

ELEKTRODA PASTË KARBONI MODIFIKUAR ME INDIN E FRUTIT TË BANANES PËR PËRCAKTIMIN VOLTAMETRIK TË KOMPONIMEVE FENOLIKE

Brojli N., Vasjari M.

Universiteti i Tiranës, Fakulteti i Shkencave

Natyrore, Departamenti i Kimisë

e-mail: nevilabroli@yahoo.com

Përmbledhje

Në këtë punim paraqitet studimi i biosensorit bazuar në elektrodën me pastë karboni të modifikuar me ind të papërpunuar të pulpit të bananes, që është burim natyral i enzimës polifenoloksidazë (PPO), për përcaktimin e komponimeve të ndryshme fenolike. Indet bimore të këtij fryti paraqesin aktivitet të lartë enzimatik dhe kjo karakteristikë është përdorur për përcaktimin e komponimeve fenolike. Përbërja e materialit elektrodik bazohet në përzierjen e pudrës së grafitit me një vaj mineral si parafina dhe modifikimi më tej me ind banane. Mekanizmi i përgjithshëm i biosensorit bazohet në përcaktimin e pikut të reduktimit të produkteve enzimatoke, kinoneve, duke përdorur voltametrin ciklike me potencial nga (-0.4V) në (1.0V). Është përdorur teknika SCV (Stare case Voltametry) në tretësirë bufer fosfat 0.1M pH=7, ndryshimi i potencialit 50mV/s. Është studiuar efekti i përmasave të grimcës (granulometria) së pudrës së karbonit për të optimizuar materialin elektrodik me performancë më të mirë elektroanalitike në përcaktimin e fenoleve me teknikën voltametrike. U përgatitën 5 elektroda pastë karboni modifikuar me banane duke përdorur 5 fraksione të ndryshme të pudrës së karbonit (0.5-0.2mm, 0.2-0.16mm, 0.16-0.09mm, 0.09-0.071mm, 0.071- 0.056mm). Rezultati më i mirë përsa i përket rrymës së sfondit, ndjeshmërisë ($S=1.57 \text{ mA/ppm}$) dhe koeficientit të korrelacionit ($R=0.9884$) u mor për përzierjen e 1.000g pudër karboni me përmasa granulometrike 0.09-0.071mm / 300 μl parafin dhe 100 mg ind banane. Biosensori (EPKB) me parametrat më të mira analitike u testua kundrejt komponimeve të ndryshme fenolike. Përgjigje më e mirë në lidhje me ndjeshmërinë e biosensorit $S=1.68 \text{ mA/ppm}$, koeficientit të korrelacionit ($R=0.9986$) dhe limit të diktimit 1.1 ppm u mor për komponimin katekol. Sipas ndjeshmërisë që shfaq biosensori këto komponime renditen sipas këtij rendi katekol > hidrokinon > 3-nitrofenol > 4-klorfenol > p-kresol > m-kresol > fenol.

Fjalët kyçe: Biosensor, pastë karboni, ind banane, polifenol oksidaze (PPO), Voltametri ciklike.

1 Hyrje

Komponimet fenolike shpesh janë të pranishme në shkarkimet ujore të shumë industrive [1]. Fenolet dhe derivatet e tyre janë përdorur intesivisht në industri si në industrinë e prodhimit të gomave, bojërave, në përgatitjen e drogave, naftës dhe në industrinë e agrikulturës. Është raportuar që fenolet janë kancerogjene dhe ekspozimi për një kohë të gjatë në fenole rezultojnë në shfaqjen e disa simptomave siç janë konvulsionet, çrregullime të rrugëve të frymëmarrjes [5]. Disa fenole tipike që gjenden më shpesh në atmosfere janë fenol, o-kresol, m-kresol dhe p-kresol; megjithatë fenolet janë vërejtur më tepër si përbërës të ujërave se sa të atmosferës [1-5]. Shumë prej tyre janë shumë toksike dhe kanë efekte të ndryshme ndaj bimëve dhe kafshëve. [1]. Nivelet e larta të fenoleve kanë efekte vendimtare në shëndetin e kafshëve. Në industrinë ushqimore ata janë me interes sepse janë komponimet esenciale në lëngjet e frutave, birra dhe verë [7]. Meqenëse shumë komponime fenolike mund të shkaktojnë shije të keqe, dhe janë shumë toksike dhe të rrezikshme për shëndetin e njerëzve [7], analiza e tyre në përqendrime të ulëta është shumë e rëndësishme [1,5,7]. Për përcaktimin e fenoleve janë përdorur metoda të ndryshme spektrofotometrike dhe kromatografike. Ndërsa metodat elektrokimike bazuar në enzima për përcaktimin e fenoleve kanë avantazhe lidhur me selektivitetin e lartë, stabilitetin dhe zvogëlimin e potencialit [4]. Biosensorët bazuar në enzima kryesisht në enzimën PPO (polifenoloksidazë) është provuar të jetë një metodë premtuese për një përcaktim të thjeshtë, të shpejtë dhe të ndjeshme ndaj komponimeve fenolike [1,3,8].

Polifenoloksidaza ose Tirozinaza (PPO) janë enzima që përmbajnë në qendër atome bakri të cilët kanë aftësi të ndërfaqës oksigjenin molekular në pozicionin orto në unazën aromatike e cila përmban një grup hidroksil (fenol), dhe më tej të oksidojnë di-fenolin në kinonin përkatës [8]. Mekanizmi i përgjithshëm i veprimit të enzimës në komponimet fenolike jepet më poshtë:

Fenol + PPO (O₂) → katekol (1)

Në stadin e parë të reaksionit ndodh hidroksilimi i subsratit fenolik në pozicionin orto kundrejt grupit –OH ekzistues, kjo i dedikohet aktivitetit enzimatik të monoooksigjenazës.

Katekol + PPO (O₂) → o-kinone + H₂O (2)

Në stadin e dytë të reaksionit ndodh oksidimi i orto-difenolit në orto-kinon të komponimit fenolik përkatës, ky stad i reaksionit i dedikohet aktivitetit enzimatik të oksidazës.

o-kinone + 2H⁺ + 2e⁻ → o-katekol (3)

Më tej në stadin e tretë të reaksionit, orto –kinonet mund të reduktohen në mënyrë elektrokimike në orto-difenole. Kështu që përcaktimi i fenolëve bëhet i mundur nëpërmjet monitorimit të lirimit të produkteve të reaksionit.

Së fundmi janë bërë shumë raportime mbi biosensorët bazuar në mobilizimin e enzimës PPO në elektrodën pastë karboni [6,7,8]. Enzimët e pastra janë përdorur në përgatitjen e biosensorëve për shkak të aktivitetit analitik dhe ndjeshmërisë së tyre të lartë. Aplikimi dhe përdorimi i tyre tek biosensorët mund të jetë i kufizuar për shkak të kohës së tyre natyres së konsumit, shpenzimeve të larta për pastrimin e enzimës dhe nevoja e kofaktor/koenzimë. Pra për përgatitjen e biosensorëve të ndryshëm në vend të enzimave të pastra në materialin elektrodik mund të imobilizohen inde bimore të papërpunuara të cilët i përmbajnë enzimët në mjedisin e tyre natyral [6,7,8].

Në këtë punim është përgatitur biosensori i bazuar në pastën karbonit të modifikuar me ind të papërpunuar të frytit të bananes, si burim natyral i enzimës polifenol oksidaze, në përcaktimin e komponimeve fenolike. Për të testuar sjelljen elektrokimike të këtij biosensori është përdorur metoda voltametrike dhe teknika SCV (Stare Case Voltametry). Ky biosensor shfaq selektivitet shumë të mirë ndaj komponimeve fenolike, është i thjeshtë për tu përgatitur dhe ka kosto shumë të ulët. Janë vlerësuar parametrat analitikë dhe performanca e këtij biosensori të modifikuar për të vlerësuar disa komponime fenolike në mjedise ujore.

2 Materiale dhe Metoda

Eksperimentet elektrokimike u zhvilluan në një celulë elektrokimike që përmban 15 ml tretësirë buferike 0.1 M pH 7 duke përdorur një sistem me tre elektroda të lidhura në Analizerin Elektrokimik (MEC-12B). Si elektrodë pune u përdor biosensori pastë karboni i modifikuar me ind banane (burim i enzimës polifenoloksidazë dhe tirozinazë), Ag/AgCl si elektrodë referuese dhe si elektrodë ndihmëse u përdor ajo e platinit. Komponentët përbërës të materialit elektrodik (elektroda e punës) janë: pudër karboni, parafin (Merck) dhe ind banane i pa përpunuar paraprakisht. Banania është marrë në market të rastit. Pudra e karbonit u përgatit nga grimcimi mekanik me dorë i majave të lapsit në havan agati. Të gjithë kimikatet e përdorura për përgatitjen e tretësirave të nevojshme janë të gradës analitike (Merck). Për përgatitjen e tretësirës buferike 0.1M janë përdorur

sasitë e përshtatshme të kripërave K₂HPO₄ * 3H₂O, KH₂PO₄ dhe K₂HPO₄. Tretësirat standarde të fenolit, hidrokinonit, katekolit, 3-nitrofenolit, 4-nitrofenolit, 4-aminofenolit, 4-klorfenolit, para dhe meta-kresolit u përgatitën nga tretja e sasive përkatëse të këtyre kripërave të pastra në ujë të distiluar.

2.1 Ndërtimi i biosensorit

Për përgatitjen e materialit elektrodik përzihen dhe homogjenizohen së bashku në një havan agati indi bimor i bananes, pudra e grafitit dhe parafina. Fillimisht përzihet pudra e grafitit me parafinën dhe homogjenizohet për 20 minuta, më pas shtohet pulpa e indit bimor (banane) deri sa të përftohet një pastë homogjene. Pasta e karbonit e modifikuar me ind banane ruhet në frigorifer për 24 orë në 4 °C. Merret një pjesë e pastës (1.1 g) paketohet në një shiringë plastike 2 ml e cila përmban një tel bakri për të realizuar kontaktin elektrik. Sipërfaqja e elektrodës së punës pastrohët dhe lëmohe përpara çdo matje duke përdorur sipërfaqen e një xham sahati. Elektroda pastë karboni e pamodifikuar u përgatit në të njëjtën mënyrë por pa përdorur materialin biologjik.

3. Rezultate e diskutime

3.1 Efekti i enzimës PPO (në indin e bananes) në përgjigjen e biosensorit (EPKB)

Për të vërejtur efektin e indit modifikues në përgjigjen e elektrodës, janë studiuar voltamogramat të regjistruara për elektrodën e pamodifikuar (EPK) dhe të modifikuar (EPKB) në të njëjtat kushte eksperimentale.

Në figurën 1 janë treguar sjelljet elektrokimike të elektrodave EPK dhe EPKB në tretësirë bufer fosfat 0.1M dhe në përqendrime të ndryshme të fenolit. Vihet re nga voltamogramat e regjistruara, kur elektroda pastë karboni modifikohet me indin e bananes, kemi një rritje të sinjalit analitik. Kjo vihet re dukshëm ku për të njëjtat përqendrime të fenolit rryma katodike është shumë here më e lartë në rastin e elektrodës EPKB. Gjithashtu edhe grafikët e kalibrimit e tregojnë qartë që ndjeshmëria është më e lartë në rastin e elektrodës së modifikuar (S=17.3 mA/ppm) krahasuar me atë të pamodifikuar (S=7.98 mA/ppm). Në përqendrime të larta mbi 6.6 ppm lineariteti i përgjigjes së biosensorit prishet. Prania e rrymës katodike në këtë rast bazohet në reduktimin elektrokimik të kinoneve, produkteve të reaksionit enzimatik në potencialin 0.6V. Kështu që fenolet të rigjeneruara elektrokimikisht i nënshtrohen një tjetër oksidimi enzimatik. Kjo çon në një rritje lokale të përqendrimit të fenoleve në sipërfaqen e elektrodës [18]. Ky mekanizëm reaksioni që ndodh në rastin e pranisë së enzimës PPO shpjegon dhe ndjeshmërinë e lartë të elektrodës EPKB në përcaktimin e fenolit dhe derivateve të tij.

Gjithashtu edhe koeficienti i korrelacionit përmisohet në elektrodën e modifikuar nga (R=0.9654 në R=0.9779).

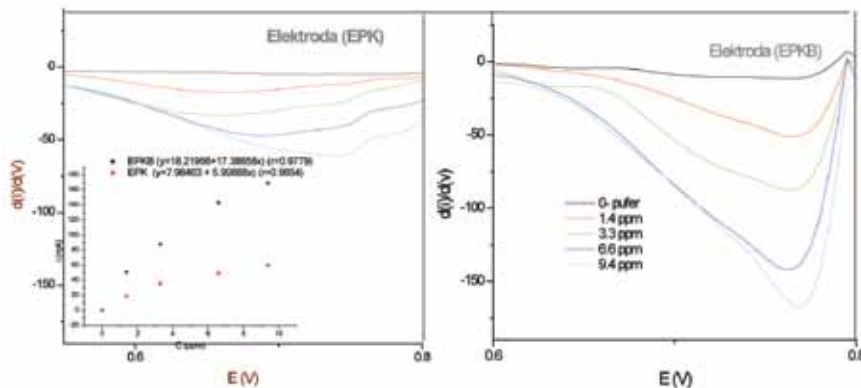


Figura 1. Voltamogramat të derivatizuara dhe lakoret e kalibrimit të elektrodës pastë karboni (EPK) dhe elektrodës pastë karboni modifikuar me ind banane (EPKB) në përqendrim të ndryshme të fenolit (treguar në legjendë), në tretësirë bufer fosfat 0.1M pH 7, ndryshim të potencialit 50 mV/s, E=0.7V.

3.2 Efekti i granulometrisë së pudrës së grafitit në përgjigjen e biosensorit.

Në performancën e elektrodave pastë karboni ndikojnë jo vetëm përbërësit e materialit elektrodik dhe raporti midis tyre [19], por edhe përmasat e grimcave të pudrës së grafitit të përdorur. Kjo për faktin se përcjellshmëria e grafitit është e orientuar në një drejtim që kushtëzohet nga struktura e tij. Pra ndërsa grimcat më të mëdha do të siguronin përcjellshmëri më të mirë dhe përbërje jo homogjene të pastës së karbonit, grimcat me granulometri më të imët do të përgatisnin një pastë më homogjene por me përcjellshmëri më të vogël. Për këtë arsye në këtë punim është studiuar ndikimi i madhësisë së grimcave të grafitit në pastën e karbonit. Duke mbajtur të pandryshuar raportin midis komponentëve në pastën e karbonit (1.000gr pudër grafiti /300 µl parafinë /0.100gr ind banane) janë përgatitur pasta karboni të modifikuara me 5 përmasa të ndryshme të pudrës së grafitit (0.2, 0.16, 0.09, 0.071, 0.056 mm). Përgjigja e këtyre biosensorëve është studiuar në bufer fosfat 0.1M me përqendrim të fenolit 3.3 ppm. Në figurën 2a. janë dhënë sinjalet voltametrike dhe 2b. lakoret e kalibrimit përkatëse.

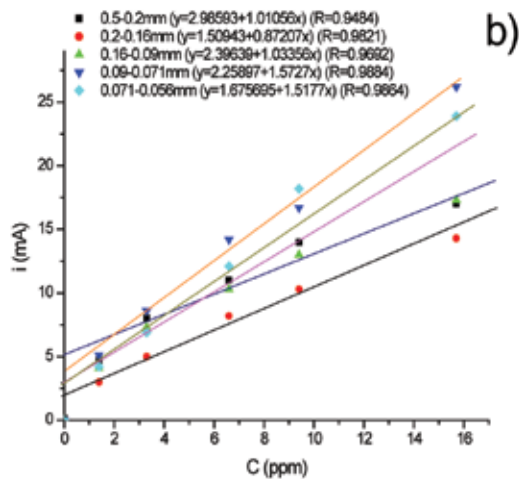
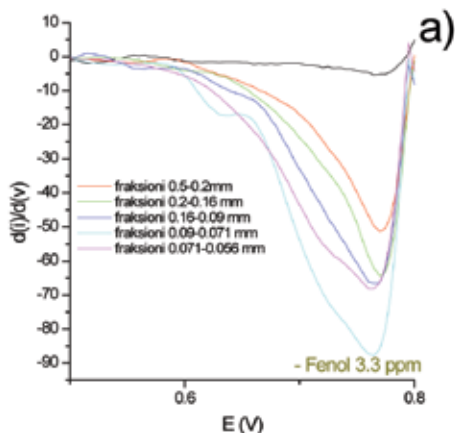


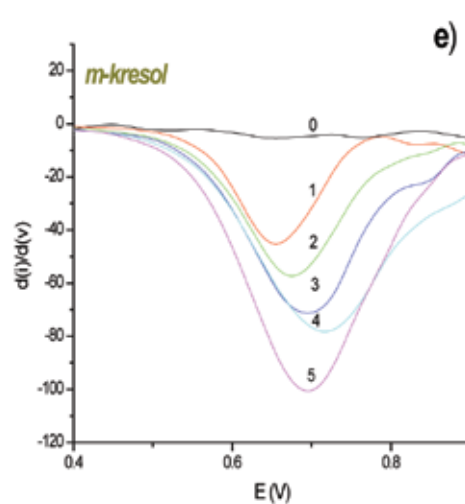
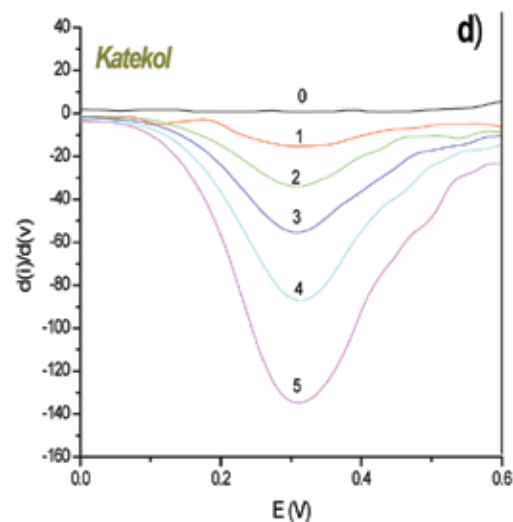
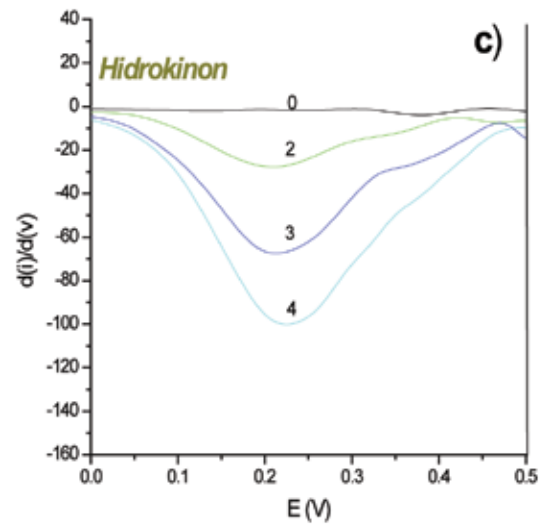
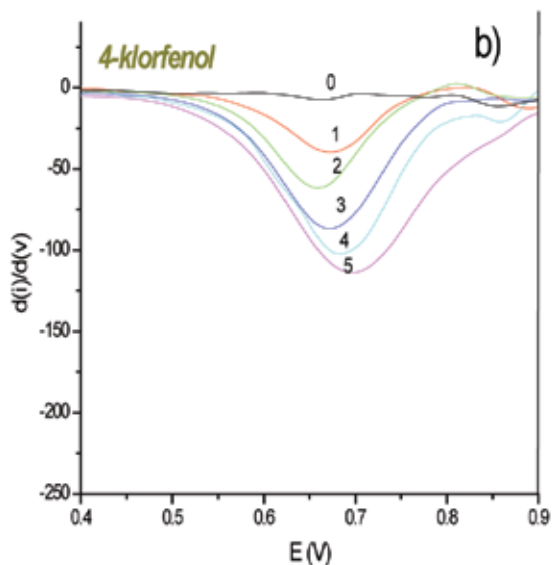
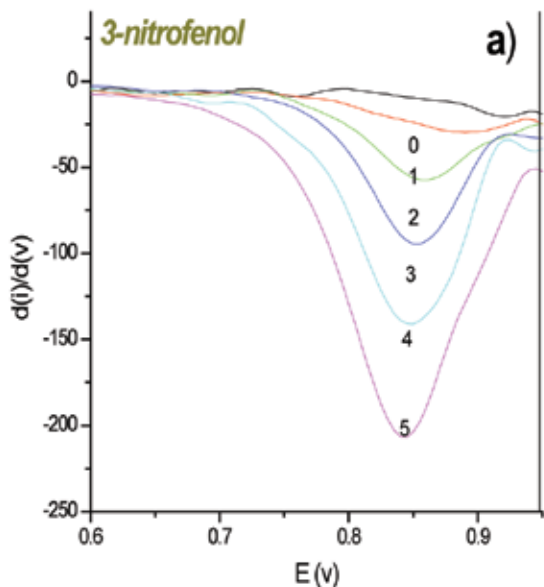
Figura 2a.) Voltamogramat derivative të elektrodave EPKB përgatitur me përmasa të ndryshme të pudrës së grafitit (0.5-0.2 mm, 0.2-0.16 mm, 0.16-0.09 mm, 0.09-0.071 mm, 0.071-0.056 mm), në përqendrim 3.3 ppm fenol, bufer fosfat 0.1M (pH 7), 0.78V dhe ndryshim të potencialit 50mV/s 2b.) Lakoret e kalibrimit përftuar në potencial 0.78V.



Vihet re nga voltamogramat dhe lakoret e kalibrimit të paraqitura më sipër se në fraksionet e mëdha të grimcave të pudrës së karbonit 0.5-0.2 mm dhe 0.2-0.16 mm, ndjeshmëria e elektrodës EPKB është më e ulët dhe me zvogëlimin e përmasave të grimcave ndjeshmëria rritet. Përgjigje më e mirë për sa i përket rrymës së sfondit dhe ndjeshmërisë (S=1.57 mA/ppm) merret kur përdorim fraksionin e grimcave 0.09-0.071 mm të pudrës së karbonit për përgatitjen e materialit elektrodik. Ky fraksion është përzgjedhur optimali për vlerësimin e sjelljes së biosensorit EPKB kundrejt komponimeve të ndryshme fenolike.

3.3 Sjellja elektrokimike e biosensorit (EPKB) kundrejt komponimeve të ndryshme fenolike.

Është studiuar përgjigja e biosensorit EPKB në fenol, 4-klorfenol, hidrokinon, katekol, p-kresol, m-kresol, 4-aminofenol, 4-nitrofenol dhe 3-nitrofenol. Është punuar me pastën e karbonit të modifikuar me përbërje optimale të eksperimentuar si më sipër: 1gr pudër grafiti fraksion 0.09-0.071mm: 300 μ l parafinë: 100mg ind banane, si dhe në të njëjtat kushte eksperimentale për regjistrimin e voltamogramave ciklike. Fillimisht regjistrohet rryma e sfondit në tretësirën buferike dhe më pas regjistrohen voltamogramat për secilin përqendrim të përgatitur në celulë nëpërmjet shtesave të tretësirave standarde. Në fig.3 (a;b;c;d;e;f), tregohen voltamogramat derivative të regjistruara në përqendrime të ndryshme të a) 3-nitrofenolit, b) 4-klorfenolit, c) hidrokinonit, d) katekolit, e) m-kresolit, dhe f) p-kresolit, nën përzierje të vazhdueshme.



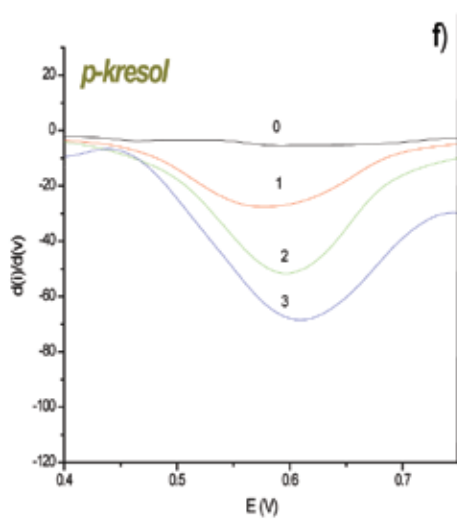


Figura 3. Voltamogramat derivative të biosensorit EPKB kundrejt a) 3-nitrofenol, b) 4-klorfenol, c) hidrokinon, d) katekol, e) m-kresol, f) p-kresol, në përqendrime të ndryshme 0) bufer, 1) 1.4 ppm, 2) 3.3 ppm, 3) 6.6 ppm, 4) 9.4 ppm, 5) 15.7 ppm, në bufer fosfat 0.1M pH 7 dhe ndryshim të potencialit 50mV/s.

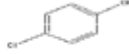
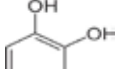
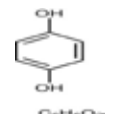
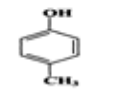
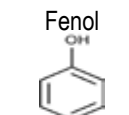
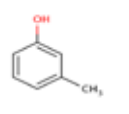
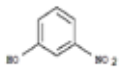
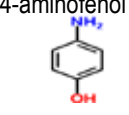
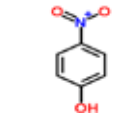
Siç vihet re edhe nga voltamogramat ciklike të mësipërme, reduktimi elektrokimik i komponimeve fenolike në sipërfaqen e elektrodës në mjedis bufer fosfat pH 7, ndodh në potenciale të ndryshme dhe me rritjen e përqendrimit të substratit rritet vlera e sinjalit të rrymës. Pra veprimi katalitik i enzimës PPO në sipërfaqen e elektrodës së modifikuar është i dukshëm.

Në të njëjtat kushte janë eksperimentuar edhe komponimet 4-aminofenol, 4-nitrofenol por në këto raste sensori i modifikuar nuk ka dhënë rezultat. Kjo është vërejtur edhe në punime të tjera ku është pohuar se komponimet fenolike që përmbajnë grupe me efekt induktiv negativ (elektrono-marrës) në pozicionin para nuk japin përgjigje ndaj këtij tipi biosensori pasi e kanë të vështirë për tu oksiduar [4]. Përgjithësisht në këtë rast 4-klorfenoli pasi ky komponim fenolik ka një strukturë kimike të favorizueshme për të mos bllokuar qendrat aktive të sipërfaqes së elektrodës. Biodegradimi i 4-klorfenolit në sipërfaqen e elektrodës i dedikohet një mekanizmi të thjeshtë që përfshin lirin anodik të klorit e për pasojë formimin e një komponimi ndërmjetës aromatik të dekloruar [3]. Zbërthimi i mëtejshëm i unazës aromatike bën të mundur formimin e acideve karboksilike me mungesë të klorit në ciklin aromatik. Atomet e klorit në këtë rast të liruara nga hidrohalejenizimi i klorofenoleve konvertohen në molekula tepër të oksidueshme në anodë [3].

Në bazë të voltamogramave të përfutuara janë llogaritur parametrat analitike për komponimet fenol, hidrokinon, katekol, 4-klorfenol, m-kresol, p-kresol, 3-nitrofenol të cilat janë listuar në tabelën 1.

Tabela 1. Parametrat analitike të biosensorit EPBK në

komponime të ndryshme fenolike, potenciali aplikohet nga -0.4V në 1V, tretësirë bufer fosfat (pH 7), ndryshim të potencialit 50mV/s.

Analisti	R ² (n=5)	Ndjeshmëria (mA/ppm)	Limit i diktimit (ppm)	Shmangia standarde (SD)
4-klorfenol 	0.9738	1.23	6.9	1.8
Katekol 	0.9986	1.68	1.1	0.5
Hidrokinon 	0.9811	1.51	2.0	1.4
p-kresol 	0.9284	1.07	10.2	2.7
Fenol 	0.9973	0.48	1.7	0.2
m-kresol 	0.9540	no response 1.05	8.6	2.1
3- nitrofenol 	0.9945	1.36	1.6	0.9
4-aminofenol 				nuk u mor sinjal
4-nitrofenol 				nuk u mor sinjal

Ndjeshmëria e biosensorit EPBK varion nga 0.48-1.68 mA/ppm për komponimet fenolike të studiuara, kjo

diferencë mund të lidhet me formimin e o-kinoneve në sipërfaqen e elektrodës gjatë reaksion enzimatik [14]. Ndjeshmëri maksimale ($S = 1.68 \text{ mA/ppm}$) dhe koeficient korrelacioni të lartë ($R = 0.9986$) në këtë rast shfaq katekoli kjo i dedikohet strukturës kimike të tij pasi prania e grupit OH në pozicionin orto rrit mundësinë e oksidimit të orto-difenoleve në orto-kinone nga enzima PPO inkorporuar në materialin elektrodik dhe më tej reduktimin elektrokimik të o-kinoneve produkt i reaksionit enzimatik. Kështu që o-difenolet të rigjeneruara elektrokimikisht në sipërfaqen e elektrodës i nënshtrohen një reaksioni tjetër oksidimi enzimatik. Ky mekanizëm çon në një rritje lokale të përqendrimit të o-difenoleve në sipërfaqen e elektrodës dhe kjo shpjegon dhe ndjeshmërinë e lartë të elektrodës pastë karboni modifikuar me PPO në përcaktimin e mono dhe difenoleve [16].

E shprehur dhe si përgjigje relative në përqindje e biosensorit ndaj komponime fenolike paraqitet në fig.4.

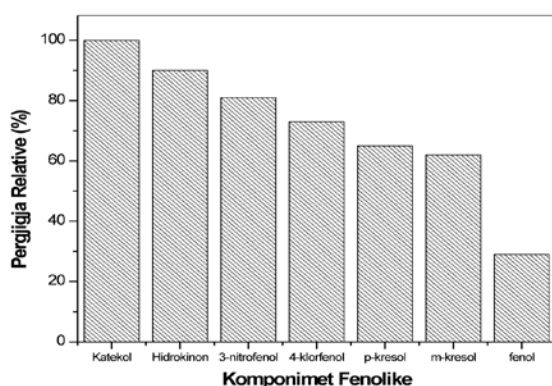


Figura 4. Përgjigja relative (%) e biosensorit EPKB për komponime të ndryshme fenolike (katekol, hidrokinon, 3-nitrofenol, 4-nitrofenol, p-kresol, m-kresol dhe fenol. Parametrat janë llogaritur në bazë të ndjeshmërisë dhe për katekolin është marrë 100%.

Biosensori EPKB gjithashtu shfaq ndjeshmëri të mirë dhe për komponimet si hidrokinon $S=1.51 \text{ mA/ppm}$, 3-nitrofenol $S=1.36 \text{ mA/ppm}$, 4-klorfenol $S=1.23 \text{ mA/ppm}$.

Pra prania dhe pozicioni i grupit zëvendësues mund të luaj një rol të rëndësishëm në përgjigjen e biosensorit. Por ajo që është avantazh në këtë rast është se ky biosensor ka një diapazon të gjerë në përcaktimin e komponime fenolike. Pra ai mund të përcaktoj me një ndjeshmëri më të lartë komponimet orto dhe para - difenolike sesa komponimet monofenolike, gjithashtu ky biosensor e ka të vështirë të përcaktoj komponimet të cilat kanë të zëvendësuar në pozicionin orto grupe me efekt induktiv (-) elektronomarrës.

4 Përfundime

Në këtë studim është treguar ndërtimi i një biosensori bazuar në pastën e karbonit modifikuar me ind të papërpunuar të frytit të bananes. Kjo është një alternative e mirë që ofrohet në përgatitjen e biosensorëve të modifikuar me inde bimore (burim enzimatik), pasi nuk lind nevoja për procedura paratrajtimi dhe ka kosto të ulët. Ind i frutit të bananes (burim i enzimës polifenoloksidazë), është përdorur në ndërtimin e biosensorit pasi është i thjeshtë për tu përgatitur, nuk nevojitet kofaktor për rigjenerimin e enzimës dhe merret një sinjal i mirë. Madhësia grimcës së pudrës së grafitit ndikon në përgjigjen e biosensorit EPKB. Raporti optimal i materialit elektrodik për përcaktimet e komponimeve fenolike është pudër grafiti (1.005 g me përmasa grimce 0.09-0.071 mm) / parafin (300 μ) / ind banane (100mg).

Nga testimi i këtij biosensori kundrejt 9 komponimeve të ndryshme fenolike rezultoi që është i përshtatshëm në përcaktimin e komponimeve di-fenolike zëvendësuar në pozicionin orto dhe para. Biosensori EPKB shfaq ndjeshmëri të ndryshme për komponime të ndryshme fenolike. Radha e ndjeshmërisë së gjetur në këtë studim është : Katekol > hidrokinon > 3-nitrofenol > 4-klorfenol > p-kresol > m-kresol > fenol.

Referenca

- [1] Jing Ren .Tian-Fang Kang . Rui Xue . Chao-Nan Ge . Shui-Yuan Cheng (2011). Biosensor based on a glassy carbon electrode modified with tyrosinase immobilized on multiwalled carbon nanotubes. *Microchim Acta* (2011) 174:303–309
- [2] Rajesh TW, Kaneto K (2004). Amperometric phenol biosensor based on covalent immobilization of tyrosinase onto an electrochemically prepared novel copolymer poly (N-3-aminopropyl pyrrole-copolymer) film. *Sens Actuators B Chem* 102:271–277
- [3] Sharina Abu Hanifah, Lee Yook Heng * and Musa Ahmad (2008). Effects of Gold Nanoparticles on the Response of Phenol Biosensor Containing Photocurable Membrane with Tyrosinase. *Sensors*, 6407-6416.
- [4] Buckee G.K (1992). Determination of the volatile components of beer. *J. Inst. Brew.*, 1992, 98, 78.
- [5] S. M. Hristov, R. I. Boukoureshtlieva, A. R. Kaisheva, I. D. Iliev. (2003). Tyrosinase Sensor for Amperometric Detection of phenol. *Impedance Contributions Online* 1.
- [6] Constantin Apetrei 1, Irina Mirela Apetrei 2, Jose Antonio De Saja 2 and Maria Luz Rodriguez-Mendez 3. (2011). Carbon Paste Electrodes Made from Different Carbonaceous Materials: Application in the Study of Antioxidants. *Sensors* 2011, 11, 1328-1344.
- [7] E. A. Cummings, P. Mailley, S. Linquette-Mailley, B. R. Eggins,* E. T. McAdams and S. McFadden (1998). Amperometric carbon paste biosensor based on plant tissue for the determination of total flavanol content in beers. *The Analyst EIRELEC Ireland*.
- [8] Aleksandra Simić (2007). Electrochemical Behavior and Antioxidant and Prooxidant Activity of Natural Phenol. *Molecules*, 12, 2327-2340.
- [9] Ayten Sağiroglu (2009). Scanning of Some Herbal Tissues to be Used with Biosensors as Polyphenol Oxidase Enzyme Source; *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry* (J. Biol. & Chem.)
- [10] Orlando Fatibello-Filho (2007). Determination of total phenols in wastewaters using a biosensor based on carbon paste modified with Crude extract of jackfruit (*Artocarpus integrifolia* L.), *Comprehensive Analytical Chemistry* 49 Alegret and Merkoç, i (Eds) Volume 49.
- [11] Erol Akyılmaz* and Onur İmer (2011). Voltammetric Determination of Ethanol by Using Mushroom (*Agaricus bisporus*) Tissue Homogenate-Based Biosensor. *Hacettepe J. Biol. & Chem.*, 2011, 39.
- [12] Marcela C. Rodríguez, Gustavo A. Rivas, (2002). Glassy carbon paste electrodes modified with polyphenol oxidase Analytical applications. *Analytica Chimica Acta* 459.
- [13] James K. Palmer. (2007) Banana Polyphenoloxidase. Preparation and Properties. *PLANT PHYSIOLOGY*
- [14] Seyda Korkut Ozoner¹, Elif Erhan¹ and Faruk Yılmaz (2011) . Enzyme Based Phenol Biosensors. *Gebze Institute of Technology, Gebze, Kocaeli*
- [15] Nicolai Oncari, Natasa Bozic 2, Ivan Andelcovic 3, Aleksandra Milovanovic, Biljana Dojnov ,
- [16] Miroslava Vujcic, Goran Roglici and Zoran Vujcici. (2011). Removal of aqueous phenol and phenol derivatives by immobilized potato polyphenol oxidase. *J. Serb. Chem. Soc.* 76 (4) 513–522 (2011).
- [17] Alfred M. Mayer (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: *Phytochemistry* 67 (2006) 2318–2331
- [18] Miller&Miller *Statistic and Chemometrics in Analytical Chemistry*
- [19] Christophe Vadrine (1), Silvia Fabiano (1), Canh Tran-Minh (1)*(2003). Amperometric tyrosinase based biosensor using an electrogenerated polythiophene film as an entrapment support. *emse-00520263*, version 1.
- [20] N. Parroj. M. Vasjari. (2011). Development of the biosensor for phenolic compounds based on carbon paste electrode modified with banana fruit tissue. *Artikull ne “ Buletin e Shkencave te Natyres “ Botimi Nr 12 (Faqe. nr-628-636) ISSN: 224.1779.*
- [21] N. Parroj. M. Vasjari. (2012). Përcaktimi elektrokimik i komponimeve fenolike duke përdorur biosensorin pastë karboni modifikuar me ind kërpudhe. *Artikull në “ Buletini e Shkencave të Natyrës “ Botimi Nr 14 (Faqe. nr-109-122) ISSN: 2305-882X.*