مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶

اصلاح الکترودهای فلزی و توسعه حسگرهای زیستی آنزیمی برای اندازه‌گیری کولین و استیل کولین در نمونه‌های غذایی و زیستی

مسلم جهانی*، علیرضا جهانی
***استادیار پژوهشکده علوم و صنایع غذایی مشهد، مشهد، ایران**
دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

moslemjahani@yahoo.com

چکیده

کولین یک ترکیب شبه- ویتامینی است که می‌تواند متابولیسم چربی در کبد و کلیه‌ها را ارتقاء داده و التهابات مزمن را کاهش دهد. در سنتز استیل‌کولین و فسفولیپیدها شرکت دارد و برای یکپارچگی غشاء سلولی نیز موثر است. مقدار کافی آن در دوران جنینی ضروری است و رابطه میان غلظت کولین و علائم بیماری‌هایی مانند سرطان سینه و پروستات تایید شده است. معمولا تامین آن از طریق زنجیره غذایی ضروری است و امروزه کولین به مواد غذایی مختلف اضافه می‌شود و به‌همین دلیل، اندازه‌گیری آن در آنالیزهای بالینی و صنایع غذایی اهمیت دارد. در سال‌های اخیر به حسگرهای آنزیمی به‌عنوان ابزارهایی قابل حمل، ارزان و با حساسیت و انتخاب پذیری بالا به‌عنوان جایگزین روش‌های کروماتوگرافی توجه شده است. در این مقاله مروری، مطالعات صورت گرفته (از سال ۲۰۰۰ میلادی) در زمینه اصلاح الکترودهای فلزی و اندازه‌گیری کولین و استیل کولین در نمونه‌های غذایی و زیستی بررسی شده است. اصلاح الکترودها، تثبیت بیشتر و پایداری بالاتر آنزیم همراه با حفظ فعالیت زیستی، بهبود انتقال الکترون و کاهش مقاومت و در نتیجه حسگرهایی با ارقام شایستگی بهبود یافته را سبب می‌شود.

کلمات کلیدی: روش‌های الکتروشیمیایی، حسگر آنزیمی، کولین، استیل‌کولین، نمونه‌های غذایی

مقدمه

کولین (Cho: Choline)، نوعی ویتامین B و ماده مغذی مهمی برای انسان است که متابولیت استیل کولین (AcCh: Acetylcholine) (انتقال دهنده عصبی) می‌باشد و در پشتیبانی و نگهداری از سیستم عصبی، عملکردهای متابولیکی و انتقال پیام در شبکه عصبی مرکزی و محیطی نقش حیاتی دارد. کولین پیش‌ساز سنتز فسفاتیدیل کولین (چربی غشاء سلولی) و بتائین نیز هست و برای یکپارچگی غشاء سلولی و متابولیسم لیپیدها ضروری است [۳-۱]. این ترکیب برای سنتز فسفولیپیدها (مخصوصا فسفاتیدیل) و لیپوپروتئین‌ها و نیز متابولیسم گروه متیل ضروری است. واکنش‌های متیله شدن، نقش اساسی در بیوسنتز لیپیدها، تنظیم چندین مسیر متابولیکی مهم و مسمومیت‌زدایی در بدن ایفا می‌نمایند، همچنین برای

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

متیله شدن DNA ضروری می‌باشند. کولین در توسعه مغز در دوران جنینی اهمیت دارد و مشخص شده که در کاهش خطر توسعه نقص‌های کانال عصبی موثر است. در دوران بزرگسالی، عمده سرنوشت آن تبدیل شدن به فسفاتیدیل کولین (فسفولیپید غالب (بیش از ۵۰ درصد) در اغلب غشاءهای پستانداران) است که در تمام سلول‌های هسته‌دار رخ می‌دهد [٦-٤]. مطالعه افراد بالغ با رژیم غذایی محروم از کولین نشان می‌دهد که ۷۷ درصداز مردان و ۸۰ درصداز زنان (پس از سن بارداری)، علائمی همانند کبد چرب و یا تحلیل بافت‌های عضلانی دارند، اما با دریافت مقادیر کافی Cho، این اختلالات تنها در ۱۰ درصد از آن‌ها دیده می شود. انستیتوی پزشکی و انجمن غذا و تغذیه، مقدار کافی جذب کولین را برای زنان و مردان (۱۹ سال به بالا) به ترتیب ٤۲۵ و ۵۵۰mg/day تعیین نموده‌اند. به‌دلیل انتقال Cho از مادر به جنین و کاهش سطح آن در پلاسما، مقدار دریافت کافی برای زنان باردار ٤۵۰ و برای زنان شیرده ۵۵۰mg/day تعیین شده است [٤, ۹-۷]. بر اساس داده‌های موجود، متوسط دریافت کولین در زنان باردار در ایالات متحده ۳۳۸ میلی‌گرم در روز می‌باشد [۱۰]. در بیماران مبتلا به سرطان سینه، سطوح غیرطبیعی و بالا از کولین (٤/۹-۰/٤mmol/kg) و ترکیبات مرتبط با آن یافت می‌شود. کاهش AcCh نیز فرد را مستعد اختلالات عصبی (پارکینسون، آلزایمر و ام اس) می‌نماید [۳-۱]. در سلول‌های سرطان پروستات نیز غلظت بالایی از کولین وجود دارد. همچنین غلظت Cho در خون با افزایش خطر ابتلا به سرطان پروستات ارتباط دارد [۱۱]. تولید درون‌زای کولین به مقادیر کافی از آمینو اسیدهای سرین و متیونین، به‌همراه فولیک اسید و ویتامین‌های B12، B6 نیاز دارد. مصرف خوراکی کولین معمولا در فرم فسفاتیدیل کولین، به جای فرم بازی آزاد آن، صورت می‌گیرد و کولین-کلراید و کولین-بی‌تارترات به انواع محصولات تهیه شده از شیر و نیز فرمولاسیون غذای کودکان افزوده می‌شوند [٦]. لبنیات، به‌ویژه محصولات کم چرب، منابع بسیار خوبی برای تامین کولین هستند به‌طوری که ۱۷۵ گرم ماست و ۵۰ گرم پنیر به‌ترتیب ۲۵/٦ و ۷/۱ میلی‌گرم کولین دارند. همچنین یک وعده ۲۵۰ میلی‌لیتری از شیر گاو، شیر بز و نوشیدنی شیر سویا به‌ترتیب محتوی ۳۲/۹، ۲٤/۹ و ۳۱/۲ میلی‌گرم کولین می‌باشد [۹].

اندازه‌گیری کولین توسط حسگرهای آنزیمی

در حال حاضر Cho و AcCh به‌طور گسترده به مواد غذایی خاص افزوده می‌شوند. علاوه براین اندازه‌گیری این ترکیبات در مایعات زیستی، به‌عنوان روشی برای شناسایی و ردیابی برخی بیماری‌ها نیز شناخته می‌شود. تکنیک‌های کروماتوگرافی [١٤-١٢]، الکترولومینه سانس [۱۵, ١٦] و رزونانس مغناطیسی هسته [۱۷]، عمده روش‌های اندازه‌گیری این دو ترکیب هستند. اما به کاربرد حسگرهای زیستی (Biosensor) نیز توجه ویژه‌ای شده است. شناساگر یا جزء حساس، مبدل و واحد پردازش بخش‌های اصلی یک حسگر هستند [۱۸, ۱۹]. در یک حسگر زیستی جزء حساس، یک ترکیب زیستی (آنزیم، آنتی‌بادی، باکتری، DNA یا RNA) تثبیت شده است که قادر به تشخیص اختصاصی گونه هدف (آنالیت) مباشد. مبدل نیز اثر ایجاد شده از ترکیب جزء حساس زیستی با آنالیت را به سیگنال الکتریکی (ولتاژ یا جریان) و یا

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

نوری تبدیل می‌نماید. مبدل‌های الکتروشیمیایی (از انواع الکترودها)، به‌دلیل قابل اعتماد بودن، قدرت و حساسیت بالا، سادگی در ساخت، قیمت پایین، دقت بالاتر، محدوده خطی وسیع‌تر، عدم وجود نور مداخله‌گر، نیاز به میزان کم آنالیت و قابل حمل بودن، در مقایسه با سایر مبدل‌ها اهمیت بیشتری دارند [۲۰, ۲۱].

حسگرهای الکتروشیمیایی آنزیمی، مبتنی بر تشخیص سیگنال الکتریکی ایجاد شده توسط گونه‌های الکتروفعالی هستند که در یک واکنش آنزیمی تولید و یا مصرف شده‌اند. در یک حسگر آنزیمی، Cho توسط آنزیم کولین اکسیداز (ChOx: Choline oxidase) و در حضور اکسیژن، اکسید شده و پروکسید هیدروژن (H_2O_2) تولید می‌نماید (واکنش۲). پروکسید هیدروژن حاصل، به‌عنوان یک گونه الکتروفعال، در سطح یک الکترود اصلاح شده اکسیده شده (واکنش۳) و جریان عبوری از سیستم اندازه‌گیری می‌شود. محصول هیدرولیز آنزیمی استیل‌کولین توسط استیل‌کولین-استراز (AcChE: Acetylcholinesterase)، نیز کولین است (واکنش۱) و می‌تواند در فرآیندی مشابه به پروکسید هیدروژن اکسید شده و اندازهگیری شود [۲].

$$Acetylcholine + H_2O \xrightarrow{AcChE} Choline + acetate + H^+ \quad (1)$$

$$Choline + 2O_2 + H_2O \xrightarrow{ChOx} Betaine + 2H_2O_2 \quad (2)$$

$$H_2O_2 \xrightarrow{electrode} O_2 + 2H^+ + 2e^- \quad (3)$$

پروکسید هیدروژن به راحتی و در پتانسیل ۰/۵+ ولت نسبت به الکترود مرجع Ag/AgCl (و یا ۰/۷ ولت نسبت به الکترود مرجع کالومل) تشخیص داده می‌شود و جریان حاصل متناسب با غلظت Cho یا AcCh است.

روش‌های تثبیت آنزیم در سطح حسگر

طبیعت ماتریکسی که برای تثبیت آنزیم استفاده می‌شود، تاثیر مهمی بر کارآیی، حساسیت و پایداری حسگرهای زیستی دارد [۲۲, ۲۳] و به این منظور از استراتژی‌های مختلفی استفاده شده است (شکل۱).



شکل۱- روش‌های مختلف تثبیت آنزیم [۲۰, ۲۴]

در روش گیراندازی (Entrapment)، آنزیم درون یک ماتریکس سه بعدی مثل فیلم پلیمریزه شده پلی‌آنیلین (PA: Polyaniline)، شبکه آب‌دوست متشکل از پلی دی‌متیل سیلوکسان(PDMS: Polydimethylsiloxane)

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

یا سیلیکاژل و به صورت فیزیکی تثبیت می‌شود. هیچ گونه اصلاحی روی آنزیم رخ نداده و فعالیت آن حفظ می‌شود. حسگر حاصل پایداری خوبی دارد، اما تراوش جزء زیستی و نیز ایجاد سدهای احتمالی در برابر نفوذ، قابلیت آن را محدود می‌سازد. تثبیت آنزیم‌ها با اتصالات عرضی، روش شناخته شده دیگری است. آنزیم‌ها می‌توانند یا با یکدیگر و یا در حضور یک پروتئین عامل‌دار بی‌اثر (مثل آلبومین سرم گاوی) اتصال عرضی شوند. این روش به‌دلیل سادگی و ایجاد اتصال شیمیایی قوی میان مولکول‌های زیستی، جالب است اما مهمترین ایراد آن احتمال کاهش فعالیت آنزیم می‌باشد [۲۰, ۲۱]. جذب سطحی، مبتنی بر پیوندهای ضعیف مانند نیروهای واندروالس، برهمکنش‌های الکترواستاتیک یا آب‌گریز، ساده‌ترین روش برای تثبیت فیزیکی است. این تکنیک شامل هیچ گونه عامل دار شدن سطح نبوده و کمترین تاثیر را در فعالیت آنزیم دارد اما پیوند ضعیف آنزیم با بستر سبب رهایش آسان آن می‌شود.

تثبیت کووالانسی یک روش شیمیایی است. آنزیم می‌تواند از طریق گروه‌های عاملی خود که برای فعالیت کاتالیزوری ضروری نیستند، به شکل کووالانسی به سطح بستر متصل شود. در این روش پایداری خوبی برای آنزیم ایجاد می‌شود، اما مقدار زیادی از عامل زیستی مورد نیاز است. برای تثبیت جهت‌دار و مکان ویژه آنزیم و جلوگیری از انسداد مکان‌های فعال آنزیم، ایجاد پیوندهایی با میل ترکیبی میان یک بستر فعال شده و یک گروه ویژه (یک برچسب) از توالی پروتئینی (مثل بیوتین یا هیستیدین) پیشنهاد شده است. آنزیم ممکن است در توالی خود برچسب‌های مناسبی برای تثبیت داشته باشد (بخش قندی). اما در مواردی لازم است تا این برچسب از طریق مهندسی ژنتیک به آن اضافه شود [۷، ۲۵، ۲۷]. کپسوله کردن به‌عنوان یک روش تثبیت در محل (In-situ)، آنزیمی را فراهم می‌نماید که محیط اطراف آن کمترین تاثیر را در پایداری و نیز فعالیت آنزیمی دارد. در این فرآیند، گونه حامل بسیار اهمیت دارد و معمولا از نافیون به عنوان یک پلیمر مبادله‌گر یونی استفاده می‌شود [۱۶].

الکترودهای فلزی اصلاح شده برای اندازه‌گیری کولین و استیل کولین

فلزات نجیب همانند پلاتین و طلا، سینتیک انتقال الکترون مناسب و پنجره پتانسیل بزرگی دارند، اما پایین بودن اضافه پتانسیل هیدروژن در آن‌ها دامنه کاتدی را محدود می‌سازد. وجود جریان زمینه در آن‌ها را نیز می‌توان با تمیز یا فعال‌سازی سطح الکترود با اعمال پتانسیل، برطرف نمود [۲۸].

یکی از روش‌های تثبیت آنزیم در سطح الکترودهای فلزی، گیراندازی درون غشاءهای پلیمری به‌عنوان یک روش آرام است. Doretti و همکاران، فیلم پلیمری با تثبیت فیزیکی ChOx و AcChE در غشاء پلی‌وینیل الکل (PVA) ایجاد و از آن برای اصلاح الکترود Pt استفاده نمودند. تثبیت همزمان این دو آنزیم درون ژل PVA موفقیت‌آمیز نیست و به‌همین دلیل از آنزیم ChOx اصلاح شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) به همراه AcChE استفاده شده است. PEG با گروه‌های کربوکسیل انتهایی خود می‌تواند با پروتئین‌ها پیوند کووالانسی برقرار نموده و از تراوش ChOx ممانعت کند. به این‌منظور ChOx اصلاح شده به‌همراه AcChE به محلول بافری PVA افزوده شده و فیلم

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

حاصل از قالب‌ریزی این محلول ویسکوز، بر روی سطح الکترود پلاتینی قرار می‌گیرد. در واقع در این روش یک پلیمر اتصال عرضی شده محتوی یک پلیمر اتصال عرضی نشده دیگر و آب تشکیل می‌شود که نفوذپذیر، آب‌دوست و متخلخل است و به این شکل سعی می‌شود تا از تراوش آنزیم از هیدروژل PVA ممانعت شود [۲۹].

یکی دیگر از روش‌های تثبیت آنزیم در الکترودهای فلزی، استفاده از پلی‌الکترولیت‌ها و روش نشست لایه به لایه است. پلی‌الکترولیت از فاز محلول و با جاذبه‌های الکترواستاتیکی بر روی سطح جامد جذب می‌شود و می‌توان فیلم‌های نازک محتوی آنزیم تهیه کرد. پلی‌اتیلن ایمین (PEI) یک پلی‌الکترولیت کاتیونی با تفکیک و خاصیت بازی ضعیف است و درجه یونش آن به pH بستگی دارد، اما پلی‌دی‌متیل دی‌آلیل آمونیوم کلراید (PDDA) یک پلی‌الکترولیت قوی است و سطح یونش آن مستقل از pH است. از خود ChOx نیز می‌توان به‌عنوان یک ماده پلی‌آنیونی استفاده کرد که در بالاتر از نقطه ایزوالکتریک (حوالی pH=8) یونیزه می‌باشد و به‌همین دلیل برای تثبیت آن از محلول آنزیم در بافر فسفات با pH=8 استفاده می‌شود. Shi و همکاران، الکترود Pt را توسط فیلمی از پلی‌آلیل آمین/پلی‌وینیل سولفات (PAA/PVS) پوشانده و سپس درون محلول پلی‌الکترولیت (PEI و یا PDDA) فرو برده‌اند تا یک لایه کاتیونی در سطح ایجاد شود. در ادامه، الکترود درون محلول ChOx (pH=8.0) قرار گرفته تا آنزیم نیز از طریق برهمکنش‌های الکتریکی جذب شود. عمل ترسیب آنزیم تکرار می‌شود تا تعداد مناسبی از لایه‌های آنزیمی ایجاد شوند. بررسی‌ها نشان می‌دهد همزمان با افزایش تعداد لایه‌های ChOx/PEI تا ۱۰ لایه، و در مورد الکترود ChOx/PDDA تا ۸ لایه، پاسخ جریانی الکترود هم زیاد می‌شود که ناشی از بهبود فعالیت کاتالیزوری فیلم آنزیمی است، اما تفاوت مشاهده شده می‌تواند ناشی از اختلاف نفوذپذیری متاثر از ساختار متفاوت پلی‌کاتیون‌ها باشد. زنجیره‌های PDDA خیلی فشرده‌تر از PEI هستند و فیلمی با نفوذپذیری کمتر ایجاد می‌نمایند. حداکثر پاسخ جریانی الکترود اصلاح شده با فیلم ChOx/PEI دو برابر ChOx/PDDA است که باز هم به‌دلیل نفوذ پذیری بیشتر درون فیلم PEI می‌باشد [۳۰].

پلی‌آنیلین به عنوان یک پلیمر هادی، هدایت الکتریکی بالایی داشته و رفتار ردوکس برگشت‌پذیر خوبی نیز دارد و می‌تواند انتقال الکترون را تقویت نماید [۳۱]. Langer و همکاران، برای اصلاح الکترود طلا از PA نانوساختاری استفاده نمودند تا از یک طرف مولکول‌های آنزیم را در حفرات خود تثبیت نماید و از سوی دیگر واحدهای آنزیم بر مبنای برهمکنش‌های کولومبی میان درشت مولکول‌های PA (بار مثبت) و گروه‌های قطبی در آنزیم به لایه پلیمری متصل شوند. پلی‌آنیلین به‌عنوان یک مبادله‌گر یونی عمل می‌کند و این فرآیند وقتی PA به دفعات در حضور مولکول آنزیم شارژ و دشارژ شود، موثرتر خواهد بود. برای تثبیت آنزیم، یک‌بار از روش ساده دیفیوژن آنزیم از محلول آبی (pH=6.5-7) به لایه فیلم PA استفاده شده است. اما روش دوم یک روش پیشرفته مبتنی بر اکسایش/کاهش چرخه‌ای لایه PA درون محلول آنزیم با اسکن پتانسیل از ۰/۲- تا V ۰/۷+ بوده است. پاسخ الکتریکی حسگر آماده شده به روش دوم، شش مرتبه بزرگ‌تر از ماکزیمم سیگنال

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

حسگر اول بوده و این سیگنال در طول یک هفته بدون تغییر می‌ماند، در حالی‌که در حسگر اول پس از ٤ روز به صفر تقلیل می‌یابد [۳۲].

در پژوهش دیگری ابتدا الکترود Pt درون محلول آنیلین و اسید سولفوریک قرار گرفته و پلیمریزاسیون الکتروشیمیایی در پتانسیل ثابت (۰/۷۵V) انجام شده است. در ادامه، فیلم PA درون محلول اسید و با اعمال پتانسیل (۰/۳V-) احیاء شده و بلافاصله درون محلول بافری ChOx قرار می‌گیرد و با اعمال پتانسیل (۰/۵ V) مجدد اکسید می‌شود و با این کار آنزیم (با بار منفی) درون فیلم پلی‌آنیلین (با بار مثبت) داپه شده است [۳۳].

از انواع مختلفی از نانومواد (NPs: Nano-particles) برای ساخت ابزارهای تشخیصی و نیز بهبود حساسیت حسگرها استفاده شده که بر مبنای خواص منحصربفردشان، نقش‌های متفاوتی نیز ایفا می‌کنند. آن‌ها به‌دلیل مساحت سطح ویژه و نیز انرژی آزاد سطح بالا، توانایی جذب محکم مولکول‌های زیستی با کمترین تاثیر بر فعالیت آن‌ها را دارند. بسیاری از این نانومواد باردار هستند و می‌توانند مولکول‌های زیستی را از طریق برهمکنش‌های الکترواستاتیک جذب کنند، البته تشکیل پیوندهای کووالانسی (مانند نانوذرات طلا (GNPs: Gold nano-particles) و گروه‌های آمین و نیز واحدهای سیستئین در پروتئین‌ها) نیز می‌تواند موثر باشد. ورود نانوذرات فلزی، با خواص کاتالیزوری ویژه، می‌تواند سبب کاهش اضافه ولتاژ و حتی تحقق برگشت‌پذیری برخی از واکنش‌های ردوکس شود. خصوصیات رسانایی NPs (معمولا نانوذرات فلزی مثل نانوذرات Ag، نانوذرات غیر فلزی مثل نانوذرات اکسیدی و نیم رسانا) نیز سبب شده تا به‌عنوان میانجی‌های انتقال بار برای بهبود انتقال الکترون استفاده شوند [۲۲, ۳٤].

همان‌گونه که اشاره شد، اکسایش H_2O_2 در حسگرهای آمپرومتری کولین، معمولا به پتانسیل مثبت نسبتا بالایی (بیش از ۰/٦V+ نسبت به مرجع کالومل) نیاز دارد که منجر به ظهور مزاحمت ناشی از گونه‌های الکتروفعال مختلف می‌شود. استفاده از عوامل اصلاح سطح برای کاهش پتانسیل اکسایش، همانند نانوذرات، می‌تواند جهت کاهش مزاحمت‌ها مفید باشد. در یک بررسی، Song و همکاران، الکترود Pt اصلاح نشده را با الکترود اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی (CNTs: Carbon nanotubes) مقایسه نمودند. سطح Pt ابتدا با قطره‌ای از سوسپانسیون CNTs و سپس با مخلوط سل-ژل/ ChOx (نسبت ۱:۱) پوشانده شده است. وجود CNTs جریان اکسایش H_2O_2 را بهبود داده که ناشی از بهبود فرآیندهای انتقال الکترون است. در ضمن اضافه پتانسیل اکسایش پروکسید هیدروژن از ۰/٦ به ۰/۱٦ ولت کاهش یافته که قطعا به کاهش مزاحمت سایر گونه‌ها منجر می‌شود (استامینوفن و کاتکول در پتانسیل‌های ۰/٦ و ۰/٦۸ ولت اکسید می‌شوند). نتیجه بررسی‌ها نشان می‌دهد برای الکترود Pt/ChOx گونه‌های سرین، اسید اوریک، استامینوفن و اسید آسکوربیک مزاحمت‌های بالقوه‌ای محسوب می‌شوند در حالی‌که الکترود Pt/CNTs/ChOx با مزاحمت‌های کمتری مواجه است [۳۵].

همین گروه در سال ۲۰۰۷ از روشی مشابه برای اصلاح سطح الکترود Pt استفاده نمودند. نتایج نشان

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

می‌دهد فیلم‌های ضخیم‌تر از CNTs زمان‌های پاسخ طولانی‌تر و حساسیت کمتر را به دنبال دارد، زیرا با افزایش ضخامت فیلم CNTs فاصله مراکز فعال آنزیم با سطح الکترود بیشتر و انتقال الکترون کندتر می‌شود. الکترود Pt خام و اصلاح شده، پتانسیل اکسایش H_2O_2 را به‌ترتیب در ۰/٤ و ۰/۱۵ ولت نشان می‌دهند. وجود CNTs نه تنها پاسخ جریانی را بهبود می‌دهد، بلکه پتانسیل الکتروکاتالیزوری را هم کم و به دنبال آن حساسیت را بهبود می‌بخشد. علاوه براین با افزایش مقدار آنزیم بارگیری شده، پاسخ جریانی حسگر هم افزایش می‌یابد، اما در مقادیر خیلی زیاد، مولکول‌های آنزیم با اتصال سست، به راحتی از غشاء رها شده و مانع از تشکیل یک فیلم یکنواخت می‌شوند. به‌همین دلیل مسیرهای نفوذ سوبسترا و محصولات آنزیمی مسدود شده و پاسخ جریانی حسگر نیز کاهش می‌یابد [۳٦].

در سال ۲۰۰۹، Qin و همکاران، CNTs عامل‌دار شده را در سطح الکترود Pt تثبیت نمودند. در ادامه این الکترود به محلول PAA منتقل شده که گروه‌های آمین با بار مثبت دارد و می‌تواند توسط گروه‌های COOH– جذب شوند. سپس، الکترود وارد محلول‌های پلی‌آنیون PVS و نیز PDDA می‌شود تا لایه پلی‌کاتیونی هم آن را بپوشاند و به دنبال آن درون محلول بافری ChOx قرار می‌گیرد. الکترود اصلاح شده با CNTs در مقایسه با Pt، پاسخ‌های جریانی بهتری دارد که به‌طور قطع ناشی از توانایی انتقال الکترونی CNTs است. افزایش تعداد لایه‌های ChOx/PDDA تا ۸ لایه، افزایش پاسخ جریانی و بهبود حساسیت را به‌همراه دارد که ناشی از افزایش مقدار آنزیم تثبیت شده است، اما لایه‌های بیشتر، از سرعت نفوذ گونه‌ها درون فیلم کاسته و جریان را کم می‌کنند [۳۷].

در مطالعه دیگری، همزمان از GNPs (برای بهبود هدایت الکتریکی و سهولت انتقال الکترون) به‌همراه CNTs (جهت بهبود در پاسخ جریانی) و نیز PDDA استفاده شده است. ابتدا گروه‌های کربوکسیل سطح CNTs، با معرف‌های مناسب واکنش داده و گروه‌های استری فعال در سطح ایجاد می‌نماید. با واکنش CNTs عامل‌دار با سیستامین، گروه‌های SH– در سطح CNTs قرار می‌گیرد که مکانی برای اتصال کووالانسی GNPs است. برای اطمینان از بار منفی آنزیم، از محلول ChOx در بالاتر از نقطه ایزوالکتریک (بافر با pH=7.6) استفاده شده و برای تثبیت آنزیم، NPs با محلول آنزیم مخلوط می‌شوند تا متاثر از جاذبه‌های الکترواستاتیکی و آب‌گریز، آنزیم روی آن‌ها جذب شود و سپس درون PDDA پراکنده شده و روی سطح الکترود قرار می‌گیرد. پاسخ جریانی الکترود اصلاح شده با CNTs-GNPs سه برابر الکترود اصلاح شده با GNPs و دو برابر الکترود اصلاح شده با CNTs است که حاکی از اثر اشتراکی آن‌ها برای انتقال الکترون، فعالیت کاتالیزوری و نیز مساحت سطح بالاتر برای اتصال مقدار بیشتر آنزیم است [۳۸].

در کار مشابه دیگری، Hou و همکاران، از تلفیق روش سل–ژل و خودآرایی برای تثبیت همزمان ChOx و AcChE در سطح Pt استفاده نمودند. برای تهیه محلول سُل از معرفی استفاده شده که در قسمت سر، گروه‌های تری متوکسی سیلان دارد که متحمل هیدرولیز می‌شوند و شبکه‌ای مناسب برای تثبیت CNTs و آنزیم ایجاد می‌کنند. در قسمت انتها نیز

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

گروه‌های تیول وجود دارد که موقعیت را برای اتصال GNPs فرآهم می‌آورد. ابتدا CNTs و PDDA تحت امواج فراصوت، کامپوزیت PDDA/CNTs را تشکیل می‌دهند. سطح Pt با مخلوطی شامل محلول سل-ژل/ ChOx/ و کامپوزیت PDDA/CNTs پوشانده می‌شود. با فروبردن الکترود درون محلول GNPs، نانوذرات از طریق گروه‌های SH- به‌سطح متصل می‌شوند. الکترود اصلاح شده به تناوب درون محلول‌هایی از AcChE و PDDA فرو برده می‌شود. در این حالت PDDA/CNTs به‌عنوان حدواسطی برای آرایش GNPs و AcChE از طریق برهمکنش های الکترواستاتیک میان PDDA (با بار مثبت) و GNPs و AcChE (با بار منفی) عمل می‌کند. با توجه به نقطه ایزوالکتریک AcChE (pH=5.0)، این آنزیم در آخرین مرحله بار منفی دارد. تثبیت CNTs، مقدار امپدانس الکترود را افزایش داده است که متاثر از لایه سل-ژل به‌عنوان مسدود کننده انتقال الکترون و انتقال جرم است. اما با افزوده شدن GNPs از مقدار مقاومت کاسته می‌شود. پاسخ حسگر AcCh به نسبت دو آنزیم نیز بستگی دارد. بررسی‌ها نشان می‌دهد، بیش از دو لایه PDDA-AcChE افزایش پاسخ جریانی الکترود را به دنبال ندارد که احتمالا به دلیل تفاوت در فعالیت کاتالیزوری نسبی آنزیم‌ها (برای AcChE 1100 U/mg و برای ChOx 17 U/mg) می‌باشد [۳۹].

کپسوله کردن با روش سُل- ژل درون مواد سیلیکاتی مزوحفره (Mesoporous) نیز از روش‌های دیگر تثبیت آنزیم است. در این حالت آنزیم از پایداری مکانیکی خوبی برخوردار می‌باشد ضمن این‌که اندازه حفرات این مواد متخلخل منطبق با ابعاد آنزیم قابل تنظیم است [۳]. در پژوهشی، Shimomura و همکاران برای تثبیت آنزیم از یک ساختار سیلیکای متخلخل (قطر حفرات nm ۱۲) استفاده نمودند. به این منظور، با استفاده از روش سل- ژل، یک غشاء مزو حفره ایجاد شده و در تماس با محلول ChOx قرار می‌گیرد تا آنزیم جذب شود. غشاء بارور شده با آنزیم به‌صورت صفحات دایره‌ای برش داده شده و مستقیما روی سطح الکترود Pt قرار گرفته و تثبیت می‌شود. پاسخ حسگر پایداری مناسبی در برابر تغییرات pH نشان می‌دهد که ناشی از پایداری بالای آنزیم به‌دلیل کپسوله شدن درون منافذی است که به ابعاد خود آنزیم نزدیک هستند و به این شکل آنزیم از دناچوره و غیرفعال شدن حفظ می‌شود. اما به‌دلیل کپسوله شدن آنزیم، سرعت پاسخ به‌ویژه در غلظت‌های پایین Cho زیاد نبوده و نسبت به نوع بافر و یا pH محیط حساسیت کمی دارد [۴۰].

از چیتوسان به‌طور گسترده در حسگرهای زیستی استفاده شده است. گروه‌های آمین چیتوسان و مولکول‌های پروتئین می‌توانند با کینون‌های استخلاف نشده (مثل پارا بنزوکینون) به‌راحتی متحمل واکنش‌های هسته دوستی شوند که در نهایت به تشکیل پیوند کووالانسی میان گروه‌های آمین و نیز ایجاد یک شبکه اتصال عرضی شده می‌انجامد [۴۱]. Santos و همکاران، میکروالکترودهایی (۵۰μm) از سیم Pt/Ir (90:10) را ابتدا درون محلول نافیون و سپس محلول تثبیت آنزیم (شامل پارا-بنزوکینون و محلول چیتوسان و نسبت حجمی برابری از محلول آنزیم) فرو برده اند. این روش تثبیت آنزیم در مقایسه با روش کلاسیک (اتصال عرضی به کمک گلوترآلدهید در ماتریسی از آلبومین سرم گاوی) خیلی سریع و موثرتر بوده است [۴۱].

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

جدول ۱- مقایسه ویژگیهای الکترودهای فلزی اصلاح شده برای اندازه‌گیری کولین و استیل کولین

	الکترود	روش اصلاح	گستره غلظتی کولین (µM)	حد تشخیص (µM)	حساسیت (µA/mM)	پتانسیل (V)	زمان پاسخ (s)	پایداری (روز)	ثابت مایکلز (mM)	مرجع
۱	Pt	PVA/ChOx-PEG/AcChE	۲۰۰–۵	۳	۰/٤۲۵	۰/٦۵	۱۲۰	۳۰	۰/٤	[29]
۲	Pt	PVA/ChOx-PEG/AcChE	۱۰۰–۵ استیل کولین	۲	۰/٤۲۳	۰/٦۵	۱۲۰	۳۰	۰/٤	[29]
۳	Pt	PAA/PVS/PEI/ChOx	۰/۱۰۰۰–۵	۰/۵	۳/۷۹	۰/٦	۱۰	–	۰/٤۳٦	[30]
٤	Pt	PAA/PVS/PDDA/ChOx	۰/۱۰۰–۵	۰/۵	۹/۰٤	۰/٦	۱۵	–	۰/۱۳۱	[30]
۵	Au	PA/ChOx (amprometry)	۵۰–۲۰	–	۵	۰/٤	–	۳۰	–	[32]
٦	Au	PA/ChOx (potentiometry)	۲۰–۰	–	۱۰–۵ mV/mM	۰/٤	–	۳۰	–	[32]
۷	Pt	PA/ChOx	۰/۱۰۰–۵	۰/۲	٦۱/۹ mA/M.cm^2	۰/۵	۳۰	۳۰	۱/٤	[33]
۸	Pt	CNTs/sol-gel, ChOx	۱۰۰–۵	۰/۱	۹/۳۹	۰/۱٦	۸	>۳۰	–	[35]
۹	Pt	CNTs/sol-gel, ChOx	۱۰۰–۵	۰/۵	۹/٤۸	۰/۱۵	۱۰	۳۰	۰/٤۲	[36]
۱۰	Pt	CNTs/PVS-PAA/PDDA-ChOx	۰/۱۰۰–۵	۰,۲	۱۲/۵۳	۰/٦	۸	۱۵	–	[37]
۱۱	Pt	GNPs-CNTs/PDDA-ChOx	۵۰۰–۱	۰/۳	۹۷۱۲	۰/۳۵	۷	۳۰	۰/٤۲	[38]
۱۲	Pt	CNTs-ChOx/GNPs/PDDA AcChE	٤۰۰–۵ استیل کولین	۱	۳/۳۹۵	۰/۳۵	۱۵	٦۰	–	[39]
۱۳	Pt	Mesoporous membrane-ChOx	۸۰۰–۵	۵	۱/۲۵	۰/٦	۱/٤	۸۰	۰/۲۲۸	[40]
۱٤	Pt-Ir	Chitosan-benzoquinone-ChOx	۱۵۰–۳۰	۰/۰۱٦	۰/۰۰٦٤	–	۱/٤	–	۰/٤	[41]

نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری و نظارت بر نشانگرهای زیستی ویژه بیماری‌ها از نظر پیش‌بینی، توسعه ابزارهای تشخیصی، و ارزیابی پتانسیل‌های درمانی داروهای جدید اهمیت دارد. اندازه‌گیری دقیق کولین و استیل کولین در نمونه‌های زیستی و غذایی به روش‌های تجزیه‌ای جدید و حساس با انتخاب‌پذیری بالا نیاز دارد. در حال حاضر، از روش‌های کروماتوگرافی برای اندازه‌گیری Cho, AcCh استفاده می‌شود که با وجود مطمئن بودن، گران و زمان‌بر بوده و به مراحل پیش پردازش، استخراج و مشتق‌سازی نیاز دارند. در این میان، حسگرهای زیستی آمپرومتری مبتنی بر آنزیم، جایگاه ویژه‌ای در اندازه‌گیری‌های کمی یافته‌اند. در این حسگرها، سنجش غیرمستقیم محصول واکنش آنزیمی به روش‌های الکتروشیمیایی و یا نوری انجام می‌شود. علاوه‌بر انتخاب‌پذیری منحصربفرد واکنش

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

آنزیمی، تشخیص الکتروشیمیایی نیز بر عملکرد انتخابی این حسگرها می‌افزاید. تلاش‌های زیادی برای اصلاح الکترودهای آنزیمی صورت گرفته که هدف آن افزایش مقدار تثبیت آنزیم، حفظ فعالیت و افزایش پایداری آنزیم، بهبود طول عمر مفید حسگر، شتاب‌دهی واکنش‌های انتقال الکترون، افزایش انتخاب‌پذیری، حساسیت و در نهایت بهبود حد تشخیص و گستره غلظتی قابل اندازه‌گیری می‌باشد. کاربرد نانوذرات می‌تواند سبب افزایش جذب آنزیم و بهبود حساسیت و انتخاب‌پذیری شود همچنین جذب آنزیم بر روی NPs کمترین تاثیر را بر پایداری و فعالیت زیستی آنزیم دارد. نانوذرات کربنی می‌توانند واکنش‌پذیری الکتریکی مولکول‌های زیستی و واکنش‌های انتقال الکترون در پروتئین‌ها را بهبود بخشند و استفاده از آن‌ها، اغلب پتانسیل عملکرد حسگر را کاهش می‌دهد که به‌معنی امکان مداخله کمتر از سوی سایر ترکیبات و اندازه‌گیری با کمترین مزاحمت است. ویژگی حسگرهای اشاره شده در این مقاله در جدول (۱) مقایسه شده است. ثابت مایکلز–منتن پارامتری است که تمایل آنزیم به سوبسترا را نشان می‌دهد. آنزیم‌ها در حالت محلول نوعا مقادیر ثابت مایکلز 10^{-1}M (میل ترکیبی پایین) تا 10^{-7}M (میل ترکیبی بالا) دارند، اما با تثبیت روی سطح، از مقدار آن کاسته می‌شود. پس از تثبیت، ثابت مایکلز کوچک‌تر نشان می‌دهد که آنزیم تثبیت شده فعالیت بیشتری داشته و تمایل بیشتری برای سوبسترای خود دارد [۳۶, ۴۲].

فهرست منابع

References

1. **Barkhimer T.V. Kirchhoff J.R. Hudson R.A. Messer Jr W.S. and Viranga Tillekeratne L.M. (2008).** Electrochemical detection of acetylcholine and choline: application to the quantitative nonradiochemical evaluation of choline transport. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 392(4): 651-662.
2. **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 H_2O_2-sensitive quantum dots. Biosensors and Bioelectronics. 28(1): 50-55.
3. **Sattarahmady N. Heli H. and Dehdari Vais R. (2014).** A flower-like nickel oxide nanostructure: Synthesis and application for choline sensing. Talanta. 119: 207-213.
4. **Zeisel S.H. and da Costa K-A. (2009).** Choline: an essential nutrient for public health. Nutrition Reviews. 67(11): 615-623.
5. **Zeisel S.H. (2011).** The supply of choline is important for fetal progenitor cells. Seminars in Cell & Developmental Biology. 22(6): 624-628.
6. **Rahman M.M. and Asiri A.M. (2015).** Selective choline biosensors based on choline oxidase co-immobilized into self-assembled monolayers on micro-chips at low potential. Analytical Methods. 7(22): 9426-9434.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

7. **Alegret S. (1996).** Rigid carbon-polymer biocomposites for electrochemical sensing. A review. Analyst. 121(12): 1751-1758.

8. **Zeisel S.H. Mar M-H. Howe J.C. and Holden J.M. (2003).** Concentrations of Choline-Containing Compounds and Betaine in Common Foods. The Journal of Nutrition. 133(5): 1302-1307.

9. **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: 1-8.

10. **Caudill M.A. (2010).** Pre- and Postnatal Health: Evidence of Increased Choline Needs. Journal of the American Dietetic Association. 110(8): 1198-1206.

11. **Richman E.L. Kenfield S.A. Stampfer M.J. Giovannucci E.L. Zeisel S.H. Willett W.C. and Chan J.M. (2012).** Choline intake and risk of lethal prostate cancer: incidence and survival. The American Journal of Clinical Nutrition. 96(4): 855-863.

12. **Zeisel S.H. and daCosta K.A. (1990).** Choline: Determination using gas chromatography/mass spectrometry. The Journal of Nutritional Biochemistry. 1(1): 55-59.

13. **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): 3338-3344.

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: 170-179.

15. **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): 1414-1419.

16. **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): 1599-1602.

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

18. **Putzbach W. and Ronkainen N. (2013).** Immobilization Techniques in the Fabrication of Nanomaterial-Based Electrochemical Biosensors: A Review. Sensors. 13(4): 4811-4840.

19. **Wilson G.S. and Gifford R. (2005).** Biosensors for real-time in vivo measurements. Biosensors and Bioelectronics. 20(12): 2388-2403.

20. **Sassolas A. Blum L.J. and Leca-Bouvier B.D. (2012).** Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors. Biotechnology Advances. 30(3): 489-511.

21. **Wang Y. Xu H. Zhang J. and Li G. (2008).** Electrochemical Sensors for Clinic Analysis. Sensors. 8(4): 2043-2081.

22. **Sadeghi S. Fooladi E. and Malekaneh M. (2014).** A nanocomposite/crude extract enzyme-based xanthine biosensor. Analytical Biochemistry. 464: 51-59.

23. **Sadeghi S. Fooladi E. and Malekaneh M. (2015b).** A New Amperometric Biosensor Based on Fe_3O_4/Polyaniline/Laccase/Chitosan Biocomposite-Modified Carbon Paste Electrode for Determination of Catechol in Tea Leaves. Applied Biochemistry and Biotechnology. 175(3): 1603-1616.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

24. **Mohamad N.R. Marzuki N.H.C. Buang N.A. Huyop F. and Wahab R.A. (2015).** An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 29(2): 205-220.

25. **Datta S. Christena L.R. and Rajaram Y.R.S. (2013).** Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. 3 Biotech. 3(1): 1-9.

26. **Wang J. and Angnes L. (1992).** Miniaturized glucose sensors based on electrochemical codeposition of rhodium and glucose oxidase onto carbon-fiber electrodes. Analytical Chemistry. 64(4): 456-459.

27. **Willner I. Katz E. and Willner B. (1997).** Electrical contact of redox enzyme layers associated with electrodes: Routes to amperometric biosensors. Electroanalysis. 9(13): 965-977.

28. **Johnson D.C. and LaCourse W.R. (1990).** Liquid Chromatography with Pulsed Electrochemical Detection at Gold and Platinum Electrodes. Analytical Chemistry. 62(10): 589A-597A.

29. **Doretti L. Ferrara D. Lora S. Schiavon F. and Veronese F.M. (2000).** Acetylcholine biosensor involving entrapment of acetylcholinesterase and poly(ethylene glycol)-modified choline oxidase in a poly(vinyl alcohol) cryogel membrane. Enzyme and Microbial Technology. 27(3–5): 279-285.

30. **Shi H. Song Z. Huang J. Yang Y. Zhao Z. Anzai J.I. Osa T. and Chen Q. (2005).** Effects of the type of polycation in the coating films prepared by a layer-by-layer deposition technique on the properties of amperometric choline sensors. Sensors and Actuators B: Chemical. 109(2): 341-347.

31. **Sadeghi S. Fooladi E. and Malekaneh M. (2015a).** A New Amperometric Benzaldhyde Biosensor Based on Aldehyde Oxidase Immobilized on Fe_3O_4-GrapheneOxide/Polyvinylpyrrolidone/Polyaniline Nanocomposite. Electroanalysis. 27(1): 242-252.

32. **Langer J.J. Filipiak M. Ke˛cińska J. Jasnowska J. Włodarczak J. and Buładowski B. (2004).** Polyaniline biosensor for choline determination. Surface Science. 573(1): 140-145.

33. **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): 2275-2280.

34. **Luo X. Morrin A. Killard A.J. and Smyth M.R. (2006).** Application of Nanoparticles in Electrochemical Sensors and Biosensors. Electroanalysis. 18(4): 319-326.

35. **Song Z. Huang J-D. Wu B-Y. Shi H-B. Anzai J-I. and Chen Q. (2006).** Amperometric aqueous sol–gel biosensor for low-potential stable choline detection at multi-wall carbon nanotube modified platinum electrode. Sensors and Actuators B: Chemical. 115(2): 626-633.

36. **Song Z. Zhao Z. Qin X. Huang J. Shi H. Wu B. and Chen Q. (2007).** Highly sensitive choline biosensor based on carbon nanotube-modified Pt electrode combined with sol-gel immobilization. Frontiers of Chemistry in China. 2(2): 146-150.

37. **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): 1453-1457.

38. **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): 593-598.

39. **Hou S. Ou Z. Chen Q. and Wu B. (2012).** Amperometric acetylcholine biosensor based on self-assembly of gold nanoparticles and acetylcholinesterase on the sol–gel/multi-walled carbon nanotubes/choline oxidase composite-modified platinum electrode. Biosensors and Bioelectronics. 33(1): 44-49.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]

40. **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): 217-220.
41. **Santos R.M. Laranjinha J. Barbosa R.M. and Sirota A. (2015).** Simultaneous measurement of cholinergic tone and neuronal network dynamics in vivo in the rat brain using a novel choline oxidase based electrochemical biosensor. Biosensors and Bioelectronics. 69: 83-94.
42. **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): 181-188.

Modification of the metal electrodes and development of the enzyme bio-sensors for the determination of the choline and acetylcholine in the food and biological samples

moslem jahani*, alireza jahani
*Assistant Professor, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
MSc Student of Microbiology Biotechnology, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran

moslemjahani@yahoo.com

Abstract
Choline is a vitamin-like compound which can promote the lipid metabolism in the liver and kidneys and reduces the chronic inflammations. It also participates in the synthesis of the phospholipids and acetylcholine and is important for the integrity of the cell membrane. Its sufficient amount in the embryonic stage is necessary and, the relation between its concentration and the appearance of the signs of the diseases such as breast and prostate cancers is confirmed. It is usually necessary to supply choline through the food chain and nowadays choline is widely added to the certain foods and therefore its quantitative determination is very important in the clinical analysis and food industries. In the recent years, application of the enzyme sensors as the cheap and portable tools with high selectivity and sensitivity has attracted much attention as the alternatives for the chromatographic methods. In this review, the studies (from 2000 to present) in the field of the modification of metal electrodes and determination of choline and acetylcholine in the food and biological samples have been reviewed. Modification of the electrodes leads to more enzyme immobilization with better stability and bioactivity, improve the electron transfer and decrease the resistance, and consequently, enhancement in the figure of merits of the method.
Keywords: electrochemical methods, enzyme sensor, choline, acetylcholine, food samples

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1396.10.2.9.0]