

4000006287



HADIAH

**BIOSENSOR BIENZIM BERASASKAN TINDAK BALAS
ENZIM ACID PHOSPHATASE DAN GLUCOSE OXIDASE
BAGI PENENTUAN PESTISID ORGANOFOFAT**

CHARLENE DAWN L. TOYONG

**PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2005

PERPUSTAKAAN UMS



1400006287

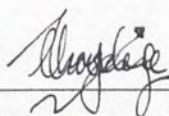


UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

24 MAC 2005

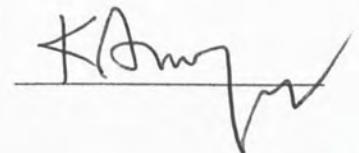
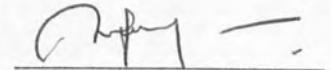
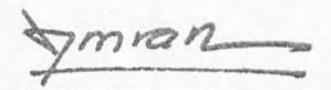

CHARLENE DAWN L. TOYONG
HS 2000-4169



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

1. PENYELIA(PROF. DATUK DR. KAMARUZAMAN AMPON)**2. PEMERIKSA 1**(DR. IVY WONG NYET KUI)**3. PEMERIKSA 2**(DR. JUALANG AZLAN GANSAU)**4. DEKAN**(PROF. MADYA DR. AMRAN AHMED)

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: BIOSENSOR BIENZIM BERASASKAN TINDAK BALAS ENZIMASID PHOSPHATASE DAN GLUKOSA OXIDASE BAGI PENENTUAN PESTISID ORGANOFOSFAT.Ijazah: SARJANA MUDA SAINSSESI PENGAJIAN: 2002 /2005Saya CHARLENE DAWN L. TOYONG

(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/Sarjana/Doktor Falsafah)* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hak milik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. **Sila tandakan (/)

SULIT

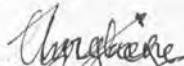
(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh



(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: P.O. BOX 97,
89007 KENINGAU,
SABAHPROF. DATUK DR. KAMARUZAMAN
Nama Penyelia AMPONTarikh: 04 APRIL 2005Tarikh: 04 APRIL 2005

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu diklasaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

@ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).

UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGHARGAAN

Setinggi-tinggi kesyukuran di atas kurniaNya maka terhasilnya sebuah penulisan ilmiah. Walaupun terdapat banyak halangan yang terpaksa ditempuhi, namun itu semua tidak menghalang saya untuk terus menyiapkan laporan ini. Di kesempatan ini, saya ingin mengucapkan jutaan terima kasih kepada pihak Universiti Malaysia Sabah kerana memberi saya ruang untuk menimba ilmu pengetahuan dan pengalaman hidup.

Setinggi-tinggi penghargaan juga saya ucapkan kepada Prof. Datuk Dr. Kamaruzaman Ampon selaku penyelia projek saya di atas segala bimbingan dan tunjuk ajar sepanjang proses kajian dan penulisan ini. Buat keluarga saya, terima kasih kerana sentiasa memberikan sokongan dan dorongan kepada saya. Tidak lupa juga kepada Memel, Along, Amus, Potter, Dom, Amay, Bonni dan rakan-rakan AMTY yang sentiasa bersedia membantu, berkongsi suka dan duka serta menceriakan kehidupan saya sepanjang pengajian saya di Universiti Malaysia Sabah.

Ucapan terima kasih juga buat semua kakitangan Sekolah Sains dan Teknologi dan pelajar-pelajar Master atas kerjasama yang diberikan kepada saya. Akhir sekali, setinggi penghargaan juga kepada semua yang telah membantu saya menyiapkan kajian ini secara langsung atau secara tidak langsung.

Yang Benar,
Charlene Dawn L. Toyong

ABSTRAK

Kajian ini adalah bagi menghasilkan sebuah biosensor potensiometrik bagi penentuan pestisid organophosphate. Satu bioelektrod bienzim klasik dihasilkan dengan menyekat gerak enzim asid phosphatase (AP) dan glukosa oksidase (GOD) pada membran yang seterusnya akan diletakkan pada hujung sebuah elektrod potensiometrik. Nilai V_{maks} bagi tindak balas bienzimatik di antara enzim asid phosphatase dan glukosa oksidase ialah $13.97 \text{ mV min}^{-1}$ dan nilai K_m ialah 3.673 mM . Biosensor bienzim ini boleh mengesan substrat glukosa-6-phosphate dari 5.0×10^{-5} – $3.3 \times 10^{-3} \text{ M}$. Pestisid organofosfat mempunyai kadar perencatan yang tinggi terhadap enzim asid phosphatase. Dengan itu, unsur organofosforus yang terkandung dalam sesuatu sampel boleh ditentukan dengan mengkaji tindak balas yang berlaku hasil penambahan sampel ke dalam larutan tindak balas yang mengandungi substrat glukosa-6-phosphate. Tindak balas yang berlaku iaitu perubahan bacaan pada potensi elektrod direkodkan dan dianalisa. Tindak balas dijalankan pada kepekatan substrat 0.001M , pH 6.0 dan suhu bilik (27°C). Had pengesanan bioesensor bienzimatik asid phosphatase dan glukosa oksidase terhadap unsur organofosforus adalah sehingga serendah $0.9 \mu\text{g l}^{-1}$.

ABSTRACT

This work presents a new potentiometric bioelectrodes for the determination of organophosphorous type of pesticides. A classical bienzymatic electrode is obtained by immobilization of purified acid phosphatase (AP) and glucose oxidase (GOD) on the tip of a potentiometric pH electrode. The V_{maks} for the bienzymatic reaction between acid phosphatase and glucose oxidase is $13.97 \text{ mV min}^{-1}$ and the K_m value is 3.673 mM . This bienzymatic biosensor can selectively detect glucose-6-phosphate, in $5.0 \times 10^{-5} - 3.3 \times 10^{-3} \text{ M}$. Organophosphorous pesticides has high inhibition power towards acid phosphatase, so detection of organophosphorous compound can be made possible by evaluating the reaction produced by adding the sample stepwise to a buffered solution of glucose-6-phosphate and recording the corresponding current change. The reactions are carried out using 0.001M substrate concentration, pH 6.0 and room temperature (27°C). This bienzymatic biosensor can detect as low as $0.9 \mu\text{g l}^{-1}$ organophosphorous compound.



KANDUNGAN

PERKARA	HALAMAN
PENGAKUAN	ii
PERAKUAN PEMERIKSA	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
ISI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xii
SENARAI SIMBOL	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 ULASAN LITERATUR	7
2.1 KONSEP BIOSENSOR	7
2.2 KOMPONEN-KOMPONEN PADA BIOSENSOR	9
2.2.1 Tindak balas biokatalis	9
2.2.2 Komponen biologi	11
2.2.3 Transducer	15
2.2.4 Pengujian model biosensor – ‘Bananatrode’	18
2.2 SEJARAH BIOSENSOR	19
2.4 JENIS-JENIS BIOSENSOR	22
2.4.1 Biosensor Biokatalisis	22
2.4.2 Biosensor Imunologikal	23
2.4.3 Biosensor Mikrobial	23
2.5 BIOSENSOR UNTUK PENGAWALAN ALAM SEKITAR	24



BAB 3	METODOLOGI	27
3.1	SENARAI RADAS DAN BAHAN	27
3.2	SENARAI ALATAN	28
3.3	PENGUJIAN KEBERKESANAN MODEL BIOSENSOR	29
3.4	TINDAK BALAS ENZIM BEBAS	30
3.4.1	Penentuan kepekatan enzim	31
3.4.1	Penentuan kepekatan substrat	32
3.4.2	Penentuan pH optimum tindak balas	33
3.5	TINDAK BALAS BIENZIMATIK ACID PHOSPHATASE DAN GLUCOSE OXIDASE TANPA SEKAT GERAK	34
3.6	MENYEKAT GERAK ENZIM ACID PHOSPHATASE DAN GLUCOSE OXIDASE PADA MEMBRAN	35
3.6.1	Menyekat gerak asid phosphatase	36
3.6.2	Menyekat gerak glukosa oksidase	37
3.7	PEMBINAAN MODEL BIOSENSOR POTENSIOMETRIK BAGI PENENTUAN PESTISID ORGANOFOSFAT	38
3.8	PERENCATAN AKTIVITI ENZIM DAN PENENTUAN PESTISID	39
BAB 4	KEPUTUSAN	41
4.1	PENGUJIAN KEBERKESANAN MODEL BIOSENSOR – ‘BANANATRODE’	41
4.2	PEMBINAAN MODEL BIOSENSOR BIENZIM AP DAN GOD BAGI PENENTUAN PESTISID ORGANOFOSFAT	45
4.2.1	Menyekat gerak enzim pada membran	45
4.2.2	Perbandingan kadar aktiviti enzim sebelum dan selepas sekat gerak	45
4.3	PARAMETER-PARAMETER BAGI TINDAK BALAS BIOSENSOR BIENZIM	50



4.4	HAD PENGESANAN MODEL BIOSENSOR BIENZIMATIK AP & GOD TERHADAP SUBSTRAT GLUCOSE 6 PHOSPHATE	51
4.5	PERENCATAN AKTIVITI BIOSENSOR BIENZIM BAGI PENENTUAN PESTISID ORGANOFOSFAT	51
BAB 5 PERBINCANGAN		58
5.1	TINDAK BALAS BIOSENSOR BIENZIM AP DAN GOD	58
5.2	PENENTUAN KEBERKESANAN BIOSENSOR BIENZIM ACID PHOSPHATASE DAN GLUCOSE OXIDASE	59
5.2.1	Tahap kesensitifan biosensor bienzim Acid Phosphatase dan Glucose Oxidase (Sensitivity)	59
5.2.1	Kadar tindak balas enzim dengan substrat (selectivity)	60
5.2.3	Jangka hayat bagi biosensor bienzim	61
BAB 6 KESIMPULAN		63
RUJUKAN		67
LAMPIRAN A		70



SENARAI JADUAL

NO JADUAL	HALAMAN
2.1 Kronologi peristiwa berkaitan dengan perkembangan dalam bidang biosensor	20
3.1 Senarai radas dan bahan	27
3.2 Senarai alatan	28
3.3 Kaedah bagi tindak balas enzim PPO dengan substrat pada kepekatan substrat 0.001M	30
3.4 Pencairan Acid Phosphatase	31
3.5 Pencairan Glucose Oxidase	31
3.6 Penambahan substrat G-6-P berkepekatan 0.01M ke dalam larutan tindak balas	33
3.7 Kaedah bagi tindak balas bienzimatik AP dan GOD tanpa sekat gerak	35
3.8 Pancairan pestisid Chlorpyrifos (20% w/w)	40
3.9 Pencairan pestisid Malathion (57% w/w)	40
4.1 Keputusan bagi tindak balas enzim PPO dengan kepekatan 0.001M	42
4.2 Keputusan bagi tindak balas enzim PPO dengan substrat 0.005M	42
4.3 Keputusan bagi tindak balas enzim PPO dengan substrat 0.01M	43
4.4 Keputusan bagi tindak balas enzim PPO dengan substrat 0.05M	43
4.5 Keputusan bagi tindak balas enzim AP dan GOD tanpa sekat gerak	46



4.6	Bacaan bagi tindak balas bioelektrod bienzim AP dan GOD (dengan sekat gerak)	48
4.7	Data bagi kadar perencatan pestisid organofosfat (Chlorpyrifos 20% w/w)	52
4.8	Data bagi kadar perencatan pestisid organofosfat (Malathion 57% w/w)	54



SENARAI RAJAH

NO RAJAH	HALAMAN
2.1 Konsep asas pembinaan sesebuah biosensor	8
2.2 Struktur kimia bagi Chlorpyrifos	10
2.3 Struktur kimia bagi Malathion	10
2.4 Diagram ringkas sebuah biosensor amperometrik bagi penentuan glukosa	17
2.5 Model elektrod pH yang telah diubahsuai menjadi elektrod enzim	18
2.6 Tindak balas pada biosensor ‘bananatrode’	19
3.1 Aliran proses menyekat gerak enzim AP	36
3.2 Aliran proses menyekat gerak GOD	37
3.3 Skema gambarajah biosensor bienzim AP dan GOD	38
4.1 Graf kadar pengesanan biosensor ‘bananatrode’	44
4.2 Graf Michaelis menten bagi tindak balas bienzim AP dan GOD tanpa sekat gerak	47
4.3 Plot Michaelis menten bagi tindak balas elektrod bienzim AP dan GOD (dengan sekat gerak)	49
4.4 Tindak balas pada biosensor bienzim AP dan GOD dengan kehadiran Chlorpyrifos 20% w/w	53
4.5 Tindak balas pada biosensor bienzim AP dan GOD dengan kehadiran Malathion 57% w/w	55
4.6 Tindak balas pada biosensor bienzim AP dan GOD dengan kehadiran Pestisid organofosfat Chlorpyrifos dan Malathion pada pelbagai kepekatan	56



SENARAI SIMBOL

AP	Acid Phosphatase
GOD	Glucose Oxidase
G-6-P	Glucose-6-phosphate
Vo	Kadar permulaan
Vmaks	Kadar maksimum
[S]	Kepekatan substrat
Km	Pemalar Michaelis menten
°C	darjah celcius
mg	miligram
g	gram
ml	milimeter
µg	mikrogram
%	Peratus
[]	kepekatan
/	per
EC	Enzyme Commission
mV	milivolt



BAB 1

PENDAHULUAN

Pestisid merupakan agen yang digunakan untuk memusnahkan serangga perosak pada tanaman. Penggunaannya secara berleluasa telah menjadikan pestisid sebagai salah satu agen pencemar yang boleh dijumpai dalam tanah, air dan juga atmosfera. Sebagai agen pencemar, pestisid boleh mendatangkan kemudaratan kepada tumbuhan, haiwan dan manusia khususnya.

Pestisid yang dipilih untuk menyempurnakan kajian ini adalah pestisid organofosfat. Pestisid ini dipilih kerana ia mengandungi kandungan toksik yang sangat tinggi berbanding dengan pestisid lain. Hampir kesemua pestisid dari kumpulan ini adalah larut dalam lemak. Oleh itu, ia boleh meresap masuk merentasi kulit dan seterusnya meresap ke semua bahagian atau organ dalam badan.

Antara kesan-kesan yang boleh diakibatkan oleh kedua-dua pestisid ini ialah ia boleh menyebabkan kerosakan pada mata, kemandulan, menjejaskan sistem saraf manusia, sekaligus boleh mengakibatkan kelumpuhan.



Melihat kepada kesan-kesan yang boleh diakibatkan oleh pestisid, pelbagai kaedah bagi penentuan pestisid telah dihasilkan. Antara kaedah-kaedah yang biasanya digunakan untuk mengesan pestisid ialah spektroskopi-UV, kromatografi cecair, kromatografi gas serta kombinasi kaedah-kaedah ini.

Walau bagaimanapun, terdapat beberapa faktor penghad kepada penggunaan kaedah-kaedah ini. Dimana, aplikasi kaedah-kaedah ini memerlukan pekerja mahir dan berpengalaman. Selain daripada itu, kos operasi bagi kaedah-kaedah ini juga adalah sangat tinggi dan tidak sesuai bagi pengaplikasian di kawasan kajian.

Faktor-faktor ini telah mendorong kepada penciptaan biosensor. Biosensor merupakan satu alat yang terdiri daripada lima elemen utama iaitu tindak balas biokatalis, pengesanan tindak balas yang berlaku, penukaran tindak balas yang berlaku kepada isyarat elektrik, pemprosesan output dan akhirnya memberikan bacaan.

Dalam kajian ini, satu bioelektrod potensiometrik yang berasaskan tindak balas bienzim di antara asid phosphatase dan glukosa oksidase akan dihasilkan. Bioelektrod potensiometrik ini akan menentukan kadar penghasilan ion hidrogen ataupun kadar penghasilan asid yang berlaku akibat perencatan aktiviti enzim. Dimana, pestisid akan merencat aktiviti enzim sekaligus memberikan perubahan pada nilai voltan yang berhasil akibat pengaliran ion pada elektrod.

Antara kelebihan-kelebihan yang terdapat pada biosensor ini berbanding dengan kaedah-kaedah yang sedia ada adalah pengendaliannya yang tidak memerlukan pekerja mahir serta kos yang tinggi dan ia juga sesuai untuk pengaplikasian di kawasan kajian. Selain daripada itu, ia juga sesuai digunakan dalam proses pengawalan paras ketoksikan ketika sesuatu operasi sedang dijalankan.

Kelebihan bioelektrod bienzim ini berbanding dengan bioelektrod berasaskan enzim kolinesterase pula terletak pada tindak balas enzim terabbit. Dimana, tindak balas bienzim yang berlaku di antara enzim asid phosphatase dan glukosa oksidase adalah berbalik. Oleh itu, proses pengaktifan semuala enzim tidak diperlukan. Ini sekaligus dapat menurunkan kos operasi bagi penggunaan bioelektrod bienzim ini.

Dalam pembinaan bioelektrod ini, kedua-dua enzim akan disekat gerak pada membran dan diletakkan pada hujung elektrod pH. Elektrod ini akan disambungkan kepada meter pH atau pengesan potensiometrik. Perubahan nilai potensi yang berlaku adalah akibat penghasilan produk yang berlaku dalam tindak balas bienzim tersebut.

Antara parameter-parameter yang diuji untuk menentukan keberkesanan bioelektrod bienzim ini adalah tahap kesensitifan elektrod ini dalam pengesan pestisid (sensitivity), kadar tindak balas enzim dengan substrat (selectivity) dan jangka hayat bagi bioelektrod bienzim ini (time factors).



Adalah dijangkakan bahawa bioelektrod yang dihasilkan ini mampu mengesan glukosa-6-phosphate pada kepekatan 5.0×10^{-5} M hingga 3.3×10^{-3} M, untuk membolehkan penentuan pestisid organofosfat dapat dijalankan.

Objektif kajian ini adalah untuk menghasilkan satu bioelektrod bienzim klasik bagi penentuan pestisid. Bioelektrod bienzim ini adalah terdiri daripada tindak balas di antara dua enzim iaitu Acid Phosphatase (E.C.3.1.3.2 dari Wheat germ) dan Glucose Oxidase (E.C.1.1.3.4 dari *Aspergillus niger*).

Pada bahagian pertama, model biosensor yang akan digunakan hendaklah diuji keberkesannya terlebih dahulu. Kemudian, pada bahagian kedua parameter-parameter bagi tindak balas ini akan ditentukan. Antara parameter-parameter yang ditentukan adalah seperti kepekatan enzim, pH optimum, suhu optimum serta kepekatan substrat yang sesuai bagi tindak balas bienzim ini. Seterusnya pada bahagian ketiga, kedua-dua enzim akan disekat gerak terlebih dahulu pada membran dan model biosensor bienzim asid phosphatase dan glukosa oksidase bagi penentuan pestisid organofosfat akan dihasilkan. Pengesanan atau penentuan pestisid akan dijalankan berdasarkan kadar perencutan aktiviti enzim asid phosphatase yang berlaku semasa penambahan sampel kepada larutan tindak balas.

Selain daripada objektif yang dinyatakan di atas, kajian ini juga diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan serta pemahaman mengenai konsep biosensor dan juga mengenai konsep bagi tindak balas bienzim.

Skop kajian ini adalah untuk menentukan ciri-ciri bioelektrod bienzim asid phosphatase dan glukosa oksidase. Dimana, pengesanan kadar tindak balas di antara bioelektrod bienzim dengan substrat glukosa-6-phosphate akan diukur pada parameter-parameter tertentu untuk mendapatkan satu lengkung standard (standard curve) bagi tindak balas pengesanan unsur organofosforus dengan menggunakan model biosensor bienzim yang dihasilkan.

Konsep yang ada pada biosensor membolehkan pengesanan pestisid dilakukan dengan mudah tanpa melibatkan kos yang tinggi. Biosensor berasaskan tindak balas di antara dua enzim yang diaplikasikan dalam kajian ini. Dalam bidang bioteknologi, konsep biosensor boleh diadaptasikan ke dalam pelbagai fungsi berdasarkan kajian yang dijalankan.

Penghasilan satu alat bagi tujuan pengawalan penggunaan pestisid adalah sangat penting pada masa kini. Penggunaan pestisid secara berleluasa boleh mendorong kemudaratan kepada manusia sekiranya dikawal. Memandangkan kaedah yang sedia ada adalah terhad dan memerlukan kemahiran serta kos yang tinggi maka penciptaan satu kaedah alternatif bagi penentuan pestisid adalah sangat diperlukan.



Kepelbagaiannya yang ada membolehkan pemilihan tindak balas dipilih mengikut kesesuaian dalam pembinaan sesebuah biosensor. Tindak balas bienzim asid phosphatase dan glukosa oksidase pada biosensor yang dihasilkan akan direncat oleh pestisid organofosfat. Ini sekaligus membolehkan penentuan pestisid dibuat oleh biosensor bienzim ini.

BAB 2

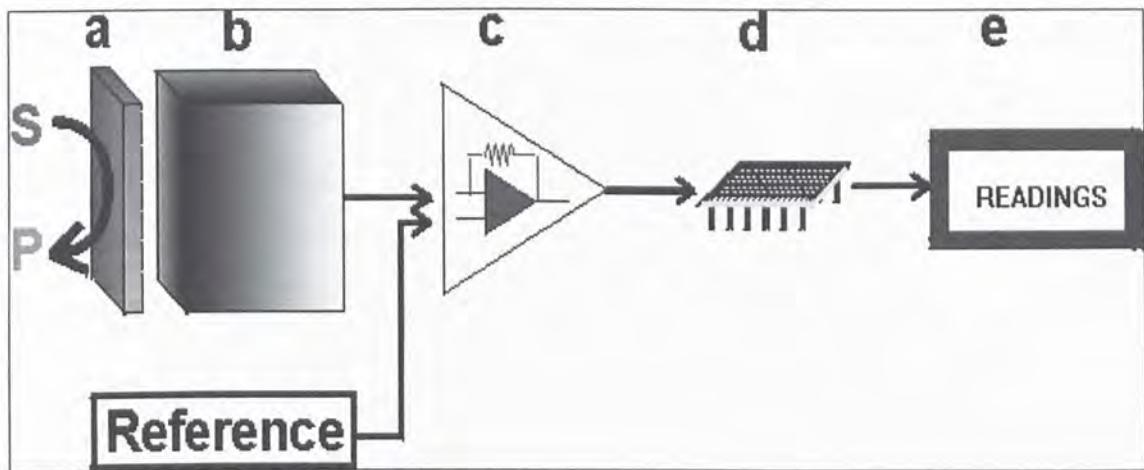
ULASAN LITERATUR

2.1 KONSEP BIOSENSOR

Biosensor merupakan satu teknik pengesan analitis yang mengandungi bahan biologi seperti enzim, multienzim, antibodi, bakteria, tisu dan sel. Dalam sesebuah biosensor, bahan biologi akan disekat gerak dan disambungkan kepada alat fisio-kimia yang akan menentukan aktiviti yang berlaku akibat perubahan kimia pada substrat yang dianalisis. Perubahan kimia ini akan ditukarkan kepada perubahan fizikal seperti isyarat elektrik atau isyarat warna.

Tindak balas dalam sesebuah biosensor bermula dengan tindak balas biokatalis, dimana ia menukarkan substrat kepada produk. Tindak balas ini seterusnya akan dikesan oleh transducer. Transducer ini akan menukarkan tindak balas yang berlaku kepada isyarat elektrik. Seterusnya, output daripada transducer akan diproses dan akhirnya memberikan bacaan bagi tindak balas yang berlaku (Rajah 2.1).





Rajah 2.1 Konsep asas pembinaan sesebuah biosensor (a) tindak balas biokatalis, (b) pengesanan tindak balas yang berlaku, (c) penukaran tindak balas yang berlaku kepada isyarat elektrik, (d) pemprosesan output dan (e) bacaan. (Sumber; <http://www.sbu.uk>)

Menurut Rinken dan Tenno pada tahun 2001, “sesebuah biosensor akan menghasilkan satu isyarat yang berkadar langsung dengan kepekatan bahan yang diuji. Isyarat output yang terlibat terdiri daripada kesan yang akan terjadi akibat tindak balas yang berlaku dan berkait rapat dengan degradasi bahan kimia yang berlaku pada substrat”.

Dalam kajian ini, bahan biologi yang digunakan adalah asid phosphatase dan glukosa oksidase. Kedua-dua enzim ini akan disekat-gerak pada satu membran sebelum diletakkan pada elektrod. Seterusnya, elektrod ini akan bertindak balas menghasilkan ion H_2O_2 dan asid glukonik sebagai hasil akhir.

Elektrod bienzim ini akan disambungkan kepada meter pH untuk mengesan perubahan yang berlaku hasil tindak balas. Dalam kajian ini, perubahan bacaan potensi elektrod yang terhasil akan dianalisa.

2.2 KOMPONEN-KOMPONEN PADA BIOSENSOR

2.2.1 Tindak balas biokatalis

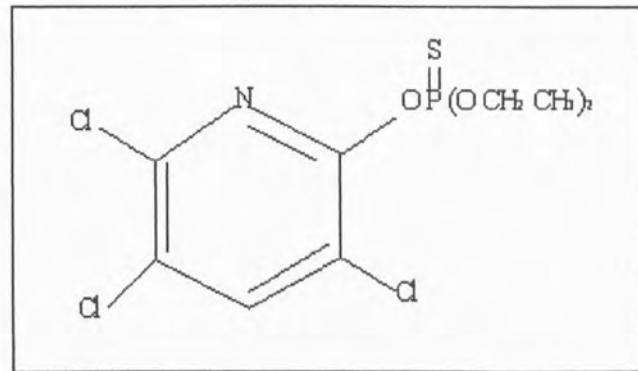
Dalam pembinaan sesebuah biosensor, perkara utama yang perlu diambil kira adalah bahan yang ingin dikenal pasti atau ditentukan. Ini membolehkan pemilihan biokatalis yang sesuai dibuat. Biokatalis ini akan menukar substrat kepada hasil.

Dalam kajian ini, bahan yang hendak ditentukan adalah pestisid organofosfat. Kumpulan pestisid ini merencat aktiviti asetilkolinesterase. Umumnya, kehadiran pestisid akan merencat aktiviti sesuatu enzim. Ini menyebabkan tindak balas di antara asid phosphatase dengan glukosa-6-phosphate mengalami perencatan. Ini membolehkan sesebuah biosensor itu mengesan perubahan kadar tindak balas yang berlaku sebelum dan selepas penambahan pestisid.

Dua jenis pestisid organofosfat komersil yang digunakan dalam kajian ini ialah pestisid chlorpyrifos dan pestisid malathion. Berikut merupakan komponen aktif bagi kedua-dua pestisid ini.

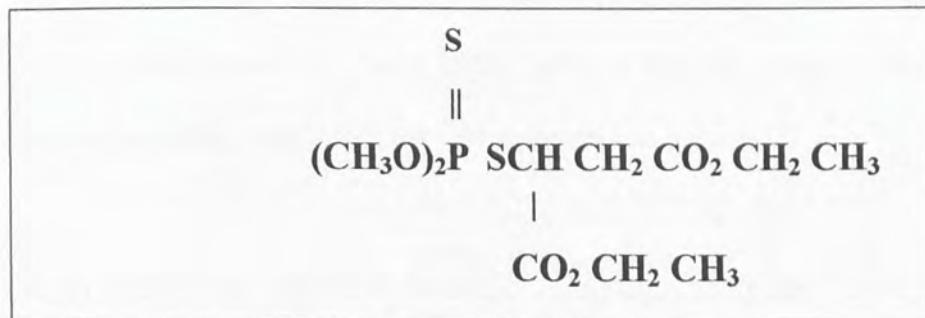


a. **Chlorpyrifos (20% w/w)**



Rajah 2.2 Struktur kimia bagi Chlorpyrifos. (Sumber; <http://www.abcbirds.org/pesticides/Profiles/chlorpyrifos.htm>)

b. **Malathion (57% w/w)**



Rajah 2.3 Struktur kimia bagi Malathion. (Sumber; <http://www.abcbirds.org/pesticides/Profiles/malathion.htm>)

RUJUKAN

- B. Hock, M.Seifert and K. Kramer, 2002. Biosensor and Bioelectronics. *Engineering receptor and antibodies for biosensor*, **17**, 239-249.
- Chi Hung Tzang, Ruo yuan, Mengu Yang, 2001. Biosensor and Bioelectronics. *Voltammetric biosensors for the determination of formate and glucose-6-Phosphate based on the measurement of dehydrogenase-generated NADH and NADPH* **16**, 211-219.
- Holger Schulze, Sandra Vorlova, Francois Villatte , Till T. Bachmann and Rolf D. Schmid, 2003. Biosensor and Bioelectronics. *Design of acetylcholinesterases applications* **18**, 201-209.
- Joseph Wang, Robin Krause, Kirstin Block, Mustafa Musameh, Ashok Mulchandani and Michael J. schoning, 2003. Biosensor and Bioelectronics. *Flow injection amperometric detection of OP nerve agent based on an organophosphorus – hydrolase biosensor detector* **18**, 255-260.

Lea Pogacnik and Mladen. Franko, 2003. Biosensor and Bioelectronics. *Detection of organophosphate and carbamate pesticides in vegetable sample by a photothermal biosensor* **18**, 1-9.

Li-Qun Chen, Xian-En Zhang, Wei-Hong Xie, Ya-Feng Zhou, Zhi-Ping Zhang and Anthony E.G. Cass, 2002. Biosensor and Bioelectronics. *Genetic modification of glucose oxidase for improving performance of an amperometric glucose biosensor* **17**, 851-857.

Manju Gerard, Asha Chaubey and B.D. Malhotra, 2002. Biosensor and Bioelectronics. *Application of conducting polymer to biosensors* **17**, 345-359.

M.D.Luque de Castor and M.C.Herrera, 2003. Biosensor and Bioelectronics. *Enzyme inhibition biosensor and biosensing system: questionable analytical devices* **18**, 279-294.

R. Stenkahl, C. Dumschat, C.sundermejer, H. Hinkers, R. Renneberg, K. cammann and M. Knoll, 1996. Biosensor and Bioelectronics. *Micromachined glucose sensor* **11**, 187-190.

Sarah J. Young, John P. Hart, Antony A. Dowman and David C. Cowell, 2001. Biosensor and Bioelectronics. *The non-specific inhibition of enzymes by environmental*



pollutants: a study of a model system towards the development of electrochemical biosensor arrays, 16, 887-894.

S. Zhang, H. Zhao and R. John, 2001. Biosensor and Bioelectronics. *Development of a quantitative relationship between inhibition percentage and both incubation inhibitor concentration for inhibition biosensor – theoretical and practical considerations 16, 1119-1126.*

Toonika Rinken dan Toomas Tenno, 2001. Biosensor and Bioelectronics. *Dynamic Model Of Amperometric Biosensor. Characterisation Of Glucose Biosensor Output 16, 53-59.*

Tova Neufeld, Inna Eshkenazi, Erez Cohen dan Judith Rishpon, 2000. Biosensor and Bioelectronics. *A Micro Flow Injection Electrochemical Biosensor For Organophosphorus Pesticide 15, 323-329.*

Zhengyan Wu, Bingquan, Shaojun Dong and Erkang wang, 2002. Biosensor and Bioelectronics. *Amperometric glucose biosensor based on lipid film 15, 143-147.*