

ARS PHARMACEUTICA

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

Tomo XXIX

Núm. 2

1988

Tomo XXIX - Núm. 2 - 1988

Director:

Prof. Dr. D. Jesús Cabo Torres

Director Ejecutivo:

Prof. Dr. José Luis Valverde

Secretario General:

Prof. Dr. D. José Jiménez Martín

Consejo de Redacción:

D. Manuel Casares Porcel
D.^a M.^a Teresa Correa Sánchez
D.^a M.^a José Faus Dader
D. Jesús González López
D.^a M.^a del Mar Herrador del Pino
D. Eduardo Ortega Bernaldo de
Quirós

Secretario de Redacción:

D. Antonio Pérez Collado

Redacción y Administración:

Facultad de Farmacia
Granada - España

Dep. Legal: GR. núm. 17-1960
ISSN 0004-2927

Imprime:

Servicio de Publicaciones
Colegio Máximo de Cartuja
Universidad de Granada
Granada 1988

Sumario

PAG.

TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

- Determinación espectrofotométrica de diacetilo en mantequilla previa formación del complejo diacetil diisonicotin hidrazona-Zr(IV), por R. M.^a García Estepa y R. J. García Villanova 111
- Síntesis de 3-metil-4-oxo-2-butenato de metilo, por J. Fernández Sánchez y J. E. Oltra 117
- Método espectrofotométrico para la determinación de tioles de bajo peso molecular, por R. Artacho Martín-Lagos y M. F. Olea Serrano 123
- Balance de erosión hídrica en los suelos de la vertiente norte de Sierra Nevada (provincia de Almería), por F. J. Lozano; F. J. Martínez; C. Sierra y E. Ortega 129
- Efecto de la quinetina sobre la producción de etileno durante la germinación de semillas de *Phaseolus vulgaris*, por I. M. Sánchez-Calle 139
- El amoníaco en los peces. II. Aspectos tóxicos, por F. J. Moyano y G. Cardenete 145
- Estudio de cálculos salivales por técnicas cristalográficas, por E. Gámiz; J. Aguilar y R. Delgado Calvo-Flores 153

- El amoníaco en los peces. I. Aspectos metabólicos y excreción, por G. Cardenete y F. J. Moyano 163
- Validación de dos radioinmunoensayos clínicos de hormonas tiroideas (T_3 y T_4) para el análisis de muestras de rata, por J. Mallo; F. López y A. Rodríguez 173
- Las constituciones del Hospital de la Concepción de Baeza (siglos XVI-XVIII), por J. A. Pérez Romero y J. Almonacid 179
- Efecto del AIA y del triptofano sobre la germinación de semillas de *Phaseolus vulgaris*, por I. M. Sánchez-Calle 187

TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA
FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA

“DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE DIACETILO EN
MANTEQUILLA PREVIA FORMACION DEL COMPLEJO
DIACETIL DIISONICOTIN HIDRAZONA-Zr(IV)”.

García Estepa , R. M^{a*} y García-Villanova , R. J.**

RESUMEN

Se ha desarrollado un nuevo método espectrofotométrico para la determinación de diacetilo. Se basa en la formación de diacetildiisonicotin hidrazona por reacción de diacetilo con isoniacida. La hidrazona compleja con Zr (IV) a pH ácido (1,7) formando un quelato amarillo y soluble. La absortividad molar es $1,7 \cdot 10^4 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 410 nm. El método ha sido aplicado a la determinación de diacetilo en mantequilla.

SUMMARY

A new spectrophotometric method for determination of diacetyl has been developed. This method make use of the ability of diacetyl to react with isoniazid forming diacetyl diisonicotin hydrazone. This hydrazone then complexes Zr (IV) at acid pH (1,7) giving rise to a yellow and soluble chelate. The molar absorptivity is $1,7 \cdot 10^4 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. The method has been applied to the measure of diacetyl in butter.

INTRODUCCION

El aroma natural de la mantequilla tiene su origen en la maduración de la nata antes del batido y a él contribuye un complejo conjunto de sustancias, dentro de las cuales, el diacetilo ocupa un lugar primordial.

Juntamente con el diacetilo, se encuentra también otra dicetona, 2,3-pentanodiona en concentración mucho menor que la del primero, e influye en el aroma de modo

* DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA. FACULTAD DE FARMACIA.
GRANADA

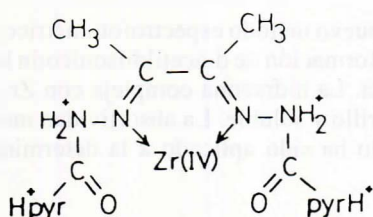
** DEPARTAMENTO DE QUIMICA ANALITICA, NUTRICION Y BROMATOLOGIA. UNI-
VERSIDAD DE SALAMANCA.

igual al diacetilo, aunque el umbral de detección sensorial de cada una es bien distinto.

El interés por el control y conocimiento de la cantidad de dicetonas vecinales más importantes en los alimentos (diacetilo y 2,3-pentanodiona) reside en que la presencia o ausencia de la primera preferentemente, condiciona la calidad de los mismos, al ser en muchos casos un índice de su óptima maduración y en otros del deterioro.

Entre los numerosos métodos de determinación de diacetilo se encuentran los cromatográficos (1, 2, 3), los polarográficos (4, 5, 6) y más aún, los espectrofotométricos (7, 8, 9).

Nosotros proponemos un nuevo método espectrofotométrico para la determinación conjunta de diacetilo y 2,3-pentanodiona basado en la formación de las correspondientes hidrazonas al condensar α -dicetonas con isoniácida. Las diisonicotin hidrazonas correspondientes complejan al Zr (IV) originando un complejo de color amarillo estudiado por GARCIA-VILLANOVA y col. (10, 11); en el caso del diacetilo



y en una reacción similar se formaría el complejo de Zr (IV) con diisonicotin hidrazona de 2,3-pentanodiona de propiedades espectrofotométricas muy similares al diacetil diisonicotin hidrazona-Zr (IV) (dDIH-Zr (IV)).

PARTE EXPERIMENTAL

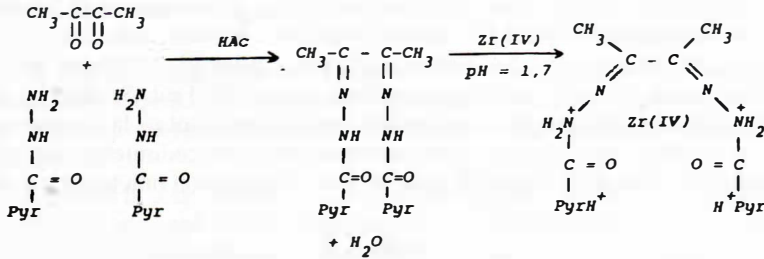
Material: Espectrofotómetro UV/VIS, Perkin Elmer, mod. 551-S con registrador de igual marca mod. 561. Potenciómetro Radiometer mod. pH-meter 26 con electrodos de vidrio G 202 C y calomelanos saturado K 401.

Reactivos: Diacetilo, cloruro de circonilo (Merck), Isoniacida (Hidracida del ácido isonicotínico) (Sigma), el resto de los reactivos son de pureza analítica.

RESULTADOS Y DISCUSION

Fundamento del Método

El diacetilo condensa con dos moléculas de isoniácida en presencia de ácido acético para formar la diacetil diisonicotin hidrazona (dDIH). Posteriormente, ésta reacciona con Zr (IV), a pH de 1,7, obteniéndose un complejo de color amarillo que presenta un máximo de absorción a 410 nm.



Optimización de la reacción

En su condensación con diacetilo, la cantidad de isoniacida necesaria es 300 veces como mínimo la estequiométrica, el tiempo no supera los cinco minutos y la calefacción no acelera la formación de la hidrazona.

En la reacción de complejación, hace falta un exceso de Zr (IV) de al menos, 50 veces la concentración de diacetilo ensayada, desarrollándose la máxima coloración después de mantener la muestra 30 minutos a temperatura ambiente.

Características Espectrofotométricas

El complejo dDIH-Zr (IV) así formado cumple la Ley de Lambert-Beer para concentraciones de diacetilo comprendidas entre $0,29 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ y $5,80 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ con un coeficiente de correlación de 0,9999. La zona de mínimo error fotométrico (representación de Ringbom) varía desde $0,8 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ a $4,9 \cdot 10^{-5} \text{ M}$; la absorptividad molar posee un valor de $1,7 \cdot 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y el límite de detección, calculado según el criterio de la Analytical Chemistry Division (IUPAC) (12), es de 15 ppb.

Recuperación y Forma de Recolección

Como el procedimiento de determinación de diacetilo en manteca que se propone requiere la previa destilación de la muestra, se realizó un estudio de la recuperación y forma de recolección de destilados de disoluciones que lo contenían.

En primer lugar se ensayó la recolección de destilado de disoluciones de diacetilo sobre agua y sobre disoluciones de isoniacida y ácido acético. A la vista de los resultados (Tabla I) se eligió el último procedimiento para los sucesivos ensayos.

TABLA I

FORMA DE RECOLECCION DE DESTILADOS DE DISOLUCIONES DE DIACETILO

Forma de Recolección	Absorbancia	% Recup.
Agua	0,455	89,74
Isoniacida-Acético	0,506	99,80
Muestra sin destilar	0,507	-

Posteriormente, se practicaron determinaciones en un vinagre artificial, preparado en el laboratorio a modo de "sistema modelo", formado por: ácido acético glacial 40 g, ácido tartárico 2,5 g, acetoina 250 mg, butilenglicol 300 mg, diacetilo 5,0 mg, etanol de 96° 12,5 ml, agua destilada hasta 1.000 ml. Se destilaron las muestras previa neutralización con NaOH, recolectando sobre la disolución de isoniácida y acético, que como ya se ha comentado es el procedimiento más eficaz. Los resultados obtenidos, (Tabla II) indican una recuperación prácticamente total.

TABLA II

ESTUDIO DE LA RECUPERACION DE DIACETILO DE UN SISTEMA MODELO DE VINAGRE

Diacetilo μg	A <u>Teórica</u>	A <u>exp.</u>	<u>% recup.</u>
100,0	0,416	0,414	99,5
125,0	0,509	0,508	99,8
150,0	0,607	0,608	99,8

Determinación de diacetilo en muestras de mantequilla

Se colocaron en un matraz de destilación 200 g de mantequilla junto con 50 ml de disolución saturada de NaCl.

Se le adaptó una refrigerante con un terminal recto introducido en el seno de 10,0 ml de disolución de isoniácida 0,175 M y unas gotas de ácido acético. Se recogen 30,0 ml de destilado, se añaden 5,0 ml de disolución de Zr (IV) $3,0 \cdot 10^{-2} \text{M}$, se ajusta el pH a 1,7 y se enrasa en matraz de 50 ml. Después de mantener la muestra 30 minutos a temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 410 nm frente al blanco. Los resultados obtenidos expresados como ppm de diacetilo se encuentran en la Tabla III.

TABLA III

CONTENIDO DE DIACETILO, VALORES DEL ERROR RELATIVO SOBRE EL VALOR MEDIO (E.R.V.M.) Y COEFICIENTE DE VARIACION (C.V.) DE LAS MUESTRAS DE MANTEQUILLA ENSAYADAS.

Mantequilla <u>Muestra nº</u>	ppm Diacetilo <u>(\bar{x})</u>	E.R.V.M. <u>%</u>	C.V. <u>%</u>
1	0,200	2,21	1,95
2	0,283	0,98	0,86
3	0,217	1,53	1,35
4	0,313	0,86	0,76
5	0,347	1,16	1,02

Precisión del Método. Estudio Estadístico

Se ha realizado con los valores obtenidos para diez determinaciones de cada muestra de mantequilla, operando como ya se ha descrito. En la Tabla III se expresan el "error relativo, sobre el valor medio" ($\sigma_{m.t.} 100/\bar{x}$) y el "coeficiente de variación" ($\sigma. 100/\bar{x}$).

Si seguimos la clasificación que, según paneles de degustación y la cantidad de diacetilo (13), designa a las mantequillas con contenidos en esta α -dicetona superiores a 0,25 ppm como de "calidad extra", la mayoría de las muestras analizadas estarían incluidas en este grupo.

BIBLIOGRAFIA

- (1) POSTEL, W.; MEIER, B. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 173, 85 (1981).
- (2) SEELEINER, G.; LIEBL, M. Brauwissenschaft 35, 25 (1982).
- (3) SEIDEL, F., PENNER, G.; KIRST, E. MF-MP, Milchwissenschaft Milchprax, 25, 71 (1983).
- (4) PASPALLEEV, E.; KANCHEV, K.; DENCHEVA, D.P; BATSALOVA, K. Nahrung 24, 303 (1980).
- (5) LECHNER, E.; KUNDER, I.; KLOSTERMEYER, H.Z. Lebensm. Unters. Forsch. 173, 372 (1981).
- (6) PASPALLEEV, E.; KANCHEV, K.; DENCHEVA, D. Nauchni, Tr., Vissh Inst. Khranit. Vkusova Prom-st., Plovdiv. 29, 103 (1982).
- (7) VEINGA, H.A.; VERBURG, E.H.; STADHOUDERS; J. Neth. Milk Dairy J. 38, 251 (1984).
- (8) GARCIA VILLANOVA, R.; OLEA SERRANO, M.F. An. Bromatol. 30, 241 (1978).
- (9) MINAMI, Y.; MITSUI, T.; FUJIMURA, Y. Bunseki Kagaku 28, 717 (1979).
- (10) GARCIA-VILLANOVA, R.J.; GARCIA VILLANOVA, R. An. Quim. 79 B, 401 (1983).
- (11) GARCIA-VILLANOVA, R.J.; GARCIA VILLANOVA R.; GARCIA ESTEPA, R. An. Quim. 79B, 593 (1983).
- (12) IUPAC, Analytical Chemistry Division. Commission on Spectrochemical and other Optical Procedures for Analysis. Cit. por Spectrochim. Acta (B). 33 B, 242 (1978).
- (13) RUSEV, Kh.; Vet. Med. Nauki, 16, 7 (1979).