مجله ایمنی زیستی
دوره ۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵

حسگرهای آنزیمی اصلاح شده با نانوذرات برای اندازه‌گیری کولین و استیل کولین در نمونه‌های غذایی و زیستی (بخش اول: الکترودهای کربنی)

مسلم جهانی* و علیرضا جهانی

استادیار پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی مشهد، مشهد، ایران
دانشجوی کارشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یزد، یزد، ایران

m.jahani@rifst.ac.ir

چکیده

کولین ترکیبی شبه ویتامینی، از مواد مغذی اساسی و موثر در مسیرهای متابولیکی مهم است که برای توسعه مغز به ویژه در مرحله جنینی اهمیت داشته، در سنتز استیل کولین نقش دارد و مقادیر غیرطبیعی آن، نشانه‌ای از شرایط بیماری است. امروزه کولین و استیل کولین به غذاهای خاص اضافه می‌شوند و بنابراین اندازه‌گیری آن‌ها در صنایع غذایی و نیز آنالیزهای بالینی اهمیت دارد. معمولا از روش‌های کروماتوگرافی استفاده می‌شود، اما مراحل آماده‌سازی سخت، زمان جداسازی طولانی، استفاده از حجم بالای نمونه و فاز متحرک و نیاز به کاربر ماهر، کاربرد این تکنیک‌ها را محدود می‌سازد. در همین زمینه، حسگرهای آنزیمی با مزایای سبز بودن، حساسیت بالا و کاربرد آسان مورد توجه قرار گرفته‌اند. در آن‌ها، پروکسید هیدروژن به عنوان محصول واکنش آنزیمی به روش الکتروشیمیایی و یا نوری اندازه گیری می‌شود. در این مقاله مروری، پژوهش‌های منتشر شده (از سال ۲۰۰۰ میلادی) در زمینه کاربرد نانوذرات در طراحی این حسگرها و اندازه‌گیری کولین و استیل کولین بررسی شده است. استفاده از نانومواد، تثبیت بیشتر و پایداری بالاتر آنزیم همراه با حفظ فعالیت زیستی، بهبود انتقال الکترون و کاهش مقاومت و در نتیجه بهبود ارقام شایستگی روش را به همراه دارد.

کلمات کلیدی: نانوذرات، حسگر آنزیمی، کولین، استیل کولین، روش‌های الکتروشیمیایی

مقدمه

کولین (Cho)، نوعی ویتامین B، ماده مغذی مهمی برای انسان است که می‌تواند متابولیسم چربی در کبد و کلیه را ارتقاء دهد. این ترکیب یک نمک آمونیوم نوع چهارم بوده و در سنتز فسفولیپیدها نقش دارد. همچنین متابولیت استیل کولین (AcCh) (انتقال دهنده عصبی) است که در پشتیبانی و نگهداری از سیستم عصبی، عملکردهای متابولیکی و انتقال پیام‌های عصبی در شبکه عصبی مرکزی و محیطی نقش حیاتی دارد. کاهش مقدار AcCh فرد را

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

مستعد اختلالات عصبی مختلف (پارکینسون، آلزایمر و ام‌اس) می‌نماید و در مغز افراد مبتلا به آلزایمر، کاهش قابل توجه غلظت AcCh، Cho و پروتئین‌هایی که واسطه اثرات آن‌ها هستند (استیل کولین استراز و کولین استیل ترانسفراز) رخ می‌دهد. افزایش مقدار آن نیز سبب کاهش ضربان قلب و افزایش تولید بزاق می‌شود. به همین دلیل، استفاده از مواد غذایی غنی از Cho و AcCh برای این افراد توصیه می‌شود. در مبتلایان به سرطان سینه، سطوح غیرطبیعی و بالا از کولین (۴/۹-۰/۴ mmol/kg) و ترکیبات مرتبط با آن یافت می‌شود و به همین دلیل، اندازه‌گیری مقدار Cho در سلول‌ها، می‌تواند به تشخیص آن کمک کند. کولین پیش‌ساز سنتز فسفاتیدیل کولین (چربی غشاء سلولی) و بتائین نیز می‌باشد و برای یکپارچگی غشاء سلولی و متابولیسم لیپیدها اهمیت دارد. وجود Cho در رژیم غذایی بر سیگنال‌دهی آپوپروتیک در سلول‌های عصبی و کبد، بسته شدن کانال عصبی و انتقالات کبدی لیپوپروتئین‌ها اثر می‌گذارد (۱, ٤). کولین می‌تواند در کبد و کلیه به بتائین اکسید شود که در چرخه متیونین به عنوان یک دهنده مهم گروه متیل عمل کرده و برای تولید متیونین لازم است. در سال ۱۹۹۸، انستیتوی پزشکی رسما Cho را به عنوان یک ماده مغذی اساسی معرفی نموده و در حال حاضر Cho و AcCh، به طور گسترده به مواد غذایی (شیر، غذای نوزاد و غذاهای محافظ سلامت) افزوده می‌شوند و به همین دلیل تعیین کمی این دو ترکیب در آنالیزهای بالینی (سرم، صفرا، مایع آمنیوتیک، مایع مغزی)، محصولات دارویی، صنایع غذایی، افزودنی‌های خوراکی و بسیاری از زمینه‌های دیگر اهمیت دارد (۱, ۵, ۷).

تخم‌مرغ، شیر، جگر، جوانه گندم و شیر مادر، از منابع اصلی Cho هستند. تخم‌مرغ غنی‌ترین منبع غذایی کولین است، اما با توجه به مقدار مصرف، شیر بالاترین سهم را در تامین کولین خوراکی دارد و ۱۷/۹٪ از جذب Cho خوراکی در خانم‌ها را شامل می‌شود. برای بدست آوردن مقدار کولین معادل یک تخم‌مرغ باید ۳ و یک چهارم فنجان شیر بدون چربی یا ۱۰۰ گرم جوانه گندم مصرف کرد که البته هر دوی آن‌ها کالری بیشتری نسبت به یک تخم‌مرغ دارند. سبوس و جوانه گندم، چغندر، اسفناج و ماکارونی غذاهای غنی از بتائین هستند (۹-۷).

روش های اندازه‌گیری کولین

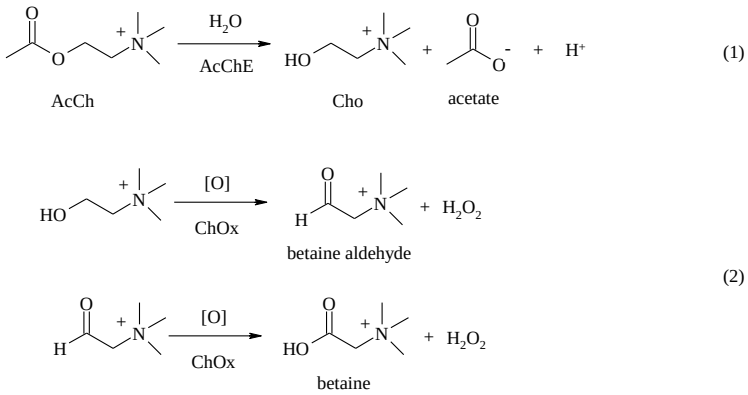
با توجه به نقش غذایی و بالینی Cho در تشخیص برخی از بیماری‌ها، توسعه روش‌های حساس و دقیق برای اندازه‌گیری آن مهم است. کولین فاقد گروه‌های عاملی مناسب (کروموفور، فلئوروفور و یا الکتروفعال) است و برای اندازه‌گیری آن نمی‌توان از روش‌های متداول آنالیز ترکیبات زیستی استفاده کرد و اغلب مشتق‌سازی اولیه و تولید ترکیباتی برای تشخیص راحت‌تر، ضروری است. متداول‌ترین روش، کروماتوگرافی مایع در تلفیق با تبدیل آنزیمی پس از ستون با استفاده از آنزیم‌های کولین اکسیداز (ChOx) و استیل کولین استراز (AcChE) است. از روش‌های نورتابی شیمیایی (Chemiluminescence) (۵)، نورتابی الکتروشیمیایی (Electrochemiluminescent) (۵, ۱۰, ۱۱)، رزونانس مغناطیسی هسته (۱۲)، کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی (۱۳) و کرماتوگرافی مایعی- طیف‌سنجی جرمی (۷, ١٤, ١٥) نیز استفاده شده است. این روش‌ها قابل اطمینان هستند، اما گران و زمان‌بر بوده و به مراحل پیش پردازش، استخراج و مشتق‌سازی نیاز دارند. روش‌های لومینوسانس و فلورسانس هم هنوز از عدم پایداری سیگنال‌های نشری رنج می‌برند (۱, ۲, ٦, ١٦).

از روش‌های الکتروشیمیایی نیز استفاده شده و حسگرهای آمپرومتری آنزیمی به دلیل پاسخ سریع، حساسیت بالا،

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

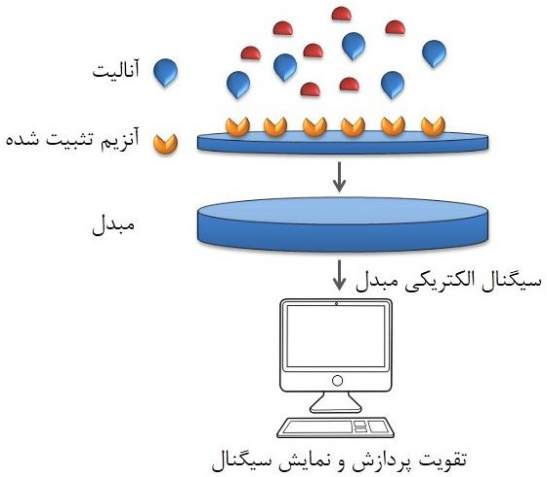
قابل حمل بودن، ارزانی و نیاز به حداقل انرژی، توجه زیادی را به خود معطوف داشته‌اند. در این حسگرها اکسیداسیون Cho به بتائین و پروکسید هیدروژن (H_2O_2) در حضور ChOx کاتالیز می‌شود و چون Cho و AcCh الکتروفعال نیستند، اندازه‌گیری به شکل غیرمستقیم و بر مبنای مقدار H_2O_2 انجام می‌شود (شکل ۱) (۲, ۳, ٦). این روش به دلیل واکنش آنزیمی، انتخاب‌پذیری استثنایی دارد و حساسیت بالای آن هم ناشی از تشخیص الکتروشیمیایی H_2O_2 است. پروکسید هیدروژن به راحتی در پتانسل V ۰/۵+ (نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl) تشخیص داده می‌شود و جریان حاصل متناسب با غلظت Cho یا AcCh است (٤, ١٦).



شکل ۱- مسیر واکنش های آنزیمی کولین و استیل کولین (٤)

اندازه گیری کولین به روش آنزیمی

هر حسگر شیمیایی از یک مبدل جفت شده با جزء شناسایی انتخاب‌پذیر، تشکیل شده است. یک حسگر زیستی (Biosensor) متمایز از یک حسگر شیمیایی است زیرا یک شناساگر زیستی متصل به مبدل دارد و یک سیگنال زیستی را به سیگنال قابل اندازه‌گیری تبدیل می‌نماید (شکل ۲). این ابزارها نسبت به گونه مورد اندازه‌گیری (آنالیت) حساس و گزینش‌پذیر هستند (۱۷, ۱۸).



شکل ۲- اجزاء یک حسگر زیستی آنزیمی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

حسگرهای زیستی مبتنی بر آنزیم ChOx، امیدوار کننده‌ترین روش برای تشخیص Cho در نمونه‌های زیستی، صنعتی و زیست محیطی می‌باشند. مکانیسم عملکرد آن‌ها مبتنی بر واکنش اکسایش آنزیمی کولین است که مرحله اول آن هیدرولیز استیل کولین و مرحله دوم اکسایش کولین است (شکل ۱). در ادامه، اکسایش H_2O_2 در سطح الکترود کار رخ می‌دهد (معادله ۱). مقدار جریان مستقیما متناسب با غلظت استیل کولین/کولین و فعالیت آنزیم است و همان‌گونه که مشاهده می‌شود، برای اندازه‌گیری AcCh نیاز است تا به صورت همزمان از AcChE و ChOx استفاده شود (شکل ۱) (۱۶, ۱۹, ۲۰).

$$H_2O_2 \xrightarrow{\text{electrode}} O_2 + 2H^+ + 2e^- \quad (1)$$

در این سیستم شناسایی، واکنش الکترودی معمولا در پتانسیل نسبتا بالایی (حدود ۰/۷ V نسبت به الکترود کالومل) انجام شده و به راحتی تحت تاثیر مزاحمت سایر گونه‌های الکتروفعال نمونه واقع می‌شود.

در نوع دیگری از حسگرهای آنزیمی، از ChOx به همراه پروکسیداز ترب کوهی HRP (Horeeradish peroxidase) استفاده می‌شود. در این حسگرها، اندازه‌گیری پاسخ جریان مبتنی بر احیاء HRP در حضور یک میانجی (Mediator) ردوکس است که نقش مهمی در تسریع انتقال الکترون میان HRP و سطح الکترود دارد (۲۱). تلفیق انتخاب‌پذیری زیستی و عملکرد انتخابی آنزیم‌ها با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوذرات (NPs) اجازه توسعه حسگرهای زیستی جدید با قابلیت‌های بهبود یافته را می‌دهد (۱۶, ۱۷).

استفاده از نانوساختارها در طراحی حسگرهای زیستی

نانومواد مختلف، حوزه‌های کاربردی متفاوتی در بسیاری از روش‌های تجزیه‌ای یافته‌اند. آن‌ها به دلیل اندازه بسیار کوچک (۱۰۰nm–۱۰)، خواص فیزیکی، شیمیایی و الکتریکی ویژه‌ای دارند که با خصوصیات مواد در حالت توده‌ای (Bulk) متفاوت است. به همین دلیل از آن‌ها می‌توان برای ساخت ابزارهای تشخیصی و نیز بهبود حساسیت حسگرهای شیمیایی و زیستی استفاده کرد. در طراحی حسگرها از انواع مختلفی از NPs (فلزی، اکسیدی، نیم رسانا و نانوذرات مرکب) استفاده شده که بر مبنای خواص منحصربفردشان نقش‌های متفاوتی ایفا می‌کنند. به طور کلی نقش اصلی NPs در حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی به پنج دسته تقسیم میشود (۲۲).

۱- تثبیت مولکول زیستی: به دلیل مساحت سطح ویژه و نیز انرژی آزاد سطح بالا، NPs توانایی جذب محکم مولکول‌های زیستی را دارند. جذب مستقیم این مولکول‌ها روی سطح برهنه مواد توده‌ای، اغلب فعالیت آن‌ها را کاهش می‌دهد. در حالی که جذب بر روی NPs این تاثیر را ندارد. بسیاری از این NPs باردار هستند و می‌توانند مولکول‌های زیستی را به شکل الکترواستاتیک جذب کنند، ضمن این‌که برهمکنش‌های دیگری مانند تشکیل پیوندهای کووالانسی (نانوذرات طلا و گروه‌های آمین و نیز واحدهای سیستئین در پروتئین‌ها) نیز می‌تواند موثر باشد. نانوذرات طلا (GNPs) احتمالا بیشترین استفاده را برای تثبیت پروتئین‌ها داشته‌اند. نانوذرات SiO_2 هم به دلیل سازگاری زیستی خوب و تهیه آسان، مواد فوق‌العاده‌ای برای این منظور هستند. از نانوذرات دیگری مثل Pt, Ag, TiO_2, ZnO هم می‌توان استفاده کرد (۲۲).

۲- کاتالیز کردن واکنش‌های الکتروشیمیایی: بسیاری از NPs، به ویژه نانوذرات فلزی، خواص کاتالیزوری ویژه‌ای دارند و ورود آن‌ها به حسگرهای الکتروشیمیایی، سبب کاهش اضافه ولتاژ در خیلی از واکنش‌ها و حتی تحقق

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

برگشت‌پذیری برخی از واکنش‌های ردوکس (که در الکترودهای اصلاح نشده معمولی برگشت ناپذیر هستند) می‌شود. GNPs از نانومواد پرکاربرد با ویژگی کاتالیزوری در واکنش‌های الکتروشیمیایی هستند. خواص کاتالیزوری نانوذرات Pt نیز در اکسایش پروکسید هیدروژن تایید شده است (۲۲). نانوذرات اکسید فلزی هم (SnO_2, Fe_3O_4,) (TiO_2, ZnO, ZrO_2,) خصوصیات ویژه‌ای به عنوان کاتالیزور و نیز شبیه ساز غشاءهای زیستی دارند (٦).

۳- بهبود انتقال الکترون: آنزیم اغلب اتصال الکتریکی مستقیم با الکترود ندارد. خصوصیات رسانایی NPs (معمولا نانوذرات فلزی) سبب شده تا به عنوان میانجی‌های انتقال بار برای بهبود انتقال الکترون استفاده شوند. کاربرد نانوذرات Ag، نانوذرات غیر فلزی مثل نانوذرات اکسیدی (TiO_2, ZrO_2, MnO_2, Fe_3O_4) و نیم رسانا (CdS) گزارش شده است (۲۲).

٤- نشانه‌گذاری (Labeling) مولکول زیستی: مولکول‌های زیستی نشان‌دار شده با NPs می‌توانند فعالیت خود را حفظ کرده و با همتایان خود برهمکنش داشته باشند و بر مبنای تشخیص الکتروشیمیایی NPs، می‌توان مقدار یا غلظت آنالیت‌ها را تعیین نمود. انحلال این NPs (اغلب نانوذرات فلزی و نیم رسانا)، و اندازه‌گیری یون‌های حل شده با روش ولتامتری برهنه‌سازی، یک روش الکتروتجزیه‌ای عمومی و قدرتمند برای اندازه‌گیری مقادیر ناچیز از آنالیت‌ها ارائه می‌نماید. به این منظور از نانوذرات Au, Ag و نانوذرات فلزی هسته-پوسته و اخیرا هم از نانوذرات نیم رسانا (ZnS, CdS, PbS) استفاده شده است (۲۲).

۵- کاربرد نانوذرات به عنوان واکنش‌گر: به دلیل انرژی سطح بالا، NPs معمولا از نظر شیمیایی خیلی فعال‌تر از مواد توده‌ای هستند. به عنوان مثال، MnO_2 در حالت توده‌ای تجزیه H_2O_2 را کاتالیز می‌نماید در حالی که نانوذرات آن می‌توانند مستقیما با H_2O_2 واکنش دهند. با استفاده از خصوصیات فعال NPs و استفاده از آن‌ها به عنوان واکنشگرهای ویژه، می‌توان سیستم‌های الکتروتجزیه‌ای نوینی تهیه نمود. امید می‌رود تا نانوذرات دیگر با توانایی واکنش‌پذیری منحصربفرد هم برای توسعه حسگرهای جدید مطالعه شوند. به عنوان مثال خواص PbO_2 و CeO_2 شبیه به MnO_2 است و بنابراین نانوذرات آن‌ها نیز ممکن است واکنش‌پذیری ویژه مشابهی داشته باشند (۲۲).

الکترودهای کربنی اصلاح شده با نانوذرات برای اندازه‌گیری کولین و استیل کولین

دامنه پتانسیل وسیع، جریان زمینه کم، ارزانی و بی‌اثر بودن، سبب شده الکترودهای پایه کربنی به طور گسترده در ساخت حسگرها استفاده شوند. انواع مختلفی از ترکیبات کربن مانند گرافیت، کربن شیشه‌ای، الماس، نانوذرات کربنی، گرافیت پیرولیتی، فیبرهای کربنی و نانولوله‌های کربنی (CNTs) در تهیه الکترود به کار رفته‌اند (۲۳).

الکترود خمیر کربنی (Carbon paste electrode: CPE) مخلوطی از پودر گرافیت و یک مایع خمیر کننده نارسانا و نامحلول در آب (نوجول، روغن پارافین، گریس سیلیکون و برومونفتالین) است. آن‌ها با سهم جریان زمینه خیلی کم، ارزانی، قابلیت ترکیب شدن با مواد مختلف (در طول تهیه خمیر)، سادگی تهیه، تجدید سطح آسان و سهولت کوچک‌سازی به طور گسترده‌ای به کار رفته‌اند (۲٤, ۲۵). خمیر کربنی، بافتی مناسب برای استقرار ترکیبات اصلاح کننده دارد و می‌توان ماده اصلاح کننده (همانند آنزیم) را بدون نیاز به اتصال دهنده جداگانه، به آن افزوده و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

حسگرهای زیستی با پاسخ‌دهی سریع تهیه نمود (۲۵, ۲۶).

از نقش کاتالیزوری نانوذرات اکسید نیکل برای اکسیداسیون Cho استفاده شده است. خمیر CPE شامل پودر گرافیت، عامل خمیر کننده و نانوذرات (به ترتیب ٪w/w ۶۰،۲۰،۲۰) تهیه و سطح الکترود با فیلمی از نافیون پوشانده می‌شود. در ولتاموگرام الکترود اصلاح شده، پیک مربوط به اکسیداسیون Ni(II)/Ni(III) دیده می‌شود (معادله ۲) که در محلول Cho هم از نظر پتانسیل و هم از نظر نقطه آغاز به سمت پتانسیل‌های مثبت‌تر جابجا می‌شوند. این نشان دهنده اکسایش کولین روی سطح فعال اکسید نیکل از طریق یک مکانیسم الکتروکاتالیزوری واسطه‌ای است.

$$Ni(II) \rightleftharpoons Ni(III) + e^- \qquad (2)$$

احیاء مجدد Ni با اکسایش کولین همراه است:

$$Ni(III) + Choline \rightarrow Product + Ni(II) \qquad (3)$$

احتمالا اکسایش گروه‌های عاملی کولین طی یک یا چند مرحله رخ می‌دهد. کولین به عنوان یک الکل، می‌تواند به بتائین آلدهید و متعاقب آن به بتائین اکسید شود (۲).

الکترودهای کربن شیشه‌ای (Glassy carbon electrode: GCE)، سرعت اکسایش پایین، خلل و فرج کم، تکرارپذیری نسبتا خوب، گستره پتانسیل وسیع، نفوذپذیری کم در مقابل گازها و مایعات و مقاومت شیمیایی خوبی در برابر حلال دارند. همین موارد سبب می شود آن‌ها الکترودهای واقعا بی‌اثر باشند (۲۷).

نانوذرات MnO_2 با مساحت سطح ویژه بزرگ، آبدوستی و نیز سازگاری زیستی، کاربرد زیادی در طراحی حسگرهای زیستی دارند. در یک مطالعه، نانوذرات MnO_2 با سه ساختار کریستالی متفاوت به روش الکتروشیمیایی و با استفاده از چیتوسان روی GCE ترسیب شدند. دو عدد GCE وارد محلولی شامل چیتوسان، نانوذرات و ChOx شده و با اعمال پتانسیل (۳V-)، H^+ در کاتد احیا و به صورت H_2 خارج می‌شود که نتیجه آن تغییر موضعی شدید pH در مجاورت سطح کاتد است. با افزایش pH از ۶/۳، چیتوسان نامحلول شده و هیدروژل چیتوسان، نانوذرات و آنزیم را به هم ملحق و در سطح کاتد ترسیب می‌نماید. طبق بررسی‌ها، نانوذرات MnO_2 آمورف فعالیت کاتالیزوری بالاتری دارند، اما زمان پاسخ الکترود تهیه شده با آن زیاد است (۵ دقیقه در مقابل ۲۵ و ۸ ثانیه به ترتیب برای نانوذرات آلفا و بتا). این نشان می‌دهد که ساختارهای کریستاله سریع‌تر توسط H_2O_2 احیا می‌شوند. درون محلول بافر، الکترود اصلاح شده با α-MnO_2 نسبت به نانوذرات آمورف پیک‌های اکسایش منگنز (معادلات ٤ و ٥) را واضح‌تر نشان می‌دهد. به طور کلی الکترودهای تهیه شده با نانوذرات آلفا و بتا پاسخ سریع‌تری دارند و β-MnO_2 برای ساخت حسگر زیستی مناسب‌تر است (۲۸).

در بررسی دیگری، سنتز و تثبیت نانوذرات MnO_2 در سطح GCE به صورت یک مرحله‌ای (به روش الکتروشیمیایی و درون محلولی از پرمنگنات پتاسیم) انجام شده است. محلول ChOx به روش پوشش‌دهی قطره‌ای (drop coating) بر روی سطح الکترود قرار گرفته و سپس با نافیون پوشانده می‌شود، تا فیلم نانوذرات/ آنزیم را در سطح نگه دارد. بررسی‌های ولتامتری چرخه‌ای GCE خام و GCE/ChOx/nafion در حضور و در غیاب کولین هیچ پیک ردوکسی نشان نمی‌دهد. اما GCE/MnO_2/ChOx/nafion در غیاب کولین، یک جفت

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

پیک ردوکس (واکنش ردوکس MnO_2) نشان می‌دهد. در حضور کولین جریان پیک اکسایش افزایش قابل‌توجهی دارد که آن‌را به واکنش کاتالیزوری همزمان ربط می‌دهند. کولین توسط H_2O_2 اکسید می‌شود که می‌تواند MnO_2 را احیاء نماید (معادله ٤)، اکسایش مجدد MnO_2 نیز می‌تواند در سطح الکترود رخ دهد (معادله ٥).

$$MnO_2 + H_2O_2 \rightarrow MnO\ (or\ Mn_2O_3) + O_2 + H_2O \quad (4)$$

$$MnO\ (or\ Mn_2O_3) \rightarrow MnO_2 + 2e^- \quad (5)$$

با تثبیت NPs، مقاومت انتقال بار الکترود خام افزایش یافته (۲۰۰ به ۱۲۰۰ اهم) که ناشی از محدودیت ایجاد شده در برابر انتقال الکترون است. این افزایش با اضافه شدن لایه‌های آنزیم و نافیون نیز مشاهده می‌شود (٤٤٠٠ اهم). اما لایه آنزیمی، اتصال خوبی بین NPs و نافیون ایجاد می‌کند که به ماهیت آبگریز و نیز وجود گروه‌های آمینو اسیدی آن برمی‌گردد (٦).

نانوذرات ZnO، خصوصیاتی مانند غیر سمی بودن، سازگاری زیستی، خواص کاتالیزوری و نسبت سطح به حجم بالا دارند. علاوه بر این، نقطه ایزوالکتریک ZnO حدود ۹/۵ است که به تثبیت آنزیم‌های با نقطه ایزوالکتریک پایین (مثل ChOx با نقطه ایزوالکتریک ٤/١) کمک می‌کند. در پژوهشی این NPs به روش هیدروترمال سنتز و سطح GCE توسط محلولی شامل نانوذرات، چیتوسان و ChOx پوشانده شده است. اضافه شدن لایه NPs به سطح، افزایش شار جریان اکسایش را به همراه دارد و اصلاح همزمان با NPs و آنزیم بیشترین افزایش جریان پیک اکسایش را نشان می‌دهد که ناشی از توانایی NPs در بهبود انتقال الکترون است. در ضمن ارتقاء پوشش سطح برای الکترود GCE/ZnO/ChOx می‌تواند یک عامل کلیدی برای افزایش جریان پیک باشد (۳).

به دلیل هدایت الکتریکی و خاصیت الکتروکاتالیزوری بالا، توانایی جذب سطحی قوی، سرعت‌های انتقال الکترون سریع و سازگاری زیستی فوق العاده، از CNTs به عنوان واسطه میان الکترود و جزء تشخیص زیستی (آنزیم) استفاده می‌شود. ساختار توخالی و مساحت سطح بالا، امکان بارگیری مقادیر زیاد آنزیم در یک لایه نازک را فراهم می‌آورد که خود گستره خطی وسیع‌تری را ممکن می‌سازد. گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار در سطح CNTs، در محیط آبی بار منفی دارند و می‌توانند با پلی الکترولیت‌های با بار مثبت و یا مولکول‌های زیستی برهمکنش نمایند و به تثبیت آن‌ها در سطح CNTs کمک نمایند. برای تثبیت CNTs در حسگرهای زیستی از روش‌های متفاوتی مانند پراکندگی و تثبیت توسط اسیدهای اکسنده، عامل‌دار کردن سطح و الحاق درون یک کامپوزیت استفاده شده است. برای تثبیت آنزیم در الکترود اصلاح شده با CNTs هم دو روش اصلی جذب فیزیکی و اتصال عرضی شیمیایی وجود دارد (۱۷, ۲۹).

در پژوهشی، GCE توسط کامپوزیتی شامل نانولوله‌های کربنی چند دیواره (MWCNTs) و نانوذرات ZrO_2 (غیر سمی و با سازگاری زیستی بالا) اصلاح شده و ChOx و AcChE به طور همزمان در سطح آن تثبیت شده‌اند. با قرار گرفتن GCE داخل سوسپانسیون CNTs/NPs و اعمال پتانسیل ثابت (V ۱/۱-)، فیلم نانوذرات در سطح الکترود تشکیل می‌شود. در ادامه مخلوطی از AcChE (۲mg/mL) و ChOx (۱۰ mg/mL) به روش پوشش‌دهی قطره‌ای روی سطح الکترود قرار می‌گیرد. با تثبیت CNTs/NPs، مقاومت انتقال بار الکترود به شدت کاهش یافته، اما پس از تثبیت آنزیم مجددا افزایش می‌یابد که اثباتی بر تثبیت موفق آنزیم است. الکترود اصلاح نشده درون محلول آنالیت، هیچ پیکی نشان نمی‌دهد، اما در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

ولتاموگرام الکترود اصلاح شده با CNTs و NPs پیک اکسایشی دیده می‌شود که جریان آن در الکترود اصلاح شده با آنزیم خیلی بیشتر است. با استفاده از این حسگر، سطح کولین در سرم خون افراد سالم و مبتلایان به آلزایمر به ترتیب ۱۲/۸–۹/۰ و ۰/٤–۵/۸ $\mu mol\ L^{-1}$ اندازه‌گیری شده است (۱۹).

حسگرهای نسل سوم (مبتنی بر الکتروشیمی مستقیم میان مراکز ردوکس آنزیم و سطح الکترود) اغلب انتخاب‌پذیری بهتری دارند و چون در گستره پتانسیلی نزدیک به پتانسیل ردوکس خود آنزیم عمل می‌کنند، در معرض واکنش‌های مداخله کننده کمتری قرار می‌گیرند (۳۰). به این منظور به یک ماتریکس میزبان نیاز است تا علاوه بر سازگاری زیستی، بتواند انتقال الکترون را بهبود بخشیده و محیطی فراهم آورد که فعالیت آنزیم در آن حفظ شود. مایعات یونی (ILs) الکترولیت‌هایی ویژه با سازگاری زیستی خوب هستند و تلفیق آن‌ها با CNTs می‌تواند قابلیت‌های هر دو آن‌ها را در کنار هم قرار دهد. سجادی و همکارانش برای اصلاح GCE از کامپوزیت CNTs-ILs استفاده کردند. نانولوله‌های کربنی آمین‌دار به روش پوشش‌دهی قطره‌ای در سطح الکترود قرار گرفته‌اند. این الکترود ابتدا درون محلول مایع یونی (۱–بوتیل–۳–متیل ایمیدازولیوم تترافلئوروبورات) و سپس محلول ChOx قرار داده می‌شود. بر اساس نتایج، الکترود آنزیمی در غیاب IL بسیار ناپایدار است، اما وجود مایع یونی با ایفای نقش محافظی، افزایش پایداری را به همراه دارد که می‌تواند به علت ظرفیت آن برای تشکیل پیوند هیدروژنی و حفظ ساختار آنزیم به دام افتاده در شبکه‌ای از پیوندهای هیدروژنی باشد. پایداری بالاتر ChOx می‌تواند به دلیل برهمکنش‌های مایع یونی با CNTsهای آمین‌دار و آنزیم باشد. حلقه ایمیدازولیوم در مایع یونی از طریق برهمکنش‌های π-π، الکترواستاتیک و آبگریز با CNTs برهمکنش دارد و به همین دلایل مایع یونی نقش مهمی در تثبیت موثر آنزیم و حفظ ساختار آن دارد (۳۰).

اخیرا در توسعه حسگرهای زیستی، پلیمرهای هادی (CPs) هم مورد توجه قرار گرفته‌اند. آن‌ها برای تثبیت مولکول زیستی و نیز انتقال الکترون سریع، فوق‌العاده هستند. اسکلتی از الکترون‌های π مسئول خواص غیرعادی آن‌ها (هدایت الکتریکی بالا، انتقالات نوری کم انرژی، پتانسیل ردوکس پایین و میل ترکیبی بالا برای الکترون) است. روش سنتز الکتروشیمیایی آن‌ها بیشتر مورد استفاده بوده، زیرا ساده‌تر و تکرارپذیرتر است، در دمای محیط انجام می‌شود و با کنترل جریان، پتانسیل و یا زمان به راحتی می‌توان ضخامت لایه پلیمری را کنترل کرد (۳۱).

در پژوهشی ابتدا سطح GCE با سوسپانسیون MWCNTs اصلاح شده است. افزایش غلظت CNTs حساسیت را کمی بهتر می‌کند، اما پایداری مکانیکی فیلم CNTs خوب نیست. با قرار گرفتن الکترود درون محلول آنیلین و اسکن پتانسیل (از ۰/۲– تا ۱ V+، سرعت روبش پتانسیل ۲۰mV/s)، لایه‌ای از پلی‌آنیلین (PA) سطح الکترود را پوشش می‌دهد. تثبیت ChOx از طریق اتصال عرضی آنزیم با آلبومین سرم گاوی توسط گلوترآلدهید انجام شده است. عملکرد عمده لایه PA شامل: توانایی عالی برای مقابله در برابر تداخل‌ها، پایداری CNTs تثبیت شده و توانایی هدایت بالا است. در سرعت پلیمریزاسیون خیلی کم، یک فیلم فشرده و صاف تشکیل می‌شود اما ضخامت‌های بالا از PA حساسیت را کم و زمان پاسخ را افزایش می‌دهد. فیلم ضخیم‌تر، جلوی مزاحمت‌ها را

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

خواهد گرفت، اما به طور همزمان می‌تواند جلوی آنالیت‌ها را هم گرفته و زمان‌های پاسخ را طولانی نماید. به همین دلیل از سرعت‌های اسکن کم و محلول‌های رقیق آنیلین استفاده شده است. تعداد سیکل‌های پلیمریزاسیون نیز از پارامترهای مهم دیگر است و بهترین حساسیت تا ٦ سیکل و در الکترود اصلاح شده با ٥ لایه CNT/PA دیده شده است (٣٢).

در مطالعه دیگری، رفتار GCEs اصلاح شده با ChOx و ChOx-HRP مقایسه شده است. برای الکترود دوم ابتدا HRP و بعد ChOx تثبیت می‌شوند. به این منظور ابتدا لایه‌ای از پلیمر هادی (ترشیوفن کربوکسیلیک اسید) به روش الکتروپلیمریزاسیون در سطح GCE ایجاد و آنزیم‌ها با تشکیل اتصالات کووالانسی روی سطح تثبیت شده‌اند. این پلیمر در سطح خود گروه‌های کربوکسیلیک اسید آزاد دارد که توسط یک دی‌ایمید فعال می‌شوند و با قرار گرفتن درون محلول ChOx و تشکیل اتصالات کووالانسی میان گروه‌های کربوکسیلیک پلیمر و گروه‌های آمین آنزیم، آنزیم به سطح متصل می‌شود. در مقایسه با روش‌های گیراندازی فیزیکی و یا ترسیب الکتروشیمیایی آنزیم روی CP، این روش دسترسی بهتر سوبسترا به آنزیم را فراهم و برهمکنش‌های مولکولی را تسهیل می‌نماید. در الکترود GCE/CP/ChOx اندازه‌گیری کولین بر مبنای فرآیند اکسایش H_2O_2 در ٠/٦V و در الکترود GCE/CP/ChOx-HRP بر مبنای احیاء آن در پتانسیل V ٠/٢- صورت گرفته و الکترود دوم پایداری بهتر، حد تشخیص بالاتر و گستره خطی وسیع‌تری نشان داده است (٣٣).

در مطالعه دیگری، برای اصلاح سطح الکترود گرافیتی از MWCNTs و نانوذرات ZnO استفاده شده است. این NPs (با بار مثبت) محیط مناسبی برای جذب ChOx و AcChE با بار منفی فراهم می‌نمایند. سوسپانسیون CNTs در اتیل سلولز و آلفا-ترپینول به روش صفحه چاپی روی الکترود گرافیت پیرولیتی (pyrolytic graphite: PG) چاپ می‌شود. نانوذرات نیز از طریق لایه نشانی از فاز بخار تشکیل شده‌اند. اصلاح الکترود با CNTs/NPs، بهبود سینتیک انتقال بار میان محلول و سطح الکترود و کاهش مقاومت انتقال بار را به همراه دارد. سطح الکترود با محلول آنزیم (ChOx و AcChE در بافر فسفات) نیز اصلاح شده و برای بهبود یکنواختی آنزیم، عمل لایه نشانی به صورت مرحله‌ای تکرار می‌شود. در انتها سطح با پلی‌دی‌متیل‌دی‌آلیل آمونیوم کلراید (PDDA) به عنوان یک پلی‌الکترولیت پوشانده می‌شود تا مانع از رهایش آنزیم شود (٣٤). از PDDA به عنوان یک پلیمر یونی با بار مثبت که چسبندگی خوب و توانایی تشکیل فیلم دارد، استفاده می‌شود. این ترکیب کاندیدای مناسبی برای تثبیت آنزیم‌ها است و اغلب از آن برای اصلاح سطح سوبستراها و کلوئیدها به کمک جاذبه‌های الکترواستاتیک استفاده شده، ضمن این‌که می‌تواند به عنوان یک عامل پراکنده کننده CNTs یا تثبیت کننده کلوئیدها هم بکار رود (٣٥).

نانوذرات طلا، سازگاری زیستی خوبی دارند و آنزیم تثبیت شده روی آن‌ها فعالیت خود را حفظ می‌نماید. با توجه به هدایت الکتریک فوق العاده طلا، تماس الکترونی مستقیم میان مکان‌های فعال و سطح الکترود نیز قابل دستیابی است. چهار روش پایه شامل جذب فیزیکی، جذب شیمیایی، تک لایه‌های خود تجمع یافته (Self-assembling monolayers) و اصلاح همزمان با ماتریکس الکترود برای تثبیت آنزیم‌ها روی GNPs وجود دارد (١٧).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

میکروالکترودهای آنزیمی برای تشخیص آنالیت‌های الکتروفعال در محل بافت زنده (in-vivo)، توسعه یافته‌اند. برای بهبود انتخاب‌پذیری، آرایه‌های میکروالکترودی معرفی شده‌اند که متشکل از الکترودهای مجزا با ویژگی‌های سطحی متفاوت برای تشخیص گونه‌های مزاحم هستند. اندازه کوچک الکترودهای فیبر کربنی (CFEs) یا سیم‌های پلاتینی، (قطر ۳۰μm–۵)، اجازه تفکیک مکانی در مقیاس میکرومتری می‌دهد و چون تشخیص مستقیما در سطح الکترود انجام می‌شود، غلظت میان سلولی آنالیت‌ها را می‌توان در کسری از ثانیه تعیین نمود. در پژوهشی، GNPs از طریق ترسیب الکتروشیمیایی (احیاء Au^{3+} به Au^0 با اعمال پتانسیل ثابت ۰/٦ V–) بر روی CFE تثبیت شده‌اند. با این کار سطحی فرهم می‌شود که برای تثبیت آنزیم به خوبی در دسترس است. ضمن این‌که GNPs سطح کربنی آزاد را پوشش داده و اجازه تشخیص چند آنالیت را نمی‌دهند. برای اطمینان از جذب حداقل مقدار آنزیم، الکترود درون محلول رقیق آنزیم با نسبت AcChE (1):ChOx (10) قرار می‌گیرد. وجود یک تک لایه از آنزیم سبب می‌شود تا قابلیت دستیابی به مکان‌های فعال آنزیم فراهم شود، سرعت نفوذ محصول آنزیمی به سطح الکترود زیاد شده و شانس ممانعت‌های فضایی برای فعالیت آنزیم کم شود. الکترود CFE خام در محلول H_2O_2 پاسخی نشان نداده اما در الکترود اصلاح شده با GNPs یک جریان احیاء دیده می‌شود که ثابت می‌کند در این پتانسیل، H_2O_2 توسط NPs و نه سطح کربنی تشخیص داده می‌شود (۳٦).

جدول ۱- مقایسه ویژگی های الکترودهای کربنی اصلاح شده با نانوذرات

الکترود	ماتریس اصلاح سطح	گستره غلظتی (μM)	حد تشخیص (μM)	پتانسیل (V)	زمان پاسخ (s)	پایداری (روز)	%RSD	نمونه	مرجع
GCE	MnO_2/ChOx/ nafion	8-1000	5	0.7	40	30	2.7	شیر	(٦)
GCE	ZrO_2/CNTs/ChOx+AcChE	0.05-200	0.01	0.15	4	60	1.35	سرم انسانی	(۱۹)
GCE	ZnO/Chitosan/ChOx	300-5100	82.5	-0.6	4	11	4.4	سلول	(۳)
GCE	α-MnO_2/Chitosan/ChOx	2-580	1	0.6	25	42	4.3	-	(۲۸)
GCE	β-MnO_2/Chitosan/ChOx	1-790	3	0.6	8	42	3.5	-	(۲۸)
GCE	CNTs/ILs/ChOx	6.9-670	2.7	-0.35	6	60	2.4	-	(۳۰)
CPE	NiO/Nafion	26-6980	25.4	0.48	-	28	3.19	-	(۲)
PG	ZnO/CNTs/ChOx/PDDA	1-800	0.3	0.6	13	90	2.36	خون	(۳٤)
PG	ZnO/CNTs/AcChE/PDDA	1-1000	0.3	0.6	13	90	2.36	خون	(۳٤)
CFE	GNPs/AcChE, ChOx	10-4000	10	-0.3	40 ms	10	7	سلول	(۳٦)
GCE	CNTs/PA/ChOx	1-2000	0.3	0.4	3	30	3.6	_	(۳۲)
GCE	CP/ChOx	1-50	0.4	0.6	5	40	3.4	_	(۳۳)
GCE	CP/ChOx-HRP	1-80	0.1	-0.2	5	90	3.1	_	(۳۳)

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

نتیجه گیری

کولین توسط موسسات پزشکی به عنوان یک ماده مغذی ضروری به رسمیت شناخته شده و نقش پیچیده‌ای در بدن دارد. علاوه بر این اندازه‌گیری و نظارت بر نشانگرهای زیستی ویژه بیماری‌ها وظایفی مهم برای پیش‌بینی، توسعه ابزارهای تشخیصی، راهبردهای درمانی و ارزیابی پتانسیل‌های درمانی داروهای جدید هستند. شروع اختلالات غیرطبیعی، اغلب خیلی ظریف و نامحسوس و تغییر در غلظت نشانگرهای زیستی خیلی اندک است و روش‌های تجزیه‌ای جدید و حساس با انتخاب‌پذیری بالا، برای تشخیص وجود مشکلات بالینی ضروری هستند. در میان شیوه‌های مختلف برای اندازه‌گیری Cho و AcCh، روش‌های زیستی سهولت، حساسیت، سرعت و انتخاب پذیری بهتری دارند و حسگرهای زیستی آمپرومتری مبتنی بر آنزیم، توجه زیادی را برای اندازه‌گیری‌های کمّی به خود جلب کرده‌اند. استفاده از الکترودها به عنوان مبدل سیگنال در حسگرهای زیستی به دلیل حساسیت بالا و سادگی عملکرد روشی محبوب است. همچنین تشخیص الکتروشیمیایی انتخاب پذیری مضاعفی فراهم می‌نماید، زیرا گونه‌های الکتروفعال متفاوت در پتانسیل‌های متفاوت نیز اکسید یا احیا می‌شوند. روش‌های شناسایی الکتروشیمیایی همچنین سازگار با تکنیک‌های نوین مینیاتوری سازی هستند که به حداقل انرژی نیاز داشته و مستقل از رنگ و کدورت نمونه می‌باشند. بیشتر حسگرهای آنزیمی، نیازی به دستگاه‌های خیلی گران قیمت ندارند و به نسبت ارزان هستند. استفاده از نانومواد برای طراحی حسگرهای زیستی، روشی جدید و هیجان‌انگیز برای بهبود قابلیت سیستم‌های تشخیصی است. چشم انداز بسیار امیدوار کننده استفاده از نانومواد، ناشی از خصوصیات منحصربفرد آن‌ها است. در حالی که جذب مستقیم آنزیم‌ها روی سطوح توده‌ای فلزات معمولا سبب دناتوره شدن و کاهش فعالیت آن‌ها می‌شود. تثبیت روی نانوذرات می‌تواند پایداری را افزایش و فعالیت زیستی آن‌ها را حفظ نماید. مساحت سطح بالای نانوذرات، امکان تثبیت مقدار بیشتر آنزیم را نیز می‌دهد. نانوذرات فلزی، هدایت الکتریکی و خصوصیات کاتالیزوری فوق‌العاده‌ای دارند و برای بهبود انتقال الکترون میان مراکز ردوکس در پروتئین‌ها و سطوح الکترودی و نیز به عنوان کاتالیزور برای افزایش واکنش‌های الکتروشیمیایی مناسب هستند. از نانوذرات اکسیدی معمولا به دلیل سازگاری زیستی خوب آن‌ها استفاده می‌شود. در حالی که نانوذرات نیم‌رسانا اغلب به عنوان ردیاب در آنالیزهای الکتروشیمیایی استفاده می‌شوند. نانولوله‌های کربنی هم می‌توانند واکنش‌پذیری الکتریکی مولکول‌های زیستی و واکنش‌های انتقال الکترون در پروتئین‌ها را بهبود بخشند. استفاده از نانوذرات کربنی در غالب موارد پتانسیل عملکرد حسگر را کاهش می‌دهد که به مزاحمت کمتر در اندازه‌گیری منجر می‌شود. ویژگی حسگرهای اشاره شده در این مقاله در جدل (۱) مقایسه شده است.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

References

1.Chen, Z., Ren, X., Meng, X., Chen, D., Yan, C., Ren, J., Yuan, Y. and Tang, F., 2011. Optical detection of choline and acetylcholine based on H2O2-sensitive quantum dots. Biosensors and Bioelectronics, 28(1), pp.50-55.

2.Sattarahmady, N., Heli, H. and Vais, R.D., 2014. A flower-like nickel oxide nanostructure: Synthesis and application for choline sensing. Talanta, 119, pp.207-213.

3.Thiagarajan, V., Madhurantakam, S., Sethuraman, S., Rayappan, J. B. B., & Krishnan, U. M. (2016). Nano interfaced biosensor for detection of choline in triple negative breast cancer cells. Journal of colloid and interface science, 462, 334-340.

4.Barkhimer, T. V., Kirchhoff, J. R., Hudson, R. A., Messer Jr, W. S., & Tillekeratne, L. V. (2008). Electrochemical detection of acetylcholine and choline: application to the quantitative nonradiochemical evaluation of choline transport. Analytical and bioanalytical chemistry, 392(4), 651.

5.Pal, S., Sharma, M. K., Danielsson, B., Willander, M., Chatterjee, R., & Bhand, S. (2014). A miniaturized nanobiosensor for choline analysis. Biosensors and Bioelectronics, 54, 558-564.

6.Yu, G., Zhao, Q., Wu, W., Wei, X. and Lu, Q., 2016. A facile and practical biosensor for choline based on manganese dioxide nanoparticles synthesized in-situ at the surface of electrode by one-step electrodeposition. Talanta, 146, pp.707-713.

7.Richard, C., Lewis, E.D., Zhao, Y.Y., Asomaning, J., Jacobs, R.L., Field, C.J. and Curtis, J.M., 2016. Measurement of the total choline content in 48 commercial dairy products or dairy alternatives. Journal of Food Composition and Analysis, 45, pp.1-8.

8.Zeisel, S. H., & Da Costa, K. A. (2009). Choline: an essential nutrient for public health. Nutrition reviews, 67(11), 615-623.

9.Zeisel, S.H., Mar, M.H., Howe, J.C. and Holden, J.M., 2003. Erratum: Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods (Journal of Nutrition (2003) 133 (1302-1307)). Journal of Nutrition, 133(9), pp.2918-2919.

10.Dai, H., Chi, Y., Wu, X., Wang, Y., Wei, M. and Chen, G., 2010. Biocompatible electrochemiluminescent biosensor for choline based on enzyme/titanate nanotubes/chitosan composite modified electrode. Biosensors and Bioelectronics, 25(6), pp.1414-1419.

11.Dai, H., Wu, X., Xu, H., Wei, M., Wang, Y. and Chen, G., 2009. Fabrication of a new ECL biosensor for choline by encapsulating choline oxidase into titanate nanotubes and Nafion composite film. Electrochemistry Communications, 11(8), pp.1599-1602.

12.Mazzetti, S., Bracco, C., Regge, D., Caivano, R., Russo, F., & Stasi, M. (2013). Choline-containing compounds quantification by 1H NMR spectroscopy using external reference and noise measurements. Physica Medica, 29(6), 677-683.

13.Zeisel, S. H., & DaCosta, K. A. (1990). Choline: determination using gas chromatography/mass spectrometry. Journal of Nutritional Biochemistry, 1(1), 55-59.

14.Xiong, Y., Zhao, Y.Y., Goruk, S., Oilund, K., Field, C.J., Jacobs, R.L. and Curtis, J.M., 2012. Validation of an LC–MS/MS method for the quantification of choline-related compounds and phospholipids in foods and tissues. Journal of Chromatography B, 911, pp.170-179.

15.Kirsch, S.H., Herrmann, W., Rabagny, Y. and Obeid, R., 2010. Quantification of acetylcholine, choline, betaine, and dimethylglycine in human plasma and urine using stable-isotope dilution ultra performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Journal of chromatography B, 878(32), pp.3338-3344.

16.Khan, A., Khan, A.A.P., Asiri, A.M., Rub, M.A., Azum, N., Rahman, M.M., Khan, S.B. and Ab Ghani, S., 2013. A new trend on biosensor for neurotransmitter choline/acetylcholine—an overview. Applied

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

biochemistry and biotechnology, 169(6), pp.1927-1939.

17.Putzbach, W. and Ronkainen, N., 2013. Immobilization techniques in the fabrication of nanomaterial-based electrochemical biosensors: A review. Sensors, 13(4), pp.4811-4840.

18.Wilson, G.S. and Gifford, R., 2005. Biosensors for real-time in vivo measurements. Biosensors and Bioelectronics, 20(12), pp.2388-2403.

19.Pundir, S., Chauhan, N., Narang, J. and Pundir, C.S., 2012. Amperometric choline biosensor based on multiwalled carbon nanotubes/zirconium oxide nanoparticles electrodeposited on glassy carbon electrode. Analytical biochemistry, 427(1), pp.26-32.

20.Shimomura, T., Itoh, T., Sumiya, T., Mizukami, F. and Ono, M., 2009. Amperometric determination of choline with enzyme immobilized in a hybrid mesoporous membrane. Talanta, 78(1), pp.217-220.

21.Ding, S., Shan, D. and Sun, Y., 2009. Bioelectrochemical response of a choline biosensor fabricated by using polyaniline. Science in China Series B: Chemistry, 52(12), p.2275.

22.Luo X, Morrin A, Killard AJ, Smyth MR. 2006. Application of Nanoparticles in Electrochemical Sensors and Biosensors. Electroanalysis.;18(4):319-26.

23.Chen, P. and McCreery, R.L., 1996. Control of electron transfer kinetics at glassy carbon electrodes by specific surface modification. Analytical Chemistry, 68(22), pp.3958-3965.

24.Nossol, E., & Zarbin, A. J. (2008). Carbon paste electrodes made from novel carbonaceous materials: Preparation and electrochemical characterization. Electrochimica Acta, 54(2), 582-589.

25.Sassolas, A., Blum, L.J. and Leca-Bouvier, B.D., 2012. Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors. Biotechnology advances, 30(3), pp.489-511.

26.Kalcher, K. (1990). Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis. Electroanalysis, 2(6), 419-433.

27.Dekanski, A., Stevanović, J., Stevanović, R., Nikolić, B.Ž. and Jovanović, V.M., 2001. Glassy carbon electrodes: I. Characterization and electrochemical activation. Carbon, 39(8), pp.1195-1205.

28.Bai, Y.H., Zhang, H., Xu, J.J. and Chen, H.Y., 2008. Relationship between nanostructure and electrochemical/biosensing properties of MnO2 nanomaterials for H2O2/choline. The Journal of Physical Chemistry C, 112(48), pp.18984-18990.

29.Qin, X., Wang, H., Wang, X., Li, S., Miao, Z., Huang, N. and Chen, Q., 2009. Amperometric choline biosensors based on multi-wall carbon nanotubes and layer-by-layer assembly of multilayer films composed of Poly (diallyldimethylammonium chloride) and choline oxidase. Materials Science and Engineering: C, 29(4), pp.1453-1457.

30.Sajjadi, S., Ghourchian, H., Rafiee-Pour, H.A. and Rahimi, P., 2012. Accelerating the electron transfer of choline oxidase using ionic-liquid/NH2-MWCNTs nano-composite. Journal of the Iranian Chemical Society, 9(2), pp.111-119.

31.Gerard, M., Chaubey, A. and Malhotra, B.D., 2002. Application of conducting polymers to biosensors. Biosensors and bioelectronics, 17(5), pp.345-359.

32.Qu, F., Yang, M., Jiang, J., Shen, G. and Yu, R., 2005. Amperometric biosensor for choline based on layer-by-layer assembled functionalized carbon nanotube and polyaniline multilayer film. Analytical biochemistry, 344(1), pp.108-114.

33.Rahman, M.A., Park, D.S. and Shim, Y.B., 2004. A performance comparison of choline biosensors: anodic or cathodic detections of H2O2 generated by enzyme immobilized on a conducting polymer. Biosensors and Bioelectronics, 19(12), pp.1565-1571.

34.Zhang, L., Chen, J., Wang, Y., Yu, L., Wang, J., Peng, H. and Zhu, J., 2014. Improved enzyme immobilization for enhanced bioelectrocatalytic activity of choline sensor and acetylcholine sensor. Sensors

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]

and Actuators B: Chemical, 193, pp.904-910.

35.Qin, X., Wang, H., Wang, X., Miao, Z., Chen, L., Zhao, W., Shan, M. and Chen, Q., 2010. Amperometric biosensors based on gold nanoparticles-decorated multiwalled carbon nanotubes-poly (diallyldimethylammonium chloride) biocomposite for the determination of choline. Sensors and Actuators B: Chemical, 147(2), pp.593-598.

36.Keighron, J.D., Wigström, J., Kurczy, M.E., Bergman, J., Wang, Y. and Cans, A.S., 2015. Amperometric detection of single vesicle acetylcholine release events from an artificial cell. ACS chemical neuroscience, 6(1), pp.181-188.

Enzymatically modified nanoparticle sensors for measuring choline and acetylcholine in food and biota (Part I: Carbon electrodes)

Moslem jahani*, alireza jahani
Assistant Professor, Science and Technology Research Center of Mashhad, Mashhad, Iran
Graduate Student, Islamic Azad University, Yazd, Yazd, Iran

m.jahani@rifst.ac.ir

Abstract

Choline, a vitamin-like compound, is an essential nutrient and plays vital roles in important metabolic pathways. It is important for brain development especially in cellular growth that occurs during fetal development. It also participates in acetylcholine synthesis and its abnormal amount is a sign of disease conditions. Nowadays choline and acetylcholine are added to certain foods and therefore their quantitative determination is very important in food industries and clinical analysis. Chromatographic methods are usually used but tedious sample preparation, long separation time, use of high sample and mobile phase volumes and an experienced operator, limited their applications. In this regard, application of bio-sensors as a green method with the benefits of high sensitivity and convenient application have been noted. The hydrogen proxide as the product of enzymatic reaction is measured with optical or electrochemical methods. In this review, published researches (from 2000 to present) in the field of application of nano-particles in the design of this biosensors and determination of choline and acetylcholine has been reviewed. Application of nano-materials cause more enzyme immobilization with better stability and bioactivity, improve the electron transfer and decrease the resistance, and as a result enhancement in the figure of merits of the method.

Keywords: nanoparticles; enzyme sensor, choline, acetylcholine, electrochemical methods

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1395.9.2.6.0]