

Kaedah Kolorimetri untuk Analisis Kuantitatif Kapsaisin Secara Pencaman Corak Menggunakan Jaringan Neural Tiruan

¹Mohamad Nasir Mat Arip, ^{*1}Musa Ahmad, ¹Ahmed Mahir Mokhtar,

²Mohd. Nasir Taib & ¹Lee Yook Heng

¹Pusat Pengajian Sains Kimia & Teknologi Makanan,

Fakulti Sains dan Teknologi

Universiti Kebangsaan Malaysia

43600 Bangi, Selangor, Malaysia

²Fakulti Kejuruteraan Elektrik

Universiti Teknologi Mara

40450 Shah Alam, Selangor, Malaysia

Diterima: 9 Julai 2003

ABSTRAK

Analisis kuantitatif kapsaisin menggunakan reagen 2,6-dikloro-p-benzokuinon-4-klorimida (reagen Gibbs) dan jaringan neural tiruan telah dilakukan. Pencirian yang dilakukan termasuklah pengoptimuman pH, kesan kepekatan reagen, julat dinamik kepekatan kapsaisin, analisis kestabilan foto reagen, penentuan had pengesanan dan analisis kebolehulangan. Nilai optimum untuk kepekatan reagen Gibbs dan nilai pH masing-masingnya adalah 2.96×10^{-4} M dan 11.0. Nilai sisihan piawai relatif (RSD) kebolehulangan kaedah adalah memuaskan iaitu 3.55%, 2.44% dan 4.52%, masing-masingnya pada kepekatan kapsaisin 200 ppm, 500 ppm, dan 800 ppm. Reagen Gibbs juga menunjukkan kestabilan foto yang baik dengan nilai RSD 0.013% untuk tempoh kajian selama 38 jam. Jaringan neural tiruan dengan tiga lapisan suapan hadapan dilatih menggunakan algoritma perambatan balik. Untuk penentuan kepekatan kapsaisin, rangkaian neural tiruan dengan 20 neuron terlindung, kadar pembelajaran 0.00001% dan melakukan latihan menggunakan 47,738 kitaran, memberikan keputusan yang memuaskan. Rangkaian neural ini berupaya memanjangkan julat dinamik kepekatan kapsaisin dari 0-200 ppm kepada 0-600 ppm. Purata ralat interpolasi yang diberikan oleh rangkaian neural ini adalah kira-kira 0.06%.

ABSTRACT

A quantitative study for capsaicin based on the use of 2,6-dichloro-p-benzoquinone-4-chlorimide (Gibbs reagent) and artificial neural network (ANN) has been carried out. The characterization include pH optimization, effect of reagent concentration, dynamic range of capsaicin concentration, photo stability, limit of detection and reproducibility. The optimum response was obtained at pH 11.0 and Gibbs reagent concentration of 2.96×10^{-4} M. The reproducibility of the method was very satisfactory with RSD values of 3.55%, 2.44% and 4.52% for capsaicin concentration of 200 ppm, 500 ppm and 800 ppm, respectively. Photostability test showed that the reagent was very stable with RSD value of 0.013% for the duration of 38 hours. A three layer feed-forward neural network was used and network training was performed by using back propagation algorithm. For the determination of capsaicin, a neural network with 20 hidden neurons, 0.00001% learning rate and trained over 47,738 cycles produced the

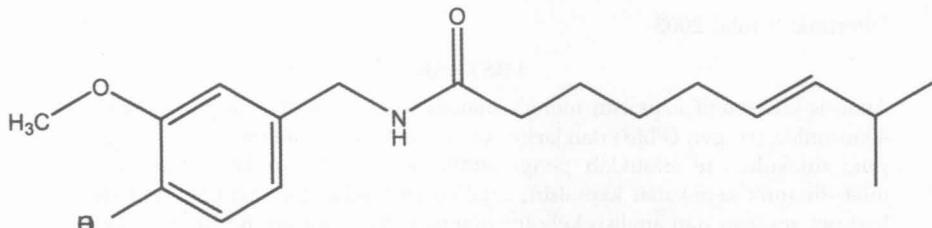
* Corresponding author

best result. This network was able to extend the narrow dynamic range of capsaicin from 0 – 200 ppm to 0-600 ppm. The average interpolation error produced by this network was approximately 0.06 %.

Kata kunci: Tahap kepedasan, kapsaisin, reagen Gibbs, jaringan neural tiruan

PENGENALAN

Kapsaisin (*Rajah 1*) adalah komponen yang bertanggungjawab memberikan rasa kepedasan di dalam cili telah ditemui oleh Bucholtz pada tahun 1816 (Govindarajan 1985). Kapsaisin atau tatanama IUPAC (E)-N-[(4-Hidroksi-3-metoksifenil)-metil]-8-metil-6-nonenamida (Budavari 1989) adalah ahli kepada kumpulan kapsaisinoid dan merupakan sejenis alkoloid.



Rajah 1: Struktur kapsaisin

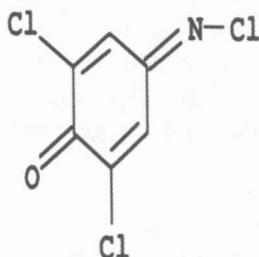
Sehingga kini, terdapat beberapa reagen telah dikemukakan oleh penyelidik untuk bertindak balas dengan kapsaisin. Pada tahun 1959, Joint Committee (PS/SAC) mencadangkan penggunaan asid diazobenzena sulfanilik, 2,6-diklorokuinonklorimida (reagen Gibbs) dan 4-aminoantipairin (4-AAP) (Joint committee (PS/SAC) 1959). Lain-lain reagen yang dicadangkan adalah vanadium oksiklorida, fosfomolibdik-fosfo-tungsten, kalium ferrisanida-ferrik klorida, dan natrium nitrat molibdat (Palacio 1977; 1979) Bajaj (1980) telah mencadangkan penggunaan reagen Folin Ciocalteu untuk pengesanan kapsaisin.

Kaedah kolorimetri menggunakan reagen 4AAP merupakan kaedah piawai untuk pengesanan fenol (Mohler and Jacob 1957). Walau bagaimanapun ia tidak sesuai digunakan untuk pengesanan kapsaisin kerana ia sangat tidak stabil apabila bertindak balas dengan kapsaisin. Ini adalah kerana perubahan warna berlaku dengan pantas dan ia tidak memberikan satu perubahan warna yang stabil untuk satu tempoh yang panjang (Join committee (P/S SAC) 1959; 1963)

Jaringan Neural Tiruan (ANN), merupakan sistem yang dimodelkan berdasarkan otak manusia. Ia terdiri daripada lapisan berganda elemen pemprosesan mudah yang dipanggil neuron. Setiap neuron disambungkan kepada neuron yang bersebelahan dengan pelbagai koefisien yang mengambarkan kekuatan sambungan ini. Proses latihan dilakukan terhadap ANN dengan memberikan input tertentu untuk melaraskan koefisien ini sehingga output yang dikehendaki berhasil. Pada masa kini penerokaan teknologi ANN dalam bidang kimia telah mencakupi kepada pelbagai penggunaan termasuklah penentuan spektrum, ramalan dan kawalan proses kimia serta pencaman corak (Billings *et al.* 1991).

Walau bagaimanapun bilangan penyelidikan yang dilakukan masih sedikit dan hanya tertumpu di negara-negara maju memandangkan ia agak baru terutamanya di rantau Asia.

Objektif kajian ini adalah untuk melakukan analisis kuantitatif bagi menentukan kepekatan kapsaisin menggunakan ANN. Reagen Gibbs (*Rajah 2*) telah dipilih untuk digunakan di dalam kajian ini kerana memberikan perubahan warna yang jelas apabila bertindak balas dengan kapsaisin dan sangat stabil seperti yang dilaporkan oleh Joint Committee (PS/SAC) (1959; 1963). Walaupun reagen Gibbs telah digunakan dalam kajian terdahulu, pencirian secara menyeluruh tindak balas di antara reagen Gibbs dan kapsaisin terutamanya untuk melihat potensinya sebagai bahan untuk sensor kimia belum pernah dilakukan. ANN digunakan dalam kajian ini untuk membantu proses automasi dalam perolehan data bagi menentukan kepekatan kapsaisin di samping memanjangkan julat kepekatan dinamik kapsaisin.



Rajah 2: Struktur reagen Gibbs (2,6-dikloro-p-benzokuinon-4-klorimida)

EKSPERIMEN

Bahan Kimia dan Peralatan

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam kajian ini adalah kapsaisin (Fluka Chemika, >>99.0 %), etanol (BDH HPLC grade, 99 %), 2,6-dikloro-p-benzokuinon-4-klorimida, kalium klorida, asid hidroklorik, kalium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida, asid borik dan natrium hidrogen karbonat. Semua bahan kimia ini digunakan tanpa penulenan lanjut. Air yang digunakan dalam penyediaan ini adalah air nyah ion yang diperoleh daripada alat Maxima Ultra Pure Water Elga, model Elga Stat Maxima UF.

Cara Kerja

(i) Penyediaan Larutan

Larutan stok kapsaisin 1000 ppm disediakan dengan melarutkan 250 mg serbuk kapsaisin dalam 250 mL pelarut etanol. Larutan kapsaisin dalam julat kepekatan 50-800 ppm disediakan melalui pencairan larutan stok ini. Larutan stok reagen Gibbs (0.01971 M) disediakan dengan melarutkan 0.1037 g serbuk reagen Gibbs ke dalam 10 mL etanol. Larutan ini kemudiannya dimasukkan ke dalam kelalang isi padu 25 mL dan dicairkan hingga ke senggatan dengan etanol. Larutan penimbang pH 1.0 hingga 13.0 disediakan mengikut tatacara Dean

(1989). Alat meter pH (Witeg W-500) telah digunakan untuk mengukur pH setiap larutan penimbal yang telah disediakan.

(ii) Tatacara Kaedah

Dalam kajian pengoptimuman pH, larutan kapsaisin 200 ppm digunakan. Serapan larutan ini direkodkan menggunakan Spektrofotometer UL-Nampak (Varian Cary-100) pada julat panjang gelombang 190-800 nm. Nilai-nilai perbezaan serapan antara larutan kompleks kapsaisin-reagen Gibbs dan larutan reagen Gibbs sahaja pada larutan penimbal berbeza diplotkan melawan nilai pH yang dikaji (pH 1.0 -13.0).

Untuk melihat kesan kepekatan reagen Gibbs ke atas serapan kompleks, kepekatan larutan kapsaisin ditetapkan pada 200 ppm, manakala kepekatan reagen Gibbs diubah dalam julat $0.0 - 6.0 \times 10^4$ M. Dalam penentuan julat dinamik kepekatan kapsaisin, kepekatan larutan kapsaisin dalam julat 50 - 600 ppm digunakan. Kepekatan reagen Gibbs ditetapkan pada 2.96×10^4 M.

Dalam kajian kebolehulangan, tiga kepekatan kapsaisin yang berbeza digunakan iaitu 200, 500 dan 800 ppm. Bagi setiap kepekatan kapsaisin, pengukuran diulangi sebanyak 8 kali dan nilai RSD ditentukan. Kajian kestabilan foto pula dilakukan dengan mengambil serapan larutan reagen Gibbs pada pH 11.00 secara berterusan pada panjang gelombang 600 nm untuk tempoh selama 38 jam.

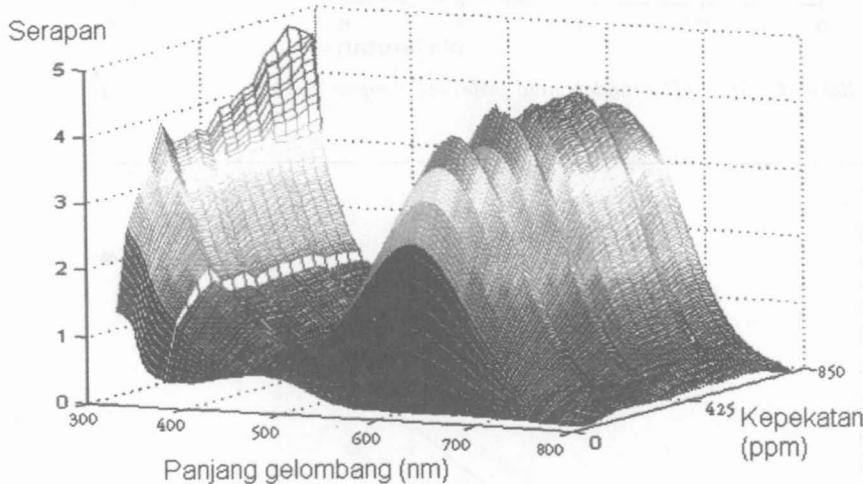
(iii) Arkitektur Jaringan Neural Tiruan

Jaringan neural tiruan (ANN) yang digunakan dalam penyelidikan ini ialah jenis rangkaian suapan-hadapan dengan satu lapisan terlindung dan menggunakan algoritma perambatan balik. Lapisan input yang digunakan adalah bergantung kepada bilangan bacaan serapan pada beberapa panjang gelombang yang dipilih untuk setiap spektrum. Untuk tindak balas kapsaisin dalam reagen Gibbs, sebanyak 7 neuron dalam lapisan input digunakan untuk mewakili 7 nilai serapan pada 7 panjang gelombang berbeza, untuk setiap spektrum serapan. Lapisan output mempunyai 1 neuron sahaja yang mewakili nilai kepekatan kapsaisin yang ingin ditentukan. Bilangan neuron dalam lapisan terlindung tidak tetap dan ditentukan secara cuba jaya sehingga suatu rangkaian neuron yang dapat memberi keputusan ramalan yang baik diperoleh. Selain itu, bilangan kitaran iaitu bilangan kali kitaran latihan dilakukan turut dioptimumkan. Latihan dan simulasi algoritma ini dilakukan dengan menggunakan program Matlab versi 5.3 di bawah pemprosesan Intel Pentium IV berkelajuan 1.3 GHz dan mengandungi 128MB RAM. Raimundo dan Narayanaswamy (2001) melaporkan bahawa bilangan lapisan terlindung, bilangan neuron dalam lapisan terlindung dan kadar pembelajaran adalah nilai-nilai yang perlu diubah untuk mendapatkan satu keputusan yang baik dalam satu latihan rangkaian neural. Ini di sokong oleh Faiz *et al.* (2003) yang mendapati bahawa hasil yang memuaskan diperoleh dengan mengubah nilai-nilai ini. Dalam kaedah ini, kaedah cubajaya digunakan dengan mengubah bilangan neuron terlindung, bilangan kitaran dan kadar pembelajaran sehingga satu

arkitektur rangkaian neural yang mempunyai ralat latihan (SSE) yang rendah diperolehi. Rangkaian neural tiruan dengan satu lapisan terlindung digunakan dalam kajian ini.

KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

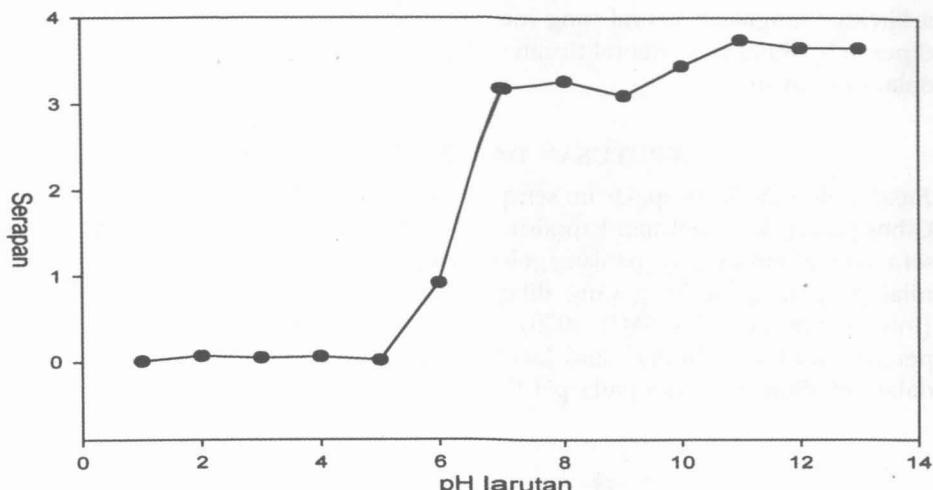
Rajah 3 menunjukkan spektrum serapan 3D untuk kompleks kapsaisin – reagen Gibbs pada julat kepekatan kapsaisin 0 – 850 ppm. Reagen Gibbs memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 595 nm. Nilai ini adalah menyamai nilai panjang gelombang yang dilaporkan oleh penyelidik lain sebelum ini (Joint committee (PS/SAC) 1959). Reagen Gibbs pernah digunakan untuk pengesanan fenol (Mohler and Jacob 1957), di mana tindak balas berlaku di dalam medium beralkali pada pH 9.4 menggunakan larutan penimbal borat.



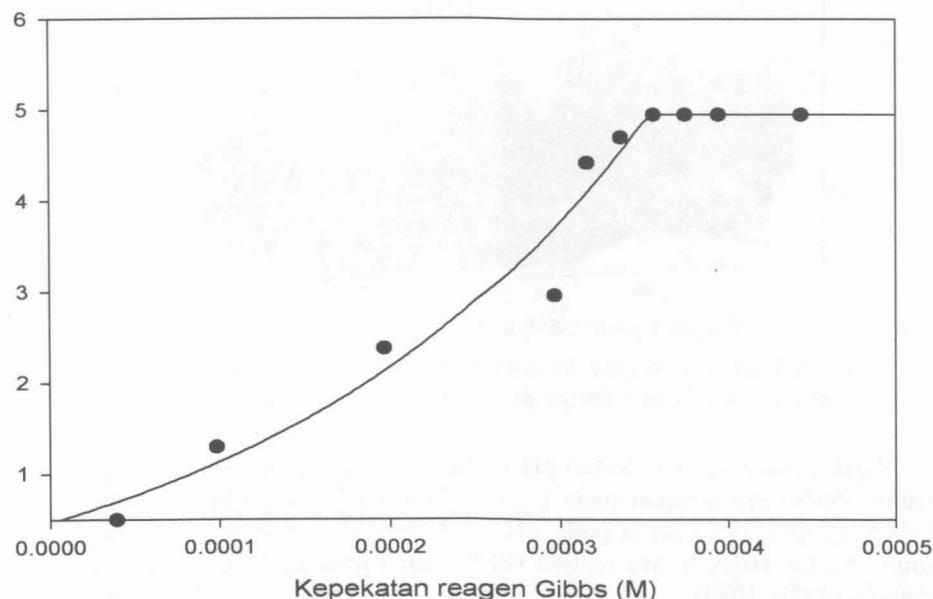
Rajah 3: Spektrum serapan 3D kompleks kapsaisin-reagen Gibbs pada keadaan optimum iaitu larutan dengan pH 11 dan kepekatan reagen 2.96×10^4 M

Rajah 4 menunjukkan kesan pH ke atas serapan kompleks kapsaisin-reagen Gibbs. Perbezaan serapan pada $\lambda_{\text{maks}} = 595\text{nm}$ bagi kompleks kapsaisin-reagen Gibbs didapati maksimum pada pH 11.0. Serapan optimum pada pH alkali untuk tindak balas antara reagen Gibbs dan kapsaisin turut dilaporkan oleh Palacio (1977; 1979).

Rajah 5 menunjukkan kesan kepekatan reagen Gibbs semasa pembentukan kompleks kapsaisin-reagen Gibbs. Peningkatan serapan kompleks kapsaisin – Gibbs dengan peningkatan kepekatan reagen Gibbs adalah disebabkan oleh kepekatan kompleks kapsaisin – Gibbs yang terbentuk semakin meningkat. Serapan kompleks kapsaisin – Gibbs menjadi hampir malar apabila kepekatan reagen Gibbs mencapai 3.55×10^4 M kerana semua kapsaisin yang ada dalam larutan telah digunakan untuk membentuk kompleks dengan reagen Gibbs. Pada keadaan ini, reagen Gibbs berada dalam keadaan berlebihan. Nor Azah



Rajah 4: Kesan pH terhadap nilai perbezaan serapan kompleks kapsaisin-reagen Gibbs



Rajah 5: Graf kesan kepekatan reagen Gibbs terhadap serapan kompleks kapsaisin-reagen Gibbs

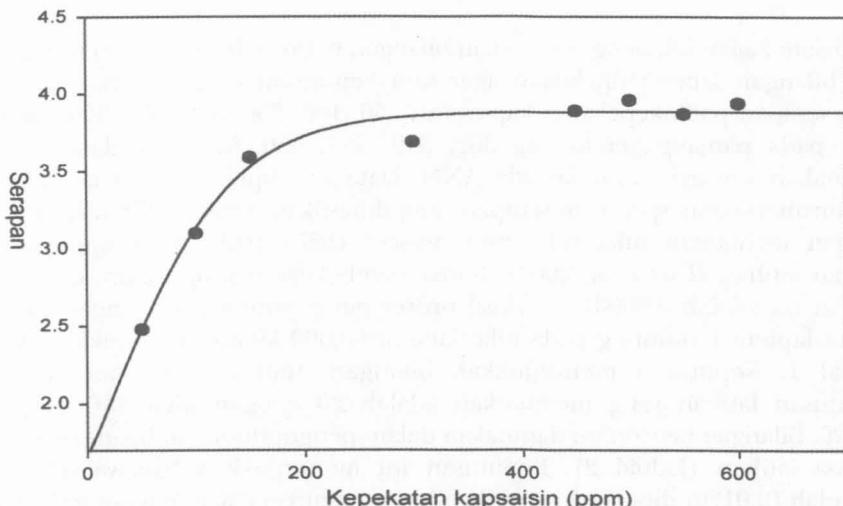
dan Musa (2002) turut melaporkan bentuk graf yang sama apabila mengkaji kepekatan reagen galosianin terhadap respon penderia kimia gentian optik untuk ion plumbum.

Rajah 6 menunjukkan kesan kepekatan kapsaisin ke atas serapan kompleks kapsaisin-reagen Gibbs. Keamatan serapan kompleks kapsaisin-reagen Gibbs didapati meningkat dengan peningkatan kepekatan kapsaisin dan menjadi hampir

malar apabila kepekatan kapsaisin mencapai 250 ppm. Pada keadaan ini, semua reagen Gibbs telah digunakan dalam pembentukan kompleks kapsaisin-reagen Gibbs manakala kapsaisin berada dalam keadaan berlebihan.

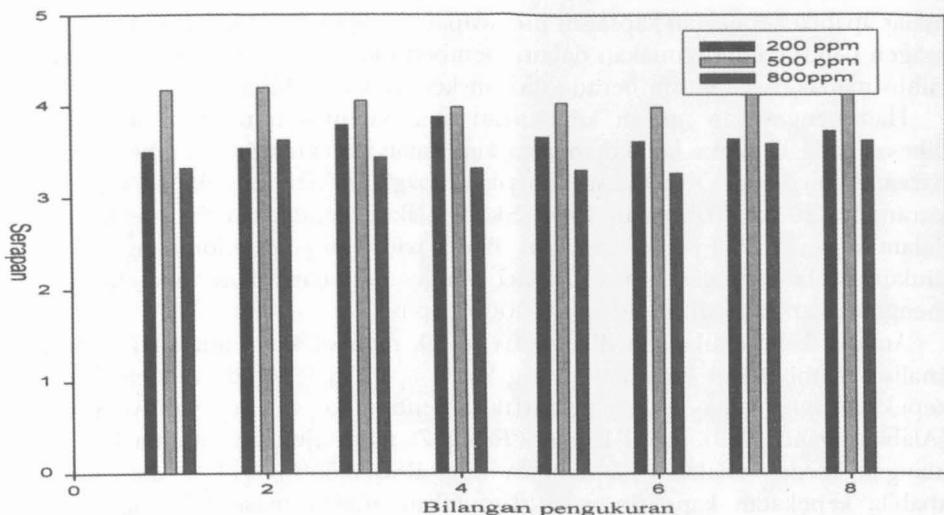
Had pengesahan adalah kepekatan atau kuantiti minimum yang dapat dikesan pada 95 % aras keyakinan iaitu kepekatan atau kuantiti yang memberikan bacaan sama dengan tiga kali sisihan piawai bagi satu siri pengukuran sekurang-kurangnya 10 kali (Christian 1994; Skoog). Bagi penentuan had pengesahan dalam kajian ini, 10 bacaan serapan blank pada panjang gelombang 595 nm diukur. Melalui analisis statistik, had pengesahan bagi penentuan kapsaisin menggunakan kaedah ini adalah 0.00097 ppm.

Analisis kebolehulangan dilakukan untuk melihat sama ada suatu kaedah analisis memberikan keputusan yang sama apabila beberapa reagen dengan kepekatan yang sama digunakan untuk penentuan kepekatan analit yang sama (Alabbas *et al.* 1989). Hasil kajian (*Rajah 7*) menunjukkan bahawa kebolehulangan kaedah adalah baik dengan nilai RSD 3.55%, 2.44 % dan 4.52 % apabila kepekatan kapsaisin yang digunakan adalah masing-masingnya 200 ppm, 500 ppm dan 800 ppm.



Rajah 6: Kesan kepekatan kapsaisin (0 – 850 ppm) terhadap serapan kompleks kapsaisin-reagen Gibbs pada panjang gelombang 595 nm

Kajian terhadap kestabilan foto reagen Gibbs dilakukan untuk melihat sama ada reagen akan mengalami penguraian foto apabila didedahkan kepada cahaya untuk satu jangka masa yang panjang. Sumber cahaya dari lampu deuterium digunakan dalam kajian ini. Serapan reagen pada panjang gelombang 595 nm diukur pada sela masa 1 jam dalam tempoh 38 jam. Hasil kajian terhadap kestabilan foto reagen Gibbs menunjukkan kestabilan foto yang baik dengan nilai RSD 0.010 %. Nilai RSD yang kecil ini menunjukkan reagen Gibbs agak stabil secara foto dalam larutan akues.



Rajah 7: Kebolehulangan penggunaan reagen Gibbs untuk penentuan kepekatan kapsaisin pada kepekatan kapsaisin yang berbeza iaitu 200 ppm, 500 ppm dan 800 ppm

Dalam kajian ini, pengoptimuman bilangan neuron dalam lapisan terlindung dan bilangan kitaran dilakukan agar satu keputusan yang terbaik diperoleh. Data serapan pada kepekatan kapsaisin 0, 50, 100, 200, 300, 400, 500 dan 600 ppm pada panjang gelombang 309, 349, 445, 550, 594, 672 dan 765 nm digunakan sebagai input kepada ANN. Data ini dipilih kerana ia mewakili keseluruhan corak spektrum serapan yang dihasilkan. Proses latihan dijalankan dengan memantau nilai ralat min persegi (SSE) pada penghujung setiap kitaran latihan (Faiz *et al.* 2003). Kadar pembelajaran yang digunakan dalam latihan ini adalah 0.00001 %. Hasil proses pengoptimuman bilangan neuron dalam lapisan terlindung pada nilai kitaran 60,000 kitaran ditunjukkan dalam Jadual 1. Keputusan menunjukkan bilangan neuron yang menghasilkan keputusan latihan yang memuaskan adalah 20 dengan nilai SSE terendah 0.0120. Bilangan neuron ini digunakan dalam pengoptimuman bilangan kitaran semasa latihan (Jadual 2). Keputusan ini menunjukkan bahawa nilai SSE terendah (0.0120) diperolehi apabila bilangan neuron dalam lapisan terlindung dan bilangan kitaran adalah masing-masingnya 20 dan 47,738.

Untuk mendapatkan arkitektur jaringan yang paling sesuai bagi aplikasi penentuan kepekatan larutan kapsaisin yang tidak diketahui, semua jaringan terlatih ini diuji dengan data daripada lima kepekatan kapsaisin yang berlainan untuk melihat keupayaan peramalan oleh jaringan terlatih tersebut. Data keamatman serapan setiap larutan kapsaisin dijadikan input kepada jaringan terlatih tersebut dan bacaan bagi setiap data diambil pada dua panjang gelombang terpilih. Keupayaan ramalan pada kepekatan kapsaisin yang berbeza oleh ANN berbanding kepekatan kapsaisin sebenar pada bilangan kitaran yang berbeza ditunjukkan dalam Jadual 3. Bilangan kitaran yang memberikan peratus ralat terendah (0.06 %) adalah 10,000 dan 47,738 kitaran. Data dalam Jadual

Analisis Kuantitatif Kapsaisin Menggunakan Reagen Gibbs dan Jaringan Neural Tiruan

JADUAL 1

Pengoptimuman bilangan neuron terlindung bagi kaedah kolorimetri untuk penentuan kepekatan kapsaisin menggunakan reagen Gibbs

Bilangan neuron terlindung	SSE
5	3979
10	1.5128
12	0.1382
15	0.0354
20	0.0120
25	0.2000

JADUAL 2

Pengoptimuman bilangan kitaran dengan 20 neuron terlindung bagi kaedah kolorimetri untuk penentuan kepekatan kapsaisin menggunakan reagen Gibbs

Bilangan kitaran	SSE
5000	10685
10000	2567
20000	113
30000	4.80
40000	0.300
47738	0.0120
60000	0.0120

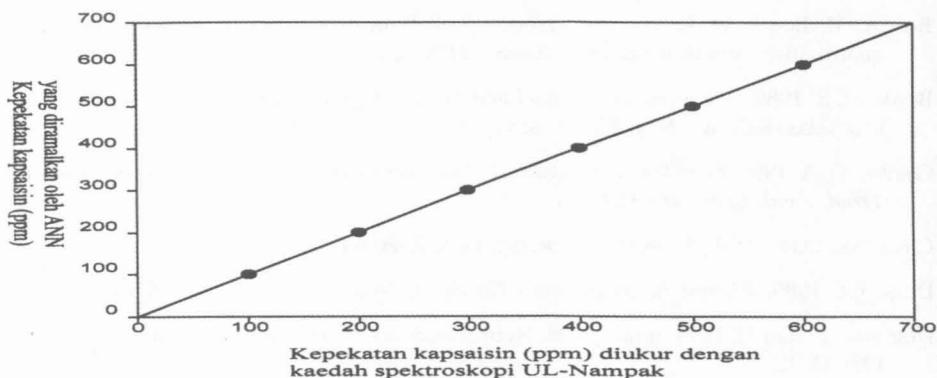
Walau bagaimanapun menunjukkan bahawa nilai SSE bagi 47,738 adalah lebih rendah iaitu 0.0120 berbanding 10,000 kitaran yang menghasilkan SSE sebanyak 2,567. Oleh itu bilangan kitaran sebanyak 47,738 telah dipilih untuk digunakan dalam latihan ini.

Seperti ditunjukkan dalam *Rajah 5*, tanpa penggunaan ANN, julat dinamik kepekatan kapsaisin yang boleh ditentukan dengan kaedah ini adalah dalam julat kepekatan 0-200 ppm. Dengan menggunakan ANN, julat dinamik ini boleh ditingkatkan kepada julat yang lebih besar iaitu di antara 0-600 ppm (*Rajah 8*). Walaupun terdapat kaedah kemometrik yang boleh digunakan untuk pemilihan data (Cirovic 1997; Despagne and Massart 1998), pemilihan data input dalam kajian ini dilakukan dengan mengambil kira rangsangan, dan kebolehannya untuk digandingkan dengan diod pemancar cahaya (LED). Ciri terakhir ini perlu dipertimbangkan memandangkan terdapat kemungkinan pembinaan peralatan penderia kapsaisin mudah alih pada kajian yang akan datang. Selain daripada itu, panjang gelombang yang dipilih ini turut menggambarkan ciri dan identiti keseluruhan spektrum serapan yang telah direkodkan.

Dalam proses latihan ANN, fungsi penukar sigmoid digunakan dalam lapisan terlindung dan output. Hanya satu lapisan terlindung sahaja yang

JADUAL 3
Keupayaan ramalan kepekatan kapsaisin oleh ANN berbanding kepekatan kapsaisin sebenar pada bilangan kitaran yang berbeza

Bilangan kitaran	Kepekatan sebenar kapsaisin, ppm										Ralat kalibrasi purata	Peratus purata		
	150		250		350		450		550					
	Ramalan	Ralat	Ramalan	Ralat	Ramalan	Ralat	Ramalan	Ralat	Ramalan	Ralat				
5,000	160	10	232	18	413	63	476	26	495	55	34	0.10		
10,000	161	11	221	29	399	49	461	11	540	10	22	0.06		
20,000	169	19	230	20	395	45	443	7	573	23	23	0.07		
30,000	167	17	223	27	406	56	442	8	579	29	27	0.08		
40,000	166	16	228	22	403	53	452	2	581	31	25	0.07		
47,738	158	8	241	9	398	48	444	6	580	30	20	0.06		



Rajah 8: Graf penentusan data latihan dan kalibrasi oleh jaringan yang mempunyai 20 neuron terlindung bagi kapsaisin dalam reagen Gibbs

digunakan dalam kajian ini memandangkan ia telah terbukti berkesan dalam menyelesaikan berbagai masalah analisis (Svozil *et al.* 1997). Latihan jaringan dijalankan dengan menggunakan kaedah latihan pertambahan, di mana pemberat dibetulkan selepas ralat latihan rangsangan diukur (Bos and Van der Linden 1993).

KESIMPULAN

Penentuan kepekatan kapsaisin menggunakan reagen Gibbs telah dilakukan dalam kajian ini menggunakan ANN dengan 20 neuron terlindung, kadar pembelajaran 0.00001 % dan melakukan latihan menggunakan 47,738 kitaran. ANN berupaya memanjangkan julat dinamik kepekatan kapsaisin dari 0 - 200 ppm hingga 0 - 600 ppm. Purata ralat yang diberikan oleh ANN adalah 0.06 %.

PENGHARGAAN

Penyelidik ingin merakamkan penghargaan kepada Kementerian Sains, Teknologi dan Alam Sekitar kerana sumbangan gran penyelidikan IRPA 01-02-02-0030 dan IRPA 09-03-03-0006NBD untuk kajian ini.

RUJUKAN

- ALABBAS, S.H., D.C. ASHWORTH dan R. NARAYANASWAMY. 1989. Design and performance features of an optical fibre reflectance pH sensor. *Analytical Proceedings* 26. 373-375.
- BAJAJ, K. L. 1980. Colorimetric determination of capsaicin in capsicum fruits. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63(6): 1314-1316.
- BILLINGS, S. A., H. B. JAMALUDDIN dan S. CHEN. 1991. A comparison of the back-propagation and recursive prediction error algorithms for training neural network. *Mech. Syst. Signal. Proc.* 5: 233-255.

- Bos, A. M. Bos & W. E. VAN DER LINDEN. 1993. Data processing by neural networks in quantitative chemical analysis. *Analyst* **118**: 323-328.
- BUDAVARI, S. 1989. *The Merck Index. An Encyclopedia of Chemical, Drugs, and Biologicals*. Edisi kesebelas. Rahway, N. J. Merck & Co. Inc.
- CIROVIC, D. A. 1997. Feed-forward artificial neural networks: Applications to spectroscopy. *Trend. Anal. Chem.* **16**: 148-155.
- CHRISTIAN, G.D. 1994. *Analytical Chemistry*. Edisi keenam. New York: John-Wiley & Son.
- DEAN, J.A. 1989. *Chemist Ready Reference Handbook*. New York: McGraw-Hill Inc.
- DESPAGNE, F. dan D. L. MASSART. 1998. Neural network in multivariate calibration. *Analyst* **123**: 157R.
- FAIZ BUKHARI MOHD SUAH, MUSA AHMAD dan MOHD NASIR TAIB. 2003. Optimisation of the range of an optical fibre pH sensor using feed-forward artificial neural network. *Sensors and Actuators B*. **90**:175 – 181.
- GOVINDARAJAN, V. S. 1985. Capsicum – production, technology, chemistry and quality. I. History, botany, cultivation and primary processing. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **22**: 109.
- Joint Committee (PS/SAC). 1959. Recommended methods of analysis of crude drugs. The determination of capsaicin content of capsicum and its preparations I. *Analyst*. **84**: 603-617.
- Joint Committee (PS/SAC). 1963. Recommended methods of analysis of crude drugs. The determination of capsaicin content of capsicum and its preparations II. Content of Capsicum and its Preparations (Part II). *Analyst*. **89**: 377-388.
- MOHLER, E. F. dan L. N. Jacob. 1957. Determination of phenolic type compound in water and industrial waste water: comparison of analytical method. *Anal Chem.* **29**: 1369-1374.
- PALACIO, J.J.R. 1977. Spectrophotometric determination of capsaicin. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **60**: 970.
- PALACIO, J.J.R. 1979. Further study of spectrophotometric determination of capsaicin. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **62**: 1168.
- RAIMUNDO, Jr, I. M. dan R. NARAYANASWAMY. 2001. Simultaneous determination of relative humidity and ammonia in air employing an optical fibre sensor and artificial neural network. *Sens. Actuators. B*. **74**: 60-68.
- SKOOG, A.D., D.M. WEST dan F.J. HOLLER. 1996. *Analytical Chemistry*. Edisi ketujuh. New York: Saunders College Publishing.
- SVOZIL, D., V. KVASNICKA dan J. POSPICHAL. 1997. Introduction to multi-layer feed-forward neural network. *Chemom. Intell. Lab. Sys.* **39**: 43-62.
- YUSOF, N.A dan M. AHMAD. 2002. A flow cell optosensor for lead based on immobilized galloccynin in chitosan membrane. *Talanta* **58**: 459-466.