir de ácido cítrico que pasa a acético, pirúvico, acetoláctico y finalmente a diacetilo.

El método de determinación de diacetilo basado en la formación de dimetilglioxima y su reacción posterior con Ni (II) modificado por García Olmedo (1), Masayo (2), Zalasko y col. (3) y otros, exige concentraciones de diacetilo relativamente altas en los alimentos o bien, obliga partir de grandes cantidades de muestra.

La determinación cromatográfica es seguida por Cesari y col. (4), así como Spaeth y col. (5) y otros. Técnicas espectrofotométricas previo tratamiento del diacetilo con hidroxilamina han sido estudiados por Pekur y col. (6), Dianicic (7) y Stekn (8) y col. entre otros.

Nosotros proponemos un método espectrofotométrico para la determinación de diacetilo basado en su reacción con tiosemicarbacida y cuyo estudio previo comenzamos con esta primera comunicación.

PARTE EXPERIMENTAL

Material

Espectrofotómetro UV, Hitachi Perkin-Elmer, mod. 124 y registro gráfico mod. 165.

Potenciómetro Radiometer, pH-Meter-26.

Reactivos

Diacetilo, Merck.

Tiosemicarbacida, Merck.

Los demás reactivos empleados son de pureza analítica.

Disoluciones empleadas

Disolución alcohólica de diacetilo 10^{-2} M.—0,86 g de diacetilo se disuelven en alcohol de 96°, enrasando finalmente a 1 litro en matraz aforado.

Disolución de diacetilo 10^{-3} M.—A partir de la disolución anterior se toman 10 ml y se diluyen con alcohol de 96° hasta 100 ml.

Disolución de tiosemicarbacida 10^{-2} M.—Se pesan 0,91 g de tiosemicarbacida y se disuelven en agua destilada con ayuda de unas gotas de ClH. A continuación se lleva a un volumen final de 1.000 ml.

Disolución de tiosemicarbacida 10^{-3} M.—De la disolución anterior se toman 10 ml se completan hasta 100 ml con agua destilada.

Formación de la diacetilmonotiosemicarbacida (mDT)

La técnica seguida por Martínez (9) nos ha servido de orientación. Se parte para ello de 2 ml de diacetilo 10^{-3} M en disolución alcohólica, 4 ml de tiosemicarbacida 10^{-3} M en disolución acuosa acidulada con unas gotas de disolución molar de HCl y se lleva a reflujo durante 20 minutos en baño maría. Transcurrido el tiempo, se enfría la disolución, se completa casi al volumen de 50 ml con disolución hidroalcohólica 1:1 en volumen, se ajusta a pH 2 con disolución de HCl y en matraz aforado se completa hasta el volumen de 50 ml.

La figura 1 representa el espectro de absorción de diacetilmonotiosemicarbazona.

Efecto del pH

Se ha podido conocer partiendo de disoluciones de diacetilmonotiosemicarbazona preparadas como se indica en el apartado anterior. En once matraces se ha dispuesto la experiencia desde pH 2 a 12, previa adición de disolución de HCl o de NaOH 6N. Al final se enrasó con alcohol-agua 1:1 en volumen hasta 50 ml.

Se ha podido observar un pequeño desplazamiento batocrómico del máximo de absorción a 305 nm entre pH 2 y 10. A pH 11 y 12 el desplazamiento es notable y el máximo de la banda se presenta a 350 nm.

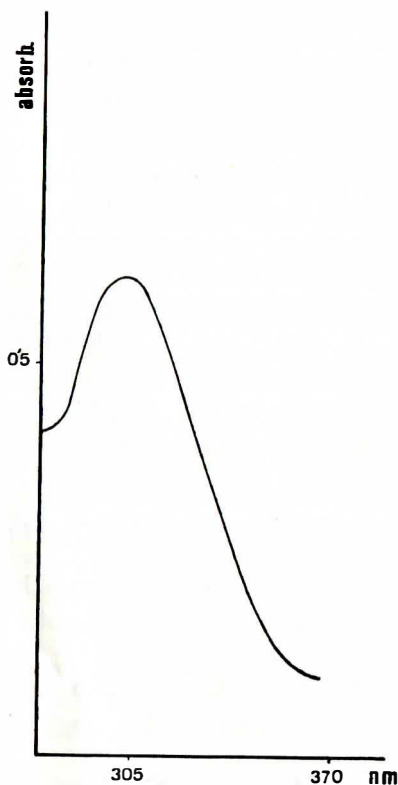


Fig. 1.—Espectro de absorción de diacetylmonotiossemicarbazona

Estabilidad de mDT con el tiempo

Disoluciones preparadas por la técnica indicada, se han preparado a partir de 7 ml de disolución de diacetyl 10^{-3} M y 14 de disolución de tiossemicarbazida de igual molaridad.

La absorbancia de la disolución de mDT fue medida desde 0 a 120 horas, a pH 2 y pH 12.

Tanto al luz como a la oscuridad se observa que a pH 2, la disolución es estable entre 1 y 4 horas descendiendo paulatinamente hasta las 120 horas cuya absorbancia pasa de 0,8 a 0,6 a la luz y de 0,8 a 0,7 en la oscuridad.

A pH 12 no hay estabilidad manifiesta y sólo un descenso irregular de 0 a 120 horas. La absorbancia pasa de 0,8 a 0,6 en la oscuridad y de 0,8 a 0,5 a la luz.

Cumplimiento de la Ley de Beer

Cantidades crecientes de disolución alcohólica de diacetilo 10^{-3} M se colocaron en sendos matraces redondos a los que se agregaron disolución acuosa de tiosemicarbácida 10^{-3} M y unas gotas de disolución de ácido clorhídrico N. Se mantuvieron en baño maría hirviente unos 20 minutos, transcurridos los cuales se trasvasó cuantitativamente el contenido a otros matraces aforados de 50 ml. Con disolución hidroalcohólica 1:1 se completó casi hasta el enrase. Ajustado el pH a 2 con disolución de HCl N se llevó finalmente al enrase con disolución hidroalcohólica.

La absorbancia fue medida a 305 nm.

Una experiencia idéntica a la anterior se realizó a pH 12 con la adición precisa de disolución de NaOH 6N y medida de la absorbancia a 350 nm.

En la Tabla I se exponen las cantidades empleadas de diacetilo y tiosemicarbácida, así como las absorbancias leídas a pH 2 y pH 12. Los datos citados en la Tabla corresponden a la media de 5 experiencias concordantes.

TABLA I

Ensayo N.º	Diacetilo 10^{-3} M ml	Tiosemi- carbácida 10^{-3} M ml	Absorbancia	
			pH 2, 305 nm	pH 12, 350 nm
1	1	2	0,16	0,21
2	2	4	0,34	0,36
3	3	6	0,59	0,48
4	4	8	0,76	0,59
5	5	10	0,96	0,78
6	6	12	1,12	0,87
7	7	14	1,26	1,08
8	8	16	1,43	1,20

Con los datos de esta Tabla se han construido las gráficas 2 y 3.

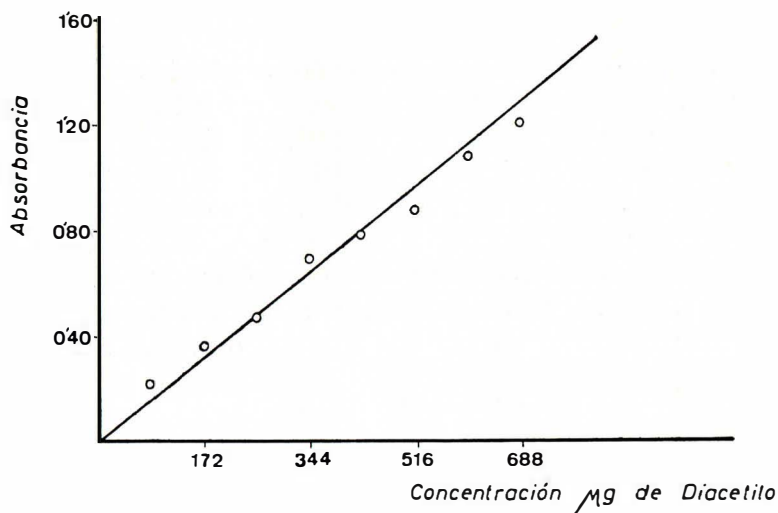


Fig. 2.—Relación entre la concentración de diacetilo y la absorbancia en disoluciones a pH 2.

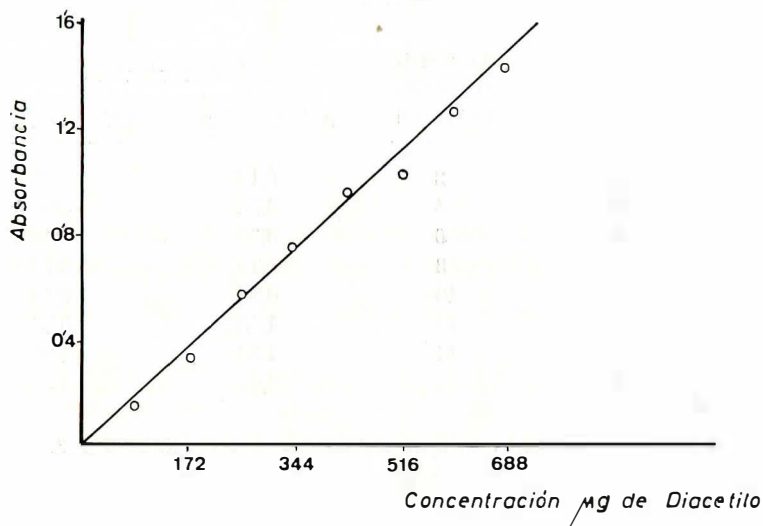


Fig. 3.—Relación entre la concentración de diacetilo y la absorbancia en disoluciones a pH 12.

Absortividad molar de mDT

Los valores de la absorbancia que han servido para la comprobación de la Ley de Beer han sido los empleados para la determinación del coeficiente de extinción de acuerdo con la expresión:

$$E = \frac{A}{b \cdot c}$$

En la Tabla II se exponen los datos que han servido para el cálculo:

TABLA II

Diacetilo M/l	Absorbancia	
	pH 12, 350 nm	pH 2, 305 nm
6.10 ⁻⁵	0,48	0,59
8.10 ⁻⁵	0,59	0,76
1.10 ⁻⁴	0,78	0,96
1,2.10 ⁻⁴	0,87	1,12

Absortividad molar pH 2: $E_{305} = 8950 \text{ MI}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

Absortividad molar pH 12: $E_{350} = 6800 \text{ MI}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

La formación de diacetilmonotiosemicarbazona (mDT) es siempre posible en medio clorhídrico siempre que existan concentraciones similares de diacetilo y tiosemicarbacida. El espectro de absorción presenta un máximo a 305 nm ya pH 2.

A pH 11 y 12 se origina un desplazamiento batocrómico de la banda de absorción y el máximo se desplaza a 350 nm.

En medio ácido (pH 2) son estables las disoluciones de mDT a la luz y a la oscuridad, permaneciendo inalteradas entre una y cuatro horas.

Se cumple con regularidad la Ley de Beer para concentraciones de diacetilo comprendidas entre $2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ y $1,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ a pH 2 y pH 12 y la absortividad molar a esos valores de pH resulta ser: $E_{305} = 8950 \text{ MI}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y $E_{350} = 6800 \text{ MI}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ respectivamente. Es posible la determinación de diacetilo entre concentraciones como las indicadas anteriormente.

BIBLIOGRAFIA

- (1) GARCÍA OLMEDO, R.: *Anal. Brom.*, 25, 121 (1973).
- (2) MASAYO, K.: *Rep. Res. Lab. Kirim. Brew. Co., Ltd.* N.º 9, 51 (1966).
- (3) ZALASKO, M.; MAKAR'INA, N.: *Moloch. Drom.*, 23, N.º 10, 42 (1962).
- (4) CESARI, A.; CUSMANO, A. N., y BONIFORTI, L.: *Boll. Lab. Chim. Prov.*, 15, 444 (1964).
- (5) SPAETH, G.; NIEFIND, H. J., y MARTINO, M.: *Schweiz Bran Rundsch.*, 82, 121 (1971).
- (6) PEKUR, Q. N.; BURYAN, N. I.: *Sadovod, Vinograd. Vinodel. Mold.*, 31 (1), 54 (1976).
- (7) DIANICIC, MIMALLO: *Jugosl. Vinograd. Vinar.*, 8 (5), 14 (1974).
- (8) STEKN, D. J.; GUADAGNI, D.; STEVENS, K. L.: *Am. J. Enol. Vitic.*, 26 (4), 208 (1975).
- (9) MARTÍNEZ MARTÍNEZ: *Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla* (1972).