

VERIFIKASI METODE PENENTUAN KADAR AMONIA SEBAGAI NITROGEN (NH₃-N) DALAM SAMPEL AIR BERSIH DENGAN METODE HACH 8155 DI PT BADAK NGL BONTANG

METHOD VERIFICATION FOR DETERMINATION OF AMMONIA LEVELS AS NITROGEN (NH₃-N) IN CLEAN WATER SAMPLES USING THE HACH 8155 METHOD AT PT BADAK NGL BONTANG

Irfan Maulana Yusuf, Subur P. Pasaribu, dan Aman Sentosa Panggabean*

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Mulawarman

Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123

*E-mail: amanspanggabean@yahoo.com

Diterbitkan: 31 Oktober 2024

ABSTRACT

The research about method verification for determination of ammonia levels as nitrogen (NH₃-N) in clean water samples using the Hach 8155 method at PT Badak NGL Bontang has been done. Method verification was carried out by testing several verification parameters such as linearity tests, determining of instrumentation detection limits, detection limits of the method, quantification limits, repeatability, reproducibility and accuracy. The research results showed that the linearity test had good results with a correlation coefficient (R²) was 0.9992; instrumentation detection limit value was 0.01 mg/L; method detection limit value was 0.01 mg/L; quantification limit value was 0.03 mg/L; the repeatability value obtained from %RSD is less than 2/3 of the Horwitz CV; reproducibility value was 0.497 obtained from the Zscore value with acceptance requirements, namely 1.96 ≥ Zscore ≥ -1.96; and the accuracy value of the measured levels was 0.483 with a concentration range limit of 0.364 – 0.533 mg/L. The research results show that the Hach 8155 method can be used as a routine analysis method at PT. Badak NGL.

Keywords : Method verification, ammonia, clean water, Hach 8155 method.

PENDAHULUAN

Air merupakan salah satu sumber daya alam yang sangat dibutuhkan untuk keberlangsungan hidup bagi makhluk hidup yang berada di bumi. Menurut Peraturan Menteri Pekerjaan Umum Nomor 14/PRT/M/2010 tentang Standar Pelayanan Minimal Bidang Pekerjaan Umum dan Penataan Ruang menyebutkan kebutuhan air rata-rata secara wajar 60 L/orang/hari untuk segala keperluannya. Kebutuhan air bersih dari tahun ke tahun diperkirakan terus meningkat. Namun, masalah utama yang sering dihadapi berkaitan dengan sumber daya air ini yaitu terdapatnya zat pencemar di dalam air yang mengakibatkan air tidak berfungsi sebagai peruntukannya atau yang biasa disebut dengan pencemaran air. Pencemaran air salah satunya disebabkan oleh adanya limbah industri seperti dikawasan PT. Badak NGL.

Limbah industri memiliki efek yang sangat buruk terhadap lingkungan karena dapat mencemari lingkungan dan merusak kelestariannya. Dalam kadar tertentu dapat mengakibatkan kerusakan pada kesehatan manusia. Limbah industri biasanya dapat berasal dari proses produksi dan utilitas LNG dan LPG di PT. Badak NGL Bontang. Hal ini dikarenakan air limbah industri pada proses produksi dan utilitas LNG dan LPG mengandung senyawa-senyawa organik yang tinggi dan senyawa-senyawa kimia lainnya yang tentu dapat merusak lingkungan. Salah satu contohnya senyawa kimia yang terdapat pada limbah industri yaitu ammonia (NH₃) [1].

Ammonia (NH₃) dapat bersifat racun bagi manusia, resiko terbesar manusia terhadap ammonia ini berasal dari penghirupan uap ammonia yang dapat mengakibatkan iritasi kulit, mata dan saluran pernafasan. Namun, jika ammonia larut di perairan

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



maka akan meningkatkan konsentrasi ammonia yang dapat menyebabkan kerusakan pada makhluk hidup dan lingkungan perairan tersebut [2]. Keberadaan ammonia dapat meningkat seiring dengan adanya peningkatan pH dan suhu. Dengan adanya dampak negatif dari senyawa ammonia ($\text{NH}_3\text{-N}$), maka pemerintah Republik Indonesia menetapkan baku mutu ammonia ($\text{NH}_3\text{-N}$) sebesar 0,5 mg/L berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air.

Adapun langkah awal untuk menghindari efek yang buruk oleh ammonia terhadap lingkungan dan Kesehatan manusia perlu dilakukan analisis kadar ammonia yang terdapat dalam perairan tersebut. Ada beberapa metode yang digunakan untuk menentukan kadar ammonia, salah satunya yaitu metode standar fenat berdasarkan SNI 06.6989.30-2005 dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis*. Namun seiring berkembangnya teknologi, salah satu metode yang dapat digunakan untuk penetapan kadar ammonia dalam perairan yaitu dengan cara metode Hach 8155 atau yang biasa disebut dengan metode *Salicylate Test Kit* yang dikembangkan oleh *Hach Company*.

Metode ini memiliki beberapa kelebihan yaitu mudah dalam pengaplikasiannya, biaya analisa terjangkau, dan proses analisa cepat [3]. Namun, sebelum metode ini digunakan sebagai analisa rutin di Laboratorium PT. Badak NGL, diperlukan verifikasi terlebih dahulu mengenai kemampuan metode tersebut dalam mendeteksi senyawa ammonia dalam perairan. Oleh karena itu perlu bagi Laboratorium PT. Badak NGL melakukan verifikasi terhadap metode yang mengacu pada metode non standar Hach 8155 dengan tujuan apakah metode tersebut dapat digunakan sebagai analisa rutin untuk penetapan kadar ammonia.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel air keran laboratorium dan sampel air polisher, aquabidest, aquadest, reagen Ammonia Test Kit yang terdiri dari *Ammonia Salicylate Reagent* (Pereaksi 1) dan *Ammonium Cyanurate Reagent* (Pereaksi 2), *Ammonia standar solution as N* by ERA Waters Company. *Certified Reference Material* (CRM) WatR™ Supply Ammonia as N by ERA, dan parafilm.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu labu ukur, piper mikro, gelas ukur, botol semprot, gelas kimia, gunting, *Autotitrator Metrohm 848 Titrino Plus*, Spektrofotometer *vis* Hach DR 2800 dan Spektrofotometer *easy-vis*.

Cara kerja

Preparasi sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel air keran laboratorium. Sampel uji diambil sebanyak 10 mL dengan menggunakan pipet ukur 10.0 mL dan dimasukkan kedalam kuvet berukuran 1 inch. Ditambahkan dengan pereaksi 1, dihomogenkan dan didiamkan selama 3 menit. Lalu, ditambahkan dengan pereaksi 2, dihomogenkan dan didiamkan selama 15 menit. Setelah itu diukur absorbansi masing-masing sampel uji dengan menggunakan spektrofotometer *easy-vis* pada panjang gelombang 640 nm.

Pembuatan kurva standar ammonia (NH_3)

Larutan standar ammonia (NH_3) 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 mg/L yang telah dibuat dipipet sebanyak 10.0 mL dan dimasukkan ke dalam masing-masing kuvet 1 inch. Kemudian ditambahkan dengan pereaksi 1, didiamkan selama 3 menit. Ditambahkan pereaksi 2, didiamkan selama 15 menit. Setelah itu, diukur absorbansi masing-masing larutan standar 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 mg/L dengan menggunakan spektrofotometer *vis* Hach DR 2800 dan spektrofotometer *Easy-vis* pada panjang gelombang 640 nm.

Verifikasi Metode

Verifikasi Metode dilakukan dengan menetapkan parameter-parameter verifikasi meliputi: Linearitas, *Instrument detection limit* (IDL), *Method detection limit* (MDL), *Limit of Quantification* (LOQ), Repitabilitas, Reprodusibilitas, dan Akurasi.

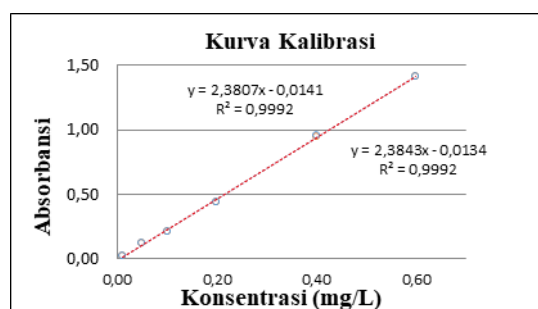
Penetapan Kadar Amonia dalam Sampel Air Bersih

Penetapan kadar ammonia dalam sampel bersih pada penelitian ini dilakukan pada sampel air keran laboratorium PT. Badak NGL. Sampel yang telah dipreparasi, kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan Spektrofotometer *easy-vis* dengan panjang gelombang 640 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Linearitas

Linearitas merupakan salah satu parameter verifikasi suatu metode pengukuran. Nilai linearitas dapat diperoleh dari kurva kalibrasi yang telah dibuat dengan cara memplotkan nilai absorbansi terhadap konsentrasi dan berbanding lurus [4]. Pada penelitian ini konsentrasi deret standar yang digunakan untuk kurva kalibrasi yaitu pada rentang 0 – 0,6 mg/L dan dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer Hach DR 2800 dan Spektrofotometer *easy-vis*. Didapatkan persamaan kurva kalibrasi pada masing-masing alat adalah $y = 2,3843x - 0,0134$ dengan $R^2 = 0,9992$ dan $y = 2,3807x - 0,0141$ dan $R^2 = 0,9992$, seperti dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi dengan absorbansi

Berdasarkan uraian diatas, diketahui bahwa uji linearitas pada penelitian ini telah memenuhi syarat keberterimaan linearitas yaitu $> 0,9950$ [5].

Instrument Detection Limit (IDL)

Instrument Detection Limit (IDL) merupakan suatu nilai yang digunakan untuk memastikan bahwa respon yang dihasilkan oleh alat bukan dari noise tetapi dari sinyal alat terhadap analit. Uji ini dapat dilakukan dengan cara mengukur blanko atau konsentrasi terendah [6]. Pada penelitian ini, uji IDL dilakukan dengan cara pengukuran terhadap larutan blanko yang telah dipreparasi sebanyak 7 (tujuh) kali pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer Hach DR 2800 dan Spektrofotometer *easy-vis* pada panjang gelombang 640 nm.

Tabel 1. Data hasil uji IDL

Replicate	Kadar Blanko (mg/L)
1	0,006
2	-0,001
3	0,004
4	0,001
5	0,002
6	0,007
7	0,011
Σ	-
Standar Deviasi (SD)	0,0041
IDL = 3 x SD, mg/L	0,0129

Berdasarkan data hasil pengukuran pada **Tabel 1**, diperoleh nilai *Instrument Detection Limit* (IDL) sebesar $0,0129 = 0,01$ mg/L. Hal ini menunjukkan bahwa batas deteksi alat yang dapat memberikan sinyal terhadap analit sebesar 0,01 mg/L

Methode Detection Limit (MDL)

Methode Detection Limit (MDL) merupakan suatu kadar analit yang dapat ditentukan sesuai dengan tahapan metode pengujian secara menyeluruh sehingga menghasilkan sinyal dengan tingkat kepercayaan 99% bahwa sinyal tersebut berbeda dengan blanko [7]. Pada penelitian ini dilakukan uji MDL terhadap blanko dan *spiked* yang telah dipreparasi, keduanya dilakukan pengukuran sebanyak 7 (tujuh) kali pengukuran dan dalam 3 (tiga) hari berbeda dengan menggunakan spektrofotometer Hach DR 2800 dan spektrofotometer *easy-vis* pada panjang gelombang 640 nm. Adapun konsentrasi *spike* sampel yang dibuat yaitu sebesar 0,10 mg/L atau 10 kali lebih besar dari nilai perkiraan MDL berdasarkan atas rekomendasi EPA 821-R-16-006.

Tabel 2. Data hasil pengukuran MDL terhadap blanko.

Average (\bar{x})	0,0046
Std Deviation (SD)	0,0023
Degree of Freedom (DF)	6
Student $t_{(n-1, t_{\alpha-0.99})}$ ($t_{(n-1)}$)	3,1427
% RSD	-
MDLb = $\bar{X} + (t_{(n-1)} \times SD)$	0,007

Tabel 3. Data hasil pengukuran MDL terhadap *spiked*.

Average (\bar{x})	0,0999
Std Deviation (SD)	0,0031
Degree of Freedom (DF)	6
Student $t_{(n-1, t_{\alpha-0.99})}$	3,1427
% RSD	3,1
MDLs = $t_{(n-1)} \times SD$	0,01

Berdasarkan pada **Tabel 2** dan **Tabel 3**, diperoleh nilai MDL pada masing-masing pengukuran MDL dalam 3 hari berbeda yaitu sebesar 0,007 mg/L dan 0,01 mg/L. Adapun nilai MDL yang digunakan yaitu nilai MDL dari *spiked* sampel sebesar 0,01 mg/L.

Limit of Quantification (LOQ)

Limit of Quantification (LOQ) adalah konsentrasi dari analit dalam sampel yang dapat ditentukan dengan tingkat presisi dan akurasi yang dapat diterima, dibawah kondisi pengujian yang telah disepakati [5]. Adapun cara untuk menentukan nilai LOQ ini dapat ditentukan dari hasil pengukuran MDL sebelumnya. Dimana nilai LOQ 3x lebih besar daripada nilai MDL yang diperoleh [8]. Adapun nilai MDL yang diperoleh yaitu sebesar 0,010, maka nilai LOQ nya yaitu $3 \times MDL = 0,030$. Dapat disimpulkan bahwa LOQ pada metode ini sebesar 0,030 mg/L.

Repitabilitas

Repitabilitas yaitu suatu nilai presisi yang diperoleh oleh satu orang analis dalam satu periode tertentu, menggunakan pereaksi dan peralatan yang sama dalam laboratorium yang sama. Dimana nilai repitabilitas dapat dikatakan baik dan diterima jika $CV_{hitung} < CV_{Horwitz}$ [9]. Pada penelitian ini dilakukan dengan cara pengukuran terhadap sampel *Certified Material Reference* (CRM) WatR™ Supply Ammonia as N by ERA yang memiliki konsentrasi aktual sebesar 0,444 mg/L dengan rentang konsentrasi 0,364 – 0,533 mg/L sebanyak 7x pengukuran.

Tabel 4. Data hasil pengukuran replitabilitas

Rata-rata (mg/L), C	0,483
Standar Deviasi, SD	0,010
%RSD, CV_{hitung} (%)	2,06
Nilai Horwitz, $CV_{horwitz}$ (%)	17,85
0,5 Nilai horwitz, $CV_{horwitz}$ (%)	8,93
Keberterimaan Replitabilitas	$CV_{hitung} < CV_{horwitz}$
Keberterimaan	$2,06 < 8,93$
Kesimpulan Replitabilitas	Diterima

Berdasarkan pada **Tabel 4**, diperoleh nilai CV_{hitung} sebesar 2,06% dan lebih kecil dibandingkan dengan nilai $CV_{Horwitz}$ sebesar 8,93%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa uji replitabilitas dapat dikatakan baik dan diterima dikarenakan syarat keberterimaan uji replitabilitas adalah $CV_{hitung} < CV_{Horwitz}$.

Reproduksibilitas

Reproduksibilitas yaitu suatu pengulangan pengujian yang dilakukan terhadap sampel yang sama, dengan metode pengujian yang sama, namun dilakukan di laboratorium yang berbeda dan tentunya oleh analis yang berbeda, kemudian alat atau instrumen yang digunakan juga berbeda [9]. Pada penelitian ini, uji reproduksibilitas dilakukan dengan cara pengukuran terhadap sampel *Certified Material Reference* (CRM) WatR™ Supply Ammonia as N by ERA yang telah dipreparasi dan memiliki konsentrasi aktual sebesar 0,444 mg/L dengan rentang konsentrasi 0,364 – 0,533 mg/L sebanyak 7 (tujuh) kali pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer *easy-vis* dan dilakukan oleh analis yang berbeda. Pengujian reproduksibilitas dapat dikatakan baik dan diterima jika nilai Z_{score} berada pada rentang $1,94 \geq Z_{score} \geq -1,94$.

Tabel 5. Data hasil pengukuran uji reproduksibilitas

Rata-rata (mg/L), C	0,483	0,481
Standar Deviasi, SD	0,01	0,007
Mean 1 - Mean 2... (a)	0,00228571	
$\sqrt{(SD_1^2/n_1)+(SD_2^2/n_2)}...$ (b)	0,0045974	
$Z_{score} = (a)/(b)$	0,497	
Keberterimaan Replitabilitas	$1,96 \geq Z_{score} \geq -1,96$	
Kesimpulan Replitabilitas	Diterima	

Berdasarkan pada **Tabel 5**, diperoleh nilai rata-rata kadar terukur pada analisis 1 dan analisis 2 berturut-turut sebesar 0,483 mg/L dan 0,481 mg/L. Sedangkan nilai standar deviasi yang diperoleh oleh analisis 1 dan analisis 2 berturut-turut sebesar 0,010 dan 0,007. Maka dengan nilai tersebut dapat dihitung nilai Z_{score} , yang diperoleh yaitu sebesar 0,497. Nilai ini menjadi syarat keberterimaan uji reproduksibilitas, dimana syarat keberterimaan ini yaitu $1,96 \geq Z_{score} \geq -1,96$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa uji reproduksibilitas yang telah dilakukan pada metode ini dikatakan baik dan dapat diterima.

Akurasi

Uji akurasi adalah salah satu pengujian yang memiliki tujuan untuk mengetahui nilai benar dari hasil output sistem atau pengukuran yang dibandingkan dengan nilai actual [10]. Pada penelitian ini, uji akurasi dilakukan dengan cara pengukuran terhadap sampel *Certified Material Reference* (CRM) WatR™ Supply Ammonia as N by ERA yang memiliki kadar aktual sebesar 0,444 mg/L dengan batas konsentrasi pengukuran sebesar 0,364 – 0,533 mg/L sebanyak 7 (tujuh) kali pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer *easy-vis* pada panjang gelombang 640 nm.

Tabel 6. Data hasil pengukuran uji akurasi

Kadar terukur (mg/L)	0,483
Keberterimaan akurasi	0,364 mg/L - 0,533 mg/L
Kesimpulan akurasi	Diterima

Berdasarkan pada **Tabel 6.** diperoleh hasil pengukuran terhadap sampel CRM WatR™ Supply Ammonia as N by ERA dengan nilai rata-rata kadar terukur sebesar 0,483 mg/L. Hal ini menunjukkan bahwa hasil uji akurasi pada metode ini dapat dikatakan baik dan dapat diterima dikarenakan kadar terukur yang diperoleh berada pada rentang keberterimaan akurasi yaitu 0,364 – 0,533 mg/L.

Penetapan Kadar Amonia dalam Sampel Air Bersih

Pada penetapan kadar ammonia (NH₃-N) ini digunakan metode *salicylate test kit* atau metode Hach 8155. Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel air keran laboratorium di PT. Badak NGL. Sampel yang telah dipreparasi kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer *easy-vis* pada panjang gelombang 640 nm. Adapun hasil pengukuran sampel air keran tersebut dapat dilihat pada **Tabel 7.**

Tabel 7. Penetapan kadar ammonia dalam sampel

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)
Air keran laboratorium	0,088	0,049

Berdasarkan pada **Tabel 7.** diperoleh nilai kadar ammonia (NH₃-N) pada sampel air keran laboratorium sebesar 0,049 mg/L. Hal ini menandakan bahwa kualitas air bersih yang terdapat pada air keran laboratorium PT. Badak NGL memenuhi syarat baku mutu yang telah ditetapkan oleh pemerintah berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 yaitu sebesar 0,5 mg/L.

KESIMPULAN

Berdasarkan pada hasil penelitian yang telah dilakukan, Hasil verifikasi metode penetapan kadar ammonia (NH₃-N) dengan metode Hach 8155 di PT. Badak NGL yaitu didapatkan persamaan regresi linear pada spektrofotometer Hach DR 2800 $y = 2,3843x - 0,0134$ dengan nilai $R^2 = 0,992$. Sedangkan persamaan regresi linear pada spektrofotometer *easy-vis* $y = 2,3807x - 0,0007$ dengan nilai $R^2 = 0,992$. Nilai IDL sebesar 0,01 mg/L dan nilai MDL sebesar 0,01 mg/L dengan nilai LOQ sebesar 0,03 mg/L. Kemudian diperoleh hasil uji reipitabilitas yaitu $CV_{hitung} < CV_{Horwitz} = 2,06\% < 8,93\%$. Hasil uji reproduibilitas diperoleh nilai Z_{score} sebesar 0,497 dengan batas keberterimaan $1,94 \geq Z_{score} \geq -1,94$. Nilai akurasi kadar terukur sebesar 0,483 dengan batas rentang konsentrasi 0,364 – 0,533 mg/L. Nilai kadar ammonia dalam sampel air keran laboratorium sebesar 0,049 mg/L, telah memenuhi syarat baku mutu. Hal ini menunjukkan bahwa metode Hach 8155 dapat digunakan sebagai analisis rutin ammonia (NH₃-N) di PT. Badak NGL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak Laboratorium PT. Badak NGL yang telah memberikan fasilitas dan dukungan dalam kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sunaryo, B., Reta, Y., Okky, I. P., Hendra, P., Sari, A. R., Kurniawan, Prihtyasiwi, R., & Muhammad, T.P. (2017). *Usaha dan Inovasi untuk Efisiensi, Konservasi, dan Keberlanjutan*. Bontang: Badak LNG bekerja sama dengan Penebar Swadaya.
- [2] Azizah, M., & Mira, H. (2015). Analisis Kadar Amonia (NH₃) dalam Air Sungai Cileungsi. *Jurnal Nusa Sylvania*, 15, 47-54.
- [3] Edghasdammi, R. A., Ade, O., & Fitria, W. (2022). Analisis Kadar Amonia (NH₃) pada Air Sungai 3 ilir dengan Metode Salicylate Test Kit. *Jurnal Semnas Sains dan Teknologi Serapan*, 5, 419-422.
- [4] Riyanto. 2017. *Validasi & Verifikasi Metode Uji Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Lobaratorium Pengujian dan Kalibrasi*. Deepublish. Yogyakarta.
- [5] Simanjuntak, L.H., Erwin, dan Panggabean, A.S. 2020. Prakonsentrasi Ion Cd (II) dalam Sampel Pupuk Nitrogen, Fosfor dan Kalium (NPK) Menggunakan Alumina Teraktivasi sebagai Material Pengisi Kolom, *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 16(2), 1-11.
- [6] Panggabean, A.S., Wirdhaningsih, and Pasaribu, S.P. (2020). Preconcentration of Ion Ni (II) using Ca-Alginate Modified Resin with Dimethylglyoxime as a Filler Material of Column, *Jurnal Kimia Valensi*, 6(1), pp. 40-46.
- [7] Napitupulu, R.M., Julia, D., dan Panggabean, A.S. (2019). Validasi Metode Penentuan Mn Dalam Oli Lubrikan Dengan Metode Pengenceran Langsung Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom, *Indonesian Journal of Chemical Research*, 6(2), Hal. 94-100.
- [8] Panggabean, A.S., Silaban, H.L., and Pasaribu, S.P. (2019). Method Validation of Cd(II) Determination in Lubrication Oil by Direct Dilution Method Using Atomic Absorption Spectrophotometer, *Journal of Physics: Conference Series*, 1277(1), 012004.
- [9] Panggabean, A.S., and Yusuf, B. 2015. Determination of Chromium (VI) By Using Chitosan-1,5-Diphenyl Carbazide Resin Modified At The Preconcentration System With Colomn Method. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 6(3), 101-111.
- [10] Miller, J.N. and Miller J.C. 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 5th Edition. Pearson Education Limited, England.