

DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA, TOXICOLOGIA Y ANALISIS  
QUIMICO APLICADO

Prof. Dr. D. RAFAEL GARCIA VILLANOVA

“ESTUDIO ESPECTROFOTOMETRICO DE LA REACCION DE  
ACETOINA CON TIOSEMICARBACIDA”

M.<sup>a</sup> L. SANCHEZ, M.<sup>a</sup> R. FATIMA OLEA y R. GARCIA-VILLANOVA

RESUMEN

Se ha realizado un estudio espectrofotométrico de la reacción de acetoina y tiosemicarbacida previa oxidación de esta a diacético para dar diacetilditiosemicarbazona. La Ley de Beer se cumple para concentraciones de acetoina comprendidas entre  $1,76 \cdot 10^{-3}$  y  $5,28 \cdot 10^{-3}$  g/l. Se ha determinado el coeficiente de extinción de diacetilditiosemicarbazona y el valor encontrado resulta ser  $E_{323} = 18.500 \text{ M}^{-1} \text{ l cm}^{-1}$ . Se confirma la posibilidad de determinación de acetoina por el método espectrofotométrico ensayado.

SUMMARY

semicarbazone has been r  
 $1,76 \cdot 10^{-3}$  -  $5,28 \cdot 10^{-3}$  g/l of acetoin. The extinction coefficient of diacetyldithiosemicarbazone has been determined and the value found is

A spectrophotometric study of the reaction of acetoin and thiosemicarbacide, previous oxidation of acetoin to diacetyl to give diacetyldithio-  
 $\lambda_{\text{max}} = 323 \text{ nm}$ ,  $\xi = 18.500 \text{ M}^{-1} \text{ l cm}^{-1}$ . The possibility of determination of acetoin by this spectrophotometric method has been confirmed.

INTRODUCCION

La determinación de acetoina presenta interés, puesto que es un producto frecuente en los alimentos y condimentos a

causa de fermentaciones. Así ocurre en la fermentación alcohólica a partir del acetaldehído, que por condensación acetoinica origina acetoina.

De forma similar la formación de acetoina y diacetilo en la maduración de la mantequilla se realiza a partir del ácido cítrico.

Se han propuesto numerosos métodos para la determinación de la acetoina, basados en una oxidación previa para la obtención de diacetilo, formación de dimetilglioxima y su reacción posterior con Ni(II).

Una modificación del método anterior se basa en la determinación espectrofotométrica del complejo como hacen Peinaud y Lafout y que describe LECOQ (1). También este método, con determinadas modificaciones, se sigue por GARCIA OLMEDO y col. (2). Asimismo el complejo níquel dimetilglioxima ha servido para la determinación de diacetilo con técnicas modificadas por MASAYO (3), KIELKHOFER y col. (4). Un procedimiento automatizado describe BRANDON (5) para la determinación de diacetilo en cervezas.

Por inyección directa en cromatógrafo determinan la acetoina y diacetilo CESARI y col. (6), en muestras de vinagre comparando con disolución patrón de las citadas sustancias. SKIBINA y col. (7) hacen una determinación conjunta de acetoina, diacetilo y 2-3 butilenglicol por cromatografía gaseosa en sidras y otras bebidas fermentadas.

Por espectrofotometría y colorimetría MATTIONI (8) determina la acetoina y diacetilo en vinagres y cervezas por reacción con la creatina y el alcohol isopropílico.

En este trabajo se propone un método espectrofotométrico para la determinación de la acetoina basado en su oxidación a diacetilo y la reacción de éste con tiosemicarbácida.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Material*

Espectrofotómetro U.V., Hitachi Perkin Elmer, mod. 124 y registro gráfico mod. 165

Potenciómetro-Radiometer, pH-meter-26

## Reactivos

Acetoina, Merck  
Tiosemicarbácida, Merck (R.A.)  
A. sulfúrico, Merck (R.A.)  
Cloruro férrico, Merck (R.A.)  
Sulfato ferroso, Merck (R.A.)

## Disoluciones empleadas

Disolución de acetoina  $10^{-2}$  M.—0,88 g de acetoina se disuelven en alcohol de  $95^{\circ}$  hasta 1000 ml.

Disolución de acetoina  $10^{-3}$  M.—Se prepara a partir de la anterior y se emplea etanol de  $96^{\circ}$ .

Disolución de tiosemicarbácida  $10^{-2}$  M.—Se pesan 0,91 g de tiosemicarbácida y se disuelven en agua destilada con ayuda de unas gotas de ClH hasta 1000 ml.

Disolución de tiosemicarbácida  $10^{-3}$  M.—De la disolución anterior se toman 10 ml y se completa hasta 100 ml con agua destilada.

Disolución de  $\text{SO}_3\text{H}_2$  al 15% en volumen.—15 ml de  $\text{SO}_3\text{H}_2$  en agua destilada hasta 100 ml, se ayuda a la disolución con unas gotas de disolución de ácido sulfúrico.

Disolución de  $\text{Cl}_3\text{Fe}$  al 50%.—50 g de  $\text{Cl}_3\text{Fe}$  se disuelven en agua destilada hasta 100 ml.

Disolución de  $\text{SO}_4\text{Fe}$  al 30%.—30 g de  $\text{SO}_4\text{Fe}$  se disuelven hasta 100 ml con agua destilada.

## *Oxidación de la acetoina a diacetilo y formación de la diacetil-ditiosemicarbazona (dDT)*

El método empleado por GARCIA OLMEDO (2) para la oxidación de la acetoina se ha seguido en este caso.

Se parte de 1,5 ml de la disolución de acetoina  $10^{-3}$  M, 2 ml de disolución de  $\text{SO}_3\text{H}_2$  15%, 10 ml de disolución  $\text{Cl}_3\text{Fe}$ , 12 ml de disolución de  $\text{SO}_4\text{Fe}$  y 10 ml de agua destilada, se mantiene a reflujo en matraz de fondo redondo durante 20 minutos.

A continuación se destila recogiendo aproximadamente 4 ml sobre 10 de disolución de alcohol de  $96^{\circ}$  - agua destilada 1:1 v. Se agregan a este matraz 10 ml de disolución de tiosemi-

carbocida  $10^{-2}$  M y se mantiene a reflujo 30 minutos en baño maría. Después de enfriar se ajusta a pH 2 con disolución de ClH y en matraz aforado se completa hasta el volumen de 50 ml.

El espectro de absorción de dDT obtenido en las condiciones que anteriormente se indican está representado en la fig. 1.

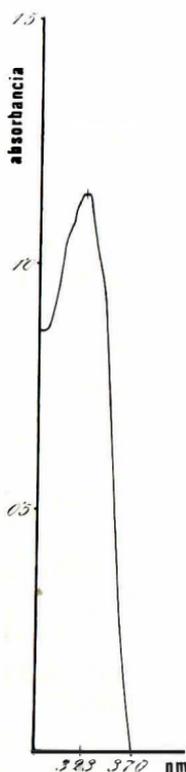


Figura 1.—Espectro de absorción de dDT

### *Efecto del tiempo en la formación de diacetilditiosemicarbazona*

A disoluciones de dDT preparadas según la parte anterior se ha medido la absorbancia a 323 nm entre 0 y 20 horas.

La figura 2 representa la absorbancia.

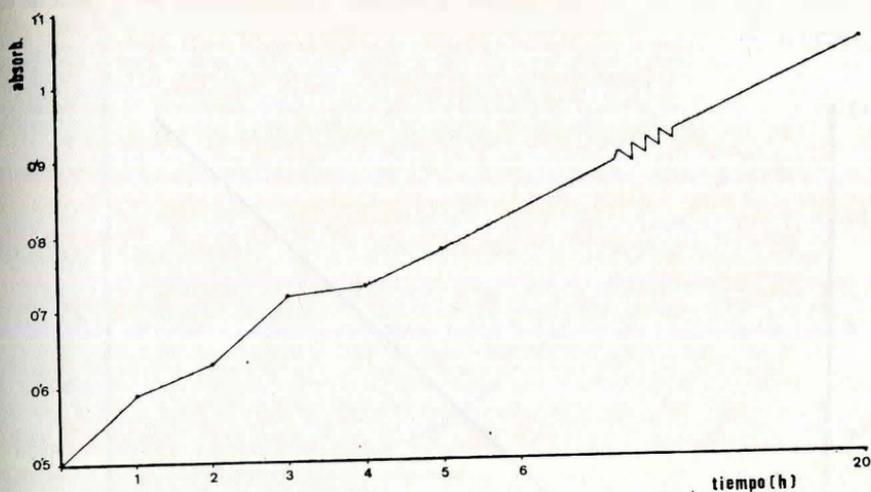


Figura 2.—Efecto del tiempo en la formación de dDT

### *Cumplimiento de la Ley de Beer*

Se han empleado cantidades crecientes de disolución alcohólica de acetoina  $10^{-3}$  M y siguiendo la técnica ya indicada, se ha medido la absorbancia a 323 nm.

En la Tabla I se expresan los resultados operando en la forma ya expuesta. En todos los casos se han empleado 10 ml de disolución de tiosemicarbácida  $10^{-3}$  M.

Las cifras encontradas corresponden a la media de 5 experiencias concordantes.

TABLA I

Acetoina $10^{-3}$ M ml	Concentración de acetoina M/l	Absorbancia 323 nm
1	$2 \cdot 10^{-5}$	0,45
1,5	$3 \cdot 10^{-5}$	0,59
2	$4 \cdot 10^{-5}$	0,79
2,5	$5 \cdot 10^{-5}$	0,95
3	$6 \cdot 10^{-5}$	1,13

Con los datos de la Tabla I se ha construido la gráfica de la figura 3.

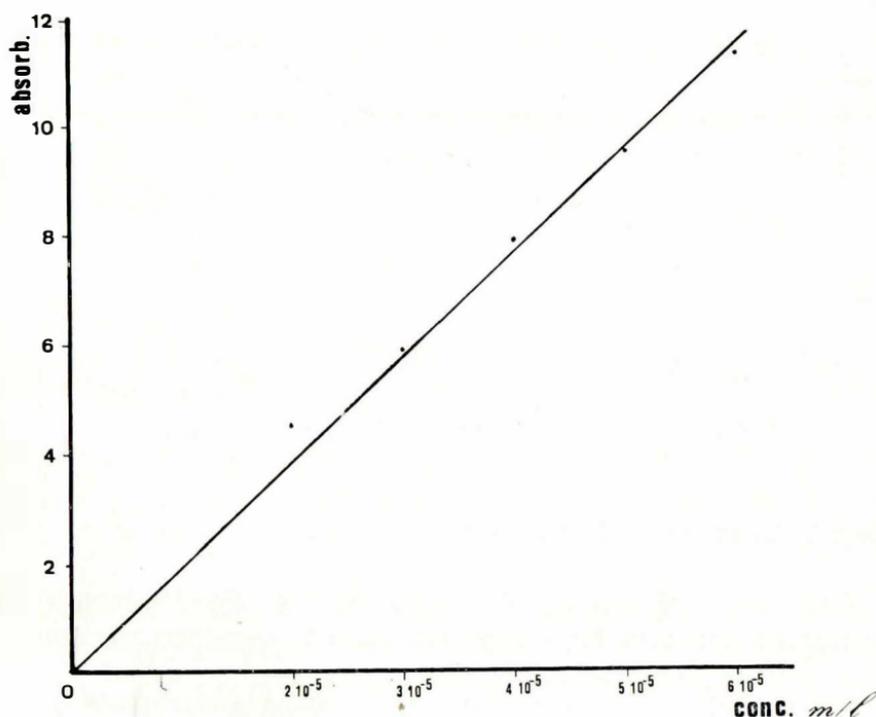


Figura 3.—Relación entre la concentración de acetoina y la absorbancia

### *Intervalo de aplicación de la Ley de Beer. Representación de Ringbom*

Con los datos de la Tabla I se ha construido la curva de Ringbom que se expone en la figura 4, con el fin de conocer el intervalo óptimo de aplicación de la Ley de Beer y determinar el error fotométrico mínimo.

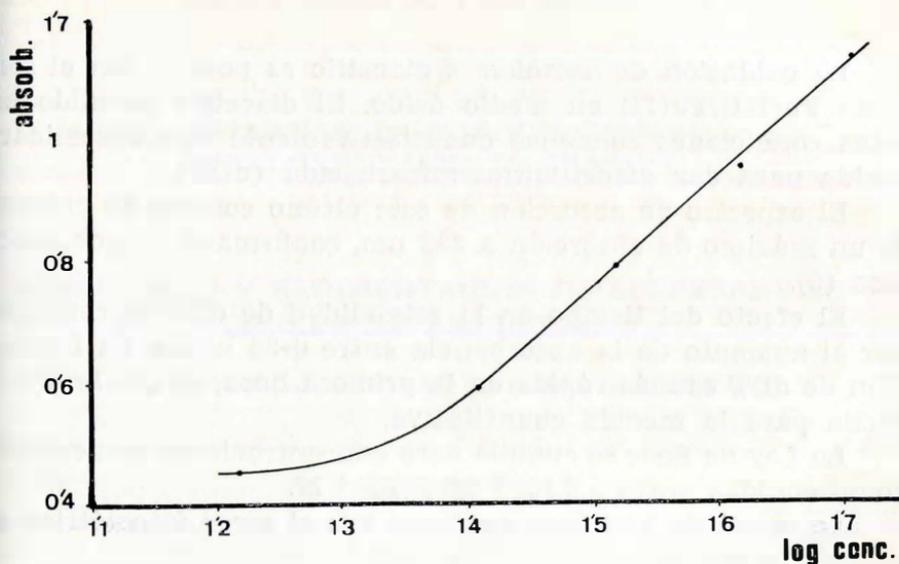


Figura 4.—Representación de Ringbom

### Absortividad molar

Los valores de absorbancia empleados para la determinación de la Ley de Beer se han utilizado para hallar el 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

Acetonia M/l	Absorbancia 323 nm
$3.10^{-5}$	0,59
$4.10^{-5}$	0,79
$5.10^{-5}$	0,95

La absortividad molar del dDT en disoluciones a pH = 2, resulta ser:

$$E_{323} = 18.500 \quad M^{-1} \text{ l cm}^{-1}$$

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS

La oxidación de acetoina a diacetilo es posible con el sistema Fe(III)/Fe(II) en medio ácido. El diacetilo obtenido en estas condiciones condensa cuantitativamente con tiosemicarbacida para dar diacetilditiosemicarbacida (ddt).

El espectro de absorción de este último compuesto presenta un máximo de absorción a 323 nm, confirmado ya por nosotros (9).

El efecto del tiempo en la estabilidad de ddt se confirma por el aumento de la absorbancia entre 0-20 horas. La formación de ddt es más rápida en la primera hora, lo que se aprovecha para la medida cuantitativa.

La Ley de Beer se cumple para concentraciones de acetoina comprendidas entre  $2,5 \cdot 10^{-5}$  M y  $10^{-4}$  M.

La curva de Ringbom confirma que el error fotométrico es mínimo entre  $3 \cdot 10^{-5}$  M/l y  $6 \cdot 10^{-5}$  M/l.

La absortividad molar calculada resulta ser  $E_{323} = 18.500 \text{ M}^{-1} \text{ l cm}^{-1}$ .

Se hace posible por este método la determinación de acetoina a las concentraciones que se indican en la representación gráfica de Ringbom.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.—LECOQ, R.: Manuele D'Analyses Alimentaires et d'expertises usuelles. Ed. Doin (1965).
- 2.—GARCIA OLMEDO, R.: Anal. Brom., 25, 121 (1973).
- 3.—MASAYO, K.: Rep. Res. Lab. Kirim. Brew. Co., Ltd. No. 9, 51 (1966).
- 4.—KJELKOFER, E.; WURDIG, G.: Beih. Fachz. dent. Weimban, 15, 136 (1960).
- 5.—BRANDON, A. L.: Brew. Dig., 42, 96 (1967).
- 6.—CESARI, A.; CUSMANO, A. N. y BONIFORTI, L.: Boll. Lab. Chim. Prov., 15, 444 (1964).
- 7.—SKIBINA, E. M.; ARTAMONOV, P. A.; GORSHKOVA, E. I.: Zh. Anal. Khim., 30, 1834 (1975).
- 8.—MATTIONI, R.: Ind. Aliment., 7, 72 (1968).
- 9.—OLEA SERRANO, M. R. F.; GARCIA-VILLANOVA, R.: Ciencia & Ind. Farmacéutica, 10, 3 (1978).