

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

**TCVN 10033:2013
EN 1379:1996**

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM – XÁC ĐỊNH CYCLAMATE VÀ SACCHARIN
TRONG CÁC CHÉ PHẨM TẠO NGỌT DẠNG LỎNG –
PHƯƠNG PHÁP SẮC KÍ LỎNG HIỆU NĂNG CAO**

Foodstuffs – Determination of cyclamate and saccharin in liquid table top sweetener preparations – Method by high performance liquid chromatography

HÀ NỘI – 2013

Lời nói đầu

TCVN 10033:2013 hoàn toàn tương đương với EN 1379:1996;

TCVN 10033:2013 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13
Phương pháp phân tích và lấy mẫu biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn
Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thực phẩm – Xác định cyclamate và saccharin trong các chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng – Phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao

Foodstuffs – Determination of cyclamate and saccharin in liquid table top sweetener preparations – Method by high performance liquid chromatography

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC) để xác định natri cyclamate và saccharin có trong các chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng. Tiêu chuẩn này cũng cho phép xác định axit sorbic có trong các chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng.

Phép thử liên phòng thử nghiệm được tiến hành đối với chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng [1].

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4851 (ISO 3696), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*.

3 Nguyên tắc

Xác định natri cyclamate, saccharin và axit sorbic trong dịch pha loãng thích hợp của chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng trong nước bằng HPLC, sau đó phát hiện bằng đo quang trong dài UV. Việc nhận biết dựa vào thời gian lưu và định lượng bằng phương pháp ngoại chuẩn sử dụng diện tích pic hoặc chiều cao pic.

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các loại thuốc thử tinh khiết phân tích và nước ít nhất là loại 1 theo TCVN 4851 (ISO 3696), trừ khi có quy định khác.

4.1 Dung dịch kali dihydro orthophosphat, $c(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 0,0125 \text{ mol/l}^1$.

4.2 Metanol, thích hợp dùng cho phân tích HPLC.

4.3 Axit phosphoric.

4.4 Pha động HPLC

Trộn 70 phần thể tích dung dịch kali dihydro orthophosphat (4.1) với 30 phần thể tích metanol (4.2), rồi chỉnh pH đến 4,5 bằng axit phosphoric (4.3). Loại bỏ phần hạt bằng bộ lọc màng (5.2).

Sau khi tiến hành phương pháp này, cần bơm nước qua thiết bị HPLC để tránh bị ăn mòn do tiếp xúc lâu dài với các chất rửa giải có chứa phosphat, cũng như tránh hiện tượng tắc nghẽn xảy ra do phosphat kết tủa.

4.5 Chất chuẩn.

4.5.1 Chất chuẩn natri cyclamate, hàm lượng tối thiểu 98 % tính theo chất khô (sấy ở $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ đến khối lượng không đổi). Hao hụt khối lượng khi sấy không được vượt quá 1 %.

CHÚ THÍCH Để biết thêm thông tin về việc nhận biết và độ tinh khiết, xem [2].

4.5.2 Chất chuẩn natri saccharin, hàm lượng tối thiểu 98 % tính theo chất khô (sấy ở $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ đến khối lượng không đổi). Hao hụt khối lượng khi sấy không được vượt quá 15 %.

CHÚ THÍCH Để biết thêm thông tin về việc nhận biết và độ tinh khiết, xem [2].

4.5.3 Chất chuẩn axit sorbic, hàm lượng tối thiểu 99 %, sau khi được bảo quản 4 h trong chân không ở khoảng 33 hPa trên axit sulfuric đậm đặc ở nhiệt độ phòng.

4.6 Dung dịch gốc

4.6.1 Dung dịch gốc natri cyclamate, $\rho (\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NHSO}_3\text{Na}) \approx 4 \text{ mg/ml}^2$.

Nghiền nhão ít nhất khoảng 1,7 g chất chuẩn natri cyclamate (4.5.1), sau đó cân ngay khoảng 400 mg chất chuẩn natri cyclamate chưa sấy (tương đương với khoảng 356 mg cyclamate dạng axit tự do)³⁾.

¹⁾ c là nồng độ chất

²⁾ ρ là nồng độ khối lượng

³⁾ Hệ số chuyển đổi từ natri cyclamate sang axit sulfamic cyclohexan = 0,890 6.

chính xác đến 0,1 mg, rồi hòa tan trong pha động (4.4) trong bình định mức 100 ml, thêm pha động (4.4) đến vạch. Bảo quản chất chuẩn natri cyclamate đã nghiền nhỏ còn lại. Tiến hành xác định ngay hao hụt khối lượng khi sấy (xem 6.1.1).

4.6.2 Dung dịch gốc saccharin, $\rho(C_7H_5NO_3S) \approx 2 \text{ mg/ml}$.

Nghiền nhỏ ít nhất khoảng 1,5 g chất chuẩn natri saccharin (4.5.2) chưa sấy, sau đó cân ngay khoảng 263 mg chất chuẩn natri saccharin chưa sấy (tương đương với khoảng 200 mg saccharin dạng imid tự do)⁴⁾, chính xác đến 0,1 mg, rồi hòa tan trong pha động (4.4) trong bình định mức 100 ml, thêm pha động (4.4) đến vạch. Bảo quản chất chuẩn natri saccharin đã nghiền nhỏ còn lại. Tiến hành xác định ngay hao hụt khối lượng khi sấy (xem 6.1.2).

4.6.3 Tính nồng độ chính xác của dung dịch gốc natri cyclamate và dung dịch gốc saccharin

Tính nồng độ chính xác của natri cyclamate dạng khan và saccharin dạng khan, ρ , bằng miligam trên lít dung dịch gốc, theo công thức sau:

$$\rho = \frac{m_1 \times (100 - L_D) \times 10}{100} \quad (1)$$

Trong đó:

m_1 là khối lượng chất chuẩn natri cyclamate hoặc chất chuẩn natri saccharin trong V_2 [xem Công thức (2)], tính bằng miligam (mg);

L_D là hao hụt khối lượng khi sấy, tính bằng phần trăm (%).

4.6.4 Dung dịch gốc axit sorbic, $\rho(CH_3(CH)_4COOH) \approx 0,1 \text{ mg/ml}$.

Cân khoảng 100 mg chất chuẩn axit sorbic (4.5.3), chính xác đến 0,1 mg, sau đó hòa tan trong pha động (4.4) trong bình định mức 100 ml, rồi thêm pha động đến vạch. Dùng pipet lấy 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml, thêm pha động (4.4) đến vạch.

4.7 Dung dịch chuẩn

CHÚ THÍCH Có thể sử dụng thêm các dung dịch có nồng độ nằm trong dải tuyển tính để dựng đường chuẩn.

4.7.1 Dung dịch chuẩn I

Dùng pipet lấy 50 ml dung dịch gốc natri cyclamate (4.6.1), 10 ml dung dịch gốc saccharin (4.6.2) và 10 ml dung dịch gốc axit sorbic (4.6.4) cho vào bình định mức 100 ml, rồi thêm pha động (4.4) đến vạch. 1 lít dung dịch này chứa khoảng 2 000 mg natri cyclamate, 200 mg saccharin và 10 mg axit sorbic.

⁴⁾ Hệ số chuyển đổi từ natri saccharin sang saccharin dạng imid tự do = 0,759 3.

4.7.2 Dung dịch chuẩn II

Dùng pipet lấy 25 ml dung dịch gốc natri cyclamate (4.6.1), 5 ml dung dịch gốc saccharin (4.6.2) và 5 ml dung dịch gốc axit sorbic (4.6.4) cho vào bình định mức 100 ml, rồi thêm pha động (4.4) đến vạch. 1 lít dung dịch này chứa khoảng 1 000 mg natri cyclamate, 100 mg saccharin và 5 mg axit sorbic.

4.7.3 Dung dịch chuẩn III

Dùng pipet lấy 10 ml dung dịch gốc natri cyclamate (4.6.1), 2 ml dung dịch gốc saccharin (4.6.2) và 2 ml dung dịch gốc axit sorbic (4.6.4) cho vào bình định mức 100 ml, rồi pha loãng đến vạch bằng pha động (4.4). 1 lít dung dịch này chứa khoảng 400 mg natri cyclamate, 40 mg saccharin và 2 mg axit sorbic.

5 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

5.1 Bộ lọc, ví dụ bộ lọc chân không bằng thủy tinh gồm có đế thủy tinh thiêu kết (đường kính 50 mm), bầu chứa phía trên 250 ml và bình nón 1 lít, tất cả các bộ phận trên đều có các khớp nối thủy tinh mài.

5.2 Bộ lọc màng, thích hợp với pha động (4.4), cỡ lỗ $\leq 5 \mu\text{m}$.

5.3 Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao, gồm có bơm, bộ phận bơm mẫu, detector UV được cài đặt ở bước sóng khác nhau và hệ thống đánh giá dữ liệu, ví dụ bộ ghi đồ thị hoặc bộ tích phân.

5.4 Cột phân tích pha đảo, ví dụ cột pha đảo C 18, cỡ hạt 10 μm , đường kính 4,6 mm, chiều dài 250 mm.

Có thể sử dụng các cỡ hạt khác với quy định trong tiêu chuẩn này. Các thông số tách cần phù hợp với vật liệu sử dụng để đảm bảo các kết quả tương đương.

CHÚ THÍCH Số đĩa lý thuyết tối thiểu tại thể tích lưu của chất phân tích tốt nhất không nhỏ hơn 7 700 đối với saccharin và không nhỏ hơn 4 600 đối với natri cyclamate trong các điều kiện sắc ký được áp dụng.

6 Cách tiến hành

6.1 Xác định hao hụt khối lượng chất chuẩn khi sấy

6.1.1 Xác định hao hụt khối lượng chất chuẩn natri cyclamate khi sấy

Cân khoảng 1,0 g chất chuẩn natri cyclamate (4.5.1) đã nghiền nhão, chính xác đến 0,1 mg. Sấy phần chất chuẩn này đến khối lượng không đổi ở $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ và xác định hao hụt khối lượng khi sấy (L_D), tính bằng phần trăm khối lượng. Hao hụt khối lượng khi sấy không được quá 1 %.

6.1.2 Xác định hao hụt khối lượng chất chuẩn natri saccharin khi sấy

Cân khoảng 1,0 g chất chuẩn natri saccharin (4.5.2) đã nghiền nhỏ, chính xác đến 0,1 mg. Sấy phần chất chuẩn này đến khối lượng không đổi ở $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ và xác định hao hụt khối lượng khi sấy (L_D), tính bằng phần trăm khối lượng. Hao hụt khối lượng khi sấy không được quá 15 %.

6.2 Chuẩn bị dung dịch mẫu thử

Pha loãng 10 ml chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng bằng pha động (4.4) đến 100 ml (V_1), rồi lọc qua bộ lọc màng (5.2). Pha loãng 10 ml dung dịch lọc này đến 100 ml.

6.3 Nhận biết bằng HPLC

Nhận biết các chất tạo ngọt cần xác định và axit sorbic bằng cách so sánh thời gian lưu của mẫu với thời gian lưu của các chất chuẩn hoặc bằng cách so sánh các đặc tính hấp thụ của mẫu với các đặc tính của chất chuẩn sau khi ghi lại đường hấp thụ hoặc thực hiện các phép đo ở các bước sóng khác nhau trong dải bước sóng thích hợp đối với cả mẫu thử và chất chuẩn.

Các phòng thử nghiệm được trang bị các detector có bước sóng cố định phải tiến hành chạy riêng để xác định cyclamate và saccharin ở các bước sóng có liên quan. Tiêu chuẩn này cho phép xác định axit sorbic ở cùng điều kiện được lựa chọn đối với saccharin (bước sóng 265 nm). Nếu cần tăng độ nhạy khi xác định axit sorbic thì nên thực hiện ở bước sóng 260 nm.

CHÚ THÍCH 1 Do axit sorbic là hợp chất được rửa giải sau, nên cần tinh đến khả năng gây nhiễu cho lần chạy tiếp theo.

CHÚ THÍCH 2 Nếu sử dụng cột tách (5.4) và pha động (4.4) thì các điều kiện thực nghiệm dưới đây (xem Hình A.1) được cho là thích hợp:

Tốc độ dòng 1,7 ml/min

Detector UV bước sóng 200 nm (đối với natri cyclamate)

bước sóng 265 nm (đối với saccharin)

bước sóng 260 nm (đối với axit sorbic)

Thể tích bơm 20 μl

6.4 Xác định bằng HPLC

Tiến hành xác định bằng phương pháp ngoại chuẩn, tích phân diện tích pic hoặc xác định chiều cao pic (xem 7.3), rồi so sánh các kết quả với các giá trị tương ứng đối với chất chuẩn có diện tích pic/chiều cao pic gần nhất, hoặc sử dụng đường chuẩn. Trong trường hợp sử dụng đường chuẩn, các dung dịch có nồng độ nằm trong dải tuyến tính có thể được sử dụng để sử dụng đường chuẩn.

Bơm các thể tích bằng nhau của mẫu thử và dung dịch chuẩn. Kiểm tra độ tuyến tính của hàm chuẩn.

CHÚ THÍCH Sắc kí đồ trong Hình A.1 sử dụng cột pha đảo C18, cỡ hạt 10 μm , đường kính 4,6 mm, chiều dài cột 250 mm.

7 Biểu thị kết quả

7.1 Dựa vào kết quả tính toán trên đường chuẩn. Có thể dùng cách tính khác sử dụng đường hồi quy.

7.2 Đối với các phép thử thông dụng và các phép thử lặp lại, thì có thể dựa vào công thức tính trên đường chuẩn hoặc sử dụng quy trình giản lược sau đây.

Tính hàm lượng, ρ , của natri cyclamate và saccharin, bằng gam trên lít hoặc hàm lượng axit sorbic, bằng miligam trên lít mẫu thử, theo Công thức (2):

$$\rho = \frac{A_1 \times V_1 \times m \times 10^3 \times F}{A_2 \times V_2 \times m_0} \quad (2)$$

Trong đó:

A_1 là diện tích pic hoặc chiều cao pic của natri cyclamate, saccharin hoặc axit sorbic thu được đối với dung dịch mẫu thử, tính bằng đơn vị của diện tích hoặc chiều cao;

A_2 là diện tích pic hoặc chiều cao pic của natri cyclamate, saccharin hoặc axit sorbic thu được đối với dung dịch chuẩn, tính bằng đơn vị của diện tích hoặc chiều cao;

V_1 là tổng thể tích dung dịch mẫu thử (6.2), tính bằng mililit (ml), (trường hợp này là: 100 ml);

V_2 là tổng thể tích dung dịch chuẩn (4.7), tính bằng mililit (ml), (trường hợp này là: 100 ml);

m là khối lượng chất chuẩn natri cyclamate và chất chuẩn natri saccharin tính bằng gam (g) hoặc khối lượng axit sorbic tương ứng có trong thể tích V_2 , tính bằng miligam (mg), đã được hiệu chỉnh đối với hao hụt khối lượng khi sấy;

F là hệ số pha loãng (trường hợp này là 10);

m_0 là khối lượng mẫu ban đầu, tính bằng mililit (ml).

Báo cáo kết quả đối với natri cyclamate hoặc axit cyclamic đến một chữ số thập phân, đối với natri saccharin hoặc saccharin dạng imid tự do thì báo cáo đến hai chữ số thập phân và đối với axit sorbic thì lấy đến số nguyên.

7.3 Khi xác định natri cyclamate chỉ sử dụng diện tích pic để đánh giá vì pic không đổi xứng.

8 Độ chum

Chi tiết phép thử liên phòng thử nghiệm về độ chum của phương pháp phù hợp với ISO 5725:1986 [3]⁵⁾ được nêu trong Phụ lục B. Các giá trị thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm này có thể không áp dụng cho các dải nồng độ và nền mẫu khác với các giá trị đã nêu trong Phụ lục B.

8.1 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ, trên vật liệu thử giống hệt nhau, do một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, thực hiện trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp vượt quá giới hạn lặp lại r . Các giá trị là:

Natri cyclamate $r = 0,69 \text{ g}/100 \text{ ml}$ đối với chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng;

Saccharin $r = 0,03 \text{ g}/100 \text{ ml}$ đối với chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng;

Axit sorbic $r = 2 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ đối với chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng.

8.2 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong hai phòng thử nghiệm khác nhau, do những người phân tích khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp vượt quá giới hạn tái lập R . Các giá trị là:

Natri cyclamate $R = 1,0 \text{ g}/100 \text{ ml}$ đối với chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng;

Saccharin $R = 0,08 \text{ g}/100 \text{ ml}$ đối với chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng;

Axit sorbic $R = 8 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ đối với chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng.

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- kết quả và đơn vị tính;
- kết quả cuối cùng thu được, nếu kiểm tra độ lặp lại;

⁵⁾ ISO 5725:1986 đã hủy và thay thế bằng bộ tiêu chuẩn ISO 5725 (gồm 06 phần) đã được chấp nhận thành bộ tiêu chuẩn TCVN 6910 (gồm 06 phần).

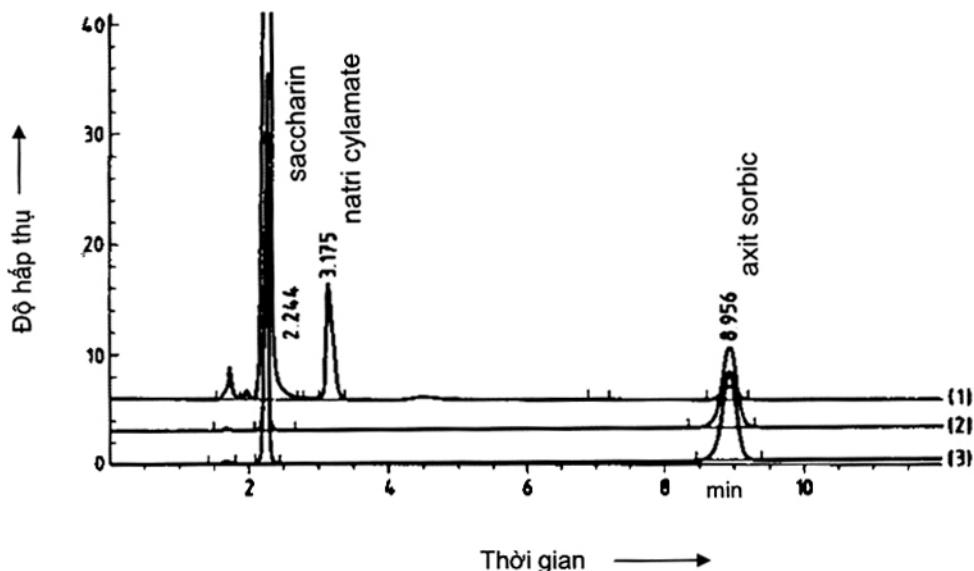
TCVN 10033:2013

mọi điểm bất thường quan sát được trong quá trình thử nghiệm;

- mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc được xem là tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường khác có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Phụ lục A
(Tham khảo)

Ví dụ về sắc ký đồ HPLC



Chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng (hàm lượng các chất: natri cyclamate 600 mg/l, saccharin 53 mg/l, axit sorbic 2,3 mg/l)
(dung dịch pha loãng 1 +199)

Cột chiết Nucleosil ® 120⁶⁾ C 18

Đường kính 4,6 mm

Chiều dài 250 mm

Pha động Dung dịch kali dihydro orthophosphat ($c = 0,0125 \text{ mol/l}$)/metanol loại dùng cho HPLC (70 : 30 thể tích) + axit phosphoric ($\text{pH} = 4,5$)

Tốc độ dòng 1,7 ml/min

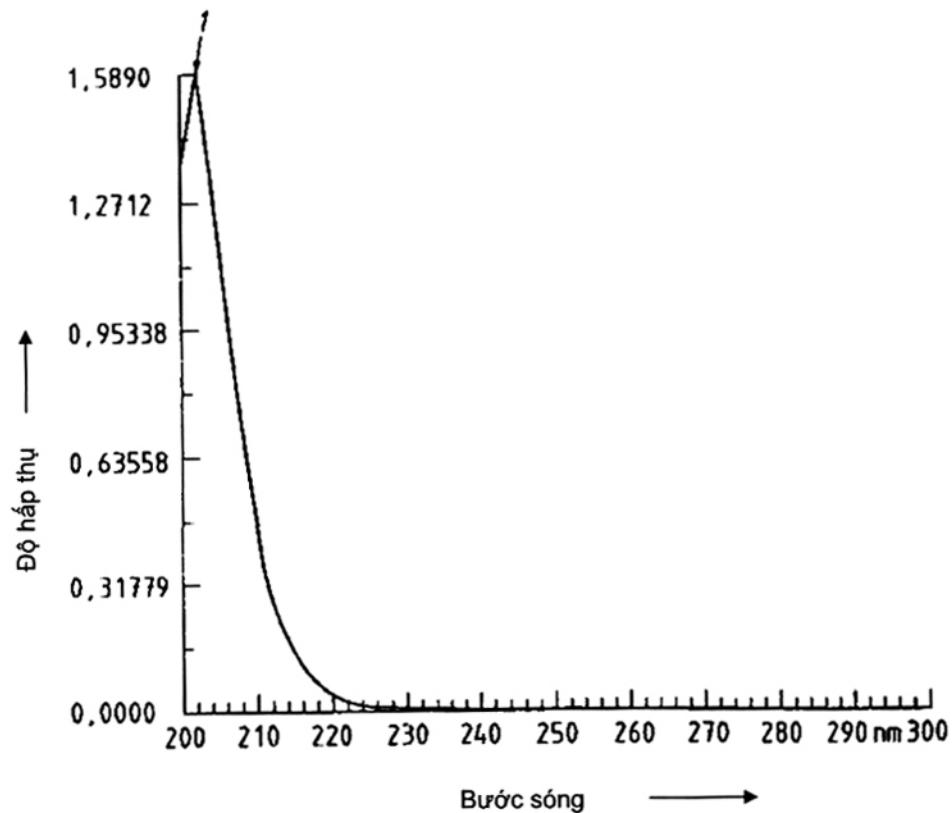
Detector UV 200 nm (1), 260 nm (2) và 265 nm (3)

Thể tích bơm 20 μl

Hình A.1 – Sắc ký đồ HPLC của chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng

⁶⁾ Nucleosil ® 120 là tên thương mại của sản phẩm được cung cấp bởi Marcheray-Nagel, Düren. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này và không ẩn định phải sử dụng sản phẩm này. Các sản phẩm tương tự có thể được sử dụng nếu chúng đưa ra các kết quả tương đương.

Mẫu	Natri cyclamate
Dung môi	Pha động (4.4)
Nồng độ	4 g/l
Hàm số	Độ hấp thụ
Dải bước sóng	Từ 200 nm đến 300nm



Giá trị tối đa được công nhận:

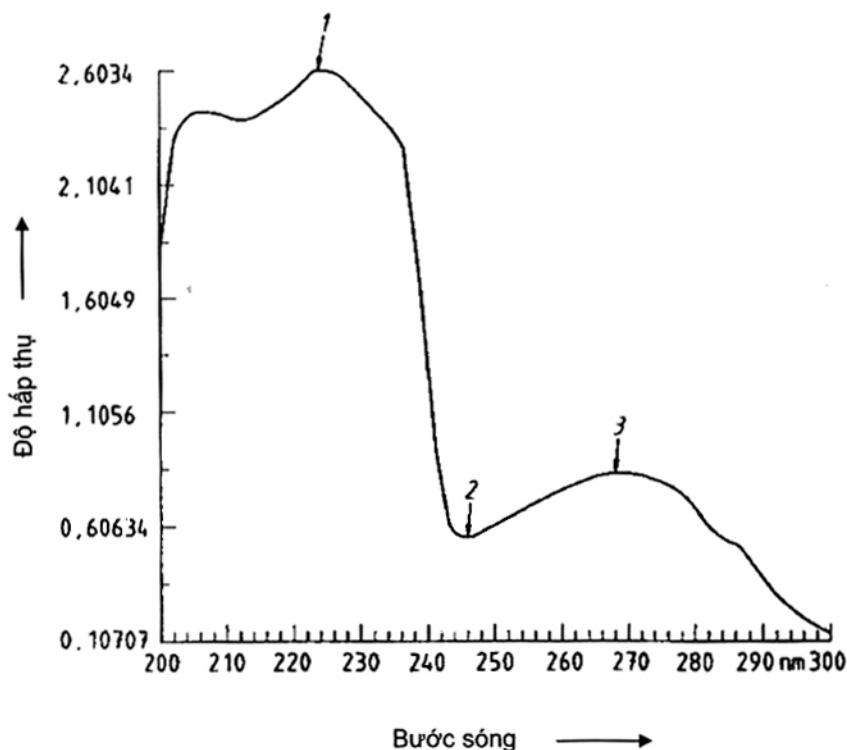
1: Bước sóng = 202 nm

Độ hấp thụ = 1,588959

Hình A.2 – Phổ hấp thụ của dung dịch chuẩn natri cyclamate

(trong pha động được nêu trong 4.4)

Mẫu	Natri sacharin
Dung môi	Pha động (4.4)
Nồng độ	100 mg/l
Hàm số	Độ hấp thụ
Dải bước sóng	Từ 200 nm đến 300 nm



Giá trị tối đa được công nhận:

- | | |
|-----------------------|-----------------------|
| 1: Bước sóng = 224 nm | Độ hấp thụ = 2,603378 |
| 2: Bước sóng = 246 nm | Độ hấp thụ = 0,550720 |
| 3: Bước sóng = 268 nm | Độ hấp thụ = 0,834274 |

**Hình A.3 – Phổ hấp thụ của dung dịch chuẩn natri saccharin
(trong pha động được nêu trong 4.4)**

Phụ lục B

(Tham khảo)

Dữ liệu về độ chum

Các giá trị được xác định trong phép thử liên phòng thử nghiệm phù hợp với ISO 5725:1986 [3]. Các phép thử do Viện Max von Pettenkofer thuộc sở Y tế Liên bang, Cục Hóa học Thực phẩm, Berlin, Đức [1] tổ chức thực hiện.

Bảng B.1 – Dữ liệu về độ chum

Mẫu	Chế phẩm tạo ngọt dạng lỏng		
	Natri cyclamate	Saccharin	Axit sorbic
Năm tiến hành phép thử liên phòng thử nghiệm	1989	1989	1989
Số lượng phòng thử nghiệm	8	8	8
Số lượng mẫu	1	1	1
Số lượng các phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	6	7	7
Số lượng các phòng thử nghiệm ngoại lệ	2	1	1
Số lượng các kết quả chấp nhận được	30	35	35
Giá trị trung bình, \bar{x}	12,02 g/100 ml	1,06 g/100 ml	30 mg/100 ml
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r	0,24 g/100 ml	0,01 g/100 ml	0,6 mg/100 ml
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, RSD_r	2,05 %	1,01 %	2,38 %
Giới hạn lặp lại, r	0,69 g/100 ml	0,03 g/100 ml	2 mg/100 ml
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R	0,35 g/100 ml	0,03 g/100 ml	3 mg/100 ml
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, RSD_R	2,97 %	2,70 %	9,52 %
Giới hạn tái lập, R	1,0 g/100 ml	0,08 g/100 ml	8 mg/100 ml

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] *Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung des Aspartamgehaltes in Süßstoff-Tabletten L 57.22.99-4, Dezember 1989, (Food Analysis: Determination of aspartam content of sweetener tablets L 57.22.99-4, 1989-12) In: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: Verfahren zur Probenahme und Bedarfsgegenständen/Bundesgesundheitsamt (In: Collection of official methods under article 35 of the German Federal Foods Act; Methods of sampling and analysis of foods, tobacco products, cosmetics and commodity goods, Federal Healthy Office) Loseblattausgabe, Stand Mai 1994. Bd. 1 (Losse-leaf edition of 1994-05 Vol. I.) Berlin, Köln: Beuth Verlag GmbH.*
 - [2] FAO Food and Nutrition Paper 19 of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, April 1981.
 - [3] ISO 5725:1986, *Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests.*
-