

Determinazione della saccarina e dei ciclamati per mezzo della spettrofotometria infrarossa

Autor(en): **Coppini, D. / Albasini, A.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **59 (1968)**

Heft 3

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982171>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Determinazione della saccarina e dei ciclamati per mezzo della spettrofotometria infrarossa*

D. Coppini e A. Albasini

Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica dell'Università di Modena

Come è noto, le sostanze chimiche che maggiormente vengono impiegate quali dolcificanti artificiali sono oggi la saccarina (solfimmide benzoica) ed i ciclamati (sali di sodio o di calcio dell'acido cicloesilolfammico), essendo la dulcina praticamente abbandonata, dato che prove sperimentali hanno fatto sorgere il dubbio di una possibile azione cancerigena (1).

Da quando ne furono riconosciuti il notevole potere dolcificante e la non tossicità alle dosi di impiego, l'uso di tali edulcoranti si è andato sempre più estendendo e, di pari passo, anche le ricerche analitiche atte ad individuarne la presenza qualitativa e quantitativa hanno sempre più interessato i ricercatori. Le indagini analitiche si sono pertanto indirizzate all'identificazione e conseguente dosaggio dei singoli composti, sia da soli che in presenza l'uno dell'altro, nei prodotti di uso farmaceutico, negli alimenti e nei dietetici.

La ricerca e determinazione della saccarina è fondata di solito sui noti metodi che contemplano la sua trasformazione in sostanze dotate di caratteristiche reazioni, come quelle classiche dei solfati o dei solfuri, previa mineralizzazione, o quelle dell'acido salicilico previa fusione alcalina. Inoltre, la saccarina è stata determinata per trasformazione in ammoniaca e successiva valutazione col reattivo di *Nessler* (2, 3, 4) o titolazione con acido solforico (5); per fusione con acido fenolsolfonico e conseguente formazione di fenolsolfonftaleina (rosso fenolo) (6, 7, 8); per ossidazione con acqua ossigenata e reazione con solfato di rame e sodio nitrito, con sviluppo di una colorazione rossa (9, 10); per ossidazione con potassio permanganato e reazione con sali ferrici (11); per precipitazione con naftilamina e solfato di rame, e conseguente formazione di una sostanza violetta solubile in cloroformio (12) o con piridina e solfato di rame con formazione di un complesso celeste solubile in cloroformio (13, 14, 15); per precipitazione, in soluzione acetica, con nitrato d'argento e titolazione dell'eccesso del sale d'argento con ammonio solfocianato (16).

Sono state pure impiegate, per la ricerca e determinazione della saccarina, le moderne tecniche di indagine, quali la cromatografia su carta (17, 18, 19, 20) o su strato sottile (21), la gascromatografia (22), dopo trasformazione nel suo N-metilderivato, la spettrofotometria nell'ultravioletto (23), la polarografia (24, 25, 26), l'elettroforesi su carta (27).

I sali dell'acido cicloesilolfammico, in particolare quelli di sodio e di calcio, sono entrati nell'uso quali edulcoranti molto più di recente. Le metodiche di ri-

* Ricerche eseguite con il contributo del C. N. R.

conoscimento e di dosaggio sono prevalentemente basate sulla trasformazione, in ambiente acido, dell'acido ciclamico in cicloesene per azione dell'acido nitroso (28, 29, 30, 31, 32) e successiva precipitazione dell'acido solforico come solfato di bario. Modificazioni a questo metodo consistono nel titolare direttamente la soluzione acida di ciclamati con soluzione standard di sodio nitrito impiegando come indicatore esterno una cartina amidoiodurata (33), o nel precipitare lo ione SO_4 con cloruro di bario e nel titolare l'eccesso di bario con soluzione di EDTA impiegando blu di calceina come indicatore di fluorescenza (34). Un metodo interessante, sempre basato su detta reazione, è stato messo a punto da *Rees* (35): questo A., eseguita la trasformazione dell'acido ciclamico in cicloesene per azione dell'acido nitroso, estrae il cicloesene con etere di petrolio e ne esegue il dosaggio gascromatograficamente.

Mentre molto numerosi sono i metodi analitici per il riconoscimento e il dosaggio dei due edulcoranti presi singolarmente, in particolare come si è visto quelli per la saccarina, non altrettanto si può dire quando ci si trova in presenza di una miscela, che ne richiede la separazione. In generale i metodi impiegati si limitano al riconoscimento e sono basati sulla tecnica cromatografica su carta o su strato sottile. Possiamo qui ricordare quelli di *Mitchell* (36) e di *Ichibagase* e *Kojima* (37), che con la cromatografia su carta hanno potuto separare saccarina, dulcina e ciclamati impiegando varie miscele di solventi; quelli di *Salo* e coll. (38) e di *Lee* (39), che per cromatografia su strato sottile hanno separato e identificato saccarina, ciclamati e dulcina.

Ci è sembrato perciò interessante studiare la possibilità di separare, riconoscere e determinare i due edulcoranti sintetici applicando la spettrofotometria infrarossa, in quanto tale tecnica, già da noi utilizzata per la determinazione del captano nei vini (40), pur permettendo di operare con pochissime manipolazioni e raggiungendo una buona sensibilità, non risulta essere stata ancora impiegata, nonostante la forte diffusione attualmente raggiunta dagli spettrofotometri IR, specie di «routine».

A noi pertanto si presentava il compito di separare i due edulcoranti dalle loro miscele e di trasformarli in sostanze facilmente rilevabili all'analisi IR. Alla separazione quantitativa siamo pervenuti sfruttando la solubilità della saccarina nei solventi organici e dell'acido ciclamico nell'acqua. Infatti, dopo diverse prove di estrazione con vari solventi, previa acidificazione con acidi forti e deboli per la trasformazione della eventuale saccarina sodica in saccarina, abbiamo raggiunto la completa separazione delle due sostanze acidificando le loro soluzioni acquose con acido cloridrico ed estraendo con miscela benzolo-etere etilico.

In tale modo il residuo della evaporazione della fase organica è costituito dalla saccarina, facilmente determinabile utilizzando la banda di assorbimento a 1721 cm^{-1} , caratteristica della vibrazione di valenza del gruppo CO della saccarina, banda che non è presente nello spettro della saccarina sodica.

Nella fase acquosa abbiamo invece determinato l'acido ciclamico trasformandolo in cicloesene secondo il sopracitato metodo di *Rees* (35) e sottoponendo la

soluzione petrolierea del cicloesene alla valutazione spettrofotometrica IR utilizzando per la determinazione la banda di assorbimento a 1650 cm^{-1} .

Dai valori di assorbimento ottenuti si risale alla quantità di saccarina e di ciclamato (espresso come ciclamato sodico) mediante curve di taratura tracciate operando secondo la metodica che verrà più avanti riportata.

Il metodo da noi messo a punto si è dimostrato oltre che rapido e sensibile anche di facile realizzazione pratica sia per il riconoscimento qualitativo che per il dosaggio quantitativo di entrambi gli edulcoranti. La minima quantità dosabile nelle nostre condizioni di esperienze è risultata dell'ordine di 0,2 mg per la saccarina e di 1 mg per il ciclamato sodico.

Parte sperimentale

1. Reattivi

- Acido cloridrico puro per analisi
- Acido cloridrico 0,1 N
- Soluzione acquosa di sodio nitrito puro per analisi 0,5 M
- Miscela di etere etilico puro per analisi e benzene puro per analisi 1 : 1 (v/v)
- Etere di petrolio p. e. $40-70^\circ$ puro per analisi
- Sodio solfato anidro puro per analisi
- Potassio bromuro per spettrofotometria
- Soluzione acquosa di saccarina sodica contenente circa mg 25 esattamente pesanti di edulcorante in 100 ml di soluzione
- Soluzione acquosa di ciclamato sodico contenente circa mg 50 esattamente pesanti di edulcorante in 100 ml di soluzione

2. Apparecchiatura

- Imbuti separatori della capacità di 50 ml con rubinetto in teflon
- Capsule di vetro a fondo rotondo, capacità ml 25
- Matraccini tarati da 25 ml
- Bagnomaria termostato
- Mortaio in agata
- Cella con finestre in CaF_2 (spessore 0,25 mm)
- Spettrofotometro Perkin Elmer mod. 257
- Pressa idraulica Weber PW 20
- Pastigliatrice sotto vuoto Weber mod. 8

3. Curva di taratura per la saccarina

Per la preparazione della curva di taratura della saccarina abbiamo introdotto in imbuto separatore ml 0,5—2,0 (pari a mg 0,12—0,5 circa) della soluzione acquosa di saccarina sodica di cui al. n. 1, portato a 10 ml con acqua e acidificato fino a pH 4 con acido cloridrico 0,1 N. La soluzione viene estratta una prima volta per 3 minuti con 10 ml e successivamente altre due volte per 1 minuto con 5 ml di miscela benzolo-etere etilico. Gli estratti benzol-eterici contenenti la saccarina vengono essiccati su sodio solfato anidro, concentrati

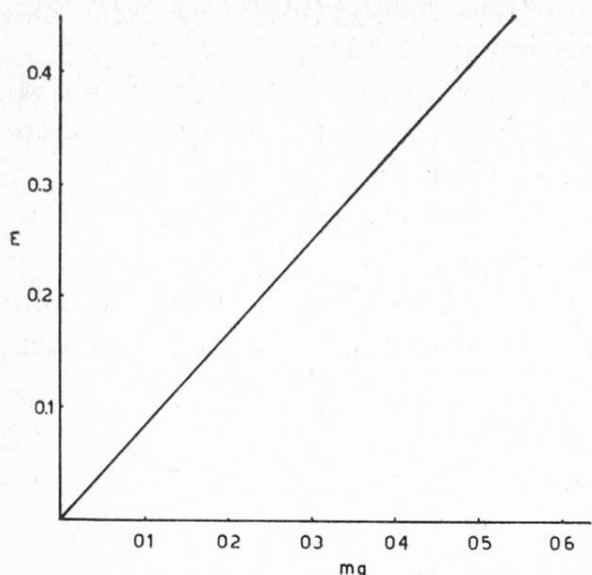


Fig. 1

0,5 mg, però per quantità inferiori a 0,2 mg l'errore supera il $\pm 10\%$.

4. Curva di taratura per il ciclamato sodico

Per tracciare la curva di taratura del ciclamato sodico abbiamo seguito, come già detto, il metodo di *Rees* (35), basato sulla trasformazione dell'edulcorante in cicloesene. A tal fine, in matraccio tarato da ml 25 abbiamo introdotto ml 1—15 (pari a mg 0,5—7,5) della soluzione di cui al n. 1, acidificato con 2 ml di acido cloridrico concentrato e aggiunto 1 ml della soluzione di sodio nitrito 0,5 M e 1 ml di etere di petrolio, esattamente misurato.

Si chiude il matraccio col tappo, si agita per 3 minuti e si porta a volume con acqua, distillata, facendo in ogni caso attenzione che lo strato petrolifero, che contiene in soluzione il cicloesene, si trovi nella parte più sottile del collo. Per mezzo di una siringa si preleva una porzione di detta soluzione, la si introduce

nella cella di misura e si traccia lo spettro IR tra 1800 e 1500 cm^{-1} , usando come riferimento una identica cella contenente etere di petrolio. Si misura l'assorbimento a 1650 cm^{-1} e si traccia la curva di taratura riferita al ciclamato sodico, riportata in fig. 2. La legge di Lambert-Beer è rispettata fino a 7 mg.

5. Determinazione della saccarina e del ciclamato sodico in presenza l'uno dell'altro

Si introducono in imbuto separatore volumi di soluzioni acquose dei due edulcoranti compresi tra quelli indicati ai n. 3 e 4, si diluisce con acqua a 20 ml, quindi si porta a pH4 con acido

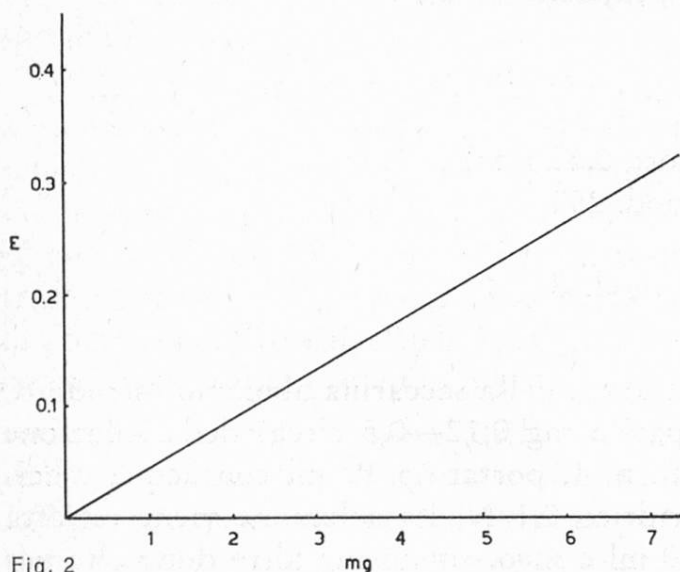


Fig. 2

cloridrico 0,1 N. Si estrae una prima volta per 3 minuti con 10 ml di miscela benzolo-etere etilico e altre due volte per 1 minuto con ml 5 di detta miscela. Si procede poi alla determinazione della saccarina, contenuta nella soluzione benzoleterea e dell'acido ciclamico contenuto nella soluzione acquosa procedendo come indicato rispettivamente ai n. 3 e 4.

I dati ottenuti in queste determinazioni coincidono esattamente con i valori delle curve di taratura in fig. 1 e 2.

Riassunto

E' stato messo a punto un metodo per riconoscere e dosare per via spettrofotometrica infrarossa saccarina e ciclamati in miscela, previa estrazione in ambiente acido della saccarina con benzolo-etere etilico e trasformazione dell'acido ciclamico in cicloesene, secondo il metodo di *Rees*.

Per la ricerca e il dosaggio della saccarina abbiamo utilizzato la banda a 1721 cm^{-1} , per il cicloesene in soluzione petroleterea la banda a 1650 cm^{-1} . I valori ottenuti sono stati espressi rispettivamente in saccarina e in ciclamato sodico.

Le dosi minime rilevabili quantitativamente sono di 0,2 mg per la saccarina e di 1 mg per il ciclamato sodico.

Zusammenfassung

Es wurde eine Methode ausgearbeitet für den Nachweis und die Bestimmung von Saccharin und Zyclamat in Mischung mittels Infrarot-Spektrophotometrie; zuvor erfolgte die Extraktion des Saccharins in saurem Milieu mit Aethyläther-Benzol und die Umwandlung der Cyclaminsäure in Cyclohexen, nach der Methode *Rees*.

Für den Nachweis und die Bestimmung des Saccharins haben wir die Bande bei 1721 cm^{-1} , für Cyclohexen in Petrolätherlösung die Bande bei 1650 cm^{-1} verwendet. Die erhaltenen Werte sind als Saccharin bzw. Natriumcyclamat angegeben. Die quantitativ nachweisbaren Minimaldosen betragen 0,2 mg für Saccharin und 1 mg für Natriumcyclamat.

Résumé

Une méthode a été mise au point pour reconnaître et doser un mélange de saccharine et de cyclamates par voie spectrophotométrique dans l'infrarouge, après extraction, en milieu acide, de la saccharine au moyen de benzane-éther-éthylique et transformation de l'acide cyclamique en cyclohexène, selon la méthode de *Rees*.

Pour la recherche et le dosage de la saccharine, nous avons utilisé la bande à 1721 cm^{-1} , pour le cyclohexène, en solution dans l'éther de pétrole, la bande à 1650 cm^{-1} . Ces valeurs obtenues ont été exprimées respectivement comme saccharine et comme cyclamate de sodium. Les doses minimales accessibles à l'estimation quantitative sont de 0,2 mg pour la saccharine et de 1 mg pour le cyclamate de sodium.

Summary

A method utilizing IR-spectrophotometry for the identification and determination of saccharin and cyclamates in mixture has been developed. Saccharin is extracted from an acid medium with benzene-ether, and cyclamic acid is transformed into cyclohexene, following the method of *Rees*.

For the identification and determination of saccharin we have used the band at 1721 cm^{-1} , for cyclohexene in petroleum ether solution, the band at 1650 cm^{-1} . The values obtained are expressed in saccharin and in sodium cyclamate, respectively. Minimum doses which can be quantitatively determined are 0,2 mg of saccharin and 1,0 mg of sodium cyclamate.

Bibliografia

1. *Fitzlug O. G. e Nelson A. A.*: Fed. Proc., **9**, 272 (1950) (da: Evaluation de la cancérogénicité des additifs alimentaires, 5 Rapp. de Comité FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires, Rome, 1961).
2. *Testoni G.*: Z. Nahr. u. Genußm., **18**, 577 (1909) (da Snell e Snell, Colorimetric Methods of Analysis, Van Nostrand, N. Y. pag. 74, 1954).
3. *Lerrigo A. F. e Williams A. L.*: Analyst, **52**, 375 (1927).
4. *Krantz J. C. jr.*: J. Ass. Offic. Agr. Chemists, **17**, 193 (1934) - **18**, 372 (1935) - **19**, 205 (1936).
5. *Richmond H. D. e Hill C. A.*: J. Soc. Chem. Ind., **52**, 377 (1918).
6. *Cross L. J. e Perlman J. L.*: N. Y. State Dept. Agr. and Markets, Ann. Report, 1930 pag. 89 (da Snell e Snell, Colorimetric Methods of Analysis, Van Nostrand, N. Y. 1954, pag. 74).
7. *Reindollar W. F.*: J. Ass. Offic. Agr. Chemists, **24**, 326 (1941).
8. *Whittle E. G.*: Analyst, **69**, 45 (1944).
9. *Rozanova V. A.*: Obshchestvennoe Pitanie, **9**, 19 (1941) (C. A. **37**, 6350⁶; 1943).
10. *Soifer P. A.*: Gigiena e Sanit., **11**, 33 (1946) (C. A., **41**, 3550^f; 1947).
11. *Lavagne J.*: Ann. Pharm. Franc., **3**, 26 (1945).
12. *Gandini A.*: Farmaco Sci. e Tec., **1**, 34 (1946).
13. *Zwikker J. J.*: Pharm. Weekblad, **70**, 551 (1933) (C. A., **27**, 3898; 1933).
14. *Flotow E.*: Pharm. Zentralhalle, **88**, 198 (1949).
15. *Scopigno Tandori P. e Tassi Micco C.*: Boll. Lab. Chim. Provinciali, **17**, 289 (1966).
16. *Parikh P. M. e Mukherji S. P.*: Analyst, **85**, 25 (1960).
17. *Marini E.*: Boll. Lab. Chim. Provinciali, **6**, 80 (1955).
18. *Guthenberg H. e Beckmann I.*: Z. Lebensm. Untersuch. Forsch., **120**, 461 (1963).
19. *Waldi D. (e da Stahl E.)*: Thin-Layer Chromatography, Springer Verlag, 1965, pag. 356).
20. *Castiglioni A.*: Z. Anal. Chem., **145**, 188 (1955).
21. *Schildknecht E. e König H.*: Z. Anal. Chem., **207**, 269 (1965).
22. *Groebel W.*: Z. Lebensm. Untersuch. Forsch. **129**, 153 (1966).
23. *Basile G.*: Boll. Lab. Chim. Provinciali, **17**, 554 (1966).
24. *Kolthoff J. M. e Ligane J. J.*: Polarography, Interscience, New York, 1952, pag. 839.
25. *Brezina M. e Zuman P.*: Polarography Medicin, Biochemistry and Pharmacy, Interscience, New York, 1958, pag. 529.
26. *Hetman J.*: Lab. Practice, **9**, 563 (1960).
27. *Castiglioni A.*: Z. Anal. Chem., **148**, 98 (1955).

28. *Wilson J. B.*: *J. Ass. Offic. Agr. Chemists*, **38**, 559 (1955).
29. *Wilson J. B.*: *ibid.*, **40**, 62 (1957).
30. *Wilson J. B.*: *ibid.*, **43**, 583 (1960).
31. *Giordano M. T. e Pennati V.*: *Riv. Vit. Enol. Conegliano*, **18**, 357 (1965).
32. *Methods of Analysis A. O. A. C.*, 1960, pag. 386.
33. *Abbot Laboratoires Ltd.*, «*Sucaryl Sweetener in Soft Drinks: Technical information*».
34. *Davies A. M. C.*: *J. Ass. Publ. Analysts*, **4**, 11 (1966) (da *Anal. Abstracts* **14**, 4300; 1967).
35. *Rees D. I.*: *Analyst*, **90**, 568 (1965).
36. *Mitchell L. C.*: *J. Ass. Offic. Agr. Chemists*, **38**, 943 (1955).
37. *Ichibagase H. e Kojima S.*: *J. Pharm. Soc. Japan*, **82**, 1616 (1962) (*C. A.* **58**, 8357 g; 1963).
38. *Salo T., Airo E. e Salminen K.*: *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch.*, **125**, 20 (1964).
39. *Lee S. C.*: *Chemistry, Tajpei*, 117; 1966 (da *Anal. Abstracts*, **14**, 7864; 1967).
40. *Coppini D. e Albasini A.*: *Mikrochimica Acta (Wien)*, (1968, 160—166).

De quelques principes de statistique appliqués à la numération bactérienne

Par *Emile Novel*

(Service d'hydrobiologie et de microbiologie des denrées alimentaires)
Institut d'hygiène Genève

Toute statistique de numération bactérienne, qu'il s'agisse de dénombrement direct ou de dénombrement après culture, comporte, comme toute autre statistique de numération

- A) un dénombrement;
- B) la mesure des résultats;
- C) la valeur des résultats obtenus;

A. Dénombrement

Le dénombrement statistique comporte trois conditions essentielles:

1. Les objets à compter doivent être concrêts;
2. l'unité doit être définie;
3. la masse doit être limitée dans le temps et dans l'espace.