

VALIDASI METODE KROMATOGRAFI GAS-SPEKTROMETRI MASSA UNTUK PENETAPAN KADAR RESIDU ENDOSULFAN DALAM KUBIS

DINI TRI ANGGRAINI, RIESTA PRIMA HARINASTITI, ISNAENI

Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia,
deenee_3@yahoo.com

ABSTRACT

The purpose of this study is to develop and validate a simple method suitable for analysis of trace amounts of endosulfan in cabbage. Cabbage samples were extracted with acetone and endosulfan was partitioned into dichloromethane/n-hexane (1:1, v/v). Final determination was performed by gas chromatography with mass spectrometry. Recovery studies were performed at 0.02 mg/kg fortification level of each compound (endosulfan I, endosulfan II, endosulfan sulfat) and the recoveries obtained ranged 69.67% to 124.02% with coefficient of variation values of 5.56-11.54%. The method showed good linearity over the range assayed 2-6 µg/mL and the detection and quantification limits for endosulfan studied varied, 0.1273 µg/mL to 0.1469 µg/mL and 0.856 µg/mL to 0.4451 µg/mL respectively.

Keywords: GC-MS, endosulfan, pesticides, validation, cabbage

PENDAHULUAN

Dalam rangka meningkatkan kebutuhan pangan manusia, maka segala upaya dilakukan untuk menghasilkan produk pangan yang melimpah. Segala macam cara dilakukan agar produk pangan tersebut tidak mengalami gagal panen atau terserang hama yang dapat mengakibatkan produksi pangan tersebut menurun. Salah satu cara yang terbukti mampu meningkatkan produksi adalah dengan menggunakan pestisida (Bempah *et al.*, 2011).

Pestisida telah digunakan secara luas untuk menjamin peningkatan hasil panen, digunakan selama proses produksi dan setelah produk pertanian dipanen. Penggunaan pestisida yang meningkat dan tidak dikendalikan telah mengkontaminasi lingkungan serta dapat berefek jangka panjang pada kesehatan manusia. Insektisida (termasuk organofosfat dan piretroid) dan fungisida (termasuk triazol dan kloronitrat) umum digunakan oleh negara-negara berkembang untuk kontrol hama dan pembasmian vektor penyakit (Chen *et al.*, 2011). Menurut *the United States Environmental Protection Agency*, lebih dari 1180 pestisida telah beredar yang meliputi 435 herbisida, 335 insektisida dan 410 fungisida. Pestisida ini dijual dalam bentuk lebih dari 32.800 formula. Pestisida telah digunakan secara luas di seluruh dunia; yaitu digunakan kira-kira sebanyak 24% di US, 46% di Eropa dan sisanya sebanyak 30% digunakan di

negara-negara berkembang. Penggunaan pestisida meningkat dua kali lipat pada tahun 1980 dan meningkat sebanyak tiga kali lipat pada tahun 1990 dibandingkan penggunaan pestisida pada tahun 1965. Peningkatan ini diikuti pula dengan peningkatan hasil pertanian (Srivastava, 2010), namun karena lemahnya praktek penanganan pestisida, penggunaan pestisida yang lebih toksik oleh petani, serta regulasi dan manajemen yang kurang baik menyebabkan kasus keracunan pestisida di negara berkembang lebih besar dibanding negara maju. Oleh karena itu, pengawasan residu pestisida merupakan salah satu cara untuk mengendalikan jumlah pestisida dalam makanan (Chen *et al.*, 2011).

Penggunaan pestisida dalam proses produksi pertanian dapat menghasilkan residu pestisida pada hasil pertanian termasuk sayuran. Keberadaan residu pestisida ini selalu menjadi masalah yang serius dan perlu diperhatikan. Khususnya ketika produk tersebut dikonsumsi dalam keadaan segar (Chen *et al.*, 2011). Keracunan pada manusia yang disebabkan oleh pestisida mengalami peningkatan di seluruh dunia dan pada tahun 1972 terdapat 500.000 kasus, yang kemudian meningkat menjadi 25.000.000 kasus pada tahun 1990 (Salama *et al.*, 1997).

Endosulfan adalah salah satu pestisida dari golongan organoklorin yang dilaporkan paling sering menyebabkan keracunan yang tidak

disengaja khususnya di Asia, Amerika Selatan, dan Afrika Barat, yang paling sering terjadi adalah akibat paparan saat bekerja. Kejadian keracunan yang fatal akibat endosulfan terjadi di Benin, Kolombia, Kostarika, Guatemala, India, Indonesia, Malaysia, Filipina, Mali, Selandia Baru, Senegal, Afrika Selatan, Sri Lanka, Togo, Turki dan USA (PAN Eropa, 2008). Endosulfan merupakan insektisida dan akarisisida dari kelompok siklodien yang efektif untuk mengendalikan serangga dan tungau penusuk-penghisap, pengunyah dan pengebor pada berbagai tanaman (Djojsumarto, 2008). Keracunan akut oleh endosulfan dapat mengakibatkan kejang-kejang, gangguan kejiwaan, epilepsi, kelumpuhan, edema otak, gangguan memori dan kematian. Untuk paparan jangka lama dapat mengakibatkan immunosupresi, gangguan saraf, cacat lahir bawaan (seperti kelainan kromosom, keterbelakangan mental, gangguan belajar dan kehilangan memori). Dampak paparan endosulfan menyebabkan meningkatnya angka kematian dan kelahiran cacat di Kerala (kota di kawasan Selatan India) yang secara rutin melakukan penyemprotan tanaman menggunakan endosulfan melalui udara (Jehan, 2011).

Untuk mencegah dan melindungi kesehatan masyarakat dari bahaya pestisida khususnya endosulfan, maka perlu ditetapkan batas maksimum residu pestisida pada hasil pertanian terutama sayuran. Batas maksimum residu yang selanjutnya disingkat BMR merupakan batas dugaan maksimum residu pestisida yang ada dalam berbagai hasil pertanian yang diperbolehkan. Batas maksimum kandungan pestida yang boleh terdapat dalam suatu bahan hasil pertanian dinyatakan dengan satuan mg/kg. Adanya BMR ini untuk mencegah dan melindungi kesehatan masyarakat yang mengkonsumsi bahan hasil pertanian tersebut dari bahaya pestisida (Deptan, 2001).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa sayuran terutama kubis mengandung lebih dari satu jenis residu pestisida dan yang paling banyak dijumpai pada kubis adalah endosulfan (Munarso *et al.*, 2006). Kubis diperkirakan mengandung pestisida endosulfan, karena pestisida ini digunakan untuk mengendalikan hama ulat grayak yang sering menyerang tanaman kubis (Djojsumarto, 2008). Batas Maksimum Residu pestisida endosulfan yang

diperbolehkan terdapat pada sayuran terutama kubis adalah sebesar 2 mg/kg (KepMenkes, 1996).

Beberapa metode telah dilakukan untuk penentuan pestisida; antara lain kromatografi gas (Rathore, 2010). Keunggulan metode kromatografi gas (KG) adalah metode ini mampu mendeteksi sampai pada jumlah nanogram, resolusi tinggi serta membutuhkan sampel dalam jumlah kecil (McNair and Miller, 2009). Selain itu, KG merupakan metode yang terbukti telah digunakan secara luas, paling serba guna dan merupakan metode yang sensitif untuk analisis residu pestisida (Rathore, 2010). Beberapa detektor kromatografi gas yang cocok digunakan untuk menganalisis senyawa organik mudah menguap yang mempunyai konsentrasi rendah dalam lingkungan di antaranya, yaitu *Flame Ionization Detector* (FID), *Electron Capture Detector* (ECD), *Photoionisation Detector* (PID), dan spektrometri massa (SM).

Penelitian ini bertujuan melakukan validasi metode kromatografi gas-spektrometri massa untuk penetapan kadar residu endosulfan dalam kubis. Metode KG-SM selain dapat mengidentifikasi dan mengonfirmasikan adanya suatu senyawa, juga mempunyai sensitivitas tinggi dan dapat mendeteksi dalam ppm maupun ppb (McNair and Miller, 2009).

METODE PENELITIAN

Bahan : Standar organoklorin 2000 µg/mL *p.a* yang mengandung endosulfan I, endosulfan II, endosulfan sulfat (Sigma-Aldrich), Kubis yang diperoleh dari pasar, aseton *p.a* (Merck; purity >99,5%), NaCl *p.a* (Merck; purity ≥99,9%), Na₂SO₄ anhidrat *p.a* (Sigma-Aldrich; purity>99%), n-heksana *p.a* (Mallinckrodt; purity>98,5%), diklorometana *p.a* (Merck; purity ≥99,8%), toluen *p.a* (Merck; purity 99,5%), Gas pembawa untuk KG: Helium (He).

Alat : Timbangan analitik (adventurer™ OHAUSS), *rotary evaporator* (Laborota 9400), Kolom: HP-5, 5 *phenyl 95% methyl siloxane*, model no : Agilent 19091J-413 (capillary 30,0 m x 320 µm x 0,25 µm), Detektor : Agilent Technologies 5973 *inert Mass Selective Detector*, *Autosampler Injector* (Agilent Technologies 7683 Series).

Kondisi Kromatografi Gas-Spektrometri Massa

Suhu inlet 250°C, suhu oven terprogram 180°C (2 menit), kemudian dinaikkan 1°C/menit hingga mencapai suhu 190°C, dinaikkan 2°C/menit hingga suhu 204°C, dari suhu 204°C, dinaikkan 1°C/menit hingga suhu 206°C kemudian dinaikkan lagi 2°C/menit hingga suhu 290°C, ditahan selama 2 menit, suhu detektor 250°C, split rasio (1:1) dan *flow rate* 1,5 mL/menit. Waktu yang dibutuhkan untuk analisis relatif lama, yaitu 65 menit. Spektrometer massa dioperasikan dengan cara ionisasi elektron menggunakan energi ionisasi sebesar 70 eV. Analisis dilakukan dengan cara *total ion chromatogram* (TIC).

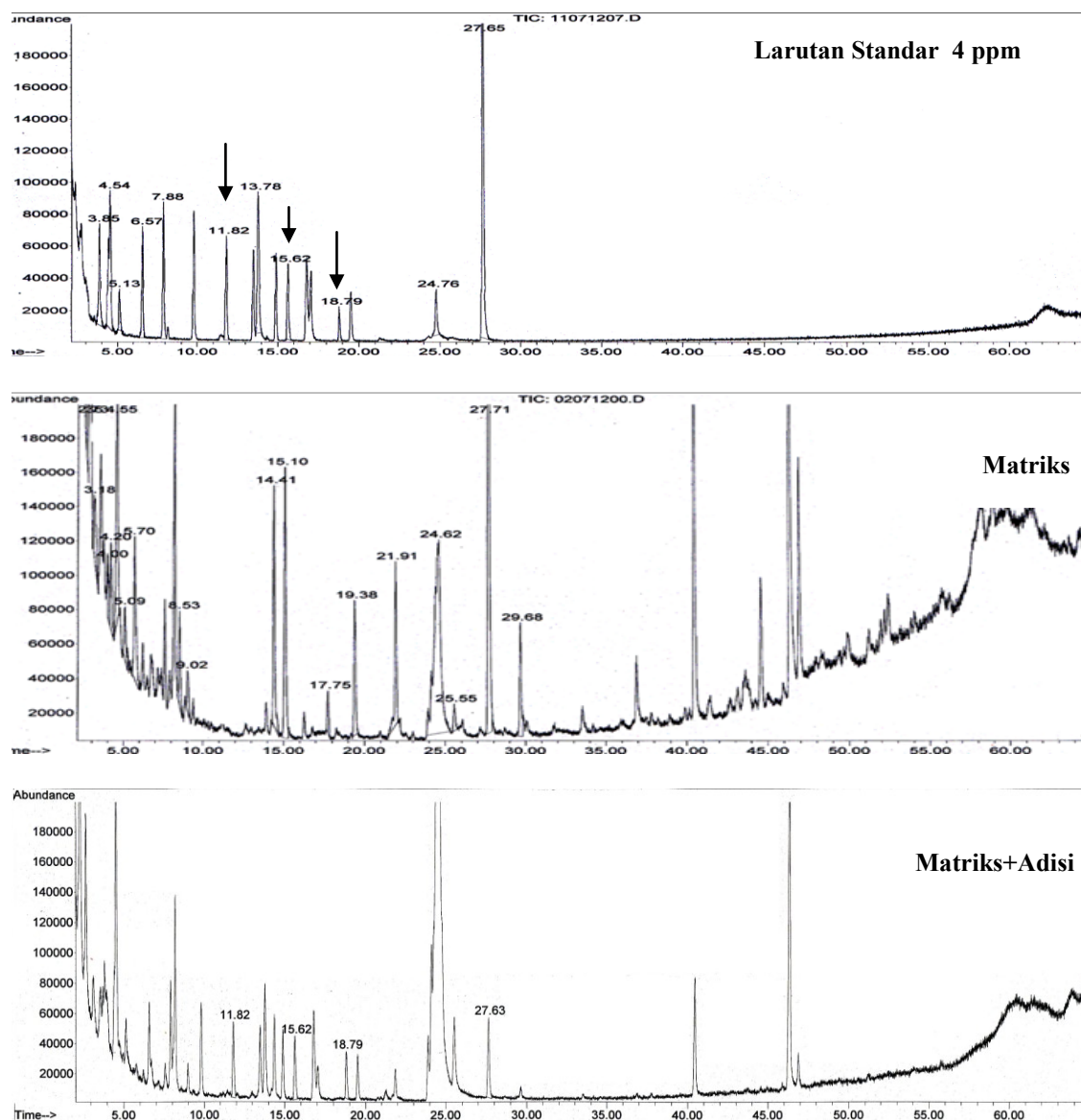
Ekstraksi Sampel

Sampel kubis dihaluskan, kemudian ditimbang sebanyak 10,0 gram. Ditambah 10,0 mL aseton, disonikasi dua kali selama 10 menit. Sampel disaring, filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1,5 g NaCl, kemudian divortex sampai sebagian besar NaCl larut, ditambah 4,0 mL n-heksana dan 4,0 mL diklorometana, kemudian divortex selama 1 menit dengan kecepatan tinggi. Setelah didiamkan, akan didapatkan fase organik dan fase air. Fase organik (atas) dipisahkan dan dikumpulkan dalam tabung reaksi. Sedangkan fase air ditambahkan 4,0 mL n-heksana, dan divortex selama 1 menit. kemudian akan terbentuk dua lapisan, fase organik (atas) dikumpulkan dalam tabung reaksi, tahap ini diulangi sekali lagi. Semua fase organik yang sudah terkumpul ditambahkan dengan 2,0 g Na₂SO₄ anhidrat, kemudian disaring. Fase organik diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai kering. Kemudian dilarutkan dengan campuran toluen:heksana (1:1,v/v) hingga 5,0 mL dalam labu ukur. Larutan analit siap digunakan untuk dianalisis dengan KG-SM.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Endosulfan mempunyai dua bentuk stereoisomer, yaitu α -endosulfan (endosulfan I) dan β -endosulfan (endosulfan II). Selain memiliki dua senyawa induk tersebut, endosulfan juga memiliki metabolit utama yang biasanya terdapat dalam sayuran, yaitu endosulfan sulfat (Vidal *et al.*, 1997). Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan analisis residu untuk ketiga jenis endosulfan tersebut. Karena kesulitan untuk mendapatkan blanko matriks kubis, maka matriks kubis yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari pasar. Matriks kubis yang digunakan sebelumnya sudah diidentifikasi dan ternyata tidak mengandung senyawa endosulfan I, endosulfan II dan endosulfan sulfat.

Parameter yang pertama dilakukan adalah selektifitas. Uji ini dilakukan untuk melihat adakah pengaruh matriks kubis pada proses analisis. Hasil uji selektifitas menunjukkan bahwa matriks kubis tidak memberikan gangguan pada daerah *retention time* dari standar endosulfan, meskipun matriks kubis begitu kompleks. Berdasarkan kromatogram standar campuran endosulfan, waktu retensi endosulfan I = 11,82 menit ; t_R endosulfan II = 15,62 menit ; t_R endosulfan sulfat = 18,79 menit. Waktu retensi tersebut memiliki kesamaan dengan waktu retensi yang dihasilkan dari kromatogram matriks kubis yang ditambahkan dengan standar campuran endosulfan (Gambar 5.1), yaitu t_R endosulfan I = 11,82 menit ; t_R endosulfan II = 15,62 menit ; t_R endosulfan sulfat = 18,79 menit. Selain itu, puncak analit dalam matriks memiliki kemiripan dengan data pada *library* sebesar 93% untuk endosulfan I, 94% untuk endosulfan II dan 99% untuk endosulfan sulfat. Hasil ini menunjukkan bahwa metode ini memiliki kemampuan untuk mengukur analit yang dimaksud secara spesifik dan selektif, meskipun terdapat komponen lain dalam matriks sampel. Gambar hasil dari uji selektifitas tercantum pada gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram larutan standar campuran organoklorin yang mengandung endosulfan, hasil ekstraksi matriks kubis dan analit dalam matriks kubis

Parameter validasi yang diuji berikutnya adalah linearitas. Pada penentuan linieritas digunakan 5 konsentrasi, ini merupakan konsentrasi minimum yang harus digunakan untuk penentuan linieritas (ICH, 2005). Konsentrasi yang digunakan untuk

masing-masing senyawa analit antara 2-6 ppm. Hasil uji tersebut menghasilkan harga r , V_{x0} dan X_p pada masing-masing analit. Hasil untuk uji linieritas tercantum pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Data Linieritas

Analit	Persamaan Regresi	r	V_{x0}	X_p ($\mu\text{g/mL}$)	X_i ($\mu\text{g/mL}$)
Endosulfan I	$y=1857498,941x-1808304,600$	0,9914	6,07 %	1,06	1,8880
Endosulfan II	$y=1636180,635x - 629997,872$	0,9914	6,00 %	1,15	1,8884
Endosulfan Sulfat	$y=795523,2135x - 976437,233$	0,9938	5,09 %	0,98	1,8886

Berdasarkan data dari ketiga analit tersebut, harga r yang dihasilkan $r > 0,99$ yaitu lebih besar dari Tabel (0,878). Parameter linieritas yang lain adalah nilai prosen relatif standar deviasi (V_{x_0}) yang pada masing-masing analit didapatkan harga lebih besar dari 5% dan harga X_p lebih kecil dari konsentrasi terendah senyawa yang digunakan dalam kurva linieritas. Kriteria penerimaan nilai V_{x_0} adalah tidak lebih dari 5 %, sedangkan konsentrasi terendah senyawa analit pada kurva linieritas (X_1) lebih besar dari nilai X_p (Yuwono and Indrayanto, 2005). Dari data-data perhitungan parameter-parameter linieritas tersebut dapat disimpulkan bahwa ada hubungan linier antara konsentrasi endosulfan dengan area pada masing-masing senyawa meskipun salah satu parameter,

yaitu harga V_{x_0} tidak memenuhi persyaratan namun persyaratan parameter lainnya (harga r dan X_p) memenuhi kriteria persyaratan untuk linieritas. Data ini menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan sudah memenuhi kriteria linieritas pada rentang konsentrasi 2-6 ppm untuk masing-masing analit.

Parameter validasi selanjutnya adalah batas deteksi dan batas kuantitasi (Limit of Detection/LOD-Limit of Quantitation/LOQ). Penentuan LOD-LOQ dilakukan berdasarkan pengukuran standar deviasi respon *slope* kurva kalibrasi, yang terdiri dari lima konsentrasi rendah pada daerah LOD-LOQ. Diperoleh data persamaan regresi pada rentang konsentrasi 0,7-1,5 ppm. Data tersebut tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Data LOD dan LOQ

Analit	r	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)
Endosulfan I	0,9939	0,1275	0,3865
Endosulfan II	0,9938	0,1273	0,3856
Endosulfan Sulfat	0,9915	0,1469	0,4451

Berdasarkan data-data tersebut, konsentrasi senyawa analit yang dianalisis pada sampel kubis berada di atas LOD dan LOQ; yaitu 4 ppm, sehingga metode ini dapat digunakan untuk penentuan kadar residu endosulfan dalam kubis.

Uji akurasi dan presisi dilakukan untuk mengukur ketelitian dan keterulangan metode analisis. Akurasi dapat dinyatakan dengan persen *recovery*. Pada penentuan akurasi ini, digunakan satu macam konsentrasi campuran endosulfan I, endosulfan II dan endosulfan sulfat yang diadiskan ke dalam matriks kubis, yaitu konsentrasi 100 % dengan konsentrasi 0,02 mg/10 g sampel kubis untuk masing-masing analit dan dilakukan replikasi 6 kali (ICH, 2005). Konsentrasi yang diadiskan ini berdasarkan batas maksimum residu (BMR) endosulfan yaitu sebesar 2 mg/kg (Kepmenkes, 1996). Prosedur ekstraksi yang dilakukan diadopsi dari metode standar dalam AOAC dengan beberapa perubahan, yaitu dengan menggunakan pelarut campuran diklorometana dan n-heksana, sedangkan di dalam metode standar digunakan pelarut campuran diklorometana dengan petroleum eter. Penggantian pelarut ini dilakukan, karena ketika

metode standar diaplikasikan ke dalam kubis, maka analit (endosulfan) yang dihasilkan mempunyai kemiripan struktur senyawa pada data *library* hanya sebesar 50-59%. Fenomena ini terjadi disebabkan oleh pengaruh matriks yang begitu kompleks dan ikut terekstraksi. Pemilihan n-heksana sebagai pengganti petroleum eter berdasarkan pertimbangan di beberapa penelitian yang menyatakan bahwa untuk matriks kubis dengan senyawa endosulfan sebagai analit digunakan campuran diklorometana dengan n-heksana (Tekel and Hatrick, 1996). Pada proses ekstraksi ini juga digunakan NaCl dan Na_2SO_4 anhidrat. Penambahan NaCl bertujuan untuk memisahkan fase organik dengan fase air, sedangkan Na_2SO_4 anhidrat digunakan untuk menarik sisa air yang masih ada di dalam fase organik. Metode standar yang sudah mengalami modifikasi ini memiliki kemiripan struktur dengan analit, dengan *Library* lebih besar; yaitu sebesar 91-99%, sehingga metode ini digunakan dalam proses ekstraksi untuk selanjutnya. Data dalam Tabel 3 menginformasikan hasil perhitungan *recovery* dan koefisien variasi.

Tabel 3. Rata-rata *recovery* (%) (n=6) dan harga koefisien variasi (%)

Analit	Jumlah yang diadisiikan	KV
	0,02 mg/kg	
Endosulfan I	76,52	5,56
Endosulfan II	76,63	7,03
Endosulfan Sulfat	106,44	11,54

Harga % *recovery* tersebut telah memenuhi persyaratan akurasi yaitu sebesar 50-120% (AOAC, 2002). Sedangkan untuk harga KV (n=6) yang dihasilkan dari endosulfan sulfat relatif lebih besar dibandingkan analit lainnya, karena puncak yang dihasilkan endosulfan sulfat relatif lebih kecil dibandingkan kedua senyawa analit lainnya, sehingga kesalahan yang dihasilkan juga lebih besar. Berdasarkan harga KV dari ketiga senyawa analit tersebut, maka metode ini memenuhi kriteria penerimaan presisi, yaitu $KV \leq 15\%$ (Yuwono dan Indrayanto, 2005).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa metode kromatografi gas-spektrometri massa untuk analisis residu pestisida endosulfan dalam sampel kubis yang sesuai spesifikasi dalam penelitian ini telah memenuhi persyaratan validasi metode dengan parameter: selektivitas, batas deteksi, batas kuantitasi, linieritas, akurasi, dan presisi. Harga batas deteksi 0,1275 µg/mL, 0,1273 µg/mL dan 0,1469 µg/mL masing-masing untuk endosulfan I, endosulfan II dan endosulfan sulfat serta memiliki harga %*recovery* sebesar 69,67%-124,02%.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian validasi metode kromatografi gas-spektrometri massa untuk analisis residu pestisida endosulfan dalam kubis, disarankan agar metode ini diterapkan sebagai salah satu metode alternatif dalam penetapan kadar residu endosulfan dalam kubis yang beredar di pasaran sebagai kontrol kualitas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima Kasih penulis sampaikan pada *Project Grant* Fakultas Farmasi Universitas Airlangga 2012

yang telah mendanai penelitian ini dengan ketua Dr. Rieta Primaharinastiti, MS. Apt. beserta tim.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2009) **Vegeblend**. Diakses dari www.pharos.co.id/our-product/food-suplemen/65-vegeblend.html, pada tanggal 10 Januari 2012.
- AOAC. (2002) **AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for dietary Supplements and Botanicals**. Diakses dari www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf, pada tanggal 16 Januari 2012.
- Bempah, C.K., Buah-Kwofie, A., Enimil, E., and Blewu, B. (2011) Residues of organochlorine pesticides in vegetables marketed in Greater Accra region of Ghana. **Food Control**, (25), pp.537-542.
- Chandra, S., Mahindrakar, A.N. and Shinde, L.P. (2010) Determination of cypermethrin. Chen, C., Qian, Y., Chen, Q., Tao, C., Li, C., and Li, Y. (2011) Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from Xiamen, China. **Food Control**, (22), pp. 1114-20.
- Djojosumarto, P. (2008) **Panduan Lengkap Pestisida & Aplikasinya**, Jakarta: PT AgroMedia Pustaka, hal. 86.
- ICH Topic Q2 (R1). (2005) **Validation of Analytical Procedure : Text and Methodology**. London.
- Jehan, N. (2011) **Endosulfan dan ancamannya**. Diakses dari www.ylki.or.id/endosulfan-dan-ancamannya.html, pada tanggal 28 Desember 2011.
- Keputusan Bersama Menteri Kesehatan dan Menteri Pertanian Nomor 881/MENKES/SKB/VIII/1996 tentang Batas Maksimum Residu Pestisida pada Hasil Pertanian.

- McNair, H.M. and James M.M. (2009) **Basic Gas Chromatography**, 2nd ed. New Jersey: A John Wiley & Sons, Inc.
- Munarso, S. J., Miskiyah, dan Wisnu, B. (2006) Studi kandungan residu pestisida pada kubis, tomat, dan wortel di Malang dan Cianjur. **Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian**, 2.
- Peraturan Menteri Pertanian Nomor 01/Permentan/OT. 140/1/2007 tentang Daftar Bahan Aktif Pestisida yang Dilarang dan Pestisida Terbatas.
- Pesticide Action Network (PAN) Europe. (2008) **Endosulfan Fact Sheet**. Pesticide Action Network (PAN) Europe.
- Pesticide Action Network (PAN) German. (2008) **Phasing in Alternatives to Endosulfan**. Pesticide Action Network (PAN) German.
- Rathore, H.S. (2010) Methods of and problems in analyzing pesticide residues in the environment. In: Nollet, L.M.L. and Rathore, H.S. eds. **Handbook of Pesticides Methods**, United States of America: Taylor & Francis Group, p. 27.
- Salama, A.K., Al-Rokaibah, A.A., M. Al-Ghomiz, N., and Soliman, S.A. (1997) Persistence of triadimefon residue in vegetable fruits grown in green houses : a study demonstrating hazards of pesticide misuse in Saudi Arabia. **J. King Saud Univ.**, 9 (1), pp. 177-186.
- Srivastava, S., Goyal, P., and Srivastava, M.M. (2010) Pesticides: past, present, and future. In: Nollet, L.M.L. and Rathore, H.S. eds. **Handbook of Pesticides Methods**, United States of America: Taylor & Francis Group, p. 47.
- Tekel, J., and Hatik, S. (1996) Pesticide residue analyses in plant material by chromatographic methods: clean-up procedures and selective detectors. **Journal of Chromatography A**, 754, pp. 397-410.
- Vidal, J.L.M., Gonzales, F.J.E., Glass, C.R., Galera, M.M., and Cano, M.L.C., 1997. Analysis of lindane, α - and β -endosulfan and endosulfan sulfate in greenhouse air by gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, 765, pp. 99-108.
- Watson, D.G. (2005) **Pharmaceutical Analysis**. London: Churchill Livingstone.
- Yuwono, M., and Indrayanto, G. (2005) Validation of chromatographic methods of analysis. **Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology**, 32, pp.243-259.