

Tesis de Posgrado

Contenido de diacetilo en mantecas de la Ciudad de Buenos Aires

Damonte de Méndez Bar, Ana María

1939

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

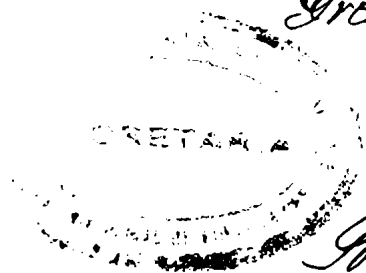
Cita tipo APA:

Damonte de Méndez Bar, Ana María. (1939). Contenido de diacetilo en mantecas de la Ciudad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0239_DamontedeMendezBar.pdf

Cita tipo Chicago:

Damonte de Méndez Bar, Ana María. "Contenido de diacetilo en mantecas de la Ciudad de Buenos Aires". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1939. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0239_DamontedeMendezBar.pdf

Buenos Aires, Agosto 7 de 1909
Presentada en la Mesa. Enste
a Spink



Buenos Aires, Agosto 7 de 1909
Pase a la Comisión examinadora
Grupo 20 a los efectos del Art. 326 del Digesto.

Fesis: 239

Jorge H. Dobranid

Alberto Tinardel



Buenos Aires, Agosto 11 1909
Los miembros de la Comisión examina-
dora respectiva, que firman, han estudiado la
presente tesis y resuelven aceptarla.

Amun Turo
Guantotrey

Arnoldo Ruspini
Alberto

T E S I S

PRESENTADA A LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

FISICAS Y NATURALES DE LA UNIVERSIDAD

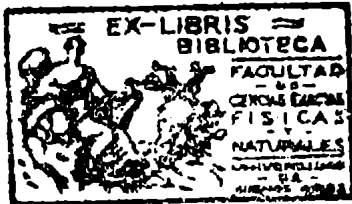
NACIONAL DE BUENOS AIRES

POR LA EX-ALUMNA

ANA MARIA DANONTE de MENDEZ BAR

PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA EN QUIMICA

" CONTENIDO DE DIACNTOLO EN MANTECAS DE LA CIUDAD DE
BUENOS AIRES "



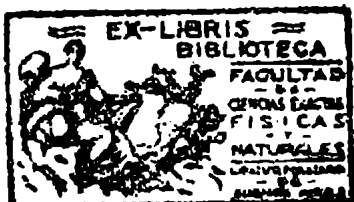
- .1939.-
—

A mi siempre maestro doctor ROBERT J. RUMI,
coda mi gratitud.-

AGRADECIMIENTO

al doctor **ADOLFO ESCUDERO**, sub-director de la sección Industria Lechera del Ministerio de Agricultura de la Nación, los consejos y sugerencias que tan útiles me han sido y las muestras de mantecas de exportación que por su intermedio pude conseguir.-

y al señor **RAMIRO JOUAN**, gerente de la S.A. La Vascongada, que me brindó gentilmente todos los elementos que de ese establecimiento necesité para mi trabajo.-



PLAN DE TESIS

Tema: DIACETILO EN MANTECAS DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES.-

- 1.- El diacetilo.- Constitución.- Propiedades físicas y químicas.-
- 2.- Determinación cuantitativa de diacetilo.- Ensayos de distintos procedimientos, gravimétricos y colorimétricos.- Sensibilidad de los métodos ensayados.- Elección del procedimiento a utilizar.- Pruebas con soluciones acuosas de diacetilo puro.-
- 3.- Investigación de diacetilo en los productos de las distintas etapas de la fabricación de la manteca: cremas, fermento láctico, cremas maduradas, cremas antes del batido, leche de manteca, manteca en granos, aguas de lavado y manteca a término.-
- 4.- Investigación cuantitativa de diacetilo en mantecas de exportación.-
- 5.- Investigación de diacetilo en mantecas de la ciudad de Buenos Aires.- Tenor en diacetilo de las mantecas que se expenden en el comercio.-
- 6.- Comparación de los resultados obtenidos en las mantecas de la ciudad de Buenos Aires con los de mantecas extranjeras.-

1°.- EL DIACETILO.- Constitución y propiedades.-

El diacetilo, es el primer término de la serie de las alfa-dicetonas, vale decir, dicetonas en las cuales los grupos carbonilos están contiguos.-



Llámase también dimetildicetona, dicetona butane, dimetilglioxal, butanediona.-

Es un líquido amarillo, de consistencia oleosa, que hierve a 88° C y cuya densidad es algo menor que la del agua (A 22° le corresponde una densidad de 0,97).-

Soluble en agua, alcohol, éter y en los cuerpos grasos.-

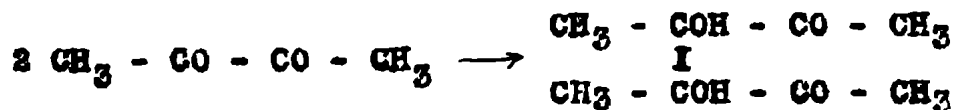
Posee un olor desagradable y muy pronunciado, pero en soluciones muy diluídas, por el contrario, presenta un olor agradable, semejante al de crema fermentada ó manteca fresca.-

Propiedades químicas.-

a) Se oxida con facilidad para dar ácido acético en presencia de agua oxigenada.-

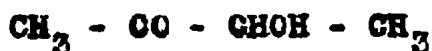


b) Con polvo de zinc y ácido acético en frío, se obtiene la pinacona del diacetilo.

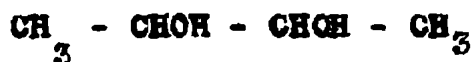


c) Con polvo de zinc y ácido sulfúrico diluído en caliente

da el acetilmetilcarbinol.-

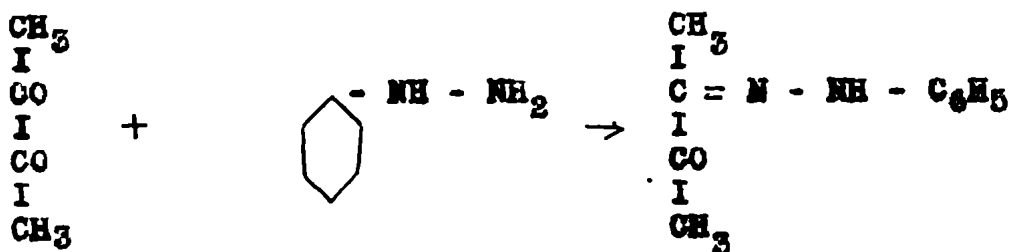


d) Hidrogenado más fuertemente da el butilenglicol.-



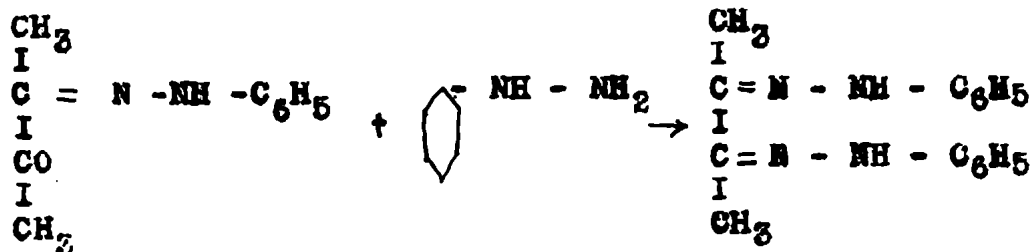
e) Sustituye fácilmente los hidrógenos de los dos carbonos primarios por halógenos, dando los derivados halogenados correspondientes.-

f) Teniendo en su molécula grupos carbonilos, reacciona con las aminas.- Con la fenilhidracina la reacción tiene lugar en solución acética en frío, dando un precipitado amarillo claro de diacetilhidrazona.



La diacetilhidrazona cristaliza en prismas fusibles a 133° C.

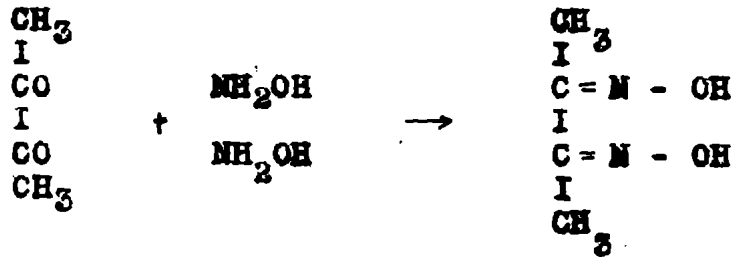
Para formar la osazona se trata en baño-maría hirviente con exceso de fenilhidracina.-



Estos cristales funden a 242° C.-

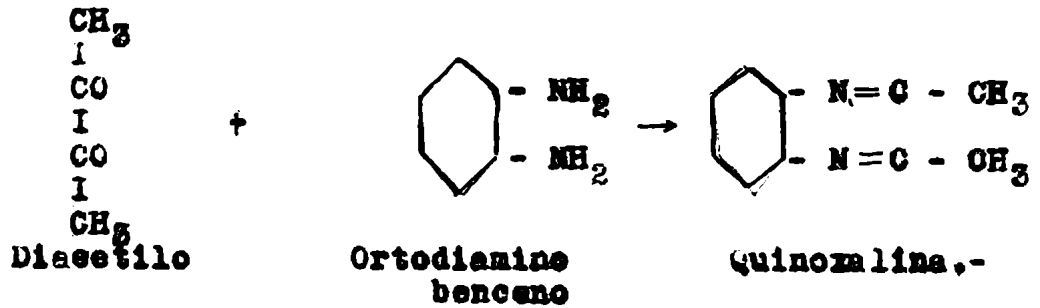
g) Con la hidroxilamina se obtiene la dimetilglioxima ó dia-

acetildioxima, reactivo cuantitativo del níquel.-



b) El diacetilo reacciona también con las aménas aromáticas dando productos de condensación cíclicos.-

Así condensando el diacetilo con una ortodiamina aromática se obtiene una quinoxalina.-



Caracterización del diacetilo.-

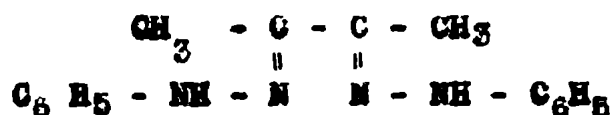
Como el diacetilo en su constitución tiene dos grupos carbonilos contiguos presenta una afinidad particular y un gran poder de reacción.-Algunas de estas reacciones permiten su caracterización: 1° - Formación de la osazona y 2° - Formación de la sal de níquel (1).-

Formación de la osazona.-

10 ml. de la solución de diacetilo, se agregan 10 gotas de fenilhidracina y 10 gotas de ácido acético cristelizable.- La mezcla colocada en un tubo de ensayo se mantiene 20 ' a baño-maría hirviente.-Se retira y deja enfriar.-

(1) A.Tapernaux.-Lait 12,página 1043-1055 (1932).-

Se observa la formación de un precipitado amarillo oro, que es la diacetilosazona que puede recristalizarse en ácido acético.- Tratándose de cantidades relativamente grandes de diacetilo esta reacción de caracterización es muy útil pues se pueden observar los cristales y comprobar el punto de fusión de la osazona (242°),-



Formación de la sal de níquel

La reacción mas sensible es la de la formación de la sal de níquel de la dimetilglioxima, conocida con el nombre de "reacción de Lemoigne",-

A 3-4 ml.de una solución acuosa de diacetilo se agregan 15-20 gotas de amoníaco, 5 gotas de una solución acuosa de clorhidrato de hidroxilamina al 20% y 5 gotas de cloruro de níquel al 10%.- Se hace hervir y se obtiene una coloración roja y formación de abundante precipitado del mismo color, que aparece después de algunas horas si la cantidad de diacetilo es pequeña.-El precipitado obtenido es la sal de níquel de la dimetilglioxima.-



El diacetilo en manteca.-

En la fabricación industrial de manteca se utilizan los llamados " fermentos ", que son cultivos seleccionados de bacterias, para la producción de mantecas de calidad.-

Estos fermentos tienen dos tipos de organismos, uno es el *Streptococcus lactis*, llamado por otros autores *Streptococcus cremoris*, que actúa sobre la lactosa produciendo ácido láctico y otro es el *Streptococcus citrovorus* ó *Streptococcus parasitrovorus*, que fermenta el ácido cítrico.-

El crecimiento de estas bacterias, da como resultado la producción de diferentes compuestos, ácidos volátiles, acetilmetilcarbinol, diacetilo, etc., que se creyó que eran los productores del sabor y aroma de la manteca.-

Estudiando mantecas de alto sabor y aroma se encontró correspondencia entre el contenido en acetilmetilcarbinol más diacetilo y el aroma de las mismas.-

Niel, Kluyver y Verx, observaron que soluciones acuosas de acetilmetilcarbinol y también las de diacetilo tenían un aroma semejante al de la manteca.-

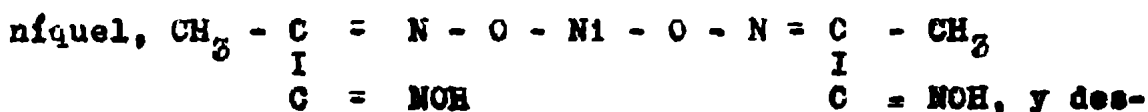
Sin embargo purificando cuidadosamente el acetilmetilcarbinol dió soluciones completamente inodoras.-

Estos resultados hicieron suponer que el productor del aroma de la manteca era el diacetilo y se confirmó la suposición añadiendo soluciones diluidas de diacetilo a mantecas pobres en aroma que mejoraron su calidad en ese as-

pesto.-

Schmalfuss descubrió el diacetilo en un cultivo de leche por el olor y lo identificó por análisis.-

El mismo autor y Helene, Barthmeyer consiguieron extraer de un cultivo de leche 1,7 mg. de diacetilo como dioxima de níquel,



pués de su purificación, determinaron el nitrógeno contenido y el punto de fusión del complejo, encontrando que los datos obtenidos coincidían con los hallados en la dioxima de níquel preparada con diacetilo sintético.-

Se supuso entonces que el diacetilo era un producto de asimilación de los organismos.-

Los investigadores continuaron sus trabajos tratando primero de especificar qué bacterias eran las productoras de diacetilo, y segundo cuál era la fuente de origen del mismo.-

Se hicieron muchas pruebas sembrando distintas cepas de bacterias en cultivos de leche.-

Van Niel, Kluyver y Derx con distintas cepas de Streptococcus lactis y de Streptococcus cremoris encontraron que mientras con el S. cremoris se obtenía acetilmetilcarbinol más diacetilo, con el S. lactis no se obtenía producción de esos compuestos.-

M. B. Michaelian, R. S. Farmer y E.W. Hammer estudia-

ron intensamente este asunto (1).-

Probaron primero 34 cepas de *S. lactis*, aisladas de cultivos de manteca y de cremas agrias, en leche por tres días a 21°C.- Obtuvieron acetilmetilcarbinol más diacetilo solamente en 4 de las cepas, en pequeñísimas cantidades.

Como el *S. citrovorus* en cultivos de manteca produce ácido acético, añadieron 0,1 % de ácido acético a la leche y probaron las mismas cepas de *S. lactis*, encontrando producción de acetilmetilcarbinol más diacetilo en 30 de las cepas, pero en cantidades muy pequeñas.- De modo que es posible/^{que} en cultivos de manteca el ácido acético formado por los *Streptococcus* que fermentan el ácido cítrico, pueda influenciar en los productos elaborados por el *S. lactis*.-

Probaron después 35 cepas de *Streptococcus* que fermentan el ácido cítrico aisladas de cultivos de mantecas y cremas agrias.- Las dejaron crecer en leche siete días a 21°C, resultando que 29 de las cepas no produjeron acetilmetilcarbinol más diacetilo y sólo 6 dieron resultado positivo que variaron entre vestigios y 22,4 mg. de sal de níquel.-

Estudieron las cepas empleadas desde el punto de vista de su valor en el desarrollo de cultivos de manteca cuando se mezclan con cepas de *S. lactis*, no habiendo en-

(1).- Research Bulletin N° 155.- Enero de 1933.-

contrado relación entre la producción de acetilmetilcarbino-
l más diacetilo de una cepa y su actividad en el desarro-
llo de cultivos de manteca.-

Estudiaron después la influencia del pH del medio, en
la producción de estos compuestos por distintas cepas de *S.*
citroverus.- Empleando ácido sulfúrico y ácido cítrico co-
mo acidificantes obtuvieron los siguientes resultados(1):

<u>Acido</u> <u>agregado</u>	<u>pH antes</u> <u>de la</u> <u>incubación</u>	<u>mg. sal de Ni en</u> <u>200 g. equival.a</u> <u>AMC - D Diacet.</u>	
Nada	6,1	-	-
SO ₄ H ₂	5,7	-	-
SO ₄ H ₂	5,1	-	-
SO ₄ H ₂	4,6	Vestig.	-
SO ₄ H ₂	3,9	24,3	Vestig.
SO ₄ H ₂	3,3	47,6	Vestig.
SO ₄ H ₂	2,5	-	-
A.cítrico	5,8	-	-
A.cítrico	5,3	Vestig.	-
A.cítrico	4,8	Vestig.	-
A.cítrico	4,6	80,3	Vestig.
A.cítrico	4,4	142,1	Vestig.
A.cítrico	4,2	230,9	Vestig.

Usando ácido sulfúrico para acidificar la leche se
consigue aumentar la producción de acetilmetilcarbino-
l más diacetilo pero empleando ácido cítrico las cantidades produ-

(1).-Michaelian, Farmer, Hammer: Research Bulletin, 155, página
328, 1933.-

cidas fueron considerablemente mayores.-

Acidificaron después la leche con distintos ácidos (láctico, cítrico, sulfúrico, nítrico, clorhídrico, fosfórico, oxálico, tártrico, málico, etc.) y determinaron la producción de acetilmetilcarbinol más diacetilo por cepas de *S.* que fermentan el ácido cítrico, encontrando las siguientes cantidades: (1).-

<u>Ácido agregado</u>	<u>% ácido agregado</u>	<u>pH después incubación</u>	<u>mg. sal Ni equiv. a AAC - Diaz. en 200g.</u>
Nada	Nada	5,6	-
Cítrico	0,75	4,1	67,8
Láctico	1,00	4,1	16,0
Sulfúrico	0,35	4,0	12,6
Nítrico	0,87	4,0	10,8
Clorhídrico	0,85	4,1	11,3
Fosfórico	0,85	4,0	12,8
Oxálico	0,52	3,9	-
Tártrico	0,70	3,9	14,6
Málico	0,85	4,1	2,0
Succínico	0,90	4,1	-
Glicólico	0,70	4,2	Vestigios
Acético	1,40	4,0	-
Propiónico	1,60	4,1	-
Butírico	1,80	4,2	-

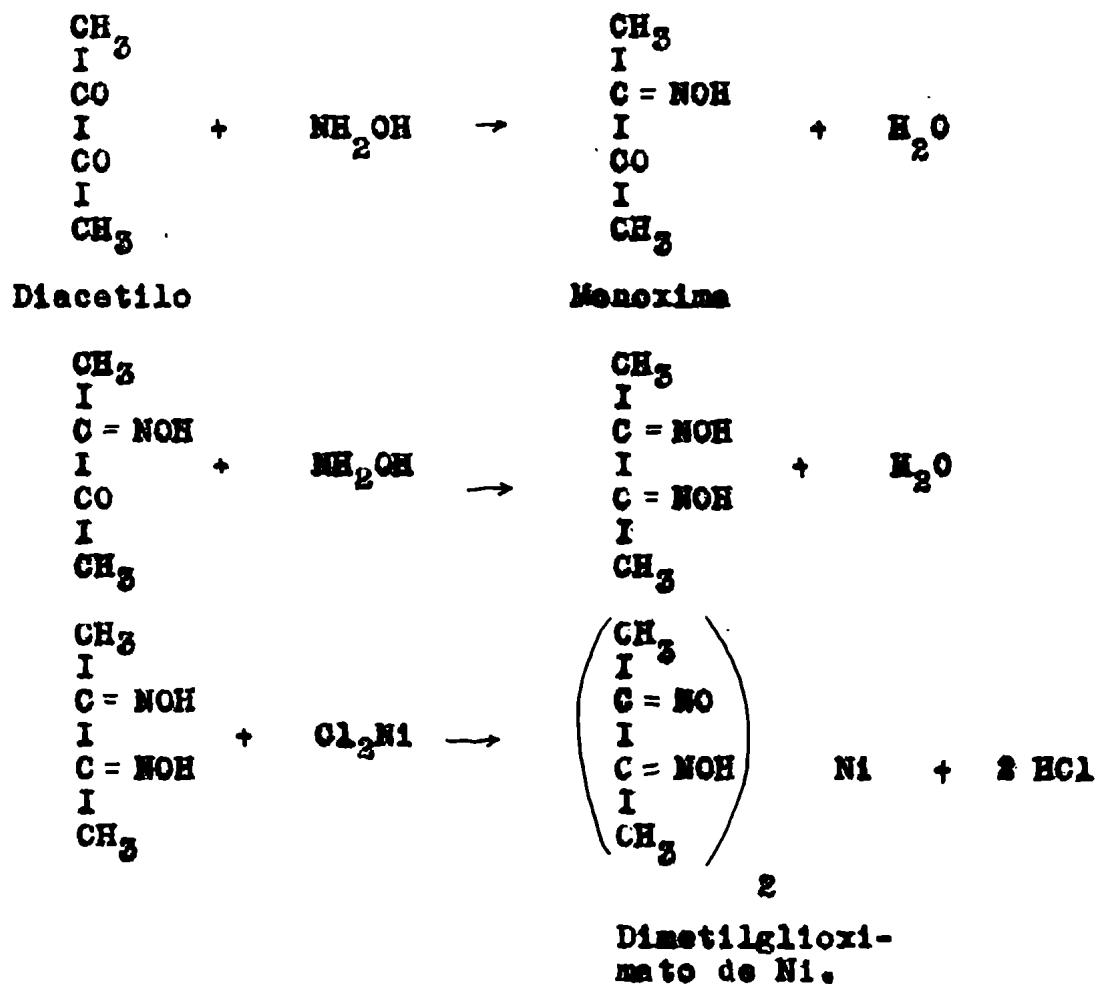
La gran producción de acetilmetilcarbinol más diacetilo por el *S. citrovorus* en leches modificadas por agregado de (1).- Research Bulletin.- Ames, Iowa, 155 - página 340.-

MEMORANDUM
TO: SAC, [illegible]
FROM: [illegible]

RE: [illegible]
[illegible]
[illegible]

Dosaje de diacetilo.-

El método clásico para el dosaje de diacetilo está basado en la "reacción de Lemaigne", que consiste en la transformación del diacetilo en el dimetilgloximato de níquel, que se efectúa en la siguiente forma:



Este método ha sido aplicado con variantes que aumentan su sensibilidad por Tepernaux, Vizern, Guillet, Bernicoat, Feigl, Testoni Ciusa, etc..-

Es un método excelente cuando se trata de cantidades importantes de diacetilo ó cuando se dosa la suma de diace-

tilo y acetilmetilcarbinol, previa oxidación de este último a diacetilo.-

Teniendo en cuenta que el tenor en diacetilo en mantecas es de fracciones de miligramos por kilogramo y que se trabaja generalmente con 100 gramos de muestra, es necesario que el método a elegir dé, con exactitud, cantidades cuyo límite superior sea 0,1 mg. de diacetilo en el destilado.-

Experimenté con el método de Lemoigne con las modificaciones señaladas por Testoni y Ciusa (1) y Barnicoat (2).-

El método de Testoni y Ciusa trata la solución acuosa de diacetilo en frío con carbonato de hidroxilamina, unas gotas de solución de sulfato de níquel 0,10% y pocas gotas de amoníaco concentrado.-Calienta y obtiene así el precipitado rojo de dimetilglioximato de níquel.-

G.R.Barnicoat utiliza como reactivo una mezcla formada por 4 ml. de clorhidrato de hidroxilamina al 20%, 4 ml. de solución de acetato de sodio al 20% y 2 ml. de solución de cloruro de níquel al 5%.-

Calienta 6 horas sobre plancha caliente a 80-90°C y mantiene luego una noche en estufa de agua a 70-80°C.-

En ambos métodos emplee crisoles filtrantes de porcelana G₄.-

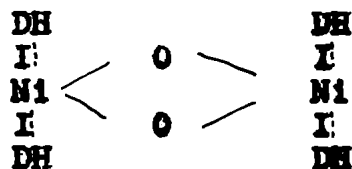
El método de Barnicoat me permitió dosar como límite 1 mg. de diacetilo en una solución de 10 ml., resultando es-

(1).-Annali di Chimica Applicata, 21, 147-150 (1931).-
(2).-The Analyst, 60, 653-662 (1935).-

te el mejor de los métodos gravimétricos ensayados.-

Como con los métodos gravimétricos el problema del ensaje de diacetilo en manteca no resultara, ensayé métodos colorimétricos.-

Entre ellos el de Feigl (1) que consiste en la formación de un complejo, en que el níquel se comporta como tetravalente



y que se obtiene tratando la dimetilglioxima recientemente precipitada con amoníaco, dióxido de plomo y soda alcohólica.- La solución toma color rojo que se compara con series tipo.-

Otro método ensayado fue el de M.M.R. Dehore y L. Dessier, (2) que consiste en formar el dimetilglioximato de níquel en la siguiente forma: 20 ml. de la solución de diacetilo se tratan con 1 ml. de clorhidrato de hidroxilamina al 10%, luego 2 ml. de soda normal.- Se agita un minuto y se agrega 1 ml. de solución de sulfato de níquel 0,2% y luego 0,6 de ácido acético normal.- Evaporar a seco en baño-maría.-

Tratar el residuo con cloroformo, filtrar y reunir los filtrados en cápsulas de porcelana de fondo plano y evaporar nuevamente a seco al baño-maría.- El dimetilglioxi-

(1) Lait.-22, página 44-46 (1932).-

(2) Annales des Falsifications et des Fraudes, 30, páginas 288-291 (1937).-

Esto se deposita dando círculos de color rojo violáceo mas o menos intenso, según la cantidad de diacetilo ensayada.-

Se preparan series testigos partiendo de diacetilo puro de manera de tener una gama de coloraciones correspondientes a cantidades de diacetilo que varían entre 0,05 mg. y 0,5 mg..-

El método de C.R.Barnicoat (1), también ensayado, que forma el complejo, dimetilglioximato de níquel, los seca a estufa a 100°C, lava con éter, agua y vuelve a secar.-Después de enfriar añade cloroformo neutro recién destilado y calienta suavemente para solubilizar por completo.-

Compara la coloración amarilla formada con series tipo preparadas con soluciones de dimetilglioximato de níquel en cloroformo.-

El cuarto método colorimétrico ensayado es el de Prill y Hammer (2), que consiste en la formación del dimetilglioximato ferroso amónico de color rojo, cuya intensidad se compara con series standard.-

Después de ensayar los cuatro métodos colorimétricos referidos con soluciones acuosas de diacetilo puro, adopté decididamente el último por considerarle muy superior en sensibilidad.-

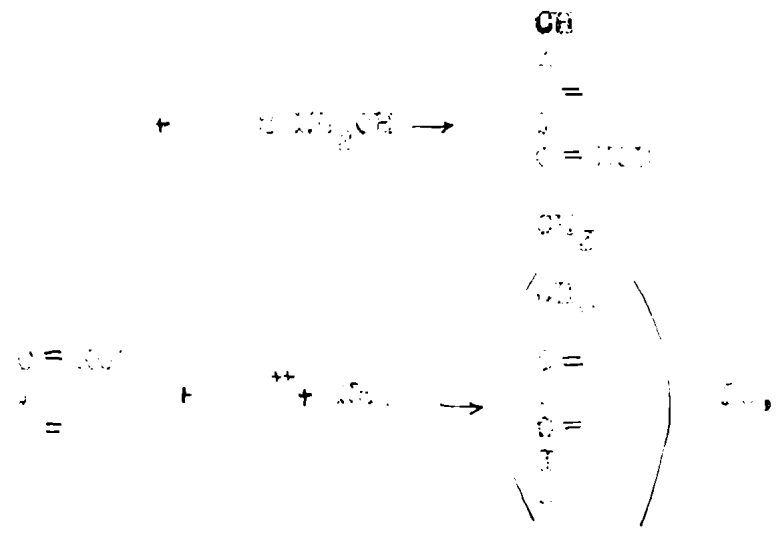
Detalles del método elegido.-

En la Estación de Agricultura de Iowa, E.A.Prill y B.

(1).- Analyst, 60, página 653-662 (1935).-

(2).- Iowa Sta.College.J. of Sc.,12,páginas 385-395 (1938).-

1. CO_2 \rightarrow $\text{C} + \text{O}_2$
 2. $\text{C} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2$
 3. $\text{C} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO} + \text{O}$
 4. $\text{C} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2$
 5. $\text{C} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2$
 6. $\text{C} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2$
 7. $\text{C} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2$
 8. $\text{C} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2$
 9. $\text{C} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2$
 10. $\text{C} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2$



1. NH_4^+ \rightarrow $\text{NH}_3 + \text{H}^+$
 2. $\text{NH}_3 + \text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+$
 3. $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$
 4. $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$
 5. $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$
 6. $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$
 7. $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$
 8. $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$
 9. $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$
 10. $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$

1. NH_4^+ \rightarrow $\text{NH}_3 + \text{H}^+$
 2. $\text{NH}_3 + \text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+$
 3. $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$
 4. $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$
 5. $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$
 6. $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$
 7. $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$
 8. $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$
 9. $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$
 10. $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$

Formada la dimetilglioxima hay que añadir la sal ferrosa y amoníaco.- Como el exceso de sal ferrosa puede precipitar como hidróxido se agregará tartrato de sodio y potasio en solución muy concentrada para evitar el color azul del tartrato ferroso férrico soluble que se forma.- .

Añadida la sal ferrosa, aparece un hermoso color rojo-rosado, cuya intensidad es proporcional a la concentración original de diacetilo.-

Los reactivos a emplear son:

a) Acetato de hidroxilamina .-

Para obtener este reactivo se preparan dos soluciones:

1a.- Se disuelven 70 g. de acetato de sodio ($\text{CH}_3 - \text{COONa}, 3\text{H}_2\text{O}$) en agua hasta formar 200 ml. de solución.-

2a.- Se disuelven 35 g. de clorhidrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}, \text{HCl}$) en agua hasta formar 200 ml. de solución.-

En el momento de usarlo debe mezclarse una parte de la solución de acetato de sodio (1a.) con cuatro partes de la solución de clorhidrato de hidroxilamina (2a.).-

b) Acetona y fosfato dipotásico forman el reactivo b.-

Para prepararlo se disuelven 190 g. de fosfato dipotásico ($\text{PO}_4\text{K}_2, 3\text{H}_2\text{O}$) en agua.- Se añaden 200 ml. de acetona pura y se lleva a 1 litro.-

c) Está constituido por solución de amoníaco concentrado de densidad 0,9.-

d) Solución saturada de tartrato sódico-potásico.-

Se disuelven por calentamiento 90 g. de tartrato sódico-potásico (sal de Rochelle) en 50 ml. de agua; debiendo mantenerse a 35°C para evitar cristalización.-

e) Solución de sulfato ferroso.-

Se disuelven 5 g. de sulfato ferroso ($SO_4Fe, 7 H_2O$) en 100 ml. de solución al 1% de ácido sulfúrico.-

Serie estándar para la comparación colorimétrica.-

La serie estándar para la comparación colorimétrica puede hacerse con soluciones tipo de diacetilo puro, pero como son inestables, Prill y Hammer, autores del método, aconsejan emplear en cambio solución de dimetilglioxima, preparada con la sal purificada previamente por recristalización en alcohol etílico.-

Se parte de una solución de dimetilglioxima tal, que 1 ml. de la misma corresponda a g. 0,1 de diacetilo.- Para ello se pesan g. 0,1349 de dimetilglioxima y se disuelven en 50 ml. de alcohol metílico puro; se añaden 30 ml. de reactivo a), es decir, de acetato de hidroxilamina y se lleva a un litro con agua destilada.-

Extracción del diacetilo de la manteca.-

La extracción del diacetilo de la manteca, consiste, como en todos los métodos usados anteriormente, en un arrastre con vapor de agua, pero con la enorme ventaja de que el dispositivo de este método consigue retener el contenido total de diacetilo en la primer fracción de 5 ml. del destilado.-

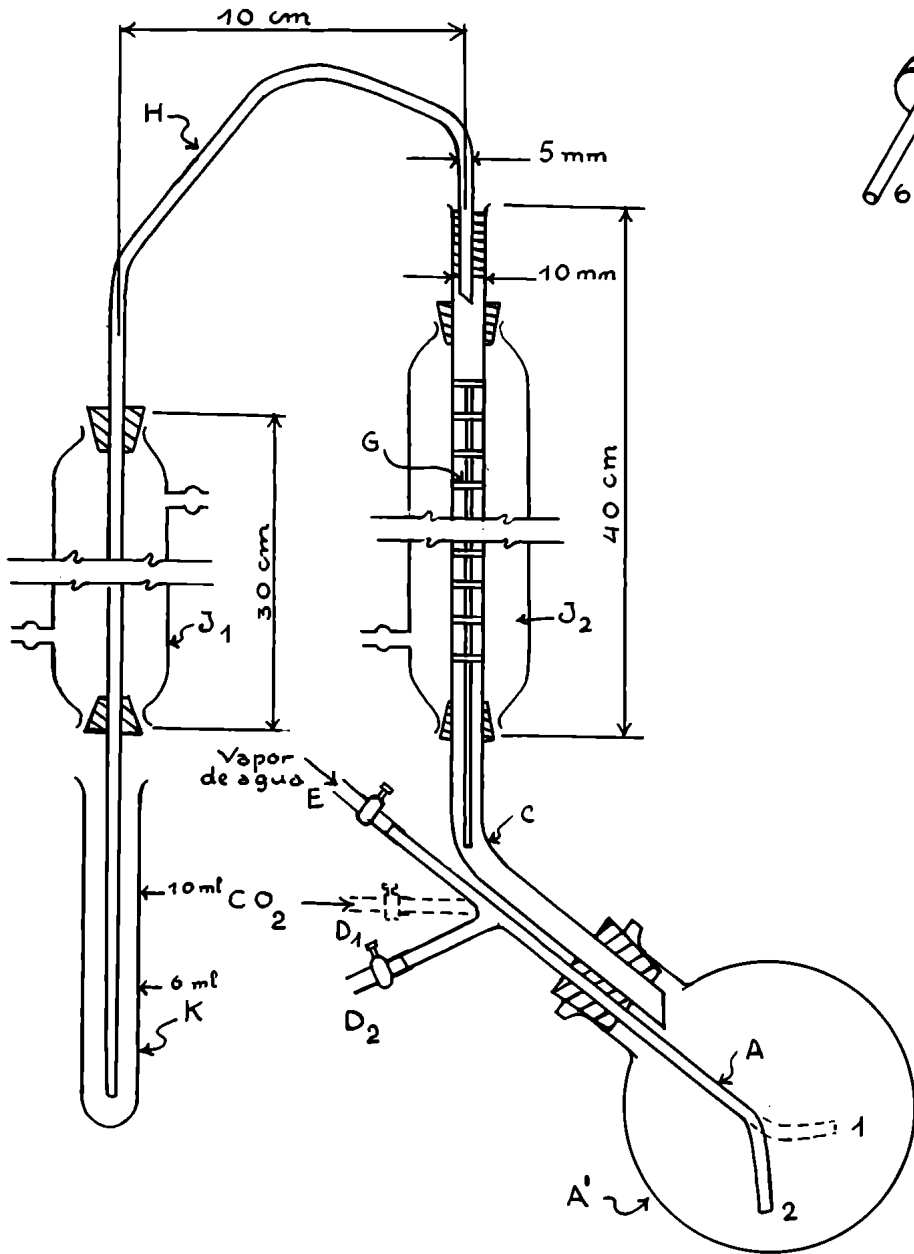
Probé también el dispositivo de J.Pien, J. Baisse y R.Martín (1).- El método elegido de Prill y Hammer, tiene sobre este dos ventajas: la..-Recoge el contenido total de diacetilo en la mitad de volumen y 2a. Mediante una corriente de anhídrido carbónico evita la posible oxidación del acetilmetilcarbínol a diacetilo, lo que daría naturalmente datos altos.-


El aparato de destilación, cuyo esquema va en hoja aparte, fue construido en vidrio pýrex y las conexiones hechas con tapones de goma sintética porque los de goma común absorben diacetilo.-

El tubo D es para la entrada del anhídrido carbónico y el tubo E para la introducción de vapor de agua.-

Estos tubos que se continúan en el tubo A pueden girar de tal manera, que el anhídrido carbónico y el vapor de agua pueden hacerse pasar sobre ó dentro de la muestra.-

El refrigerante J_1 funciona durante toda la operación, no así el refrigerante J_2 , que funciona sólo mientras la co-
(1).-Lait, 17, página 375-693 (1937).-



6  Detalle de la columna de fraccionamiento
Disco de vidrio con varilla adosada

luna actúa como condensador a reflujo y debe ser desagotado cuando aquella debe actuar como columna de fraccionamiento.-

La cantidad de muestra a emplear es de 100g., pudiendo en casos en que sea grande el tenor en diacetilo utilizar solamente la mitad (50 g.).-

Destilación.-

En el tubo receptor K que lleva dos marcas a los 6 y 10 ml., se introduce un ml. de acetato de hidroxilamina (reactivo a)).-

Con el tubo A en posición 1, mediante el tubo D se hace pasar una corriente débil de anhídrido carbónico en el aparato durante cinco minutos y luego se conecta E con la entrada de vapor de agua (tubo A siempre en posición 1), de modo que el vapor de agua pase sobre la muestra.-

Cuando en el tubo A comienza a condensarse el vapor de agua se gira lentamente a la posición 2.-

Una vez que el burbujeo indique que el anhídrido carbónico ha sido desplazado del balón, se desaloja el agua del refrigerante J₂.-

Entonces dicho refrigerante comienza a funcionar como columna rectificadora y se continúa la operación hasta tener en el tubo K 6 ml. de líquido, vale decir 5 ml. de destilado.-

Procedimiento para desarrollo y comparación colorimétrica.-

Los tubos conteniendo destilado mas acetato de hidroxilamina se calientan a 85°C en baño-maría por una hora, con

lo cual se asegura la formación completa de la dimetilglioxima.-

Para fijar el exceso de acetato de hidroxilamina se le añade un ml. de reactivo b) (acetona y fosfato dipotásico) y se calienta durante 5', también a 65°.-

Se saca del baño y se deja enfriar.-

Escala de comparación.-

Preparé una escala de comparación de 24 tubos del mismo diámetro que los empleados para la destilación y que lleven también dos marcas, a los 6 y 10 ml., respectivamente.-

Estos tubos contienen cantidades de dimetilglioxima correspondientes a : 0,001 - 0,002 - 0,003 - 0,004 - 0,005
0,006 - 0,007 - 0,008 - 0,009 - 0,01 - 0,02 - 0,03 - 0,04
0,05 - 0,06 - 0,07 - 0,08 - 0,09 - 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 -
0,5 - 0,6 mg. de diacetilo.-

Preparada la escala de comparación, se añade a estos y a los tubos provenientes de la destilación 0,3 ml. de amoníaco concentrado de densidad 0,9 y 2,2 ml. de reactivo d), es decir, de solución saturada de tartrato sódico-potásico ó bien 2,5 ml. de una mezcla de reactivos c) y d), preparada en el momento del uso, en la siguiente forma: a 100 ml. de la solución saturada de tartrato sódico-potásico a 35°C, añadir 12,5 ml. de amoníaco ($d = 0,9$).-

Se agitan los tubos y se agrega a cada uno de ellos 0,2 ml. de solución de sulfato ferroso al 5 % (reactivo e)),

mezclando inmediatamente el contenido de cada tubo por inversión.-

Agregando agua destilada se completa a 10 ml. el contenido de cada tubo.- Se espera 15' y se efectúa la comparación.-

Dicha comparación colorimétrica puede hacerse en forma directa, pero para las concentraciones mayores conviene usar colorímetro.-

Pruebas efectuadas con soluciones acuosas de diacetilo puro.-

Los primeros ensayos se hicieron con soluciones acuosas de diacetilo puro de densidad 0,97.-

Solución (a): 1,3 ml. de diacetilo se lleva a 1000, de modo que 1 ml. de la solución contiene 1 mg. de diacetilo.-

Solución (b): 10 ml. de la solución (a) se llevan a 100 ml. de tal manera que 1 ml. de la solución contiene 0,1 mg. de diacetilo.-

Solución (c): 10 cm³ de la solución (a) se llevan a 1000, de modo que esta solución contiene por ml. 0,01 mg. de diacetilo.-

Solución (d): un ml. de la solución (a) se lleva a 1000, de manera que esta contenga en cada ml. 0,001 mg. de diacetilo.-

Con dichas soluciones, directamente sin destilar se efectuaron numerosas pruebas, pudiendo comprobar que el procedimiento colorimétrico por formación del complejo dimetil-

glioximate ferroso amónico, resulta eficazísimo como micro-método para determinación de diacetilo.-

Tal como lo aseguran sus autores, Prill y Hammer, revela hasta 0,001 mg. de diacetilo y para concentraciones débiles la comparación colorimétrica es factible.-

Luego se hicieron ensayos destilando soluciones acuosas de diacetilo puro, para poner a prueba el aparato de destilación preconizado por Prill y Hammer.-

A este efecto destilé soluciones conteniendo en 50 ml. las siguientes cantidades de diacetilo puro: mg. 0,001 - 0,003 - 0,005 - 0,007 - 0,009 - 0,01, 0,02 - 0,03 - 0,04 - 0,05 - 0,06 - 0,07 - 0,08 - 0,09 - 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,5 - 0,6 - 0,7 - 0,8 - 0,9 y 1 mg.-

En cada uno de los ensayos se recogieron cuatro destilados de 5 ml. cada uno.-

Efectuada la comparación colorimétrica con las soluciones acuosas de diacetilo puro sin destilar se pudo constatar que tal como lo aseguran sus autores el aparato de destilación permite recoger íntegramente el diacetilo en la primera porción de 5 ml. de destilado.-

Pude comprobar sin embargo, que cuando la concentración de diacetilo es mayor que 0,5 mg., se consigue recoger 90 % del contenido en el primer destilado y 10 % en el segundo, lo que no quita eficacia al método desde que 1°: Se trata de concentraciones relativamente grandes y 2° Pueden recogerse dos

porciones de 5 ml. de destilado en lugar de uno, lo que no representa gran pérdida de tiempo.-

Comparación de la escala preparada con solución de diacetilo puro y la preparada con solución de dimetilglioxima.-

Los autores señalan dos tipos de series para la comparación colorimétrica: una preparada con solución acuosa de diacetilo y otra con solución de dimetilglioxima.-

Preparada la solución de dimetilglioxima, previa purificación de esta última, formé la escala de 24 tubos entre las concentraciones de mg. 0,001 y 0,4 y otra escala con solución de diacetilo puro con las mismas concentraciones.-

Observé así una completa correspondencia de colores por lo cual elegí, para el uso, la escala de dimetilglioxima, por dos razones: 1a.-Porque las soluciones acuosas de diacetilo son inestables y 2a. porque empleando la escala de dimetilglioxima se evita el calentamiento a baño-maría durante una hora a 85°C necesaria cuando se utiliza la escala de diacetilo para la formación completa de dimetilglioxima.-

Determinación de diacetilo en los productos de las distintas etapas de la fabricación de manteca.-

Por gentileza de los dirigentes de la sociedad anónima "La Vascongada" pude contar con las muestras necesarias para realizar un estudio de la variación de diacetilo en los productos de las distintas etapas de la fabricación de manteca.-

Se hicieron ensayos sobre cremas pasteurizadas, cremas con fermento láctico a distinto tiempo de maduración, sueros, mantecas en grano, aguas de lavado, etc..-

Los resultados obtenidos en cinco experiencias son los siguientes:

	<u>mg/lit</u>	<u>mg/lit</u>	<u>mg/lit</u>	<u>mg/lit</u>	<u>mg/lit</u>
Crema pasteurizada a 82°	0,2	0,5	0,4	0,5	0,5
Fermento	1,2	1,8	0,9	1,0	1,1
Crema cultivada de inmediato	1,0	1,5	0,8	0,7	0,8
Crema con 2 hs. de maduración	1,5	1,5	1,3	1,4	1,5
Crema con 4 hs. de madurac.	2,0	1,8	1,9	1,9	1,8
Crema antes del batido	2,5	2,0	2,1	2,0	2,2
Manteca en granos	0,45	0,2	0,3	0,25	0,25
Suero antes del lavado	2,0	2,9	2,9	2,8	2,1
Agua de lavado final	0,05	0,02	0,01	0,04	0,04
Manteca a término	0,55	0,22	0,22	0,23	0,21

En consecuencia podemos decir que el tenor en diacetilo aumenta a medida que se acidifica la crema durante el proceso de maduración.-

Una vez alcanzada la acidificación conveniente, la crema es sometida al "batido" lo que aumenta también el porcentaje de diacetilo.-

Se separa así la manteca en grano del suero ó "babeurre".-

Por la solubilidad del diacetilo en agua el suero ó babeurre concentra la mayor parte de dicho producto; en cam-

bio, la manteca en grano tiene, comparada con el suero, pequeña cantidad de diacetilo que disminuye aún mas por los lavados continuados a que se la somete.-

En la misma manteca a término, fundida a 40°C para separar la parte acuosa de la parte grasa, se encuentra en la fase acuosa mayor cantidad de diacetilo que en la fase grasa.-

Investigación de diacetilo en manteca.-

a) Mantecas de exportación.-

En las mantecas de exportación, cuyas muestras fueron suministradas por el Ministerio de Agricultura de la Nación, los resultados obtenidos son los siguientes:

<u>N° de Orden</u>	<u>N° de Muestra</u>	<u>Diacetilo por Kg. de muestra</u>
1	III - 812	0,2 mg.
2	VIII	0,3 "
3	V - 810	0,25 "
4	XI - 814	0,3 "
5	II - 818	0,5 "
6	XI - 918	0,23 "
7	I - 816	0,15 "
8	E 184-355	0,3 "
9	I - 820	0,045 "
10	I - 817	0,01 "
11	III - 824	0,035 "

<u>N° de Orden</u>	<u>N° de Muestra</u>	<u>Diacetilo por Kg. de muestra</u>
12	I - 819	0,32 mg.
13	II - 820	0,08 "
14	I - 826	0,07 "
15	III - 829	0,15 "
16	V - 830	0,24 "
17	I - 827	0,03 "
18	I - 831	0,61 "
19	II - 830	0,03 "
20	I - 840	0,08 "
21	II - 844	0,04 "
22	I - 835	0,2 "
23	II - 846	0,05 "
24	V - 845	0,01 "
25	VII - 837	0,09 "
26	I - 847	0,05 "
27	I - 836	0,02 "
28	I - 848	0,02 "
29	I - 842	0,12 "
30	I - 843	0,04 "
31	II - 841	0,135 "
32	VII - 1	0,07 "
33	II - 1	0,32 "
34	I - 850	0,05 "
35	I - 5	0,01 "

<u>N° de Orden</u>	<u>N° de Muestra</u>	<u>Diacetilo per Kg. de muestra</u>
36	I - 6	0,12 mg.
37	I - 7	0,26 "
38	I - 8	0,43 "
39	I - 9	0,05 "
40	I - 10	0,02 "
41	- - -	0,06 "
42	- - -	0,25 "
43	- - -	0,05 "
44	- - -	0,10 "
45	- - -	0,03 "
46	- - -	0,06 "
47	- - -	0,02 "
48	- - -	0,28 "

RESULTADO

<u>Diacetilo per Kg. de muestra</u>	<u>N° de Pruebas</u>	<u>% de Pruebas</u>
De vestig. á mg. 0,1	27	56,25
De 0,1 á 0,5 mg.	19	39,59
Más de 0,5 mg.	2	4,1
	<u>48</u>	<u>99,94</u>

Per consiguiente, las mantecas de exportación examinadas tienen todas dosis muy débiles de diacetilo: 56,25 % contienen menos de 0,1 mg. por kilogramo, 39,59 % entre 0,1 y 0,5 mg. por kilogramo y solamente se encontraron dos mues-

tras de las 46 estudiadas tenían 0,6 mg. por kilogramo de muestra.-

Contenido en diacetilo de las mantecas del comercio de la ciudad de Buenos Aires.-

Se examinaron la casi totalidad de las mantecas que se expenden en el comercio de la ciudad de Buenos Aires.-

Quedaron excluidas del examen, muy pocas, aquellas que materialmente fue imposible conseguir porque no se expenden al menudeo.-

Las marcas de mantecas examinadas son:

<u>MARCA</u>	<u>FABRICA</u>
Morocho	Mercedes 426
Rodríguez Gaete	Castilla F.C.Pacífico
Buenos Aires	Victoria 3234
El Martillo	Marcos Paz
El Chacho	Tres Sargentos 482
Tatay	F. Lacroze 3301
Cabaña Tandil	Araoz 265
Durham	Añasco 2756
La Reina	Ketán 4260
Gándara	Gándara F.C.Sud
San Sebastián	Araoz 265
Marre	Valentín Gómez 3227
La Piacentina	

MARCA

FABRICA

La Suiza	Corrientes 3527
Pura	Garay 642
Modelo	San José 1646
Swift	25 de Mayo 195
Santa Brígida	Granaderos 725
Toay	San José 1646
Carmen	Garay 642
La Vascongada	Cangallo 2768
La Capital	Valle 163
La Mastona	Rondeau 1557
Dayrico	Pedro Echagüe 1449
Tulipán	Uspallata 2034
B.F.B.	Chivilcoy - F.C.Oeste
La Tarquina	Valentín Gómez 3227
La Cumbre	Corrientes 3841

Los resultados obtenidos en las mantecas analizadas son los siguientes:

0,06 mg.	0,095 mg.	0,02 mg.
0,04 "	0,65 "	0,05 "
1,6 "	0,23 "	0,11 "
0,69 "	0,92 "	0,82 "
0,64 "	0,29 "	0,003 "
0,08 "	0,02 "	0,02 "

0,05 mg.	0,15 mg.	0,05 mg.
0,12 "	0,3 "	0,248 "
0,9 "	0,65 "	0,125 "
0,07 "	0,92 "	0,03 "

Los resultados corresponden a miligramos de diacetilo por kilogramo de manteca.-

El orden de los datos consignados no corresponde al de la nómina precedente de marcas de manteca.-

Resumen de los resultados obtenidos.-

<u>Diacetilo por</u> <u>Kg. de muestra</u>	<u>N° de</u> <u>Muestras</u>	<u>g</u>	
Vestigios á 0,05 mg.	8	28,66	} 69,98
De 0,06 á 0,1	5	16,66	
De 0,11 á 0,5	8	26,66	
De 0,6 á 1 mg.	8	26,66	
Más de 1 mg.	1	3,33	
	<u>30</u>	<u>99,97</u>	

El estudio de las mantecas de la ciudad de Buenos Aires, en lo que se refiere al contenido de diacetilo, permite llegar a la conclusión de que encierran cantidades muy débiles de diacetilo y aunque ninguna de las examinadas se encontró rigurosamente desprovista del mismo, el 70 % contienen cantidades menores de 0,5 mg. por kilogramo.-

Comparación de los datos obtenidos con los de mantecas extranjeras .-

Hans Schmalfussiy Helene Barthmeyer en el año 1932 encontraron que el contenido de diacetilo en mantecas examinadas era de mg. 0,1 á 0,6 por kilogramo.- (1).-

Mohler y Herzfeld, en 1935, dieron como resultado de sus experiencias que la manteca de aroma normal contiene 0,0002 á 0,0004 % de diacetilo.- (2).-

W. L. Davies en 1933 encontró que el contenido de diacetilo en manteca era de 0,05 a 0,5 e/oo.- (3).-

Jean Pien, Jacques Baisse y Robert Martin (4) mediante un método colorimétrico que se basa en la reacción del diacetilo con la diamina bencidina estudiaron en el año 1937 el contenido de diacetilo en muestras de mantecas francesas, llegando a los siguientes resultados:

Menos de 0,1 mg. por Kg..... 42 %

De 0,1 á 0,5 mg. por Kg..... 47 %

De 0,5 á 1 mg. por Kg..... 11 %

Ch. Broux y Jouis estudiaron las mantecas normandas por el método colorimétrico de Pien, Baisse y Martin obteniendo los resultados siguientes (5):

(1).- Z. Untersuch-Lebensm.-63, 233-255 (1932).-Cita de Ch. Abst. Año 1933.-

(2).- Mitt Lebensm Hyg - 28, 34-41, (1935).-Cita Ch. abstr. 925-

(3).- Food Manuf. 8, 346-348 -(1933)

(4).- Le Lait.- 17, 675-698, (1937).-

(5).- Comp. Rend., 205, 526-528, (1937).-

Menos de 0,05 mg. por Kg... ..	20 %
De 0,06 á 0,1 mg. por Kg.....	15 %
De 0,11 á 0,5 mg. por Kg.....	50 %
De 0,51 á 1 mg. por Kg.....	15 %
De 1,1 á 1,5 mg. por Kg.....	7 %
De 1,5 á 2,5 mg. por Kg.....	0,8 %

Comparando los resultados obtenidos en el extranjero con los de las experiencias realizadas con mantecas que consume la población de la ciudad de Buenos Aires se constata que no existe diferencia apreciable en cuanto a la cantidad de diacetilo.-

BIBLIOGRAFIA

- 1.- TESTONI GIUSEPPE y WALTER CIUSA.-
1931.- Dosamento del diacetile nel burro.- Ann. chim. applicata, 21, páginas 147-150.-
 - 2.- HAMMER B.W.
1931.- Importance of acetyl methyl carbinol and diacetyl in butter culture.- Iowa.- Agr. Expt. Sta. Ann., Rept. 57.-
 - 3.- TESTONI GIUSEPPE y WALTER CIUSA.-
1932.- The origen of diacetyl in butter.- Ann. chim. applicata, 22, páginas 44-48.-
 - 4.- SCHMALFUSS HANS y HELENE BARTHMEYER.-
1932.- Detection of diacetyl and acetyl methyl carbinol in foodstuffs.- Z. Untersuch Lebensm 63, Pág. 283-288.-
 - 5.- TAPERNAUX A.
1932.- Diacetyl the odor of butter and of margarine.- Lait 12, páginas 1043-1055.-
 - 6.- MICHAELIAN M.B., R.S. FARMER y B.W. HAMMER.-
1933.- Relationship of acetylmethylcarbinol and diacetyl to butter cultures.- Iowa Agr. Exp. Sta. Research Bull. 155, páginas 325-360.-
 - 7.- MOHLER HERM. y FELIX ALMACY.-
1934.- Spectrophotometric detection of diacetyl.- Z. Anal. Chem. 96, páginas 399-400.-
 - 8.- BARNICOAT C.R.-
1935.- The determination of diacetyl and acetylmethylcarbinol.- Analyst, 60, páginas 658-662.-
 - 9.- TESTONI G. y W. CIUSA.-
1935.- Diacetyl in butter.- Ann. Chim. Applicata 25, páginas 39-41.-
 - 10.- MICHAELIAN M.B. y HAMMER B.W.-
1935.- Studies on acetylmethylcarbinol and diacetyl in dairy products.- Iowa.- Agr. Exp. Sta. Research Bull., 179, páginas 203-227.-
-

- 11.- PIEN J., BAISSSE J. y MARTIN R..-
1936.- Contribution a l'étude du diacétile.- Lait, 16,
páginas 119-138 y 243-255.-
- 12.- DAVIES W.L..-
1936.- Flavor and aroma of butter.- Dairy Ind. 1, Pág.
165-167.-
- 13.- SLATTER WALTER L..-
1936.- Changes in the acetylmethylcarbinol plus biacetyl
content of butter.- Natl Butter and Chesse, 27 N°
20, 20-4; N° 21, 18-26.-
- 14.- PIEN J., J.BAISSSE y R. MARTIN..-
1937.- Le dosage du diacetyl dans les beurres.- Lait 17,
páginas 675-698.-
- 15.- PIEN J., J.BAISSSE y R.MARTIN.-
1937.- The détermination of the diacetyl in butter.-Me-
thod of exact investigation.-Lait 17,Pág.675.-
- 16.- DEHORE R. y L. DESSIRIER.-
1937.- The determination of diacetyl in butter.- Ann.
Fals. 30, páginas 288-291.-
- 17.- BROUX CH. y JOUIS.-
1937.- Diacetilo en mantecas normandas.- Comp. Rend.205,
páginas 526-528.-
- 18.- MOHR
1937.- Traitement et transformation du lait, amélio-
ration de la qualité.- Arome du beurre.- Lait 18,
páginas 743-758.-
- 19.- PRILL E.A. y B.W.HAMMER.-
1938.- A colorimetric method for the determination of
diacetyl.- Iowa. Sta. College Journal of Scien-
ce, páginas 385-395.-

