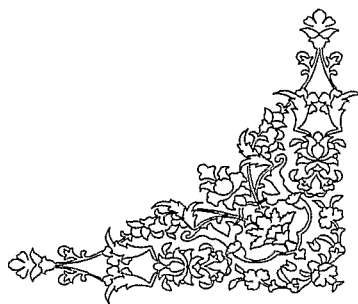
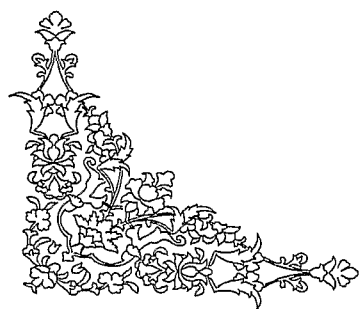


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



١٤١٥١٢



دانشگاه بوعلی سینا

دانشکده شیمی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته شیمی (گرایش تجزیه)

عنوان:

استخراج در قطره و استخراج مایع مایع توزیعی برای اندازه گیری سدیم
سیکلامات با استفاده از گرماتوگرافی گازی

استاد راهنما

دکتر مهدی هاشمی

استاد مشاور

دکتر جواد صاین

۱۳۸۸ / ۱۱ / ۱۵

اطلاعات درک علمی براد
تیم براد

پژوهشگر

علی حبیبی

بهمن ۸۷

همه امتیازهای این پایان نامه به دانشگاه بوعلی سینا تعلق دارد. در صورت استفاده از تمام یا بخشی از مطالب این پایان نامه در مجلات، کنفرانس‌ها و یا سخنرانی‌ها، باید نام دانشگاه بوعلی سینا یا اساتید راهنمای پایان نامه و نام دانشجو با ذکر ماخذ و ضمن کسب مجوز کتبی از دفتر تحصیلات تکمیلی دانشگاه ثبت شود. در غیر این صورت مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت.



دانشگاه بوعلی سینا

دانشکده شیمی
پایان نامه کارشناسی ارشد
شیمی تجزیه

عنوان:

استخراج در قطره و استخراج مایع مایع توزیعی برای اندازه گیری سدیم سیکلامات
با استفاده از گروماتوگرافی گازی





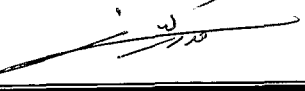
استاد راهنما:
دکتر مهدی هاشمی

استاد مشاور:
دکتر جواد صاین

پژوهشگر:
علی حبیبی

۱۳۸۸/۱۱/۱۵

کمیته ارزیابی پایان نامه:

- ۱- استاد راهنما: دکتر مهدی هاشمی (رئیس کمیته)  استادیار شیمی تجزیه
- ۲- استاد مشاور: دکتر جواد صاین  دانشیار شیمی کاربردی
- ۳- استادمدعو: پروفسور عباس افخمی  استاد شیمی تجزیه
- ۴- استادمدعو: پروفسور داود نعمت‌الهی  استاد شیمی تجزیه
- ۵- استادمدعو: دکتر طیبه مدرکیان  دانشیار شیمی تجزیه

توسعه اطلاعات مدرک علمی بزرگ
همیشه در اول



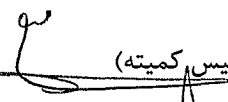

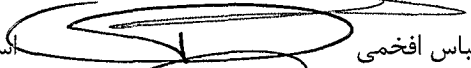


دانشگاه بوعلی سینا
دانشکده شیمی

جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد
علی حبیبی در رشته شیمی (گرایش تجزیه)

با عنوان:

به ارزش ۸ واحد در روز سه شنبه ۱۳۸۷/۱۱/۲۰ ساعت ۱۴ در سالن
آمفی تئاتر ۲ دانشکده شیمی و با حضور اعضای هیأت داوران زیر برگزار گردید و
با نمره ۱۹/۳۵ و درجه عالی به تصویب رسید.

کمیته ارزیابی پایان نامه:

- ۱- استاد راهنما: دکتر مهدی هاشمی (رئیس کمیته)  استاد یار شیمی تجزیه
- ۲- استاد مشاور: دکتر جواد صاین  دانشیار شیمی کاربردی
- ۳- استاد مدعو: پروفسور عباس افخمی  استاد شیمی تجزیه
- ۴- استاد مدعو: پروفسور داود نعمت‌الهی  استاد شیمی تجزیه
- ۵- استاد مدعو: دکتر طیبه مدرکیان  دانشیار شیمی تجزیه

تقدیم به

مادر و لسوزم

پدر مهربانم

و خواهران و برادران عزیزم

سربر آستان جلال پروردگاری بی‌همتای ستایم که دگر بار توفیق اندوختن دانشی هر چند اندک را روزیم فرمود. در این محظ سرشارم از پاس و ستایش ایزدی که مرا عزت کسب علم عطا فرمود و او را به خاطر تمام آنچه که به من عنایت کرده شکر می‌کنم

سپاس بی‌پایان نثار دو فرشته زندگی ام پدر و مادرم و خواهران و برادران مهربانم که در پناه مهر و محبت و حمایت‌های ایشان، سختی‌های مسیر زندگیم، هموار و موفقت‌ها دست‌یافتنی گشت.

به پاس حق شناسی بر خود لازم می‌دانم تا از استاد بزرگوار و فرزانه ام، جناب آقای دکتر مهدی ماشینی که هم استاد علم و هم استاد اخلاقم بوده‌اند، در طول مدت تحصیل مانند پدری مهربان در مشکلات یار و یاورم بوده‌اند و به خاطر تمام محبت‌ها و راهنمایی‌های ارزنده ایشان شکر و قدر دانی نمایم.

از استاد مشاور بزرگوارم جناب آقای دکتر جوادیان به خاطر تمام راهنمایی‌های ارزنده ایشان سپاسگزارم. از استاد بزرگوارم جناب آقای پروفور افغانی، جناب آقای پروفور نعمت‌الهی، سرکار خانم دکتر رزکیان و سرکار خانم دکتر حسینی که افتخار شاگردی این بزرگواران را داشته‌ام و از کلاس‌های درس ایشان استفاده نموده و از علم ایشان آموختم سپاسگزارم. از استاد بزرگوارم در دوران تحصیلات دانشگاهیم و استاد علم و اخلاقم جناب آقای دکتر خراسانی به پاس تمام زحمات ایشان، سپاسگزارم. از استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر مجتهدی و مهندس قادری به خاطر تمام راهنمایی‌های ایشان شکر می‌کنم.

از دوستان و همکلاسی‌هایم آقایان رضایی، صادقی، عبدالملکی، اجاتی، سیری، دیانورد، قربانی، مهندس سلیمانی، قربان‌خسینی، بلابانی، بیاتی، خوش‌سفر، شوشتری، شایان، ملکی، آل‌سید، شیرینی، نوروزی، ویسی، افراز، مخلصی، موسوی، رضایی، حاجیان، چکینی، علوی، شکرالهی، علیحانی، آرش، معصومی، چکینی، موسوی، رحمتی، احمدی و بیات.

خانمها اشرفی، اسماعیلی، ادا می، حجتی، جهان‌شاهی، حجتی، شیرینی، سلطانی، سعادت، محمدی، محمدنژاد، زارع، نظری و رنجبران صمیمانه سپاسگزارم. و در انتها ارج می‌نم زحمات عزیزانی را که نامی از آنها در این بین برده‌اند.

نام خانوادگی: حبیبی		نام: علی
عنوان پایان نامه: استخراج در قطره و استخراج مایع مایع توزیعی برای اندازه گیری سدیم سیکلامات با استفاده از کروماتوگرافی گازی		
استاد راهنما: دکتر مهدی هاشمی		استاد مشاور: دکتر جواد صاین
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته: شیمی	گرایش: تجزیه
دانشگاه: بوعلی سینا	دانشکده: شیمی	تعداد صفحه: ۷۹
تاریخ دفاع: ۸۷/۱۱/۲۰		
واژه‌های کلیدی: سدیم سیکلامات، ریز استخراج از فضای فوقانی و استخراج مایع- مایع توزیعی، کروماتوگرافی گازی		
چکیده:		
<p>در این پایان نامه، تکنیک ریز استخراج در قطره از فضای فوقانی (HS-DME) و تکنیک ریز استخراج مایع مایع توزیعی (DLLME) برای اندازه گیری کروماتوگرافی گازی سیکلامات توسعه داده شده است. این روشها بر اساس واکنش سدیم سیکلامات با سدیم نیتريت در محیط اسیدی و ریز استخراج سیکلوهگزن حاصله و اندازه گیری نهایی با کروماتوگرافی گازی می باشد.</p> <p>در روش HS-DME، یک ریز قطره حامل دودکان به عنوان حلال آلی و زایلن بعنوان استاندارد داخلی در نوک سوزن در فضای فوقانی محلول نمونه تشکیل می گردد. بعد از استخراج سیکلوهگزن به داخل قطره، قطره به داخل سرنگ کشیده شده و مستقیماً به دستگا GC تزریق می گردد. پارامترهای تجربی از قبیل نوع حلال استخراج کننده، حجم نمونه و ریز قطره، زمان استخراج، سرعت همزدن، دمای محلول نمونه شرایط واکنش مشتق سازی و شرایط دستگاهی مورد بررسی قرار گرفتند. در شرایط بهینه یک گستره خطی مناسب $M \times 10^{-2} - 3 \times 10^{-5}$ با ضریب همبستگی ۰/۹۹۹۲ و حد تشخیص $5 \times 10^{-6} M$ بدست آمد.</p> <p>در بخش دوم، DLLME برای استخراج سیکلوهگزن حاصل از واکنش مشتق سازی به کار برده شد. در این روش مخلوط ۲۰ میکرولیتر نیتروبنزن بعنوان حلال استخراج کننده و ۰/۵ میلی لیتر اتانول بعنوان حلال دیسپرس کننده سریعاً به داخل محلول نمونه تزریق می شود. بعد از توزیع حلال آلی در داخل محلول نمونه، مخلوط سانتریفیوژ ۳ میکرولیتر از فاز آلی ترسیب شده به دستگاه GC تزریق می گردد. پارامترهای تجربی از قبیل نوع و حجم حلال استخراج کننده و دیسپرس کننده، زمان استخراج و قدرت یونی محلول آبی بهینه گردید. تحت شرایط بهینه گستره خطی $M \times 10^{-3} - 5 \times 10^{-5}$ با $2/5 \times 10^{-5}$ با ضریب همبستگی ۰/۹۹۰۵ و حد تشخیص $M \times 10^{-6}$ بدست آمد. عملکرد روش های پیشنهادی برای تعیین سیکلامات در نوشیدنیها مورد ارزیابی قرار گرفت.</p>		

عنوان	صفحه
۱-۱- مقدمه	۲
۱-۲- شیمی تجزیه سیکلامات	۳
۱-۲-۱- روش تبادل یونی	۳
۲-۲-۱- کروماتوگرافی کاغذی و لایه نازک	۳
۳-۲-۱- روش تیتراسیون	۵
۴-۲-۱- روش گراویمتری	۶
۵-۲-۱- روش اسپکتروسکوپی	۶
۶-۲-۱- کروماتوگرافی گازی	۹
۷-۲-۱- کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC)	۹
۳-۱- روشهای استخراج	۱۰
۱-۳-۱- استخراج مایع-مایع	۱۱
۲-۳-۱- استخراج با فاز جامد	۱۱
۳-۳-۱- ریز استخراج با فاز جامد	۱۲
۴-۳-۱- ریز استخراج با حلال	۱۳
۵-۳-۱- سیستم قطره در قطره	۱۴
۶-۳-۱- ریز استخراج با حلال با استفاده از میله تفلونی	۱۴
۷-۳-۱- روش ریز استخراج بر مبنای قطره	۱۴
۸-۳-۱- نمونه برداری از فضای فوقانی	۱۴
۹-۳-۱- کاربرد روشهای ریز استخراج در نمونه برداری از فضای فوقانی	۱۵
۱۰-۳-۱- ریز استخراج با فاز جامد از فضای فوقانی	۱۶

۱۱-۳-۱- ریز استخراج با حلال از فضای فوقانی	۱۶
۴-۱- مقدمه ای بر میکرو استخراج مایع- مایع پخشی	۱۹
۱-۴-۱- اصول میکرو استخراج مایع - مایع پخشی	۱۹
۴-۱- ۲- روابط تئوری میکرو استخراج مایع - مایع پخشی	۲۱
۳-۴-۱- ویژگی های حلال استخراج کننده و پخش کننده	۲۳
۴-۴-۱- نمونه های قابل استخراج به روش میکرو استخراج مایع - مایع پخشی	۲۴
۴-۱- ۵- سازگاری روش با تکنیک های دستگاهی	۲۴
۴-۱- ۶- مقایسه روش میکرو استخراج مایع - مایع پخشی با روش های مشابه	۲۵

فصل دوم ، بخش اول: اندازه گیری سدیم سیکلامات با استفاده از تکنیک ریز

استخراج در قطره از فضای فوقانی HS-DME

۱-۱-۲- مقدمه	۲۸
۲-۱-۲- بخش تجربی	۲۸
۱-۲-۱-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده	۲۸
۲-۲-۱-۲- تهیه محلولها	۲۸
۳-۲-۱-۲- وسایل مورد استفاده در جداسازی و اندازه گیری گونه ها	۲۹
۴-۲-۱-۲- آماده سازی ظروف و تجهیزات مورد استفاده	۳۰
۳-۱-۲- دستور کار تجزیه ای	۳۰
۴-۱-۲- آزمایشهای اولیه و بهینه سازی شرایط استخراج	۳۱
۵-۱-۲- عوامل موثر بر ریز استخراج با حلال از فضای فوقانی	۳۲
۱-۵-۱-۲- نوع حلال استخراج کننده	۳۲
۲-۵-۱-۲- اثر دمای محلول نمونه	۳۳

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۳۴	۳-۵-۱-۲- اثر حجم میکرو قطره
۳۵	۴-۵-۱-۲- اثر حجم محلول نمونه
۳۶	۵-۵-۱-۲- اثر سرعت همزدن محلول نمونه
۳۷	۶-۵-۱-۲- اثر زمان استخراج.....
۳۸	۷-۵-۱-۲- اثر افزایش قدرت یونی.....
۴۰	۶-۱-۲- ایجاد شرایط انجام واکنش.....
۴۰	۱-۶-۱-۲- دما.....
۴۱	۲-۶-۱-۲- غلظت اسید و نوع اسید
۴۲	۳-۶-۱-۲- غلظت نیتريت سدیم.....
۴۲	۴-۶-۱-۲- اثر زمان واکنش.....
۴۳	۷-۱-۲- مشخصات تجزیه ای.....
۴۵	۸-۱-۲- بررسی اثر مزاحمت ها.....
۴۶	۹-۱-۲- آنالیز نمونه های حقیقی.....

فصل دوم، بخش دوم : اندازه گیری سدیم سیکلامات با استفاده از

تکنیک استخراج مایع مایع توزیعی DLLME

۵۰	۲-۲-۱- مقدمه
۵۱	۲-۲-۲- بخش تجربی.....
۵۱	۲-۲-۲-۱- مواد شیمیایی مورد استفاده.....
۵۱	۲-۲-۲-۲- تهیه محلولها
۵۱	۲-۲-۲-۳- دستگاه و تجهیزات.....

۵۱ ۴-۲-۲-۲- دستور کار تجزیه ای
۵۲ ۳-۲-۲- آزمایشهای اولیه و بهینه سازی شرایط تجربی
۵۳ ۱-۳-۲-۲- بهینه سازی پارامترهای آزمایش
۵۳ ۲-۳-۲-۲- تاثیر حلال استخراج کننده
۵۴ ۳-۳-۲-۲- اثر حلال دیسپرس کننده
۵۴ ۴-۳-۲-۲- حجم نمونه
۵۵ ۵-۳-۲-۲- حجم حلال استخراج کننده
۵۶ ۶-۳-۲-۲- حجم حلال دیسپرس کننده
۵۷ ۷-۳-۲-۲- اثر افزایش قدرت یونی
۵۸ ۸-۳-۲-۲- اثر زمان چرخش
۵۹ ۹-۳-۲-۲- اثر سرعت سانتریفیوژ
۶۱ ۱۰-۳-۲-۲- اثر زمان چرخش
۶۲ ۱۱-۳-۲-۲- مشخصات تجزیه ای
۶۴ ۴-۲-۲- بررسی اثر مزاحمت ها
۶۴ ۵-۲-۲- آنالیز نمونه های حقیقی
۶۷ ۶-۲-۲- نتیجه گیری

- شکل (۱-۱). ساختار سیکلامیت ۲
- شکل (۲-۱). شماتیک دستگاه استخراج با قطره HS-DME ۱۷
- شکل (۳-۱) شماتیک میکرو استخراج مایع - مایع پخشی ۲۰
- شکل (۱-۲) شماتیک دستگاه استخراج با قطره HS-DME ۳۱
- شکل (۲-۲) اثر دمای محلول نمونه بر کارایی استخراج HS-DME ۳۴
- شکل (۳-۲) اثر حجم حلال استخراج کننده بر کارایی استخراج HS-DME ۳۵
- شکل (۴-۲) اثر حجم محلول نمونه بر کارایی استخراج HS-DME ۳۶
- شکل (۵-۲) اثر سرعت هم زدن محلول نمونه بر کارایی استخراج HS-DME ۳۷
- شکل (۶-۲) اثر زمان استخراج بر میزان استخراج HS-DME ۳۸
- شکل (۷-۲) اثر قدرت یونی بر میزان استخراج HS-DME ۳۹
- شکل (۸-۲) اثر دمای انجام واکنش بر میزان استخراج HS-DME ۴۰
- شکل (۹-۲) اثر غلظت اسید سولفوریک بر میزان استخراج HS-DME ۴۱
- شکل (۱۰-۲) اثر غلظت نیتريت سدیم بر میزان استخراج HS-DME ۴۲
- شکل (۱۱-۲) اثر زمان انجام واکنش بر میزان استخراج HS-DME ۴۳
- شکل (۱۲-۲) دیاگرام آنالیز دستگاه GC ۴۴
- شکل (۱۳-۲) دیاگرام آنالیز نمونه شاهد دستگاه GC ۴۴
- شکل (۱۴-۲) مراحل انجام روش DLLME ۵۰
- شکل (۱۵-۲) اثر حجم نمونه بر کارایی استخراج با روش DLLME ۵۵
- شکل (۱۶-۲) اثر حجم حلال استخراج کننده بر کارایی استخراج با روش DLLME ۵۶
- شکل (۱۷-۲) اثر حجم حلال دیسپرس کننده بر کارایی استخراج با روش DLLME ۵۷

فهرست شکل ها

عنوان

صفحه

- شکل (۱۸-۲) تاثیر قدرت یونی بر کارایی استخراج DLLME ۵۸
- شکل (۱۹-۲) اثر زمان استخراج بر کارایی استخراج با روش DLLME ۵۹
- شکل (۲۰-۲) اثر سرعت سانتریفیوژ بر کارایی استخراج با روش DLLME ۶۰
- شکل (۲۱-۲) اثر زمان سانتریفیوژ بر کارایی استخراج با روش DLLME ۶۱
- شکل (۲۲-۲) کروماتوگرام دستگاه GC: طیف نمونه ۶۳
- شکل (۲۳-۲) کروماتوگرام GC : طیف اتانول ۶۳

فهرست جداول

عنوان

صفحه

-
- جدول (۱-۲). مشخصات منحنی کالیبراسیون برای اندازه‌گیری سیکلامات ۴۵
- جدول (۲-۲) بررسی اثر مزاحمت ها..... ۴۶
- جدول (۳-۲) تعیین سیکلامیت در نمونه های حقیقی ۴۷
- جدول (۴-۲). مشخصات تجزیه ای منحنی کالیبراسیون برای اندازه‌گیری سیکلامات..... ۶۳
- جدول (۵-۲) بررسی اثر مزاحمت ها..... ۶۴
- جدول (۶-۲) تعیین سیکلامیت در نمونه های حقیقی..... ۶۵
- جدول (۷-۲) مقایسه داده های تجزیه ای روشهای توسعه داده شده برای اندازه گیری
سدیم سیکلامات..... ۶۷

مواد افزودنی نقش مهمی را در صنایع غذایی، نوشیدنی و داروئی ایفا می کنند. این مواد اغلب برای بهبود کیفیت و یا ایمنی محصولات مورد استفاده قرار می گیرند. شیرین کننده های مصنوعی یکی از افزودنیها می باشند که به عنوان یک جایگزین کم کالری بجای شکر مورد استفاده قرار می گیرند. سیکلامات یکی از این شیرین کننده ها می باشد که شیرینی آن ۳۰ تا ۴۰ برابر ساکاروز می باشد. این شیرین کننده بطور وسیعی در نوشیدنیها و غذاهای کم کالری مورد استفاده قرار می گیرد. امروزه به علت احتمال خاصیت سرطان زایی سیکلامات، استفاده از آن در آمریکا و انگلستان ممنوع شده است. معهذا مصرف آن در بسیاری از نقاط دنیا مجاز می باشد. سازمان بهداشت جهانی مقدار مصرف قابل قبول آنرا ۱۱-۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن اعلام نموده است.

از آنجایی که خطر سیکلامات برای بدن کاملا مشخص نمی باشد ، کنترل آن در مواد غذایی و نوشیدنی ها بسیار مهم می باشد و توسعه روشهای حساس اندازه گیری برای تعیین دقیق آن مورد توجه می باشد.

روشهای اسپکتروسکوپی و کروماتوگرافی مختلفی برای اندازه گیری سیکلامات ارائه شده است. روشهای کروماتوگرافی عموما شامل استفاده از روشهای مشتق سازی و استفاده از استخراج مایع - مایع می باشد. در این پایان نامه بواسطه اجتناب از معایب استخراج مایع - مایع کلاسیک و کاهش مزاحمت های اندازه گیری کروماتوگرافی گازی سیکلامات ، روشهای استخراج در قطره از فضای فوقانی و ریز استخراج توزیعی مایع مایع برای اندازه گیری سدیم سیکلامات با استفاده از واکنش پیش ستونی سیکلامات و نیتريت در محیط اسیدی توسعه داده شده اند.

فصل اول

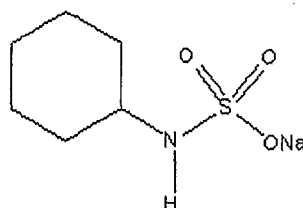
مقدمه

و

مروری بر پژوهش‌های انجام
شده

۱-۱- مقدمه

شیرین کننده های مصنوعی از افزودنیهای مجاز در صنایع غذایی و دارویی می باشند. این ترکیبات دارای قدرت شیرین کنندگی بسیار بیشتری از شکر معمولی می باشند. یک نوع از این شیرین کننده ها سیکلامات می باشد. سیکلامات نمکی سفید رنگ بوده که نام علمی آن سیکلوهگزیل سولفامات ، به وزن مولکولی $201/2 \text{ g mol}^{-1}$ می باشد. سیکلامات به صورت نمک سدیم دار، کلسیم دار و یا فرم اسیدی یافت می شود. شکل ۱-۱ ساختار سدیم سیکلامات را نشان می دهد.



شکل (۱-۱). ساختار سدیم سیکلامات

سیکلامات، سی تا چهل برابر از ساکارز شیرین تر است و در سال ۱۹۳۷ توسط میشل اسودا^۱ کشف شد. سیکلامات به صورت ترکیب با ساخارین به نسبت ۱۰ به ۱ از سال ۱۹۷۰ مورد استفاده قرار می گرفت. پس از آن به دلیل احتمال تولید سرطان مثانه در موش های آزمایشگاهی مصرف آن در آمریکا ممنوع گردید. نمک سدیم سیکلامات سبب آتروفی بیضه و کاهش میزان تستوسترون در موش های آزمایشگاهی و میمون ها می شود. در حال حاضر خاصیت سرطانزایی سیکلامات برای انسان قطعی نشده و اثرات آن توسط سازمان بهداشت جهانی تحت بررسی بوده و مصرف آن در بسیاری از کشورها مجاز می باشد.

۱-۲- شیمی تجزیه سیکلامات

شیمی تجزیه سیکلامات شامل روشهای شناسایی، اندازه گیری کمی وجداسازی آن در انواع نمونه های غذایی و دارویی می باشد. در زیر به مرور بعضی از این روشها پرداخته می شود.

۱-۲-۱- روش تبادل یونی

کومادا^۱ و همکارانش، در سال ۱۹۶۱، ساخارین، اسید سیکلامیک و کلسین را بوسیله جذب بر روی آمبرلیت جداسازی نمودند [۱]. آسانو^۲ و همکارانش در سال ۱۹۶۴، از آمبرلیت برای جذب اسید سیکلامیک استفاده کردند و سپس آن را توسط HCl با غلظت ۰/۱ مولار شستشو داده و اسید سیکلامیک خروجی را با اسید نیتریک واکنش داده و سولفات حاصله را به وسیله روش نفلومتری تعیین نمودند [۲]. یاماگوچی^۳ و همکارانش در سال ۱۹۶۱، روشی را برای جداسازی اسید سولفامیک و اسید سیکلامیک با استفاده از آمبرلیت ارائه نمودند [۳].

۱-۲-۲- کروماتوگرافی کاغذی و لایه نازک

میتشل^۴ و همکارانش در سال ۱۹۵۵، روش کروماتوگرافی کاغذی را برای شناسایی سیکلامات پیشنهاد کردند. آنها ابتدا اسید سیکلامیک، ساخارین و کلسین موجود در نمونه ها را توسط اتیل استات استخراج و سپس محلول حاصل توسط اسید سولفوریک اسیدی نموده، پس از تبخیر حلال، باقی مانده را در محلول آمونیاکی ۵۰٪ اتانول حل و جداسازی را با استفاده از کروماتوگرافی صعودی با فاز

۱- Komada

۲- Asano

۳- Yamaghuchi

۴- Mitchell

متحرک استون - اتیل استات - آمونیاک (۸:۱:۱) کامل نموده و لکه های حاصله را با نیترات نقره M
۰/۰۰۵ و پیروگالول^۱ M ۰/۰۰۰۵ شناسایی نمودند [۴].

کو^۲ و همکارانش در سال ۱۹۵۹، از روش کروماتوگرافی کاغذی برای جداسازی عوامل شیرین کننده
استفاده کردند، فاز متحرک مورد استفاده n - بوتانول و آمونیاک (۴:۱) بوده و برای شناسایی اسید
سیکلامیک از واکنشگر اسید نیتریک رقیق، پیروگالول و نیترات نقره استفاده نمودند [۵].

سالو^۳ و همکارانش در سال ۱۹۵۴ از فاز متحرک ایزوآمیل الکل - پیریدین - آب استفاده کرده و
سیکلومات را از سایر شیرین کننده ها جدا نمودند. ترکیباتی از قبیل اسید سالیسیلیک، اسید بنزوئیک
و اسید سوربیک مزاحمت کمی در اندازه گیری ایجاد نموده اند [۴].

سالو و همکارانش در سال ۱۹۶۵ از روش کروماتوگرافی لایه نازک با فاز ساکن استیلیتد سلولز حاوی
۴۰٪ پلی آمید و فاز متحرک حاوی مخلوط متیل بنزن - ایزوپروپانول و اسید استیک گلاسیال -
(۴۵:۶:۷:۲) برای جداسازی اسید سیکلامیک از اجزای همراه آن استفاده نمودند [۶].

همچنین ایچی باگاز^۴ و همکارانش در سال ۱۹۶۳ فازهای متحرک اتیل استات - اسید استیک گلاسیال
- آب (۴:۱:۲) و اتیل استات - اسید فرمیک - آب (۴:۱:۲) و اتیل استات - اتانول - اسید استیک
گلاسیال - آب (۴:۲:۱:۲) را برای جداسازی اسید سیکلامیک توصیه نمودند. آنها اسید سیکلامیک را
در حضور هیدروژن پراکسید به سیکلوهگزیل آمین هیدرولیز کرده و با استفاده از کین هیدروژن
شناسایی نمودند [۷].

۱ - Pyrogallol

۲ - Ko

۳ - Salo

۴ - Ichbagasee