

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Spektrofotometri merupakan salah satu metode pengukuran kuantitatif dalam kimia analisis terhadap sifat refleksi atau transmisi cahaya suatu larutan untuk mengetahui konsentrasi suatu zat tertentu. Spektrofotometri dapat digunakan untuk menganalisa konsentrasi suatu zat tertentu di dalam larutan berdasarkan absorbansi atau transmitansi terhadap warna dari larutan pada panjang gelombang tertentu. Absorbansi adalah perbandingan intensitas cahaya yang diserap dengan intensitas cahaya yang datang. Kemudian untuk transmitansi itu sendiri merupakan fraksi cahaya yang datang pada panjang gelombang tertentu yang melewati sampel. Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi dan cahaya yang dikeluarkan diukur sebagai transmitansi sehingga dapat disimpulkan hubungan absorbansi dan transmitansi berbanding terbalik. Metode spektrofotometri memerlukan larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya. Metode ini merupakan metode yang sangat sederhana untuk menganalisis jumlah (konsentrasi) sampel yang sangat kecil.

Contoh kegunaan spektrofotometri dalam bidang pangan dan bidang farmasi dalam hal ini antara lain spektrofotometri berguna untuk mengetahui kadar antosianin pada suatu bahan makanan dan dapat pula untuk mengetahui konsentrasi dari zat 17  $\beta$ -estradiol. Antosianin merupakan metabolit sekunder dari flavonoid yang seringkali ditemukan dalam buah-buahan maupun sayur-sayuran berupa pigmen yang dapat larut dalam air yang biasanya terdiri dari warna biru, merah, magenta, orange, ungu, dan violet. Antosianin dapat ditemukan pada panjang gelombang antara 490-545 nm dari berbagai warna tersebut. Antosianin pula memiliki manfaat sebagai pewarna alami untuk pangan dan dapat dijadikan alternatif pengganti pewarna sintetis yang lebih aman bagi kesehatan.

## **1.2 Tujuan Praktikum**

1. Menentukan panjang gelombang optimum antosianin dengan spektrofotometer metode spektrofotometri.
2. Menentukan kurva standar hubungan konsentrasi antosianin vs absorbansi pada panjang gelombang optimum dengan spektrofotometer metode spektrofotometri.
3. Menentukan konsentrasi antosianin pada sampel dengan spektrofotometer metode spektrofotometri.

## **1.3 Manfaat Praktikum**

1. Mahasiswa mampu melakukan analisa kuantitatif secara akurat suatu zat kimia dengan menggunakan instrumen spektrofotometer.
2. Mahasiswa mampu memahami proses langkah pada instrumen yang digunakan hingga didapat hasil yang diinginkan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pengertian Spektrofotometri

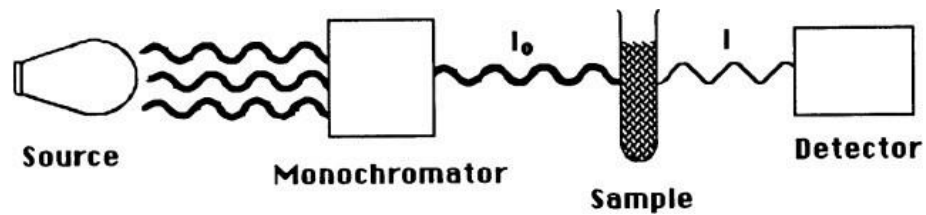
Spektrofotometri adalah cara analisa kuantitatif berdasarkan transmitansi atau absorbansi larutan terhadap cahaya pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan instrumen spektrofotometer. Apabila suatu cahaya yang mengandung seluruh spektrum dari panjang gelombang melewati suatu medium, seperti kaca berwarna atau larutan yang meneruskan cahaya dengan panjang gelombang tertentu dan menyerap cahaya yang lainnya maka medium seakan-akan berwarna. Warna yang terjerap oleh alat spektrofotometer biasanya disebut dengan warna teradsorpsi dan warna yang teradsorpsi oleh spektrofotometer ialah warna yang berjenis komplementer. Warna komplementer merupakan cahaya yang tampak atau cahaya yang dilihat dalam kehidupan sehari-hari, misalnya suatu zat akan berwarna orange apabila menyerap warna biru dari spektrum sinar tampak dengan panjang gelombang dari spektrum sinar tampak tersebut.

Panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang optimum yakni panjang gelombang yang diserap paling banyak oleh senyawa/campuran yang dianalisis. Pada panjang gelombang optimum kepekaanya akan maksimal karena perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Di sekitar panjang gelombang optimum, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi. Jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali

Tabel 2.1 Hubungan antara energi terabsorpsi dengan gerakan molekul

Gerakan Molekul	Cahaya yang diabsorpsi	Energi
Rotasi	Microwave,	Rendah
Vibrasi	<i>Infrared</i>	Sedang
Transisi electron	Tampak, Ultraviolet	Tinggi

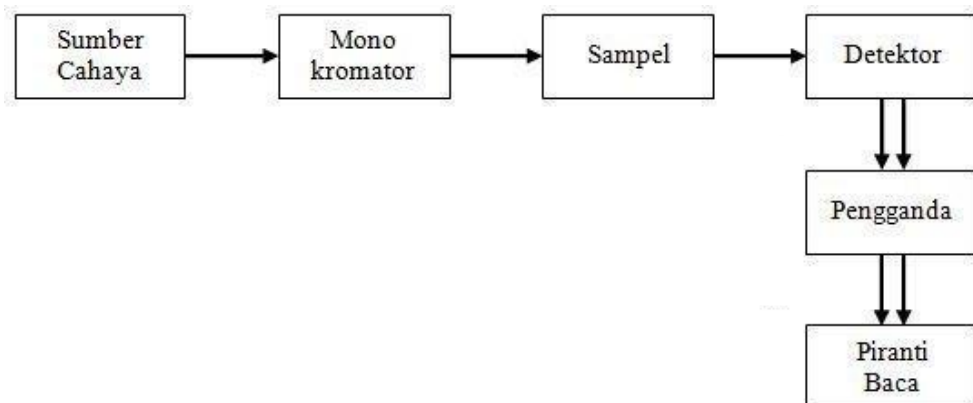
Kisaran spektrum elektromagnetik seperti *infrared*, sinar tampak, ultraviolet atau X-ray dapat digunakan untuk berinteraksi dengan suatu zat. Alat yang dipakai pada praktikum ini dapat disebut juga dengan kolorimeter, karena dapat mengukur absorpsi cahaya pada spektrum sinar tampak. Skema dari proses absorpsi cahaya oleh suatu larutan contoh dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Absorpsi cahaya oleh larutan sampel

## 2.2 Peralatan untuk Spektrofotometri

Komponen yang penting sekali dari suatu spektrofotometer, yang secara skema ditunjukkan dalam gambar di bawah ini:



Gambar 2.2 Prinsip alat spektrofotometer

1. Suatu sumber energi cahaya yang berkesinambungan yang meliputi daerah spektrum dalam mana instrumen itu dirancang untuk beroperasi. Sumber cahaya yang digunakan biasanya berupa lampu. Lampu yang digunakan tentunya berbeda-beda berdasarkan jenis spektrofotometri yang digunakan.
2. Suatu monokromator, yakni suatu piranti untuk memencilkan pita sempit panjang gelombang dari spektrum lebar yang dipancarkan oleh sumber cahaya (tentu saja kemonokromatikan yang benar-benar 100%, tidaklah tercapai). Monokromator terdiri atas:

- Celah masuk untuk menentukan berkas radiasi yang sempit dari sumber.
  - Lensa kolimasi untuk mengumpulkan cahaya.
  - Prisma untuk menyebarkan cahaya ke dalam panjang gelombang tertentu.
  - Lensa pemfokusan untuk menangkap cahaya yang terdispersi dan mempertajam cahaya tersebut untuk masuk ke cuvet melalui celah keluar.
  - Celah keluar untuk membiarkan panjang gelombang cahaya yang dikoreksi ke cuvet sampel.
3. Suatu wadah untuk sampel. Wadah yang digunakan untuk sampel adalah cuvet. Cuvet memiliki memiliki dua sisi yaitu sisi transparan dan sisi buram.
  4. Suatu detektor, yang berupa transduser yang mengubah energi cahaya menjadi suatu isyarat listrik. Detektor harus sensitif dan memiliki respons yang cepat pada rentang panjang gelombang yang cukup besar. Selain itu, sinyal listrik yang dihasilkan oleh detektor harus berbanding lurus dengan intensitas yang dipancarkan.
  5. Suatu pengganda (*amplifier*) dan rangkaian yang berkaitan yang membuat isyarat listrik itu memadai untuk dibaca.
  6. Suatu sistem baca pada mana diperagakan besarnya isyarat listrik.

Tabel 2.1 Serapan sinar dan zat warna

$\lambda$ (nm)	Warna yang Diteruskan	Warna yang Diserap/ Warna Komplementer
400 – 435	Violet	Hijau-Kekuningan
435 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Biru-Kehijauan	Jingga
490 – 500	Hijau-Kebiruan	Merah
500 – 560	Hijau	Ungu
560 – 580	Hijau-Kekuningan	Violet
580 – 595	Kuning	Biru
595 – 610	Jingga	Biru-Kehijauan

610 - 750

Merah

Hijau-Kebiruan

Banyaknya cahaya/sinar yang diabsorpsi tergantung pada jenis larutannya, panjang sel/Cuvet, konsentrasi larutan. Parameter tersebut dapat dinyatakan secara matematis dengan hukum Beer:

$$A = \log (I_0/I_t) = a.b.c \dots\dots\dots (3)$$

dengan:

$I_0$  = Intensitas sinar datang

$I_t$  = Intensitas sinar yang diteruskan

$A$  = Absorbansi

$a$  = Absorbtivitas

$b$  = Tebal cuvet (cm)

$c$  = Konsentrasi (mg/L)

Molekul tidak mengabsorpsi semua panjang gelombang secara sama. Hal ini tergantung dari warna objek. Bunga akan terlihat mempunyai warna merah, jika mengabsorpsi semua warna kecuali warna merah atau jika bunga mengabsorpsi cahaya dari warna komplementer merah yaitu biru-hijau. Pada Tabel 2.2 ditunjukkan warna dan komplementer dari berbagai warna.

Pada praktikum ini senyawa sampel dan cuvet yang dipakai sama sehingga nilai absorbtivitas dan tebal cuvet sama. Karena absorbtivitas dan tebal cuvet sama, maka Nilai  $a$  dari persamaan 3 dianggap sebagai konstanta baru ( $k$ ) , sehingga persamaan (3) menjadi

$$A = k.c \dots\dots\dots (4)$$

Persamaan (4) dapat dinyatakan dengan persamaan garis lurus. Dari hukum Beer dapat dinyatakan juga bahwa hubungan antara absorbansi vs konsentrasi akan memberikan garis lurus (Underwood, 1999).

Hukum Beer menjadi dasar aspek kuantitatif spektrofotometri yang mana konsentrasi dapat dihitung berdasarkan persamaan (4). Absorptivitas ( $a$ ) konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal cuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi.

## **2.3 Jenis-jenis Spektrofotometri dan Mekanisme Kerja**

### **2.3.1 Spektrofotometri *Visible***

Pada spektrofotometri ini yang digunakan sebagai energi adalah sinar cahaya tampak dengan  $\lambda$  380-750 nm. Cara kerja dari spektrofotometri ini adalah sampel yang akan dinalisa harus memiliki warna. Oleh sebab itu untuk sampel yang tidak berwarna harus terlebih dulu diberi warna dengan reagen spesifik yang akan memberi warna pada senyawa.

### **2.3.2 Spektrofotometri UV**

Spektrofotometri UV berdasarkan interaksi sampel dengan sinar UV yang memiliki  $\lambda$  190-380 nm. Sinar UV tidak dapat dideteksi oleh mata kita maka senyawa yang dapat menyerap sinar ini terkadang merupakan senyawa yang tidak memiliki warna, bening, dan transparan. Oleh sebab itu maka sampel yang tidak berwarna tidak perlu dibuat berwarna dengan penambahan reagen tertentu. Namun perlu diingat bahwa sampel keruh harus dibuat bening dulu dengan filtrasi atau sentrifugasi.

### **2.3.3 Spektrofotometri UV-Vis**

Merupakan gabungan antara spektrofotometri visual dan UV karena menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda. Sehingga dapat digunakan baik untuk sampel berwarna maupun sampel yang tidak berwarna. Spektrofotometri UV-Vis dapat mengidentifikasi molekul dalam sampel padat atau cair, menentukan konsentrasi molekul tertentu dalam larutan, mengidentifikasi absorbansi atau transmitansi melalui cairan atau padatan dengan berbagai panjang gelombang, mengidentifikasi sifat reflektansi suatu permukaan atau mengukur warna suatu bahan, dan mempelajari reaksi kimia atau proses biologis.

### **2.3.4 Spektrofotometri IR (*Infrared*)**

Spektrofotometri ini berdasarkan pada penyerapan  $\lambda$  infra merah. Cahaya inframerah terbagi menjadi inframerah dekat, pertengahan, dan jauh. Inframerah pada spektrofotometri adalah inframerah jauh dan inframerah pertengahan yang mempunyai panjang gelombang kira-kira

2,5-1000  $\mu\text{m}$ . Umumnya pada spektrofotometri IR digunakan dalam analisa kualitatif, biasanya digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa terutama senyawa organik. Hasil analisa biasanya berupa signal kromatogram hubungan intensitas IR terhadap panjang gelombang.

## 2.5 Manfaat Spektrofotometri dalam Bidang Industri

1. Pengukuran kadar protein pada susu
2. Menganalisis kadar senyawa anorganik pada limbah cair
3. Pengujian tingkat kualitas pada minyak sayur
4. Menganalisis kadar senyawa kimia pada industri farmasi

## 2.6 Hukum Lambert-Beer

Lambert merumuskan hubungan antara absorbansi dan tebal lapisan medium yang ditempuh sinar dalam larutan.

$$\log P_o = k \cdot b \dots\dots\dots(1)$$

Di mana  $\log \frac{P_o}{P} = \text{absorbansi}$

P = tenaga radiasi yang keluar medium

P<sub>o</sub> = tenaga radiasi yang masuk medium

b = tebal lapisan medium

Menurut Beer, absorbansi dipengaruhi oleh konsentrasi sehingga

$$\log P_o = k \cdot c \dots\dots\dots(2)$$

Bila  $k_1' = f(c)$  dan  $k_2' = f(b)$  maka substitusi dari persamaan (1) dan (2) adalah:

$$\frac{f(c)}{c} = \frac{f(b)}{b} = k$$

$$f(c) = k \cdot c \text{ dan } f(b) = k \cdot b$$

Substitusi ke persamaan awal

$$\log \frac{P_o}{P} = f(c) \cdot b$$

$$\log \frac{P_o}{P} = f(b) \cdot c$$



$$\log \frac{P_o}{P} = k \cdot c \cdot b$$

$$\log \frac{P_o}{P} = k \cdot b \cdot c$$

Jika konsentrasi larutan dalam

- mol/liter maka k harus ditulis sebagai  $\epsilon$ , dimana  $\epsilon$  = absortivitas molar

$$\log \frac{P_o}{P} = \epsilon \cdot b \cdot c$$

- gram/liter maka k harus ditulis sebagai a dimana a = absortivitas

$$\log \frac{P_o}{P} = a \cdot b \cdot c$$

$$A = a \cdot b \cdot c$$

Jika absorbansi (A) =  $\log \frac{P_o}{P}$

$$\%T = \frac{P_o}{P} \cdot 100\%$$

$$A = \log \frac{P_o}{P} = \log \frac{1}{T} = -\log T = 2 - \log \%T$$

## 2.7 Metode Least Square

Metode Least Square dipilih untuk pendekatan spektrofotometer menurut Hukum Beer yang merupakan dasar dari absorpsi cahaya.

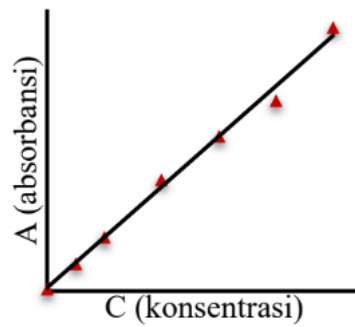
A = a.b.c, di mana:

a = absorbtivitas

b = tebal cuvet

c = konsentrasi zat pengabsorpsi

Bila A dialirkan untuk c terhadap cuplikan yang tebalnya b cm akan menghasilkan daerah dimana hukum Beer berlaku suatu garis lurus dengan lereng ab.



Gambar 2.3 Kurva standar hubungan absorbansi vs konsentrasi

Hubungan linier antara absorbansi dan konsentrasi menunjukkan bahwa absorbansi bergantung pada konsentrasi. Semakin besar konsentrasi suatu zat maka semakin besar absorbansinya, begitu pula sebaliknya. Hukum Beer,  $A = a.b.c$ , dengan variabel A (Absorbansi) sebagai variabel dependen dan a,b merupakan konstanta berupa absorptivitas dan tebal cuvet (bernilai selalu tetap dengan menggunakan jenis cuvet yang sama) serta c merupakan konsentrasi. Dari persamaan tersebut dapat diketahui bahwa A sama dengan y dan a,b sama dengan m serta c sama dengan kemiringan (x) sehingga didapatkan persamaan  $y = mx$ .

## BAB III

### METODE PRAKTIKUM

#### 3.1 Bahan dan Alat

##### 3.1.1 Bahan

1. Aquadest secukupnya
2. KCl 0,025 M sebanyak 20 ml
3. Natrium Asetat 0,4 M sebanyak 20 ml
4. Sampel cair sebanyak 100 ml

##### 3.1.2 Alat

1. Spektrofotometri Optima Sp-300
2. Cuvet
3. *Beaker glass* 250 ml
4. Tabung reaksi beserta rak tabung reaksi
5. Pipet ukur 10 cc
6. pH meter
7. *Beaker glass* 50 cc

##### 3.1.3 Gambar Alat Utama



Gambar 3.1 Spektrofotometri Optima Sp-300

Keterangan gambar :

1. Tempat sampel
2. Pengontrol panjang gelombang
3. Indikator power ON/OFF
4. Pembacaan LCD Digital
5. Tombol pengganti mode
6. Tombol *control* 100% T

7. Tombol control 0% T
8. Tombol print
9. Jendela pembacaan panjang gelombang



Gambar 3.2 Cuvet

### 3.3 Cara Kerja

#### 3.3.1 Menentukan panjang gelombang optimum untuk antosianin.

1. Melakukan kalibrasi alat terlebih dahulu sebelum melakukan uji penentuan panjang gelombang optimum pada sampel.
2. Masukkan sampel dengan komposisi tertentu pada cuvet sampai  $\frac{3}{4}$  bagian dari cuvet dan tunggu sampai nilai transmitansi dapat terbaca pada bagian layar.
3. Catat nilai transmitan yang terbaca pada layar dan hitung nilai absorbansinya menggunakan rumus  $A = 2 - \log \%T$ .
4. Setiap pergantian panjang gelombang harus melakukan kalibrasi alat spektrofotometer dan ulangi langkah-langkah kalibrasi alat tersebut.

#### 3.3.2 Cara kalibrasi alat spektrofotometri

1. Tempat sampel (1) pada spektrofotometer dikosongkan.
2. Cuvet (berbentuk kotak yang sederhana tetapi dari bahan gelas dengan kualitas super, berharga cukup mahal, sehingga perlu kehati-hatian) diambil dan dibersihkan kemudian diisi dengan aquadest sampai  $\frac{3}{4}$  nya (disebut dengan blangko). Bagian luar cuvet dibersihkan dengan kapas secara hati-hati (jangan sampai tergores).
3. Tutup sampel pada spektrofotometer (1) dibuka, dan tempat cuvet diambil.

4. Cuvet dimasukkan pada tempat cuvet dengan sisi yang bening menghadap ke luar dan kembali ditutup (tinggi larutan disesuaikan dengan tanda yang ada).
5. Atur pada panjang gelombang tertentu menggunakan tombol (2).
6. Pembacaan transmittan diatur 100% ( $A=0$ ) untuk larutan blanko menggunakan tombol (6).
7. Cuvet diambil dari tempat sampel kemudian ditutup. Pembacaan skala transmittan dapat dilihat pada layar (4). Dalam tahap ini pembacaan transmittansi harus 100% hingga muncul kata blank. Jika tidak, diulangi dari langkah 3 hingga pembacaan diperoleh pembacaan transmittan yang konsisten.
8. Jika sudah diperoleh pembacaan transmittan 100% konsisten, cuvet disimpan dengan larutan blanko tersebut sampai praktikum selesai.
9. Alat spektrofotometer sudah siap digunakan untuk pengukuran panjang gelombang optimum maupun kurva kalibrasi pada sampel.

### **3.3.3 Membuat kurva kalibrasi antara absorbansi versus konsentrasi antosianin.**

1. Sampel yang merupakan larutan berwarna dibuat pada berbagai konsentrasi [sampel 1 (asli), 2, 3, 4, 5, dan 6], pembuatan sampel dapat dilakukan dengan pengenceran menggunakan aquadest pada labu ukur.
2. Alat spektrofotometri dikalibrasi (langkah 1 sampai 6 pada 3.3.2.).
3. Panjang gelombang diatur sesuai dengan hasil yang diperoleh pada pengujian panjang gelombang optimum dengan menggunakan panjang gelombang yang optimum (memiliki nilai absorbansi tertinggi).
4. Cuvet lainnya diisi dengan larutan sampel yang memiliki berbagai konsentrasi, cuvet dibersihkan bagian luarnya, dimasukkan ke dalam tempat sampel, ditutup kembali, dibaca

skala transmittan dan dihitung absorbansinya ,  $A = 2 - \log (\%T)$ .  
Lalu diulangi untuk sampel 3, 4, 5, dan 6.

### 3.3.1 Menentukan kadar antosianin total dalam larutan.

1. Larutan KCl 0,025 M digunakan sebagai larutan buffer pH 1. Kemudian diukur pHnya dan diatur pHnya supaya mempunyai pH 1 dengan menggunakan larutan HCl.
2. Larutan Natrium Asetat ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) 0,4 M dibuat sebagai larutan buffer pH 4,5. Kemudian diukur pH nya dan diatur pHnya supaya larutan mempunyai pH 4,5 dengan menggunakan larutan HCl.
3. 1 buah *beaker glass* 50 ml diisi dengan satu sampel komposisi yang dibagi 2 sebanyak 5 ml dengan pipet ukur. pH larutan dibuat sama dengan sampel 1 dengan menambahkan larutan buffer KCl dengan pipet ukur, hitung dan catat berapa jumlah volume yang telah ditambahkan larutan buffer tersebut sehingga pH=1. Hal serupa dilakukan untuk sampel no. 3,4,5, dan 6.
4. Penambahan ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) menggunakan pipet ukur pada berbagai sampel seperti langkah nomor 3, hitung dan catat berapa jumlah volume akhir yang telah ditambahkan larutan buffer tersebut sehingga pH=4,5.
5. Panjang gelombang diatur pada 520 nm, kemudian dilakukan kalibrasi alat seperti langkah 1-6 pada 3.3.2 (dilakukan untuk setiap pergantian panjang gelombang). Setelah itu, dimasukkan sampel no.1 dengan pH=1 kedalam cuvet hingga  $\frac{3}{4}$  bagian. % transmittan dicatat dan hitung absorbansinya, begitu juga untuk sampel no. 3,4,5, dan 6.
6. Panjang gelombang diatur pada 700 nm. Kemudian lakukan kalibrasi alat langkah 1-6 (dilakukan untuk setiap pergantian panjang gelombang). Setelah itu, masukkan sampel no.1 pH=1 ke dalam cuvet hingga  $\frac{3}{4}$  bagian. % transmittan dicatat dan hitung absorbansinya, begitu juga untuk sampel no. 3,4,5, dan 6.

7. Langkah 1-5 diulangi, tetapi pH larutan dibuat sama dengan 4,5 dengan menambah larutan buffer Na Asetat.

8. Konsentrasi antosianin dihitung sesuai dengan rumus :

$$C = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{E \times b} \dots\dots\dots (5)$$

Dengan : C = Konsentrasi antosianin (mg/l)

A = (A520-A700)pH1 - (A520-A700)pH4,5

MW = Bobot molekul = 449,2 gram/mol

DF = Faktor Pengenceran

E = 26900 L/mol cm

1000 = konversi dari gram ke mgr

b = Tebal sel atau cuvet (cm)

9. Persamaan Beer untuk konsentrasi antosianin, dibuat dengan persamaan (4):

$$A = k.c$$

dengan :

A = Absorbansi

k = *slope*

c = konsentrasi

## DAFTAR PUSTAKA

- Groggins, P. H. (1950). *Unit Processes in Organic Synthesis (5th ed.)*. New York: McGraw-Hill Book Company Inc.
- Kerr, R. W. (1950). *Chemistry and Industry of Starch (2nd ed.)*. New York: Academic Press Inc. Publishers.
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaboration study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269- 1278.
- Mukramin, B. (2012). *Spektrofotometri-Absorbansi dan Konsentrasi (Hukum Lambert-Beer)*. Diakses pada tanggal 27 April 2013.
- Perkins-Veazie, P., Maness, N., & Roduner, R. (2002). Composition of orange, yellow, and red-fleshed watermelons. *Cucurbitaceae*, 436-440.
- Underwood, A. I., & Day, R. A. (1983). *Analisa kimia kuantitatif (5th ed.)*. Diterjemahkan oleh R. Soendoro. Jakarta : Erlangga.
- Vertzoni, M., Kartezini, T., Reppas, C., Archontaki, H., & Valsami, G. (2006). Solubilization and quantification of lycopene in aqueous media in the form of cyclodextrin binary systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 309(1-2), 115-122.
- Vogel. (1989). *The Textbook of Quantitatif Chemical Analysis*. New York: Longman Scientific and Technical.
- Woodman, A. (1941). *Food analysis (4 ed.)*. NewYork: Mc-Graw Hill Book Company Inc.