

مقاله مروری : حسگرهای الکتروشیمیایی مورد استفاده برای تعیین ویتامین‌های محلول در آب و چربی:

ویتامین‌های B, D, K

سعید چوبتاشانی^۱، آرش باباخانیان^۲

۱ گروه شیمی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۲ گروه شیمی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

arash.babakhanian@iau.ac.ir, arash.babakhanian@gmail.com

چکیده

ویتامین‌ها یکی از ضروری‌ترین ترکیبات آلی هستند که برای بدن انسان جهت رشد و نمو سالم ضروری می‌باشند. هدف از این بررسی، گردآوری مجموعه‌ای از حسگرهای الکتروشیمیایی (ولتامتری و آمپرومتری) است که برای تعیین ویتامین‌های خانواده‌های B, D و K در نمونه‌های بیولوژیکی، دارویی یا غذایی توسعه یافته‌اند. تشخیص صحیح و دقیق آنالیت‌ها، در زمان سریع و کوتاه، عدم نیاز به آماده‌سازی پیچیده نمونه‌ها و توان اندازه‌گیری مستقیم؛ حسگرهای الکتروشیمیایی را به ابزاری قدرتمند در جهت اندازه‌گیری الکتروشیمیایی تبدیل نموده است که در این مقاله مروری به آن پرداخته شده است.

کلمات کلیدی: الکتروشیمی، ولتامتری، آمپرومتری، حسگرهای الکتروشیمیایی، ویتامین‌ها

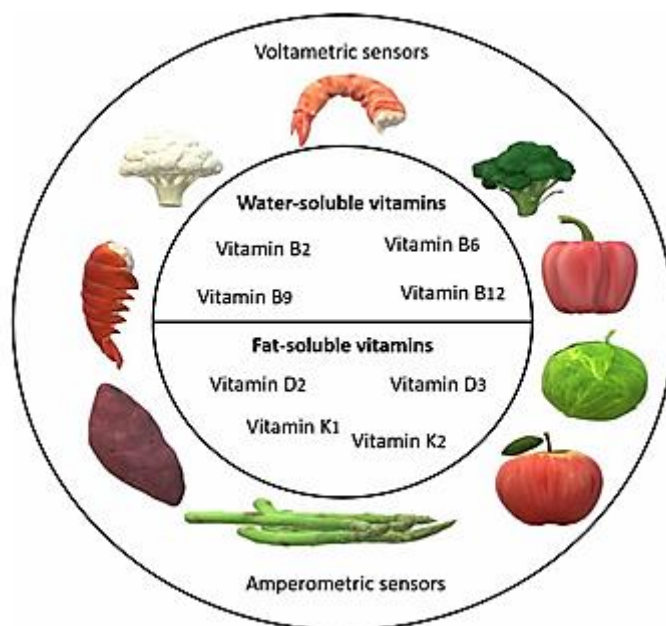
۱. مقدمه

برای رشد کامل و سالم، بدن انسان به مجموعه‌ای از ویتامین‌ها نیاز دارد که عمدتاً در منابع غذایی یافت می‌شوند. دو نوع اصلی ویتامین وجود دارد: ویتامین‌های محلول در آب که در بدن انسان ذخیره نمی‌شوند و ویتامین‌های محلول در چربی که در بافت چربی بدن انسان ذخیره می‌شوند. از سنین پایین، این ترکیبات آلی برای رشد سالم افراد مورد نیاز هستند. برخی از ویتامین‌های ضروری برای بدن انسان عبارتند از: ویتامین B2، ویتامین B6، ویتامین B9، ویتامین B12، ویتامین D و ویتامین K. ویتامین‌های D و K محلول در چربی هستند، در حالی که ویتامین‌های گروه B محلول در آب هستند. ویتامین B2 که به عنوان ریبوفلاوین نیز شناخته می‌شود، یکی از ویتامین‌هایی است که بدن انسان برای رشد کامل و سالم به آن نیاز دارد. با توجه به اینکه نمی‌توان آن را به صورت داخلی سنتز کرد، توصیه می‌شود که به مقدار کم در رژیم غذایی افراد گنجانده شود [۱].

ویتامین B2 جزء مهمی از فلاوآنزیم است که به کاتالیز واکنش‌های بیوشیمیایی مختلف پروتئین، چربی و کربوهیدرات در بدن انسان کمک می‌کند. ریپوفلاوین به دلیل فوایدش در کاهش خستگی، القای رشد طبیعی مو، ناخن و پوست و کاهش التهاب ناحیه دهان شناخته شده است [۲،۳]. کمبود ویتامین B2 می‌تواند منجر به برخی از علائم زیر شود: پوسته پوسته شدن پوست، خارش چشم، فتوفوبیا و گلودرد [۴،۵]. روش‌های مختلفی برای تشخیص این نوع ویتامین وجود دارد، مانند شیمی‌سنجی [۶،۷]، کروماتوگرافی مایع [۸-۱۰]، پلاروگرافی [۱۱]، UV-vis [۱۲] و طیف‌سنجی فلورسانس [۱۳،۱۴]. ویتامین B6 که با نام پیریدوکسین نیز شناخته می‌شود، مانند سایر ویتامین‌های گروه B، یک ویتامین محلول در آب است [۱۵]. این نوع ویتامین نقش مهمی در کاهش حالت تهوع در مراحل اولیه بارداری دارد و همچنین در پاسخ بدن انسان به بیش از ۱۰۰ آنزیم نقش دارد [۱۶-۱۸]. به منظور تشخیص پیریدوکسین در غذا، از روش‌های تحلیلی برای تجزیه و تحلیل نمونه‌های غذایی مانند ماهی تن، سیب‌زمینی، برنج، پیاز، اسفناج، توفو، گوشت چرخ‌کرده، ماهی سالمون، هندوانه و سینه مرغ استفاده می‌شود [۱۹-۲۳]. ویتامین B9 که بیشتر به عنوان اسید فولیک شناخته می‌شود، بخشی از ویتامین‌های گروه B است و بیشتر به خاطر عملکردهای مهم بیولوژیکی آن [۲۴]، سنتز و ترمیم اسید دزوکسی ریبونوکلیک (DNA) و متیلاسیون DNA شناخته می‌شود [۲۵،۲۶]. با وجود این واقعیت که می‌توان آن را در غذاهایی مانند کلم، میوه‌ها، آجیل و بسیاری دیگر یافت، بدن انسان قادر به تولید این ویتامین نیست. عوارض جدی که منجر به ناهنجاری‌های مجمله، مغز و ستون فقرات جنین می‌شوند، ناشی از کمبود اسید فولیک هستند [۲۷]. ویتامین B12 که به عنوان کوبالامین نیز شناخته می‌شود، یک ویتامین حاوی کبالت است که محلول در آب است. این نوع ویتامین به تشکیل گلبول‌های قرمز خون، سنتز DNA و حفظ عملکردهای عصبی کمک می‌کند [۲۸]. با توجه به اینکه باکتری‌های روده کوچک تا حدی ویتامین B12 را سنتز می‌کنند، لازم است که این نوع ویتامین از طریق غذا دریافت شود [۲۹]. منابع اصلی کوبالامین عبارتند از: گوشت، تخم مرغ، صدف، جگر، ماهی و شیر. مصرف کم ویتامین B12 می‌تواند باعث مشکلات سلامتی مختلفی مانند خستگی، کم‌خونی، نارسایی کلیه، بیماری کبد یا سمیت عصبی شود [۳۰]. برخی از پرکاربردترین تکنیک‌ها برای تشخیص کوبالامین در مواد غذایی یا محصولات دارویی عبارتند از: رادیواسکوپی، کمیلومینسانس، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، طیف‌سنجی جرمی، طیف‌سنجی جذب اتمی و الکتروفورز موینیگی (CE) [۳۱].

ویتامین D گروهی از ویتامین‌های محلول در چربی، ارگوکلسیفرول، که با نام D2 نیز شناخته می‌شود، و کوله کلسیفرول، که با نام D3 شناخته می‌شود، است. ویتامین D2 را می‌توان در گیاهان یافت، در حالی که ویتامین D3 به طور طبیعی در بدن

انسان و حیوانات وجود دارد. این ویتامین‌ها را می‌توان در زرده تخم مرغ (D2 و D3)، قارچ شیتاکه (D2)، روغن کبد ماهی (D3) و ماهی سالمون تازه (D3) یافت [۳۲،۳۳]. این نوع ویتامین نقش مهمی در تقویت استخوان‌ها دارد. کمبود ویتامین D می‌تواند باعث نرمی استخوان در بزرگسالان، راشیتیزم در کودکان، بیماری‌های قلبی عروقی، پارکینسون، فشار خون بالا و سرطان شود [۳۴-۴۰]. ویتامین K (ترکیب نفتوکینون) نیز گروهی از ویتامین‌های محلول در چربی، به ترتیب K1 و K2 است. ویتامین K1 را می‌توان در سبزیجات سبز و گیاهان یافت و شکل غالب آن است. ویتامین K2 در تخم مرغ، غذاهای تخمیر شده، گوشت و پنیر دلمه شده یافت می‌شود. این نوع ویتامین برای کلسیفیکاسیون استخوان [۴۱،۴۲] و انعقاد خون مهم است [۴۳،۴۴]. کمبود ترکیب نفتوکینون می‌تواند منجر به خونریزی بیش از حد و کاهش پروترومبین شود [۴۵،۴۶]. در مقایسه با روش‌های تحلیلی که در حال حاضر برای تعیین ویتامین‌ها استفاده می‌شوند، حسگرهای الکتروشیمیایی یک جایگزین سریع، قابل اعتماد و ارزان هستند. این بررسی مختصر بر حسگرهای الکتروشیمیایی (شکل ۱) که برای تعیین ویتامین‌ها در انواع مختلف نمونه‌ها (نمونه‌های بیولوژیکی، دارویی و غذایی) استفاده شده‌اند، متمرکز است.



شکل ۱. منابع اصلی ویتامین‌های B، D، K و انواع اصلی حسگرهای الکتروشیمیایی مورد استفاده برای سنجش آنها.

۲. حسگرهای الکتروشیمیایی تشخیص و اندازه‌گیری ویتامین B2

لی و همکاران [۴۷]، یک حسگر الکتروشیمیایی برای تعیین ویتامین B2 در نمونه‌های دارویی پیشنهاد کردند. حسگر پیشنهادی که بر اساس یک الکتروود کربن شیشه‌ای (GCE) و نانوذرات طلا (AuNPs) ساخته شده و با ترکیبی از گرافن احیا شده و پلی‌دوپامین (PDA-RGO) اصلاح شده است، در سنجش نمونه‌های دارویی مؤثر بود و بنابراین ثابت کرد که حسگر به‌دست‌آمده می‌تواند به‌طور بالقوه برای پایش داروهای درمانی مورد استفاده قرار گیرد. به منظور بررسی کارایی سطح اصلاح‌شده و مقایسه بین الکتروودهای اصلاح‌شده، از ولتامتری چرخه‌ای (CV) استفاده شد. بنابراین، از یک محلول استاندارد فرو/فروسیانید شبه‌برگشت‌پذیر که حاوی ۰.۱ مول بر لیتر KCl بود، استفاده شد. محدوده پتانسیل از ۰.۳ تا ۰.۸ ولت در مقابل Ag/AgCl و سرعت اسکن ۰.۰۵ در مقابل ۱ بود. برای الکتروود برهنه، موارد زیر قابل مشاهده است: یک پیک اکسایش-کاهش ضعیف، که جدایی پتانسیل پیک تا پیک آن برابر با ۱۹۸ میلی‌ولت بود، به‌دست آمد. با توجه به مکان‌های فعال و مساحت سطح، جریان‌های پیک هنگامی که پراکندگی PDA-RGO بر روی سطح الکتروود برهنه ریخته شد، به میزان زیادی افزایش یافت. علاوه بر این، جداسازی پتانسیل پیک تا پیک به ۱۴۵ میلی‌ولت کاهش یافت. در مقایسه با الکتروود برهنه، جریان‌های پیک هنگامی که AuNPها بر روی GCE رسوب الکتریکی داده شدند، ۳۸.۱ درصد افزایش یافتند، به این دلیل که AuNPها اجازه دادند $[Fe(CN)_6]^{3+/4+}$ بیشتری به راحتی به سطح الکتروود برسد. با توجه به این واقعیت که جداسازی پتانسیل پیک تا پیک ۵۳ میلی‌ولت کاهش یافت، ثابت شده است که AuNPها می‌توانند انتقال الکترون‌ها بین سطح الکتروود و محلول را تسریع کنند. در میان تمام الکتروودهای اصلاح‌شده، کمترین جداسازی پتانسیل پیک تا پیک و بالاترین پاسخ جریان زمانی به دست آمد که از حسگر مبتنی بر PDA- RGO است. برای تشخیص ویتامین B2 در نمونه‌های دارویی، بالاترین حساسیت زمانی به دست آمد که از حسگر مبتنی بر GCE/AuNPs@PDARGO استفاده شد؛ بازایی ویتامین B2 از ۱۰۴.۴۰ تا ۱۰۵.۰۰ درصد متغیر بود، انحراف استاندارد نسبی (RSD) برای غلظت‌های زیر بین ۰.۲۵ تا ۱.۴۳ درصد بود.

هنگامی که از ولتاژمتری پالس تفاضلی (DPV) استفاده شد. حسگر پیشنهادی حساسیت بالایی با حد تشخیص (LOD) 0.0096 میلی‌مول در لیتر، و محدوده خطی وسیعی با رگرسیون خطی $0.9977 (R^2)$ در $0.02-60.0$ میلی‌مول در لیتر نشان داد.

گروه دیگری از محققان، به رهبری پوانگجان آ. [۴۸]، یک حسگر الکتروشیمیایی بر اساس نانولوله‌های کربنی چند جداره عامل‌دار شده شیمیایی طراحی کردند که روی آن اکسید مس (Cu_2O) رسوب داده شد؛ کامپوزیت اکسید نقره (Ag_2O) نیز روی بستر مس رسوب داده شد. حسگرهای مورد استفاده در این مطالعه عبارتند از: نانولوله‌های کربنی چند جداره (MWCNTs)، نانولوله‌های کربنی چند جداره عامل‌دار شده (f-MWCNTs)، کامپوزیت $\text{f-MWCNTs-Cu}_2\text{O}$ ، کامپوزیت $\text{f-MWCNTs-Ag}_2\text{O}$ و کامپوزیت $\text{f-MWCNTs-Cu}_2\text{O-Ag}_2\text{O}$ برای تعیین ویتامین B2 توسط DPV، از کامپوزیت $\text{f-MWCNTs-Cu}_2\text{O-Ag}_2\text{O}$ استفاده شد. قابلیت چرخه‌پذیری حسگرهای اصلاح‌شده با Ag_2O ، Cu_2O و هر دو Ag_2O و Cu_2O با استفاده از روش کروئوپتانسیون تیومتري مشاهده شد و افزایش جزئی در ظرفیت ویژه آنها در ۵۰۰ چرخه اول قابل مشاهده بود. در بین این حسگرها، الکتروکامپوزیت $\text{f-MWCNTs-Cu}_2\text{O-Ag}_2\text{O}$ بهترین پایداری چرخه‌پذیری (۸٪ کاهش ظرفیت در طول آزمایش چرخه متوالی) را نشان داد. حسگر پیشنهادی حساسیت بالا، پاسخ سریع، حد تشخیص پایین، پایداری گسترده و خطی بودن گسترده را نشان داد. این نتایج با این واقعیت ارائه می‌شوند که رفتار خازنی کامپوزیت $\text{MWCNTs-Cu}_2\text{O-Ag}_2\text{O}$ توسط ذرات Cu_2O و Ag_2O که به شدت به سطح نانولوله‌های عامل‌دار شده متصل شده‌اند، افزایش می‌یابد. محدوده غلظت خطی $0.05-1752.65$ میلی‌مول در لیتر و حد تشخیص 0.014 میلی‌مول در لیتر بود. انواع نمونه‌های زیر در این مطالعه استفاده شدند: نمونه‌های عسل، نمونه‌های آب پرتقال و نمونه‌های ادرار انسان. ویجاپراساتال [۴۹]. الکتروکربن شیشه‌ای اصلاح‌شده با نانوصفحات ($\text{Gd}_2\text{O}_3\text{-GCE}$) برای تشخیص الکتروشیمیایی ویتامین B2 پیشنهاد شد. به منظور بررسی اینکه آیا Gd_2O_3 می‌تواند ویتامین مورد نظر را در حضور تداخل‌کننده‌های مختلف مانند بیوتین، سروتونین، دوپامین، اسید اوریک و اپی‌نفرین تشخیص دهد، از تکنیک DPV استفاده شد. این تداخل‌کننده‌ها در غلظت ۵۰۰ میلی‌مول در لیتر خوانده شدند. LOD برابر با ۰.۰۱ میلی‌مول در لیتر و محدوده غلظت از ۰.۱ تا ۵۵۰ میلی‌مول در لیتر بود. گزینش‌پذیری بالای الکتروکامپوزیت با این واقعیت که هیچ سیگنالی وجود نداشت، اثبات شد. تداخل برای موادی که قبلاً ذکر شد. نتایج به‌دست‌آمده ثابت می‌کند که حسگری که به تازگی ساخته شده است، قابلیت تکرارپذیری و پایداری خوبی

دارد و همچنین گزینش پذیری بالایی دارد. نمونه‌های واقعی، که توسط قرص‌های تجاری و پودر شیر نشان داده شده‌اند، برای تعیین ویتامین B2 مورد سنجش قرار گرفتند. نوع دیگری از نانوذرات، پالادیوم-مس (Pd-Cu)، توسط سانگیلی و همکارانش [۵۰]، روی کربن فعال قرار داده شد تا این نوع ویتامین به صورت الکتروشیمیایی حس شود. برای این مطالعه، یک الکترود کربنی با نانوذرات آلیاژ Pd-Cu با رسوب روی کربن پوسته‌نوک (PdCu@NSC) اصلاح شد. به منظور بررسی فعالیت الکتروکاتالیستی الکترود پیشنهادی، از CV و DPV استفاده شد.

۳. حسگرهای الکتروشیمیایی مورد استفاده برای تشخیص ویتامین B6

یک حسگر الکتروشیمیایی توسط صادقی و همکارانش [۵۱]، برای تعیین ویتامین B6 در نمونه‌های آبمیوه و آب پیشنهاد شد. این گروه از محققان یک حسگر تقویت‌شده طراحی کردند که برای آن از دو واسطه رسانا استفاده کردند که به ترتیب توسط نانولوله‌های نیکل-اکسید-کربن (NiO-CNTs) و ۱-متیل-۳-اکتیلیمیدازولیوم هگزافلوئوروفسفات (MOHFPE) نشان داده شده‌اند. حسگر اصلاح‌شده (NiO-CNTs/MOHFPE/CPE) که حاوی الکترود خمیر کربن (CPE) و دو واسطه بود، بهبود جریان اکسیداسیون (تا ۲.۵ برابر در مقایسه با الکترود خالی) را نشان داد. علاوه بر این، بازایی‌ها ۹۷.۳۳-۱۰۳.۸٪ بود، که توانایی حسگر پیشنهادی را برای تشخیص ویتامین B6 در نمونه‌های واقعی تأیید می‌کند. گروه محققان اهمیت دو واسطه را بررسی کردند و نتایج به‌دست‌آمده ثابت می‌کند که با افزودن این دو واسطه، رسانایی CPE می‌تواند افزایش یابد.

۴. حسگرهای الکتروشیمیایی مورد استفاده برای تشخیص ویتامین B9

شارما و آریا [۵۲]، یک حسگر کارآمد و اقتصادی برای تعیین ویتامین B9 با اصلاح یک الکترود پلاتین پیشنهاد کردند. به منظور سنتز نانوذرات دی‌اکسید قلع (SnO₂) آلاینده نشده، آلاینده شده با نقره (Ag) و آلاینده شده با پالادیوم-نقره (Pd-Ag)، از یک تکنیک هیدروترمال به کمک سل-ژل استفاده شد. برای اثبات اینکه نانوذرات SnO₂ آلاینده شده با Pd و Ag ظرفیت قابل توجهی در حس کردن ویتامین مورد نظر دارند، از تکنیک‌های CV و DPV استفاده شد. به عنوان عامل حسگر، از الکترود پلاتین اصلاح‌شده (Pt) استفاده شد. دو نانوذرات سنتز شده برای بهبود فعالیت کاتالیزوری الکترود Pt استفاده شدند. الکترود پیشنهادی (SnO₂/Pt آلاینده شده با Pd-Ag) دارای حد تشخیص پایینی (۳.۴۷ لیتر بر لیتر) بود و محدوده تشخیص

خطی آن وسیع بود (۲۲-۱۱۲ لیتر بر لیتر). علاوه بر این، نانوحسگر برای سنجش ویتامین مورد نظر در نمونه‌های دارویی آزمایش شد و نتایج مطلوب و موفقیت‌آمیزی به دست آمد. CV تکنیکی بود که برای مطالعه رفتار الکتروشیمیایی ویتامین B9 برای الکتروده Pt بدون پوشش، SnO_2/Pt ، AgSnO_2 و Pd و $\text{Ag-SnO}_2/\text{Pt}$ استفاده شد. در مقایسه با الکتروده برهنه، الکترودهای اصلاح‌شده که قبلاً ذکر شد، افزایش قابل توجهی در جریان پیک اکسایش-کاهش نشان دادند. برای سنجش نمونه‌های دارویی، از DPV استفاده شد. آزمایش‌های یکنواختی محتوای قرص‌های حاوی ۴.۹۷۸ میلی‌گرم ویتامین B9/قرص با استفاده از روش افزایش استاندارد انجام شد، زمانی که بازیابی‌های بسیار خوبی به دست آمد.

یوان و همکارانش [۵۳]، یک الکتروده کربن شیشه‌ای (GCE) را با نانوذرات پلاتین/نانو پلاکت‌های گرافن/نانولوله‌های کربنی چند جداره/کامپوزیت β -سیکلودکسترین ($\text{PtNPsGNPs-MWCNTs-b-CD}$) اصلاح کردند. با استفاده از روش مونتاژ فراصوت، نانوکامپوزیت تهیه شد. به منظور دستیابی به الکتروده اصلاح‌شده، مقادیر مختلفی از نانو پلاکت‌های گرافن ((GNPs)، PtNPs و MWCNTs با استفاده از عملیات فراصوت در آب فوق خالص تهیه شدند. پس از این عملیات، صیقل دادن GCE برهنه انجام شد. سپس، سوسپانسیونی از PtNPs-GNPs-MWCNTs

b-CD، که حجم‌های مختلفی داشت، روی سطح الکتروده ریخته شد. بنابراین، الکتروده مورد نظر به دست آمد: $\text{PtNPs-GNPs-MWCNTs-b-CD/GCE}$. بر این اساس، از حسگر برای آزمایش محتوای یکنواختی فرمولاسیون‌های دارویی توسط DPV استفاده شد. غلظت در محدوده زیر بود: ۲۰-۵۰ میلی‌مول در لیتر، بازیابی‌ها بین ۹۷.۵۵ تا ۱۰۲.۹۶ درصد و LOD برابر با ۰.۴۸ میلی‌مول در لیتر.

۵. حسگرهای الکتروشیمیایی مورد استفاده برای تشخیص ویتامین B12

دیمیتروپولو و همکارانش [۵۴]، یک حسگر زیستی الکتروشیمیایی دئوکسی ریبونوکلیک اسید (DNA) را برای تعیین ویتامین B12 با استفاده از CPE که توسط یک کمپلکس منگنز (II) اصلاح شده بود، پیشنهاد دادند. این الکتروده به مواد کاربرپسند و کم‌هزینه نیاز دارد. آنها ابتدا رفتار الکتروشیمیایی Mn-CPE را در بافر استات (pH 5.2)، ۰.۲ مول بر لیتر و ۰.۰۱ مول بر لیتر NaCl مطالعه کردند. به منظور تثبیت DNA روی سطح الکتروده اصلاح شده، عملیات زیر انجام شد: $[\text{Mn}(\text{thiophenyl})-(2\text{-carboxylicacid})_2\text{triethylonamine}]$ مستقیماً روی سطح الکتروده برهنه با استفاده از ولتامتری چرخه ای

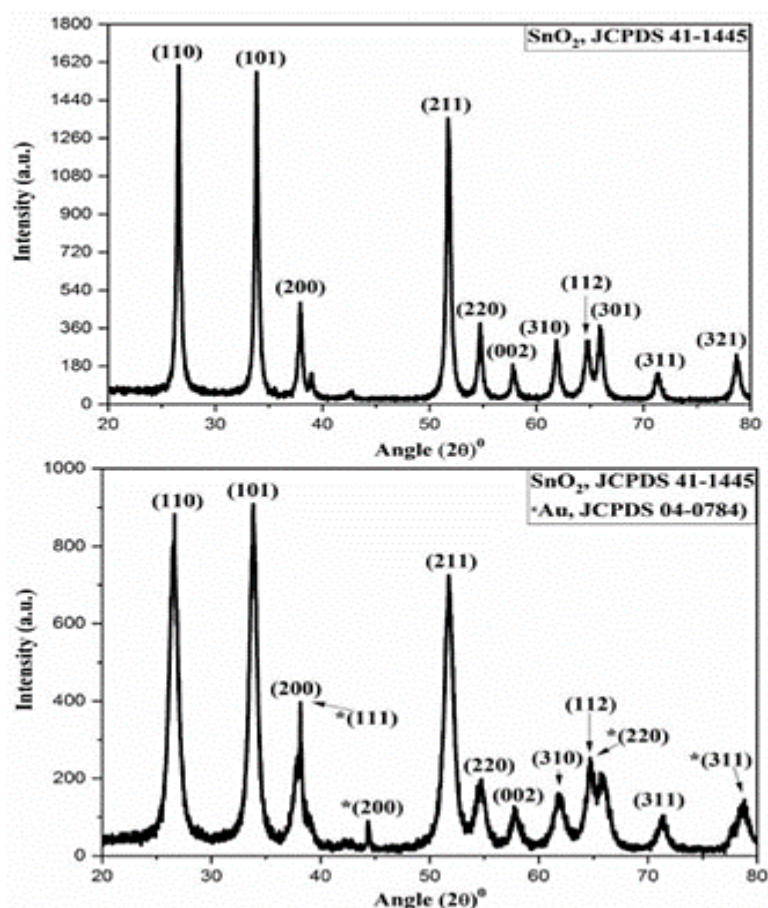
الکتروپلیمریزه شد، سپس، جذب فیزیکی dsDNA روی Mn-CPE انجام شد. تأثیر سرعت اسکن بر روی هر دو پیک اکسیداسیون و احیا حسگر بررسی شد. با استفاده از یک CV در بافر استات ۰.۲ مول بر لیتر (pH 5.2) که حاوی ۰.۰۱ مول بر لیتر NaCl بود، ثابت شد که dsDNA با موفقیت روی Mn-CPE تثبیت شده است. سپس، از ولتامتری موج مربعی (SWV) برای اثبات جذب فیزیکی dsDNA روی Mn-CPE استفاده شد. هنگام استفاده از الکتروپیشنهادی، پیک‌های زیر شناسایی شدند: پیک اکسیداسیون ویتامین B12 در 1.021 V و پیک احیا که شدت کمی داشت، در 0.610 V در مقابل Ag/AgCl یافت شد، بنابراین ثابت شد که ویتامین مورد نظر با موفقیت روی Mn-dsDNA-CPE تثبیت شده است. علاوه بر این، به منظور بررسی رفتار الکتروشیمیایی ویتامین B12، SWV انجام شد. پیک‌های اکسیداسیون زیر به دست آمد: در غیاب ویتامین B12، پیک در حدود ۰.۷۷۰ V و در مقابل Ag/AgCl و در حضور ویتامین B12، پیک در حدود ۱.۰۴۰ V و در مقابل Ag/AgCl بود، زمانی که از CPE استفاده شد.

هنگامی که از Mn-CPE استفاده شد، پیک اکسیداسیون در حدود ۱.۰۳۸ V و در مقابل Ag/AgCl در حضور ویتامین B12 شناسایی شد. هنگامی که از Mn-dsDNA-CPE استفاده شد، پیک اکسیداسیون در حدود ۱.۰۲۶ V و در مقابل Ag/AgCl شناسایی شد. اکسیداسیون ویتامین B12 روی Mn-dsDNA-CPE بسیار پیچیده است، بنابراین، برای آزمایش‌های آینده، گروه محققان از پیک کاهش منگنز برای مشاهده رفتار ویتامین مورد نظر استفاده کردند. pH 5.2 به عنوان pH نهایی برای بقیه آزمایش انتخاب شد، به این دلیل که جریان پیک تا این مقدار افزایش یافت، سپس تا مقدار ۶.۲ کاهش یافت و سپس ثابت ماند. مشاهده شد که برهمکنش بین ویتامین B12 و Mn-dsDNA-CPE حداکثر بود، در حالی که برهمکنش با Mn-CPE حداقل بود. Mn-dsDNA-CPE برای تعیین ویتامین B12 از نمونه‌های ادرار انسان استفاده شد. تکنیک انتخابی SWAsV (ولتامتری سلب آندی موج مربعی) بود. نتایج ثابت کرد که هیچ تداخلی توسط اجزای ماتریس نمونه ایجاد نشده است. بازیابی‌ها بین ۹۹.۲٪ و ۱۰۱.۶٪ است که ثابت می‌کند حسگر در تجزیه و تحلیل زیستی B12 دقیق است. حسگر زیستی پیشنهادی گزینش‌پذیر، ساده، حساس، مقرون به صرفه، دارای محدوده غلظت خطی وسیع و محدودیت‌های تشخیص پایین است.

کاراستوگیانی اس. و گیروسی اس[۵۵]، یک حسگر الکتروشیمیایی برای تشخیص ویتامین B12 (معروف به سیانوکوبالامین) در نمونه‌های دارویی پیشنهاد کردند. پس از افزودن اصلاح‌کننده، از روش CV استفاده شد. در مقایسه با پیک‌های به‌دست‌آمده

برای CPE، که در آن پتانسیل پیک آندی ۱۲۲ میلی‌ولت و پیک کاتدی ۰.۰۰۷ میلی‌ولت بود، برای Mn-CPE، جریان پیک‌های پیک افزایش یافت و پیک آندی از ۱۲۵ میلی‌ولت به ۸۹ میلی‌ولت کاهش یافت. حسگر الکتروشیمیایی پیشنهادی (B12-Mn-CPE) برای تعیین ویتامین B12 با استفاده از ولتامتری موج مربعی (SWV) استفاده شد. ضریب همبستگی برابر با ۰.۹۹۹۸ بود و رابطه خطی بین جریان پیک SWV و غلظت ویتامین B12 از ۱۳.۸۶ تا ۱۵۰۰ نانوگرم در لیتر بود. LOD برابر با ۴.۳۴ نانوگرم در لیتر بود. با استفاده از موادی که به عنوان تداخل کننده در نظر گرفته می‌شوند، گزینش‌پذیری حسگر نیز مورد بررسی قرار گرفت. بازیابی ۱۰۰ نانوگرم در لیتر ویتامین B12 در قرص‌ها، محدوده ۹۵ تا ۱۰۵ درصد را نشان داد. نتایج به دست آمده ثابت کرد که مواد مورد مطالعه تداخلی ایجاد نمی‌کنند. ویتامین A و ویتامین E که به عنوان مهارکننده‌های احتمالی در نظر گرفته می‌شوند، به دلیل اینکه حلالیت آنها در محلول‌های آبی کم است، هیچ تاثیری بر تجزیه و تحلیل انجام شده نداشتند. شارما و همکارانش [۵۶]، حسگری را پیشنهاد کردند که با رسوب نانوذرات اکسید قلع آلاینده شده با طلا (Au-SnO_2) بر روی یک زیرلایه اکسید قلع ایندیوم (ITO) تهیه شده بود. به منظور سنتز نانوذرات اکسید قلع (SnO_2) و Au-SnO_2 ، از روش سل ژل استفاده شد. ترکیب Au با SnO_2 باید با آنالیز پراش انرژی اشعه ایکس (EDX)، طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)، رامان، پراش اشعه ایکس (XRD) (شکل ۲) و سایر تکنیک‌ها تأیید شود. علاوه بر این، مقایسه‌ای از عملکرد الکتروکاتود $\text{Au-SnO}_2/\text{ITO}$ با استفاده از: طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی (EIS)، ولتامتری پالس تفاضلی (CV) و ولتامتری پالس تفاضلی (DPV) انجام شد. به منظور اثبات رفتار الکتروکاتالیستی حسگر اصلاح‌شده نسبت به ویتامین B12، از DPV استفاده شد. برای رفتار الکتروشیمیایی سه الکتروکاتود (Au-SnO_2 و SnO_2/ITO ، ITO)، از CV، EIS و DPV استفاده شد. این آزمایش‌ها در محلول بافر فسفات (PBS) که حاوی ۵ میلی‌مولار $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3+/4+}$ بود، انجام شد. یک سیم پلاتین به عنوان الکتروکاتود شماره‌دهنده عمل کرد و برای الکتروکاتود مرجع، از یک سیم Ag/AgCl استفاده شد. هنگامی که از روش DPV استفاده شد، محدوده پتانسیل زیر اعمال شد: ۰.۶ ولت تا ۰.۶ ولت. برای الکتروکاتود $\text{Au-SnO}_2/\text{ITO}$ ، مقدار جریان (۱۱۱.۲۴ میلی‌آمپر) در مقایسه با الکتروکاتود SnO_2/ITO (۶۳.۴۹ میلی‌آمپر) افزایش یافت، که به دلیل رسانایی فوق‌العاده ناخالصی‌های Au است که قادر به تسریع انتقال الکترون‌ها هستند و در نتیجه منجر به انتشار سریع‌تر الکترون بین الکتروکاتود سطحی و گونه‌های اکسایش-کاهش موجود در الکترولیت می‌شوند. از شیر تازه گاو به عنوان نمونه استفاده شد. دقت تشخیص سایر اجزای نمونه برای همه اندازه‌گیری‌ها به کار گرفته شد. با استفاده از روش DPV، مطالعه جریان مربوط به ۲۰ میلی‌لیتر

از هر غلظت (۰-۱.۵ ۱۰^۳ میلی‌مول در لیتر) انجام شد. نمونه‌های اسپایک شده نیز با مخلوط کردن ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه استاندارد و ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه شیر تهیه شدند.



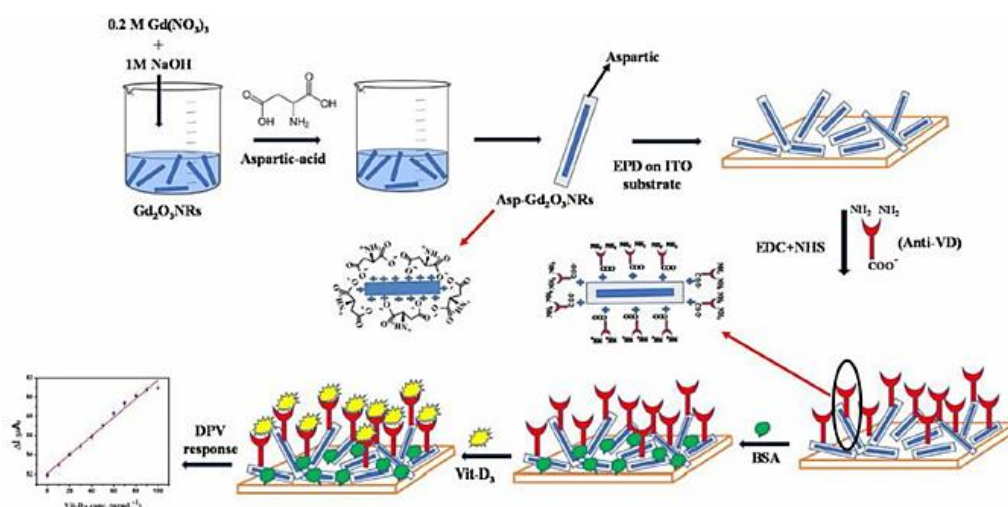
شکل ۲. XRD نانوذرات SnO_2 خالص و نانوذرات SnO_2 آلاینده شده با طلا در محدوده ۲ ساعت از ۲۰ تا ۸۰ درجه [۵۶].

پیرا و همکارانش [۵۷]، استفاده از الکتروکود الماس آلاینده شده با بور را برای پایش جفت اکسایش-کاهش Co(I/II) پیشنهاد کردند. این مطالعه، توسعه روشی را پیشنهاد می‌دهد که نیاز به دخالت یک الکتروکود الماس آلاینده شده با بور پایش تیمار شده کاتدی (BDDE) برای سنجش ویتامین B12 در محصولات مکمل با پایش جفت اکسایش-کاهش Co(I/II) دارد. CV، EIS و SWV برای ارزیابی الکتروکود پیشنهادی استفاده شدند. خمیردندان و قرص‌های مکمل غنی شده با ویتامین B12 به عنوان نمونه برای آزمایش قابلیت کاربرد این الکتروکود استفاده شدند. جفت اکسایش-کاهش Co(I/II) ویتامین B12 به دلیل

این واقعیت که دارای شدت جریان بالاتر و انتقال الکترونیکی سریع‌تری است، پایش شد. هنگام آزمایش در شرایط بهینه، محدوده غلظت خطی ۰.۲۵-۵.۰ میلی‌مول در لیتر به دست آمد.

۶. حسگرهای الکتروشیمیایی مورد استفاده برای تشخیص ویتامین D

چاوهان و همکارانش [۵۸]، یک حسگر زیستی الکتروشیمیایی برای تشخیص ویتامین D₃ پیشنهاد کردند که برای آن از نانومیله‌های اکسید گادولینیوم (Gd₂O₃NRs) استفاده شد. اسید آسپارتیک (Asp) برای سنتز هیدروترمال و عامل‌دار کردن الکتروده (Asp-Gd₂O₃NRs) استفاده شد. علاوه بر این، Asp هیچ تاثیری بر ساختار، فاز و شکل الکتروده پیشنهادی نداشت. پتانسیل زتا (پارامتری که تعادل الکتروشیمیایی را در سطح مشترک ذره-مایع اندازه‌گیری می‌کند) برای هر دو الکتروده دارای مقادیر ۲۹mV برای الکتروده برهنه و ۲۴mV برای الکتروده اصلاح‌شده بود. بین دو الکتروده، الکتروده اصلاح‌شده دارای خاصیت الکتروشیمیایی بهتر و آب‌دوستی افزایش یافته‌تری نسبت به الکتروده برهنه بود. با استفاده از رسوب الکتروشیمیایی، یک لایه نازک از Asp-Gd₂O₃NRs بر روی یک زیرلایه شیشه‌ای که با اکسید قلع ایندیوم (ITO) پوشش داده شده بود، رسوب داده شد (شکل ۳).



شکل ۳. شماتیک ساخت ایمونوالکترودهای Asp-Gd₂O₃NRs/ITO و BSA/Ab-VD/Asp-Gd₂O₃NRs/ITO [۵۸].

به منظور دستیابی به ایمونوسنسور و تعیین ویتامین مورد نظر از محلول خوراکی ویتامین D₃ توسط DPV، یک آنتی‌بادی مونوکلونال ویتامین D₃ (Ab-D₃) بر روی سطح الکترود اصلاح‌شده تثبیت شد. بنابراین، یک ایمونوالکترود جدید به دست آمد: BSA/Ab-VD/Asp-Gd₂O₃NRs (شکل ۳). LOD برابر با ۰.۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر، حساسیت ۰.۳۸ میلی‌آمپر در میلی‌لیتر بر سانتی‌متر مربع و محدوده غلظت خطی ۱۰ تا ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر بود که غلظت فیزیولوژیکی ویتامین D₃ را پوشش می‌دهد. سارکار و همکارانش [۵۹]، نقاط کربنی (CDs) اصلاح‌شده با کیتوسان (CH) را برای به دست آوردن حسگری برای تشخیص ویتامین D₂ از میلک شیک‌ها به کار بردند. برای توصیف CDs، از طیف‌سنجی رامان، میکروسکوپ الکترونی عبوری، طیف‌سنجی UV/VIS و طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوری استفاده شد. به منظور تهیه کامپوزیت نقاط کربنی-کیتوزان (CD-CH)، محلول کیتوسان (۱٪) با استفاده از محلول اسید استیک (۱٪) تهیه شد. پس از تهیه کامپوزیت، با استفاده از روش ریخته‌گری قطره‌ای، روی یک زیرلایه شیشه‌ای ایندیوم-قلع-اکسید (ITO) رسوب داده شد تا حسگری بر اساس BSA/Ab-VD₂/CD-CH/ITO به دست آید. DPV برای تمام اندازه‌گیری‌های Ag-VD₂ با استفاده از شرایط زیر استفاده شد: محدوده پتانسیل ۰.۲ تا ۰.۵ ولت، دامنه پالس ۲۵ میلی‌ولت، گام پتانسیل ۵ میلی‌ولت و دوره پالس ۵۰ میلی‌ثانیه. برای الکترود پیشنهادی، پاسخی در محدوده زیر ثبت شد: ۱-۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر، با استفاده از تکنیک DPV. حد تشخیص (LOD) برابر با ۱.۳۵ نانوگرم در میلی‌لیتر، حساسیت ۰.۲ میلی‌آنگ در میلی‌لیتر بر سانتی‌متر مربع و محدوده خطی بودن ۱۰-۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر بود.

من و همکارانش [۶۰]، از یک الکترود کربن شیشه‌ای که با نانوبلورهای دوفلزی AuPd اصلاح شده بود، برای تشخیص ویتامین‌های D₂ و D₃ استفاده کردند. این دو ویتامین در یک محلول مخلوط آلی/آب با استفاده از الکترود اصلاح شده پیشنهادی تعیین شدند. پاسخ الکتروکاتالیستی ویتامین‌های مورد نظر با استفاده از روش CV، با سرعت اسکن ۵۰ میلی‌ولت بر ثانیه و محدوده پتانسیل ۰.۰-۱.۵ ولت، مشخص شد. محدوده غلظت خطی برای ویتامین D₂ بین ۱ تا ۱۰ میلی‌مول بر لیتر و حد تشخیص ۰.۰۵ میلی‌مول بر لیتر بود. برای ویتامین D₃، محدوده خطی بین ۵ تا ۵۰ میلی‌مول بر لیتر و حد تشخیص ۰.۱۸ میلی‌مول بر لیتر بود. این دو ویتامین در قرص‌های موجود در بازار توسط DPV شناسایی شدند. برای ویتامین‌های D₂ و D₃.

بازیابی به ترتیب بالاتر از ۹۹٪ و ۹۷٪ بود. انوشا [۶۱]، یک نانوحسگر الکتروشیمیایی برای سنجش ویتامین D3 در نمونه‌های خون پیشنهاد کرد. نانوذرات دوفلزی، که توسط نیکل و مس و فولرن-C60 نشان داده می‌شوند، به کار گرفته شدند. یک الکتروکربن شیشه‌ای با استفاده از روش ریخته‌گری قطره‌ای با فولرن-C60 اصلاح شد؛ پس از انجام این اصلاح، نانوذرات مس (CuNPs) و نانوذرات نیکل (NiNPs) روی سطح الکتروکود اصلاح‌شده جدید رسوب داده شدند. LOD برابر با ۰.۰۲۵ میلی‌مول در لیتر و محدوده غلظت از ۱.۲۵ تا ۴۷۵ میلی‌مول در لیتر بود. با توجه به اینکه ویتامین D3 در آب محلول نیست، تأثیر حلال‌های مختلف بررسی شد. در نمونه‌های سرم و ادرار، بازیابی بالاتر از ۹۸٪ و در قرص‌ها، بازیابی بالاتر از ۹۶٪ بود. حسگر پیشنهادی با موفقیت برای تعیین ویتامین D3 از نمونه‌های دارویی و بیولوژیکی با استفاده از SWV به کار گرفته شد.

۷. حسگرهای الکتروشیمیایی مورد استفاده برای تشخیص ویتامین K

جساده‌باندیت و همکارانش [۶۲]، الکترودهای چاپ شده با صفحه کربنی و گرافیتی را برای تعیین کل ویتامین K (ویتامین K1 و ویتامین K2) در نمونه‌های طبیعی پیشنهاد کردند. تفاوت بین دو نوع الکتروکود مورد استفاده برای این مطالعه با این واقعیت بیان می‌شود که ماده گرافیتی رسانایی بهتری نسبت به ماده کربنی ارائه می‌دهد و بر این اساس، نتایج بسیار بهتر از نتایج حاصل از استفاده از مواد کربنی برای طراحی الکتروکود بود. در مقایسه با الکتروکود کربنی چاپ‌شده با صفحه (SPCE)، الکتروکود گرافیتی چاپ‌شده با صفحه (SPGE) حساسیت بالاتری نسبت به تعیین ویتامین K نشان داد. LOD در ۰.۰۹۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. رفتار الکتروشیمیایی مخلوطی از ویتامین K1 و ویتامین K2، در محلول بافر فسفات با pH 3.0 و اتانول (۶۰:۴۰) با استفاده از SPCE و SPGE با استفاده از CV با سرعت اسکن ۱۰۰ میلی‌ولت بر ثانیه و در محدوده: ۱.۰ ولت تا ۰.۲ ولت بررسی شد. جریان پس‌زمینه هنگام استفاده از SPGE در مقایسه با SPCE کمتر بود. CV دو الکتروکود نیز در حضور ویتامین K مورد مطالعه قرار گرفت. در حالی که SPGE به وضوح دو پیک کاتدی و آندی با جریان پیک بسیار بالاتر ارائه داد، SPCE یک پیک آندی پهن در ۰.۱۲۳ ولت نشان داد. مزایای استفاده از آن شامل هزینه‌های پایین، تجزیه و تحلیل سریع، حساسیت بالا، سادگی و حجم کم نمونه‌های سنجش شده توسط SWASV است. LOD 0.099 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و محدوده خطی ۱ تا ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

۸. روش‌های الکتروشیمیایی در مقابل سایر روش‌های تحلیلی

روش‌های تحلیلی استاندارد، مانند HPLC، تشخیص‌های فلورسانس، تکنیک‌های میکروبیولوژیکی و الکتروفورز ناحیه مویرگی (CZE) [۶۳]، که برای سنجش ویتامین‌ها از محصولات دارویی، مواد غذایی یا نمونه‌های بیولوژیکی استفاده می‌شوند، زمان‌بر، گران، دارای رویه‌های عملیاتی پیچیده و نیاز به مقدار زیادی نمونه هستند. برای تشخیص سریع و حساس ویتامین‌ها، روش‌های الکتروشیمیایی جایگزین مناسبی هستند، زیرا این روش‌ها به مقدار کمی نمونه نیاز دارند و اصل کار ساده است.

۹. نتیجه‌گیری

این بررسی کوتاه برخی از جدیدترین حسگرهای الکتروشیمیایی را برای تشخیص ویتامین‌های محلول در آب و چربی شرح داد. حسگرهای پیشنهادی می‌توانند برای تشخیص این ویتامین‌ها در انواع مختلف نمونه‌ها، مانند نمونه‌های بیولوژیکی، غذایی و دارویی، مورد استفاده قرار گیرند. با توجه به حساسیت و گزینش‌پذیری بالا، بازیابی خوب و مقرون‌به‌صرفه بودن، این حسگرهای الکتروشیمیایی جایگزین خوبی برای روش‌های استاندارد تجزیه و تحلیل (مانند HPLC) هستند که برای تعیین ویتامین‌ها در نمونه‌های مختلف استفاده می‌شوند.

References

- [1] Robert Horton ,H.; Moran, L.;Ochs,R.;Rawn, J.; Scrimgeour, K. Principles of Biochemistry. 2nd ed.; Prentice-Hall: New Jersey,1996.
- [2] Kodama, K.; Suzuki, M.; Toyosawa, T.; Araki, S. Inhibitory Mechanisms of Highly Purified VitaminB2 on the Productions of Proinflammatory Cytokine and NO in Endotoxin-Induced Shock in Mice.LifeSci.2005,78,134–139.
- [3] Scholte,H.R.;Busch,H. F.M.;Bakker,H.D.;Bogaard, J.M.; Luyt-Houwen, I. E. M.; Kuyt, L. P. Riboflavin-Responsive Complex I Deficiency. Biochim. Biophys. Acta 1995, 1271, 75–83.

- [4] Nie, T.; Zhang, K.; Xu, J.; Lu, L.; Bai, L. A Facile One-Pot Strategy for the Electrochemical Synthesis of Poly (3, 4 Ethylenedioxythiophene)/Zirconia Nano composite as an Effective Sensing Platform for Vitamins B2, B6 and C. *J. Electroanal. Chem.* 2014, 717, 1–9.
- [5] Stankovic, D.M.; Kuzmanovic, D.; Mehmeti, E.; Kalcher, K. Sensitive and Selective Determination of Riboflavin (Vitamin B2) Based on Boron-Doped Diamond Electrode. *Monatsh. Chem.* 2016, 147, 995–1000.
- [6] Perez-Ruiz, T.; Martinez-Lozano, C.; Sanz, A.; Tomas, V. Photokinetic Determination of Riboflavin and Riboflavin 5' Phosphate Using Flow Injection Analysis and Chemiluminescence Detection. *Analyst* 1994, 119, 1825–1828.
- [7] Llorent-Martinez, E. J.; Ortega-Barrales, P.; Molina-Diaz, A. Sequential Injection Multi-Optosensor Based on a Dual Luminescence System Using Two Sensing Zones: Application to Multivitamin Determination. *Microchim. Acta* 2008, 162, 199–204.
- [8] Romeu-Nadal, M.; Morera-Pons, S.; Castellote, A. I.; Lopez Sabater, M. C. Rapid High-Performance Liquid Chromatographic Method for Vitamin C Determination in Human Milk versus an Enzymatic Method. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2006, 830, 41–46.
- [9] Wirkus, D.; Jakubus, A.; Owczuk, R.; Stepnowski, P.; Paszkiewicz, M. Development and Application of Novelty Pretreatment Method for the Concurrent Quantitation of Eleven Water-Soluble B Vitamins in Ultra filtrates after Renal Replacement Therapy. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2017, 1043, 228–234.
- [10] Moreno, P.; Salvado, V. Determination of Eight Water- and Fat-Soluble Vitamins in Multi-Vitamin Pharmaceutical Formulations by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A* 2000, 870, 207–215.
- [11] Gu, H. Y.; Yu, A.M.; Chen, H. Y. Electrochemical Behavior and Simultaneous Determination of Vitamin B2, B6 and C Electrochemically Pretreated Glassy Carbon Electrode. *Anal. Lett.* 2001, 34, 2361–2374.

- [12] Ghasemi, J.; Vosough, M. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Folic Acid, Thiamin, Riboflavin, and Pyridoxal Using Partial Least-Squares Regression Method. *Spectrosc.Lett.* 2002, 35, 153–169.
- [13] N. Mohamed, A. M. I.; Mohamed, H. A.; Abdel-Latif, N.M.; Mohamed, M.R.A. Spectrofluorimetric Determination of Some Water-Soluble Vitamins. *J AOAC Int.* 2011, 94, 1758–1769.
- [14] Sun, J.; Ren, C.; Liu, L.; Chen, X. Cd Te Quantum Dots as Fluorescence Sensor for the Determination of Vitamin B6 in Aqueous Solution. *Chin. Chem. Lett.* 2008, 19, 855–859.
- [15] Snell, E. E.; Haskell, B. E. The metabolism of vitamin B-6. *Comp.Biochem.* 1971, 21, 47–71.
- [16] Ensiyeh, J.; Sakineh, M.A.C. Comparing Ginger and Vitamin B6 for the Treatment of Nausea and Vomiting in Pregnancy :A randomised controlled trial. *Midwifery* 2009, 25, 649–653.
- [17] Niebyl, J.R.; Goodwin, T.M. Overview of nausea and vomiting with an emphasis on vitamins and ginger. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2002, 186, S253-S255.
- [18] Jamigorn, M.; Phupong, V. Acupressure and Vitamin B6 to Relieve Nausea and Vomiting in Pregnancy: A Randomized Study. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2007, 276, 245–249.
- [19] Bijad, M.; Karimi-Maleh, H.; Farsi, M.; Shahidi, S. A. An Electrochemical-Amplified-Platform Based on the Nanostructure Voltametric Sensor for the Determination of Carmoisine in the Presence of Tartrazine in Dried Fruit and Soft Drink Samples. *Food Measure* 2018, 12, 634–640.
- [20] Eren, T.; Atar, N.; Yola, M. L.; Karimi-Maleh, H. A Sensitive Molecularly Imprinted Polymer Based Quartz Crystal Microbalance Nano sensor for Selective Determination of Lovastatin in red yeast rice. *Food Chem.* 2015, 185, 430–436.

- [21] Cheraghi, S.; Taher, M.A.; Karimi-Maleh, H. Highly Sensitive Square Wave Voltammetric Sensor Employing CdO/SWCNTs and Room Temperature Ionic Liquid for Analysis of Vanillin and Folic Acid in Food Samples. *J. Food Compos. Anal.* 2017, 62, 254–259.
- [22] Bijad, M.; Karimi-Maleh, H.; Khalilzadeh, M.A. Application of ZnO/CNTs Nanocomposite Ionic Liquid Paste Electrode as a Sensitive Voltammetric Sensor for Determination of Ascorbic Acid in Food Samples. *Food Anal. Methods* 2013, 6, 1639–1647.
- [23] Shamsadin-Azad, Z.; Taher, M.A.; Cheraghi, S.; Karimi-Maleh, H. A Nano structure Voltammetric Platform Amplified with Ionic Liquid for Determination of Tert-Butylhydroxyanisole in the Presence of Kojic Acid. *Food Measure* 2019, 13, 1781–1787.
- [24] Herbert, V. Folic Acid. *Annu. Rev. Med.* 1965, 16, 359–370. DOI:10.1146/annurev.me.16.020165.002043. [25] Nagaraja, P.; Vasantha, R. A.; Yathirajan, H. S. Spectrophotometric Determination of Folic Acid in Pharmaceutical Preparations by Coupling Reactions with Iminodibenzyl or 3-aminophenol or sodium molybdate-pyrocatechol. *Anal. Biochem.* 2002, 307, 316–321.
- [26] Dietrich, M.; Brown, C. J. P.; Block, G. The Effect of Folate Fortification of Cereal-Grain Products on Blood Folate Status, Dietary Folate Intake, and Dietary Folate Sources among Adult Non-Supplement Users in the United States. *J. Am. Coll. Nutr.* 2005, 24, 266–274.
- [27] Breithaupt, D. E. Determination of Folic Acid by Ion-Pair RP HPLC in Vitamin-Fortified Fruit Juices after Solid-Phase Extraction. *Food Chem.* 2001, 74, 521–525.
- [28] Kou, Y.; Lu, J.; Jiang, X.; Tian, B.; Xue, Y.; Wang, M.; Tan, L. Electrochemical Determination of Vitamin B12 Based on Cu₂p Involved Fenton-like Reaction. *Electroanalysis* 2019, 31, 1155–1163.
- [29] Bandzuchova, L.; Selesovska, R.; Navratil, T.; Chylkova, J. Silver Solid Amalgam Electrode as a Tool for Monitoring the Electrochemical Reduction of Hydroxocobalamin. *Electroanalysis* 2013, 25, 213–222.

- [30] Jia, Y.; Hu, Y.; Li, Y.; Zeng, Q.; Jiang, X.; Cheng, Z. Boron Doped Carbon Dots as a Multifunctional Fluorescent Probe for Sorbate and Vitamin B12. *Mikrochim. Acta* 2019, 186, 84.
- [31] Kumar, S. S.; Chouhan, R. S.; Thakur, M. S. Trends in Analysis of Vitamin B12. *Anal. Biochem.* 2010, 398, 139–149.
- [32] Lichtenstein, A.; Ferreira Junior, M.; Sales, M. M.; de Aguiar, F. B.; Fonseca, L. A. M.; Sumita, N. M.; Duarte, A. Vitamin D: Non-Skeletal Actions And Rational Use. *Rev. Assoc. Med. Bras.* (1992) 2013, 59, 495–506.
- [33] Schmid, A.; Walther, B. Natural Vitamin D Content in Animal Products. *Adv. Nutr.* 2013, 4, 453–462.
- [34] Dawson-Hughes, B.; Heaney, R. P.; Holick, M. F.; Lips, P.; Meunier, P. J.; Vieth, R. Estimates of Optimal Vitamin D Status. *Osteoporos. Int.* 2005, 16, 713–716.
- [35] Ganji, V.; Milone, C.; Cody, M. M.; McCarty, F.; Wang, Y. T. Serum Vitamin D Concentrations Are Related to Depression in Young Adult US Population: The Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Int. Arch. Med.* 2010, 3, 29.
- [36] Knekt, P.; Kilkkinen, A.; Rissanen, H.; Marniemi, J.; Salonen, J.; Heliovaara, M. Serum Vitamin D and the Risk of Parkinson Disease. *Arch. Neurol.* 2010, 67, 808–811.
- [37] Hajiluian, G.; Nameni, G.; Shahabi, P.; Mesgari-Abbasi, M.; Sadigh-Eteghad, S.; Farhangi, M. Vitamin D Administration, Cognitive Function, Blood Pressure permeability and Neuroinflammatory Factors in High-Fat Diet-Induced Obese Rats. *Int. J. Obes. (Lond)* 2017, 41, 639–644.
- [38] Talaei, A.; Mohamadi, M.; Adgi, Z. The Effect of Vitamin D on Insulin Resistance in Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetol. Metab. Syndr.* 2013, 5, 8.
- [39] Mozos, I.; Marginean, O. Extra skeletal Functions of Vitamin D. *Bio. Med. Res. Int* 2015, 2015, 1–12.
- [40] Lavie, C. J.; Lee, J. H.; Milani, R. V. Vitamin D and Cardiovascular Disease Will It Live Up to Its Hype. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2011, 58, 1547–1556.

- [41] Palermo, A.; Tuccinardi, D.; D'Onofrio, L.; Watanabe, M.; Maggi, D.; Maurizi, A. R.; Greto, V.; Buzzetti, R.; Napoli, N.; Pozzilli, P.; Manfrini, S. Vitamin K and Osteoporosis: Myth or Reality? *Metabolism* 2017, 70, 57–71.
- [42] Vermeer, C.; Braam, L. Role of K Vitamins in the Regulation of Tissue Calcification. *J. Bone Miner. Metab.* 2001, 19, 201–206.
- [43] Swanson, J. C.; Suttie, J. W. Vitamin K Dependent in Vitro Production of Prothrombin. *Biochemistry* 1982, 21, 6011–6018.
- [44] Stenflo, J. Vitamin K and the Bio synthesis of Prothrombin. IV. Isolation of Peptides Containing Prosthetic Groups from Normal Prothrombin and the Corresponding Peptides from Dicoumarol-Induced Prothrombin. *J. Biol. Chem.* 1974, 249, 5527–5535.
- [45] Marchili, M. R.; Santoro, E.; Marchesi, A.; Bianchi, S.; Aufiero, L. R.; Villani, A. Vitamin K Deficiency: A Case Report and Review of Current Guidelines. *Ital. J. Pediatr.* 2018, 44, 1–5.
- [46] Phillippi, J. C.; Holley, S. L.; Morad, A.; Collins, M. R. Prevention of Vitamin K Deficiency Bleeding. *J. Midwifery Womens Health* 2016, 61, 632–636.
- [47] Li, P.; Liu, Z.; Yan, Z.; Wang, X.; Akinoglu, E. M.; Jin, M.; Zhou, G.; Shui, L. An Electrochemical Sensor for Determination of Vitamin B2 and B6 Based on AuNPs@PDA RGO Modified Glassy Carbon Electrode. *J. Electrochem. Soc.* 2019, 166, B821–B829.
- [48] Puangjan, A.; Chaiyasith, S.; Taweeporngitgul, W.; Keawteo, J. Application of Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotubes Supporting Cuprous Oxide and Silver Oxide Composite Catalyst on Copper Substrate for Simultaneous Detection of Vitamin B2, Vitamin B6 and Ascorbic Acid. *MSC* 2017, 76, 383–397.
- [49] Vijayaprasath, G.; Habibulla, I.; Dharuman, V.; Balasubramanian, S.; Ganesan, R. Fabrication of Gd₂O₃ Nano sheet-Modified Glassy Carbon Electrode for Nonenzymatic Highly Selective Electrochemical Detection of Vitamin B2. *ACS Omega* 2020, 5, 17892–17899.

- [50] Sangili, A.; Veerakumar, P.; Chen, S.M.; Rajkumar, C.; Lin, K. C. Voltammetric Determination of Vitamin B2 by Using a Highly Porous Carbon Electrode Modified with Palladium Copper Nanoparticles. *Mikrochim. Acta* 2019, 186, 299.
- [51] Sadeghi, H.; Shahidi, S.A.; Raeisi, N.; Saraei, A.G.H.; Karimi, F. Electrochemical Determination of Vitamin B6 in Water and Juice Samples Using an Electrochemical Sensor Amplified with NiO/CNTs and Ionic Liquid. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2020, 15, 10488–10498.
- [52] Sharma, A.; Arya, S. Economical and Efficient Electrochemical Sensing of Folic Acid Using a Platinum Electrode Modified with Hydrothermally Synthesized Pd and Ag Co-Doped SnO₂ Nanoparticles. *J. Electrochem. Soc.* 2019, 166, B1107–B1115.
- [53] Yuan, M. M.; Zou, J.; Huang, Z. N.; Peng, D. M.; Yu, J. G. PtNPs-GNPs-MWCNTs-b-CD Nanocomposite Modified Glassy Carbon Electrode for Sensitive Electrochemical Detection of Folic Acid. *Anal. Bioanal. Chem.* 2020, 412, 2551–2564.
- [54] Dimitropoulou, G.; Karastogianni, S.; Grousi, S. Development of an Electrochemical DNA Biosensor for the Detection of Vitamin B12 (Cyanocobalamin) at a Carbon Paste Modified Electrode with a Manganese(II) Complex. *J. Appl. Bioanal.* 2017, 3, 70–80. DOI: 10.17145/jab.17.011.
- [55] Karastogianni, S.; Grousi, S. Square Wave Voltammetric (SWN) Determination of Cyanocobalamin (Vitamin B12) in Pharmaceuticals and Supplements on a Carbon Paste Electrode (CPE) Modified by a Manganese(II) Polymeric Film. *Anal. Lett.* 2021, 55, 1–12.
- [56] Sharma, A.; Arya, S.; Chauhan, D.; Solanki, P. R.; Khajuria, S.; Khosla, A. Synthesis of Au-SnO₂ Nanoparticles for Electrochemical Determination of Vitamin B12. *J. Mater. Res. Technol.* 2020, 9, 14321–14337.
- [57] Pereira, D. F.; Santana, E. R.; Piovesan, J. V.; Spinelli, A. A Novel Electrochemical Strategy for Determination of Vitamin B12 by Co(I/II) Redox Pair Monitoring with Boron-Doped Diamond Electrode. *Diam. Relat. Mater.* 2020, 105, 107793.

- [58] Chauhan, D.; Kumar, R.; Panda, A. K.; Solanki, P. R. An Efficient Electrochemical Biosensor for Vitamin-D3 Detection Based on Aspartic Acid Functionalized Gadolinium Oxide Nanorods. *J. Mater. Res. Technol.* 2019, 8, 5490–5503.
- [59] Sarkar, T.; Bohidar, H. B.; Solanki, P. R. Carbon Dots-Modified Chitosan Based Electrochemical Biosensing Platform for Detection of Vitamin D. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018, 109, 687–697.
- [60] Men, K.; Chen, Y.; Liu, J.; Wei, D. Electrochemical Detection of Vitamin D2 and D3 Based in a Au-Pd Modified Glassy Carbon Electrode. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2017, 12, 9555–9564.
- [61] Anusha, T.; Bhavani, K. S.; Kumar, J. S.; Brahman, P. K. Designing and Fabrication of Electrochemical Nanosensor Employing Fullerene-C60 and Bimetallic Nanoparticles Composite Film for the Detection of Vitamin D3 in Blood Samples. *Diam. Relat. Mater.* 2020, 104, 107761.
- [62] Jesadabundit, W.; Chaiyo, S.; Siangproh, W.; Chailapakul, O. Simple and Cost-Effective Electrochemical Approach for Monitoring of Vitamin K in Green Vegetables. *ChemElectroChem* 2020, 7, 155–162.
- [63] Matuskova, M.; Cizmarova, I.; Chalova, P.; Mikus, P.; Piestansky, J. Rapid and Simple CZE-UV Method for Quality Control of B1 and B6 Vitamins in Drugs and Dietary Supplements. *Eur. Pharmaceut. J.* 2021, 68, 59–62.