

Determinación espectrofotométrica de sacarina y ciclamato por formación y extracción de compuestos de asociación iónica con colorantes básicos

I. López García, C. Sánchez-Pedreño y F. Contreras Contreras
Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias (Químicas y Matemáticas), Universidad
de Murcia

Recibido: 17-7-86
Aceptado: 20-1-87

Spectrophotometric determination of saccharin and cyclamate with basic dyes by ion-pairs solvent-extraction methods

Summary. In a slightly acidic medium (sodium acetate-acetic acid buffer), pH 3.6 and 4.2 both saccharin with Acridine Orange and cyclamate with Nile Blue form ion-association compounds which are extractable into methyl isobutyl ketone-cyclohexanone mixtures, 3:2 and 4:1 (v/v), respectively and allow their spectrophotometric determination. At 492 nm Beer's law is obeyed over the saccharin concentration range $0.5\text{--}5\ \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ in the aqueous phase and the apparent molar absorptivity is $7.6 \times 10^4\ \text{l}\cdot\text{mole}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. On the other hand, at 632 nm Beer's law is obeyed over the cyclamate concentration range $2\text{--}30\ \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ and the molar absorptivity is $6.6 \times 10^3\ \text{l}\cdot\text{mole}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. The methods show good selectivity and have been applied to the determination of saccharin and cyclamate in artificial sweeteners, pharmaceutical products and chewing gums.

Keywords: Saccharin, cyclamate, spectrophotometric determination, basic dyes.

INTRODUCCIÓN

Como es conocido, el uso de sacarina y ciclamato como agentes edulcorantes está sumamente extendido; así, en bebidas refrescantes constituyen aproximadamente el 70% de los edulcorantes sintéticos empleados. Aunque parece comprobado que la ingestión de sacarina y ciclamato a dosis normales (30-300 mg diarios) no es peligrosa, un cierto riesgo potencial a dosis elevadas ha llevado a varios países a establecer una legislación sobre el tema regulando su consumo en la industria, por lo que el análisis de estas sustancias en diferentes muestras es un problema de gran actualidad.

La identificación de sacarina y ciclamato aisladamente, o

en mezclas, se realiza generalmente por métodos cromatográficos en capa fina de celulosa, sílice o alúmina (1-6). Para su determinación se emplean procedimientos gravimétricos (7, 8), métodos volumétricos ácido-base (9) y de precipitación (10), así como el empleo de técnicas cromatográficas de gases (11-14) y líquida de alta resolución (15-19), métodos electroquímicos (20, 21) y espectrofotométricos (22-25), entre otros.

Una interesante alternativa dentro de los métodos espectrofotométricos la presenta la formación y extracción de compuestos de asociación iónica entre sacarina y ciclamato con las formas protonadas de colorantes básicos. En estos casos y utilizando instrumentos sencillos como un embudo

de decantación y un espectrofotómetro, es posible determinar estas especies con gran sensibilidad debido a las elevadas absorptividades molares de los colorantes básicos integrados en el par iónico.

Dentro de esta línea se encuentra en la bibliografía la determinación de sacarina con los colorantes básicos Azur A, B y C (26-28), Safranina T (27), Rojo Neutro (29), Azul de metileno (30), Fuschina (31), Azul Nilo (32) y Astrazona FG (33). La determinación de ciclamato por formación de pares iónicos ha recibido menor atención, probablemente como consecuencia de las bajas constantes de formación de los compuestos de asociación iónica que origina con colorantes básicos. Se ha propuesto el empleo de Azul de metileno (30) y Azur A (26).

En este trabajo se efectúa un amplio estudio acerca de los extractantes, colorantes más convenientes y condiciones experimentales idóneas para la determinación de sacarina y ciclamato aisladamente y mezclados, proponiéndose nuevos métodos para la determinación de estas especies en diferentes colorantes artificiales, productos farmacéuticos y chicles.

PARTE EXPERIMENTAL

APARATOS

Para las medidas de absorbancia y el registro de las curvas espectrales se han empleado los espectrofotómetros PYE UNICAM SP8-100 y PERKIN-ELMER 550 SE con cubetas de 1 cm. Las medidas de pH se realizaron con un medidor RADIOMETER PHM63.

DISOLUCIONES

Disolución de sacarina de 1 g l^{-1} preparada a partir de la sal sódica.

Disolución de ciclamato de 1 g l^{-1} preparada a partir de la sal sódica.

Disolución acuosa de anaranjado de acridina 10^{-3} M , preparada por pesada de 0'0754 g de cloruro de 3'6-bis-(dimetilamino)-acridina (I.C. 46005) que se disuelven en agua bidestilada hasta un volumen de 250 ml. La eliminación del cloruro se realiza por precipitación con Ag_2SO_4 .

Disolución de azul Nilo 10^{-3} M , preparada por pesada de 0'1038 g del sulfato ácido de 5-amino-9-dietilamino-benzo(a)fenazoxonio (Basic Blue 12, I.C. 51180) que se disuelven en agua bidestilada hasta un volumen de 250 ml.

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE SACARINA

En embudos de decantación de 50 ml se miden volúmenes de muestra de sacarina que contenga entre 5-50 μg hasta un máximo de 7 ml. Se añade 1 ml de reguladora acetato-acético $0'1 \text{ M}$ de pH 3'6, 1 ml de disolución saturada de K_2SO_4 , 1 ml de anaranjado de acridina 10^{-3} M y se completa con agua

bidestilada hasta 10 ml. A continuación se añaden 5 ml de la mezcla metilisobutilcetona (MIBC): ciclohexanona (CH), 3:2 (v/v) y se agita vigorosamente durante 2 minutos. Tras dejar separar las fases se despreja la porción acuosa y se recoge la orgánica en un tubo cónico donde se centrifuga para eliminar la turbidez debida a las gotas de agua que quedan en suspensión. Se mide la absorbancia a 492 nm utilizando como referencia una muestra sometida al mismo tratamiento pero exenta de sacarina.

La recta de calibrado se prepara con diferentes volúmenes de la disolución patrón de sacarina tratada de la misma manera.

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE CICLAMATO

Se procede de forma similar al caso anterior. A la muestra conteniendo entre 25-300 μg de ciclamato se añade 1 ml de disolución reguladora acetato-acético de pH 4'2, 1 ml de disolución saturada de K_2SO_4 y 1 ml de azul Nilo 10^{-3} M llevando el volumen a 10 ml con agua bidestilada si es necesario. Se mezcla y añade 5 ml de la mezcla MIBC:CH 4:1 (v/v) y se agita durante 2 minutos. Se dejan separar las fases y se despreja la fracción acuosa. La capa orgánica se transfiere a un tubo cónico y se centrifuga. Se mide la absorbancia a 632 nm, frente a un ensayo en blanco realizado en las mismas condiciones pero exento de ciclamato.

SEPARACIÓN DE LA SACARINA POR EXTRACCIÓN EN MEDIO ÁCIDO. PROCEDIMIENTO 1

En embudos de decantación de 50 ml se colocan hasta 10 ml de muestra que contienen 5-50 μg de sacarina. Se añade 1 ml de H_2SO_4 1 N y 9 ml de disolución saturada de K_2SO_4 . Se agita con 5 ml de MIBC: CH 3:2, v/v, durante 2 minutos. Tras dejar separar las fases se despreja la fracción acuosa. Se añade 1 ml de la disolución de anaranjado de acridina, 1 ml de reguladora de pH 3'6 y 9 ml de agua. Se agita durante 2 minutos. Después de separar se procede como anteriormente.

SEPARACIÓN PREVIA DE INTERFERENCIAS EN MEDIO NEUTRO. PROCEDIMIENTO 2

Se transfieren hasta 5 ml de disolución que contiene sacarina a un embudo de decantación de 50 ml y se añade 10 ml de disolución saturada de K_2SO_4 . Se extrae con 5 ml de MIBC durante 2 minutos y tras dejar separar las fases se transfiere la fase acuosa, donde se encuentra la sacarina aislada, a otro embudo de separación y se aplica el procedimiento 1.

SEPARACIÓN DE SACARINA Y CICLAMATO POR CROMATOGRFÍA DE CAPA FINA

Se divide una lámina de sílice F254 de $20 \times 20 \text{ cm}$ en 6 tiras

de igual dimensión, que se numeran, y se colocan 40 µl de sacarina de 5 g·l⁻¹ en la tira 1. Se procede de igual forma en la fila 2 con 40 µl de ciclamato de 50 g·l⁻¹. En las tiras 3, 4, 5 y 6 se coloca una cantidad constante de muestra a analizar y cantidades crecientes de sacarina y ciclamato en 4, 5 y 6 de modo que se pueda aplicar el método de adición estándar.

Se desarrolla con la mezcla acetona:acetato de etilo:amoniaco al 25% (8:1:1). Se procede al corte de las dos primeras tiras y se pulveriza con una disolución de rojo de metilo al 0'1% en etanol. Se seca durante 10 minutos en estufa a 100 °C. Las bandas correspondientes a la sacarina y ciclamato aparecen teñidas de color rosa sobre fondo amarillo. Estas tiras se utilizan como patrón para cortar las zonas de las otras correspondientes a estas especies.

Se raspa el polvo de sílice de cada fracción y se recoge en un vaso, añadiendo 15 ml de agua y agitando durante 5 minutos. Filtrar y enrasar a 25 ml. Sacarina y ciclamato se encuentran ahora en disolución y puede realizarse la determinación por cualquiera de los procedimientos propuestos.

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE SACARINA EN EDULCORANTES

Se pesan con exactitud 10 tabletas, que se pulverizan en mortero. Se coloca una cantidad adecuada del polvo conteniendo aproximadamente 0'1 g de sacarina en un matraz aforado de 100 ml. Se disuelve con agua y enrasa. 5 ml de esta disolución se diluyen hasta un volumen adecuado con agua. Se toman alícuotas de 1 ml y aplica el procedimiento propuesto.

Para la determinación en edulcorantes líquidos se toma 1 ml de la muestra y se diluye convenientemente en matraz aforado. Se aplica el procedimiento propuesto a alícuotas de esta disolución.

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE SACARINA EN CHICLES

Se pesan 5 tabletas y se trocean hasta un tamaño reducido. Se coloca una cantidad adecuada en un vaso de precipitados y agita con agua caliente durante 30 minutos. La sacarina pasa a la disolución acuosa. Se filtra y enrasa a 50 ml en matraz aforado. Se toman alícuotas de 1 ml y se aplica el procedimiento propuesto.

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE SACARINA EN PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

Se pulveriza y filtra una cantidad adecuada de muestra y se disuelve, o diluye (caso de ser líquido), con agua hasta 50 ml. Se toman alícuotas de 1 ml y se aplica el procedimiento propuesto. En aquellos casos en donde están presentes sustancias interferentes es necesario realizar la separación de la sacarina por cromatografía de capa fina.

PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CICLAMATO EN EDULCORANTES

Se procede con la separación por cromatografía si el producto contiene también sacarina. En caso contrario, se aplica directamente el procedimiento propuesto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sacarina y ciclamato se encuentran en forma aniónica en medios neutros o débilmente ácidos y son susceptibles de asociarse a colorantes básicos para formar compuestos de

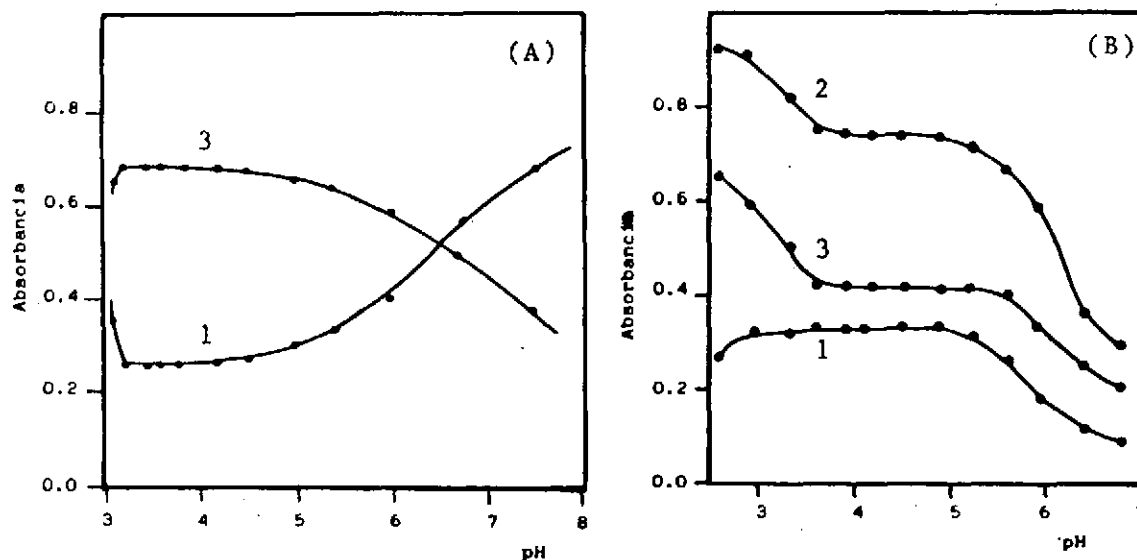


FIGURA 1. Influencia del pH en la determinación de sacarina (A) y ciclamato (B). 1) Ensayo en blanco (referencia agua); 2) En presencia de 32 µg de sacarina (A) y 100 µg de ciclamato (B) (referencia agua); 3) Como 2 pero con ensayo en blanco como referencia.

asociación iónica extraíbles en disolventes orgánicos. Su determinación espectrofotométrica en la fase orgánica resulta muy sensible debido a la alta absorptividad molar del colorante. Con un adecuado estudio de las condiciones experimentales y selección del extractante se puede lograr una buena selectividad.

Se ensayaron distintos colorantes básicos encontrándose buenos resultados con el empleo de anaranjado de acridina para sacarina y azul Nilo en el caso de ciclamato. No fue posible conseguir simultáneamente elevados porcentajes de extracción y bajos valores para el ensayo en blanco con el empleo de diversos disolventes orgánicos puros por lo que se hubo de recurrir al empleo de mezclas de ellos de las que las formadas por metilisobutilcetona (MIBC) y ciclohexanona (CH) condujeron a los mejores resultados. Los extractos orgánicos presentan máximos de absorción a 492 nm para el par iónico sacarina-anaranjado de acridina y 632 nm para ciclamato-azul Nilo.

INFLUENCIA DE LA ACIDEZ

Se ha estudiado el efecto del pH del medio en la formación y extracción de los pares iónicos objeto de estos estudios, comparándolos con el ensayo en blanco. En el intervalo de pH comprendido entre 3'2 y 5'8 se ha utilizado la reguladora acetato-acético y para pH comprendidos entre 6 y 8 una reguladora fosfatada. La figura 1 muestra los resultados obtenidos para sacarina (A) y ciclamato (B). Se consiguen absorbancias máximas y constantes a pH 3'2-4'6 y 3'5-4'8, para sacarina y ciclamato, respectivamente. Valores de pH inferiores provocan la disminución de la concentración de edulcorante en su forma aniónica por protonación a la vez que aumenta la absorbancia del blanco, pH superiores a los se-

ñalados provocan el paso de los colorantes a especies neutras no formadoras de pares iónicos.

Se han seleccionado como valores más adecuados los de pH 3'6 y 4'2 para sacarina y ciclamato, respectivamente.

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE COLORANTE

La figura 2 muestra la influencia que la concentración de anaranjado de acridina (A) y azul nilo (B) tienen en los valores de absorbancia de los extractos orgánicos de los pares iónicos con sacarina y ciclamato.

Como puede apreciarse, a partir de concentraciones 8×10^{-5} M y $1'3 \times 10^{-4}$ M en los respectivos colorantes se alcanzan valores de absorbancia máximos y constantes. Se han seleccionado valores 10^{-4} y $1'5 \times 10^{-4}$ M para anaranjado de acridina y azul nilo, respectivamente.

INFLUENCIA DE LA COMPOSICIÓN DEL EXTRACTANTE

Para conseguir la extracción de los compuestos de asociación iónica con porcentajes de extracción altos se ensayaron varios disolventes orgánicos. Dada la moderada constante de formación de los pares iónicos se probaron extractantes polares y de elevadas constantes dieléctricas. Sin embargo, hubo de recurrirse al empleo de mezclas de extractantes con aquéllas características, encontrándose los mejores resultados con la mezcla MIBC y CH.

La figura 3 muestra los resultados obtenidos cuando se extraen muestras que contienen 23 μ g de sacarina (A) y 250 μ g de ciclamato (B) con 5 ml de fase orgánica formada por

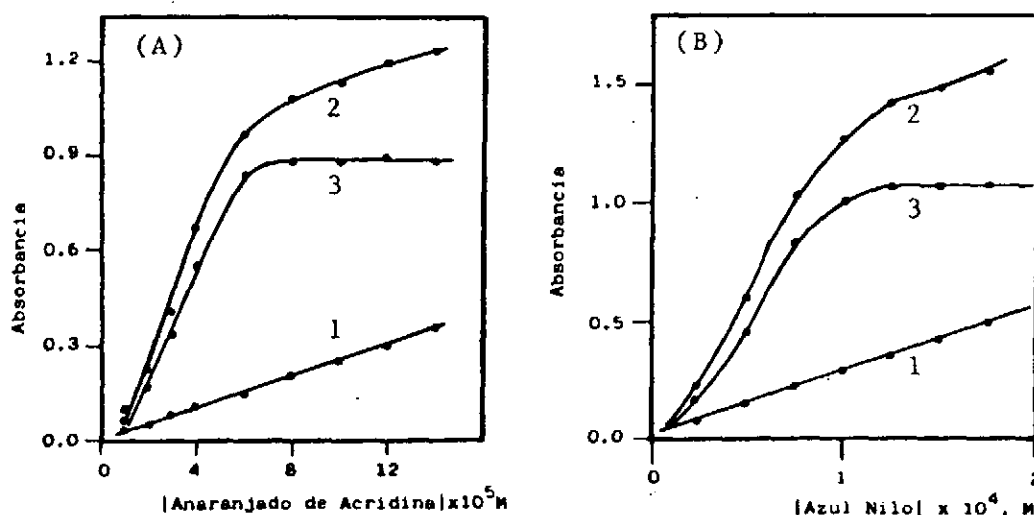


FIGURA 2. Influencia de la concentración de colorante en la determinación de sacarina (A) y ciclamato (B). 1) Ensayo en blanco (referencia agua); 2) En presencia de 30 μ g de sacarina (A) y 250 μ g de ciclamato (B) (referencia agua); 3) Como 2 pero con ensayo en blanco como referencia.

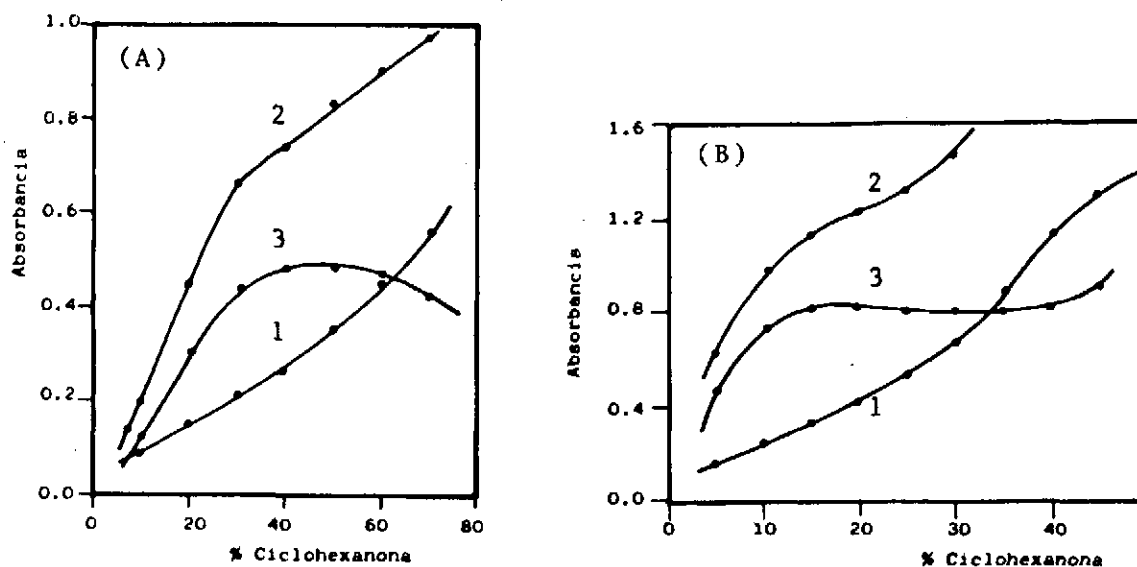


FIGURA 3. Influencia del contenido en ciclohexanona en la mezcla orgánica utilizada como extractante en la determinación de sacarina (A) y ciclamato (B). 1. Ensayo en blanco; 2. En presencia de 23 μg de sacarina (A) y 200 μg de ciclamato (B) (referencia agua); 3. Como 2 pero con ensayo en blanco como referencia.

una mezcla de CH y MIBC en diferentes proporciones. Como puede observarse, una composición del 40 y 20% en CH para sacarina y ciclamato, respectivamente, aportan la máxima extracción del par iónico y pequeño valor de absorbancia para el ensayo en blanco.

La relación de volúmenes de fase acuosa a orgánica adecuada resultó ser en ambos casos la 2/1.

INFLUENCIA DE OTRAS VARIABLES. ESTEQUIOMETRÍA

Se ha comprobado que, tanto en el caso de ciclamato como de sacarina, son suficientes tiempos de contacto de los reaccionantes de 30 segundos y agitación de 2 minutos para conseguir valores de absorbancia máximos y constantes.

Para establecer la estequiometría de los pares iónicos extraídos se aplicó el método de las variaciones continuas (34). Los resultados obtenidos indican una relación 1:1 de edulcorante a colorante básico en ambos casos.

GRÁFICAS DE CALIBRADO. SENSIBILIDAD Y PRECISIÓN

En las condiciones experimentales recomendadas se obtiene linealidad entre la absorbancia y la concentración de sacarina entre 0'5-5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ en fase acuosa, la absorptividad molar aparente resultó ser de $7'6 \times 10^4 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ y el índice de sensibilidad de Sandell de $2'7 \times 10^{-3} \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. Para el caso del ciclamato se observa comportamiento lineal entre 2-30 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ en fase acuosa con una absorptividad molar de

$6'6 \times 10^3 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, y un índice de sensibilidad de Sandell de $3'04 \times 10^{-2} \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$.

Las desviaciones estándar relativas obtenidas para 1'0 y 3'0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de sacarina (10 determinaciones) fueron $\pm 2'1$ y $\pm 1'6\%$, y para 10 y 30 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de ciclamato $\pm 1'9$ y $\pm 1'5\%$, respectivamente.

EFEECTO DE OTRAS ESPECIES

Se ha efectuado un amplio estudio sobre el efecto de la presencia de diversas especies en la determinación espectrofotométrica de sacarina y ciclamato que se propone. En la tabla 1 se detallan los resultados obtenidos. Se considera una especie como interferente cuando se producen variaciones en la absorbancia superiores al $\pm 3\%$.

La selectividad puede aumentarse mediante una separación previa de la sacarina por extracción con la mezcla orgánica en medio 0'1 N en H_2SO_4 . Con este procedimiento los límites de tolerancia de ciclamato y ácido sórbico aumentan considerablemente. Sin embargo, el dodecil sulfato sódico y el ácido acetil salicílico interfieren. Ello puede evitarse si la muestra es tratada según se detalla en la Parte Experimental con un exceso de sulfato potásico y es extraída a pH 3'6 con la mezcla MIBC-CH. Ambos interferentes pasan a la fase orgánica y la sacarina permanece en la fase acuosa.

Cuando se trata de la determinación de ciclamato, los dos procedimientos presentados también ofrecen ventajas, pues sólo la sacarina interfiere. Dado que el mayor interés en muestras reales reside en la determinación de ciclamato en presencia de sacarina, es necesaria la puesta a punto de un método de separación eficaz y rápido de ambos compuestos.

TABLA 1
Efecto de diversas especies en la determinación de 20 µg de sacarina* y 100 µg de ciclamato**

Especie añadida	Límite de tolerancia, µg		
	Sin tratamiento	Proc. 1	Proc. 2
Maltosa, fructosa, lactosa, sacarosa, glucosa, almidón, galactosa, talco	10000*/1000**	—/—	—/—
Ác. ascórbico, goma arábiga	10000/500	—/800	—/—
Caféina, ác. tartárico	1000/200	—/—	—/—
Ác. cítrico	100/10	1000/100	—/—
Carbonato	100/10	1000/500	—/—
Ác. benzóico	10/1	500/100	—/—
Ác. sórbico	50/1	100/—	—/—
Ác. salicílico	1/1	10/3	500/100
Ác. acetilsalicílico	1/1	5/1	100/50
Dodecil sulfato sódico	1/1	5/1	100/10
Sacarina	—/1	—/2	—/—
Ciclamato	5/—	100/—	—/—

* Máxima cantidad estudiada en la determinación de sacarina.

** Máxima cantidad estudiada en la determinación de ciclamato.

TABLA 2
Recuperación de sacarina y ciclamato por cromatografía de capa fina

Añadido, mg		Recuperado*, mg		Recuperación, %	
Sacarina	Ciclamato	Sacarina	Ciclamato	Sacarina	Ciclamato
0'2	20'0	0'19	20'7	95	103'5
0'2	200'0	0'18	200'9	90	100'4
1'0	10'0	1'05	9'5	105	95'0
10'0	10'0	9'97	9'7	97	97'0
100'0	10'0	100'60	10'2	102	102'0
				% = 97'8	99'6

* Promedio de tres determinaciones.

La cromatografía de capa fina nos ha conducido a buenos resultados. Con esta técnica se consigue una separación prácticamente cuantitativa incluso para relaciones molares sacarina/ciclamato de 100/1, lo que se pone de manifiesto en la tabla 2.

APLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO PROPUESTO A LA DETERMINACIÓN DE SACARINA Y CICLAMATO EN DIFERENTES MUESTRAS

La utilidad práctica de los métodos espectrofotométricos que proponemos ha sido comprobada mediante su aplicación a la determinación de sacarina en edulcorantes artificiales, productos farmacéuticos y gomas masticables y de ciclamato en edulcorantes artificiales en los que se encuentra mezclado con sacarina.

En el caso de la determinación de sacarina en edulcorantes artificiales, tanto líquidos como en comprimidos, es posible

la determinación directa por el procedimiento propuesto. En aquellas muestras donde simultáneamente se encuentran sacarina y ciclamato es necesaria una separación previa de la sacarina por extracción en medio ácido como se indica en la Parte Experimental. Este procedimiento permite la determinación de sacarina en presencia de un exceso de ciclamato 100 veces superior, caso que no se presenta en muestras reales donde se encuentra en relaciones no superiores a 10:1 (ciclamato:sacarina). La tabla 3 presenta los resultados obtenidos.

La tabla 4 muestra los resultados obtenidos en el análisis de sacarina en chicles. Se observa que resultan concordantes con aquellos que se obtienen en la determinación de sacarina por un método existente en la bibliografía (25).

En el caso de productos farmacéuticos complejos generalmente es necesaria la separación previa de la sacarina por cromatografía en capa fina siguiendo el procedimiento ya propuesto. En productos farmacéuticos de composición sencilla, y después de un examen de los posibles interferen-

TABLA 3
Determinación de sacarina en edulcorantes artificiales

Muestra	Contenido en sacarina, mg/tableta o g/l	
	Certificado	Encontrado*
Tabletas A	5	4'95
B	15	14'6
C	25	25'3
D	30	30'2
Líquidos A	12	11'8
B	226'8	228'0
C	125	125'7
D	15	15'6

* Valor promedio de tres determinaciones.

TABLA 4
Determinación de sacarina en goma de mascar

Muestra	Contenido en sacarina, mg/g	
	Proc. propuesto	Proc. (25)
A	0'26	0'25
B	0'82	0'83
C	0'12	0'124

* Promedio de tres determinaciones.

TABLA 5
Determinación de sacarina en productos farmacéuticos

Muestra	Contenido en sacarina, mg/tableta o g/l	
	Certificado	Encontrado*
Tabletas A	0'25	0'245 ⁺
B	3'00	3'02
C	2'5	2'48 ⁺
Jarabes A	2'3	2'3 ⁺
B	1'5	1'48
C	1'0	1'03

* Promedio de tres determinaciones.

⁺ Previa separación por cromatografía de capa fina.

TABLA 6
Determinación de ciclamato de edulcorantes artificiales

Muestra	Composición, mg/tableta o g/l		Ciclamato encontrado*
	Ciclamato	Sacarina	
Tabletas 1	125	—	123'1
2	50	5	49'2
Líquidos 1	125	125	126'7
2	120	12	119'3
3	226'8	—	227

* Promedio de tres determinaciones.

tes, la determinación de sacarina puede realizarse directamente. La tabla 5 presenta los resultados obtenidos para el análisis en productos farmacéuticos, tanto por el método directo, como previa separación por cromatografía de capa fina.

Haciendo uso del procedimiento de separación comentado y por aplicación del método propuesto se ha determinado el contenido en ciclamato de edulcorantes artificiales en presencia de sacarina en distintas proporciones. Los resultados obtenidos aparecen en la tabla 6. En aquellos edulcorantes en donde el ciclamato es el único agente edulzante, el procedimiento de separación no es necesario y la determinación se realiza de forma directa.

BIBLIOGRAFÍA

- NORDIC COMMITTEE ON FOOD ANALYSIS: *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.*, **179**, 453 (1984).
- PIEKACZ, H. y KISS, E.: *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.*, **34**, 285 (1983).
- KINZO, N.; HISAE, Y. y KUMIKO, A. J.: *J. Chromatog.*, **52**, 173 (1970).
- DAS, D. K.; MATHEW, T. V. y MITRA, S. N.: *J. Chromatog.*, **52**, 354 (1970).
- LEMIESZEK-CHODOROWSKA, K.: *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.*, **29**, 271 (1978).
- RYMON, L. G. y BRIXIUS, H. C.: *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.*, **168**, 212 (1979).
- MARKUS, J. R.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **56**, 162 (1973).
- «Off. Metds. Anal.», *Assoc. Off. Anal. Chem.*, 30 Ed., 348 (1980).
- RAO, M. V.; KRISHNAMACHARYULU, A. G.; KAPUR, O. P. y SASTRY, C. S. P.: *J. Food. Sci. Technol.*, **20**, 202 (1983).
- AMER, M. M.; MAROUN, I. A.; WALASH, M. I. y ASHOUR, F. M.: *Pharmazie*, **33**, 435 (1978).
- DOU, J.; LIU, Y. y CAO, G.: *Shipin Yu Fajiao Gongye*, **3**, 18 (1983).
- KURODA, H. y MIYOSHI, T.: *Eiyo to Shokuryo*, **33**, 407 (1980).
- YAMAMOTO, M.; OCHIALI, N.; ISHIKAWA, M.; WATANABE, T.; MASUI, T.; NARITA, M. y KIMURA, S.: *Shizuokaken Eisei Kenkyusho Hokoku*, **22**, 81 (1979).
- HARTIUG, P.; GYLLENHAAL, O. y HAMMARHUND, M.: *J. Chromatog.*, **151**, 232 (1978).
- ARGOUDELIS, C. J.: *J. Chromatog.*, **303**, 256 (1984).
- TYLES, T. A.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **67**, 745 (1984).
- HENNING, W.: *Dtsch. Lebensm. Rundsch.*, **79**, 16 (1973).
- WEYLAND, J. W.; ROLINK, H. y DOORNBOOS, P. A.: *J. Chromatog.*, **247**, 221 (1982).
- KITADA, Y.; TAMASE, K.; SASAKI, M.; NISHIKAWA, Y. y TANIGAWA, K.: *Shokohin Eiseigaku Zashi*, **21**, 480 (1980).
- GEISSLER, M.; SCHIFFEL, B. y KUHNHARDT, C.: *Anal. Chim. Acta*, **124**, 237 (1982).
- HOLLACK, W. y KRINITZ, B.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 163 (1980).
- KHATTAB, F. I.: *Anal. Lett.*, **16**, 1.121 (1983).
- AMER, M. M.; WALASH, M. I.; HARDON, I. y ASHOUR, F. M.: *J. Drug Res.*, **9**, 87 (1977).
- KORANY, M. A.; WAHBI, A. M.; EISAYED, M. A. y MANDOUR, S. A.: *Farmaco, Ed. Prat.*, **39**, 243 (1984).
- TALSKY, G.; GOTZ-MALER, S. y BETZ, H.: *Mikrochim. Acta*, **11**, 1 (1982).



- 26 GUVEN, K. C. y OZAYDIN, F.: *Eczacilik Bull.*, **22**, 58 (1980).
27 RAMAPPA, P. G. y NAYAK, A. N.: *Analyst*, **108**, 966 (1983).
28 GOWDA, A. T.; GOWDA, N. M. M. y RANGAPPA, K. S.: *Anal. Lett. B*, **17**, 2.129 (1984).
29 BELTAGY, Y. A.: *Zentrabl. Pharm. Pharmakother Laboratorium Diagn.*, **116**, 925 (1977).
30 BELTAGY, Y. A.; RYDA, S. e ISSA, A.: *Pharmazie*, **29**, 64 (1974).
31 WAHBI, A. M.; ABDINE, H.; KORANI, M. A. y ABDELHAY, M.: *Analyst*, **103**, 876 (1978).
32 HERNÁNDEZ CÓRDOBA, M.; LÓPEZ GARCÍA, I. y SÁNCHEZ-PEDREÑO, C.: *Talanta*, **32**, 325 (1985).
33 GUVEN, K. C.; OZOL, T.; EKIZ, N. y GUNERI, T.: *Analyst*, **109**, 969 (1984).
34 JOB, P.: *Ann. Chim. (France)*, **9**, 113 (1928).