

# L-Sistein Tayini için Çiçek Benzeri DOPANFs Modifiye Kalem Grafit Elektroda Dayalı Basit Bir Elektrokimyasal Sensör

Mükerrem FINDIK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Melikşah Mh. Ulusöz Sk. 8/17, 42090, Konya, Türkiye

Sorumlu yazar e-posta: mmukerrem@gmail.com

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-9441-0814>

Geliş Tarihi: 21.08.2023

Kabul Tarihi: 02.10.2023

## Öz

### Anahtar Kelimeler

Hibrit nanoçiçek;  
Kalem grafit elektrot;  
L-sistein;  
Elektrokimyasal sensör

L-sisteinin (L-Cys) elektrokimyasal tayini için yeni bir tek kullanımlık çiçek benzeri DOPANFs modifiye edilmiş kalem grafit elektrot üretildi. DOPANFs'in yapısı SEM, EDX, FTIR ve XPS analizleri ile karakterize edildi. Karakterizasyon, DOPANFs'in üç boyutlu hiyerarşik çiçek benzeri bir yapı sergilediğini göstermiştir. DOPANFs modifiye kalem grafit elektrotun (PGE) elektrokimyasal özelliği döngüsel voltametri (CV) tekniği ile incelendi. L-Cys tayini için diferansiyel puls voltametri (DPV) tekniği kullanılarak daha hassas ölçümler yapıldı. L-Cys için 1-20 µM doğrusal aralığında tayin sınırı 0.989 µM olarak hesaplandı.

## A Simple Electrochemical Sensor Based on Flower-like DOPANFs Modified Pencil Graphite Electrode for L-Cysteine Determination

### Abstract

### Keywords

Hybrid nanoflowers;  
Pencil graphite  
electrode; L-cysteine;  
Electrochemical sensor

A novel disposable flower-like DOPANFs modified pencil graphite electrode for the electrochemical determination of L-cysteine (L-Cys) has been fabricated. The structure of DOPANFs was characterised by SEM, EDX, FTIR and XPS analyses. The characterization showed that DOPANFs exhibited a three-dimensional hierarchical flower-like structure. The electrochemical property of DOPANFs modified pencil graphite electrode (PGE) was investigated by cyclic voltammetry (CV) technique. More sensitive measurements were made by using differential pulse voltammetry (DPV) technique for L-Cys determination. The limit of detection for L-Cys in the linear range 1-20 µM was calculated as 0.989 µM.

© Afyon Kocatepe Üniversitesi

### 1. Giriş

Biyomoleküller doğal sistemde küresel bir öneme sahiptir ve klinik, biyolojik, biyoteknolojik ve biyokimyasal alanlarda önemli bir rol oynamaktadır (Arul vd. 2022, Zaeifi vd. 2022). L-Cys, biyolojik sistemlerde molekül içi çapraz bağlanmayı sağlayan ve disülfid bağları yoluyla proteinlerin ikincil yapılarını ve işlevlerini destekleyen, insan vücudunda üretilen yaklaşık 20 amino asitten biridir (Atacan 2019, Manibalan vd. 2022). L-Cys, romatoid artrit, lizozomal anormallikler, sistinüri, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (Kalinke vd. 2022, Kurniawan vd. 2019, Huang vd. 2022). Bu nedenle, L-Cys için basit bir tespit yönteminin geliştirilmesi klinik ve biyolojik çalışmalar için büyük önem taşımaktadır.

Son yıllarda L-Cys miktarını belirlemek için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bunlar yüksek performanslı sıvı kromatografisi, kapiler elektroforez, kemilüminesans ve floresans gibi tekniklerdir. Fakat bu tekniklerin yerinde analiz yapamama, pahalı cihaz gereksinimi, karmaşık ve uzun analiz süresi gibi birçok dezavantajı vardır (Tao vd. 2012, Kubalczyk vd. 2014, Liu vd. 2014, Malkondu ve Erdemir 2022). Elektrokimyasal metot ise düşük maliyet, basitlik, yüksek hassasiyet, minyatürleştirme ve kolay kullanım gibi çeşitli faydaları nedeniyle L-Cys'in tespiti için tercih edilmektedir (Yang vd. 2021, Jerome vd. 2020, Cao vd. 2018).

L-Cys tayini için şimdiye kadar birçok elektrokimyasal sensör rapor edilmiştir. Bu sensörlerin destek malzemesi olarak sıfır boyutlu

(0D) morfolojiye sahip nanopartiküllerden, 1D yapılaraya sahip nanoçubuklara ve 2D yapılaraya sahip nanotabakalara, yapı taşları olarak 2D nanomalzemeler ile oluşturulmuş 3D hiyerarşik olarak yapılandırılmış malzemelere kadar çeşitli nanoyapılı malzemeler tasarlanmıştır (dos Santos Silva vd. 2013, Gallo vd. 2014, gev d. 2012, Wang vd. 2016, Kazemi vd. 2016, Hosseini vd. 2013). Bununla birlikte, bu nanomalzemelerin uygulanmasında karmaşık prosedürler, yüksek maliyetler ve özellikle karmaşık numuneler tespit edildiğinde zayıf tekrarlanabilirlik ve miktar belirleme gibi birçok dezavantaj da gözlemlenmiştir. Bu nedenle 3D hiyerarşik yapıya sahip çiçek benzeri nanomalzemeler, mükemmel katalitik özellikleri nedeniyle endüstriyel biyokataliz ve biyosensörler gibi çeşitli çalışma alanlarında çok çeşitli biyoteknoloji uygulamaları sağladığı için tercih edilmektedir (He vd. 2016, Lee vd. 2015). Özellikle hibrit nanoçiçeklerin hazırlanması açısından, mevcut birçok nanomalzemeye kıyasla, düşük üretim maliyetinin yanı sıra yüksek verimlilik, kolay üretim ve biyoyumluluk gibi avantajları da vardır (Cui ve Jia 2017, Findik 2023). Daha geniş bir spesifik yüzey alanına sahip üç boyutlu nanoçiçekler, daha fazla sayıda immobilizasyon sağladıkları için gelişmiş algılama verimliliği sağlar (Yang vd. 2022).

Bu zamana kadar L-cys tayini için 3D hiyerarşik yapıya sahip çiçek benzeri nanomalzeme destekli elektrokimyasal sensör geliştirilmemiştir. Bu çalışmayla bu alana bir yenilik getirilmesi düşünülmüştür. Bu çalışmada, organik bileşen olarak L-DOPA ve inorganik bileşen olarak  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$  kullanılarak organik-inorganik hibrit nanoçiçekler (DOPANFs) sentezlenmiştir. Sentezlenen DOPANFs ile PGE yüzeyi modifiye edilerek yeni bir elektrokimyasal nanosensör geliştirilmiştir. Geliştirilen bu nanosensör L-Cys tayini için kullanılmış ve hassas ve kararlı bir sensör üretildiği kanıtlanmıştır.

## 2. Materyal ve Metod

### 2.1 Kimyasallar

Çalışmada kullanılan bütün kimyasallar analitik reaktif sınıfındadır. Tüm sulu çözeltiler ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır. 3,4-Dihidroksi-L-fenilalanin (L-DOPA) ve L-sistein hidroklorür Sigma

Aldrich'ten satın alınmıştır.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , KCl, NaOH,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  ve  $\text{CH}_3\text{COOH}$  Merck'ten satın alınmıştır.

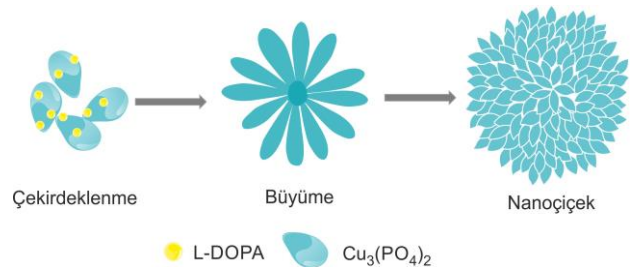
### 2.2 Analiz cihazları

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile elde edilen görüntü, 10.00 kX büyütme ve 20 kV hızlandırma voltajında bir Hitachi SU 1510 kullanılarak incelenmiştir. Numunenin bileşimi enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) kullanılarak incelenmiştir. ATR-FTIR spektrometresi (Perkin Elmer 100) kullanılarak, sentezlenen ürünün yapısal analizi 4000 ve  $500 \text{ cm}^{-1}$  arasında karakterize edilmiştir. X-ışını Fotoelektron Spektrometresi (XPS) analizi K-Alpha X-ışını Fotoelektron Spektrometresi (Thermo Scientific, ABD) ile yapılmıştır.

CV ve DPV ölçümleri için IVIUM-CompactStat potansiyostat (Ivium Technologies, Hollanda) kullanılmıştır. Tüm testler üç elektrotlu sistemle yapılmıştır: karşı elektrot olarak platin tel, referans elektrot olarak Ag/AgCl/3 M KCl (BAS, Model RE-5B, W. Lafayette, ABD) ve çalışma elektrodu olarak kalem grafit elektrot (PGE, Tombow 0,5 2B, Tokyo, Japonya) kullanılmıştır.

### 2.3 L-DOPA nanoçiçeklerin (DOPANFs) hazırlanması

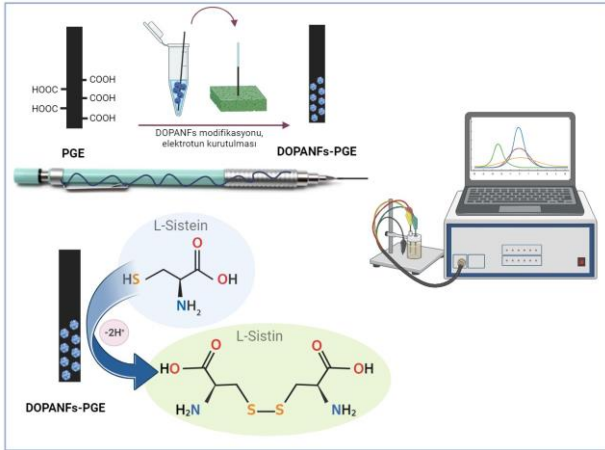
DOPANFs daha önceki bir protokole göre ilk kez sentezlendi (Findik vd. 2021<sup>a</sup>, Findik vd. 2021<sup>b</sup>). Öncelikle  $\text{CuSO}_4$  çözeltisi (20 mL, 120 mM), 20 mM PBS'de (pH 7,4) hazırlanan L-DOPA (60 mL) çözeltisine yavaş yavaş ilave edildi. Üç gün bekletildikten sonra elde edilen mavi ürün santrifüjde (10.000 rpm, 20 d) deiyonize su ile üç kez yıkandı ve 40 °C'de vakumlu etüvde kurutuldu. DOPANFs sentez sürecinin gösterimi Şema 1'de verilmiştir.



Şema 1. DOPANFs oluşumunun şematik gösterimi.

## 2.4 DOPANFs modifiye tek kullanımlık kalem grafit elektrotun (DOPANFs-PGE) hazırlanması

Modifikasyon öncesinde PGE, yüzeyi aktive etmek için asetat tampon çözeltisi (ABS; pH 4,8) içinde +1,4 V potansiyel ile 30 saniye boyunca ön işleme tabi tutulmuştur. Ardından, modifikasyon için her bir PGE pasif adsorpsiyon tekniği kullanılarak 30 dakika boyunca 100 µL DOPANFs çözeltisi (1 mg/mL) içeren şişelere daldırılmıştır. Bu aşamada yüzeyi karboksillenmiş elektrotun DOPANFs yapısında bulunan -NH<sub>2</sub> grupları ile etkileşime girebilmesi sağlanmıştır. DOPANFs ile modifiye edilmiş PGE daha sonra kuruması için 10 dakika boyunca yukarı doğru bir konuma yerleştirilmiştir. Şema 2'de, PGE yüzeyinin DOPANFs ile modifikasyonunun şematik gösterimi verilmiştir.



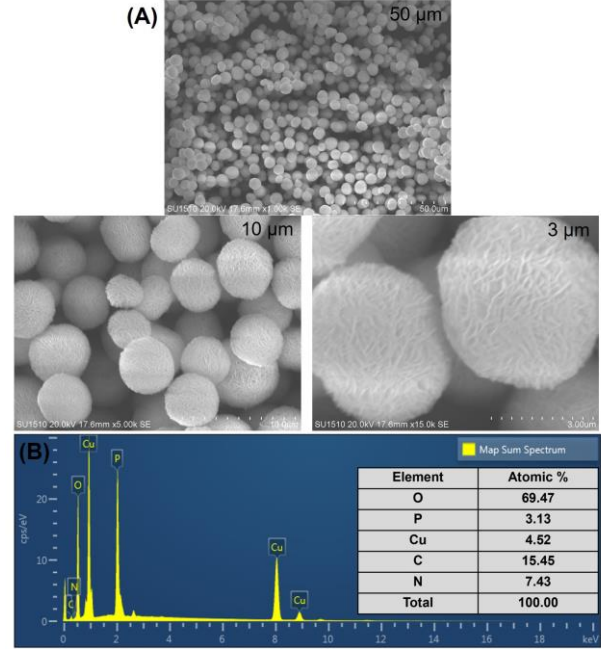
**Şema 2.** DOPANFs-PGE hazırlanması ve DOPANFs-PGE kullanılarak L-Cys'nin elektrokimyasal tespiti ve oksidasyon reaksiyonunun şematik gösterimi.

## 3. Bulgular

### 3.1 DOPANFs'nin karakterizasyonu

DOPANFs'nin morfolojisi SEM ve EDX teknikleri ile incelenmiştir. SEM (Şekil 1A) analizi, sentezlenen DOPANFs'nin 3D hiyerarşik mimariye, küresel ve çiçek benzeri bir oluşuma sahip olduğunu göstermektedir (Findık vd. 2021<sup>a</sup>, Findık vd. 2021<sup>b</sup>, Koca vd. 2023, Karslı vd. 2023, Liang vd. 2023). Ayrıca, tek bir nanoçiçeğin büyütülmüş görüntüsü, yapıdaki nanopedalleri açıkça sunmaktadır. Bu da malzemeye geniş bir yüzey alanı kazandırmaktadır. DOPANFs'nin element bileşimini doğrulamak için EDX analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 1B). Analizin

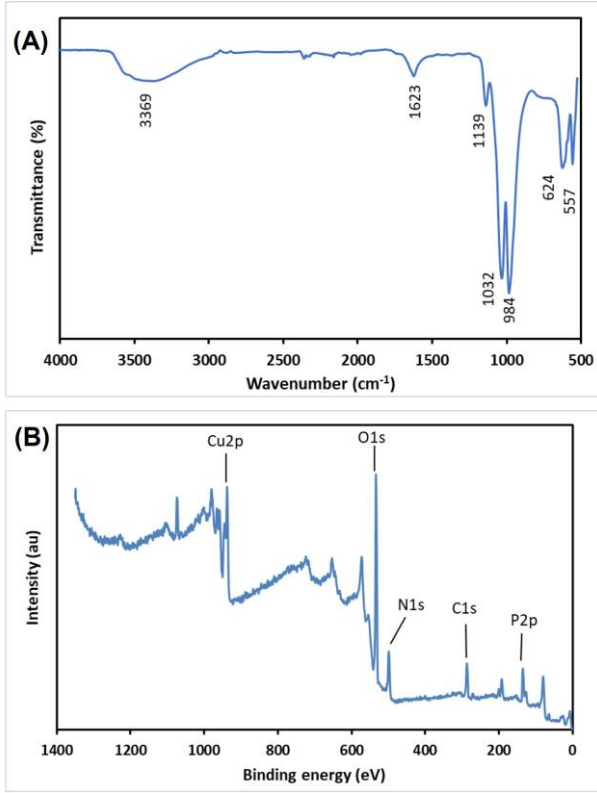
sonucu, nanoçiçeklerdeki Cu<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> ve L-DOPA bileşenlerinin öncelikle O, Cu, P ve N elementlerinden oluştuğunu ortaya koymaktadır (Findık vd. 2021<sup>a</sup>, Findık vd. 2021<sup>b</sup>, Karslı vd. 2023, Koca 2022).



**Şekil 1.** DOPANFs'a ait (A) SEM görüntüleri (a, b, c-farklı çözünürlükler) ve (B) EDX spektrumu

DOPANFs'nin FTIR spektrumu organik-inorganik hibrit nanoçiçeklerin tipik karakteristik absorpsiyon bantlarını içermektedir (Şekil 2A). Örneğin, 1139 ve 1032 cm<sup>-1</sup>'deki absorpsiyon bantları sırasıyla P = O ve P - O titreşimlerine atfedilir. 624 ve 557 cm<sup>-1</sup>'deki pikler PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> iyonunun varlığını gösteren O = P - O köprü grubunun pikleridir (Koca vd. 2023, Kılıç vd. 2023). L-DOPA'nın N - H pikleri de 3000-3600 cm<sup>-1</sup> bölgesindeki geniş pik ve 1623 cm<sup>-1</sup>'deki keskin pik ile ilişkilendirilmiştir (Saylam vd. 2021).

XPS analiz spektrumu (Şekil 2B), DOPANFs'in esas olarak Cu, P, O, C ve N'den oluştuğunu ortaya koymaktadır. Cu<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>'in Cu2p ve P2p sinyalleri 937,0 ve 133,0 eV'de görülürken, L-DOPA'nın N1s ve C1s sinyalleri 497,0 ve 289,0 eV'da görülmektedir (Findık vd. 2021<sup>a</sup>, Findık vd. 2021<sup>b</sup>, Yu vd. 2019). Ayrıca, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>'e ait O1s piki 534,0 eV'da gözlenmiştir (Yang vd. 2022). Yapısal ve morfolojik karakterizasyonlar sonucu, oluşan nanoçiçeklerin L-DOPA ve Cu<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O'dan oluştuğu kanıtlanmıştır.



Şekil 2. DOPANFs'a ait (A) FTIR spektrumu ve (B) XPS spektrumu.

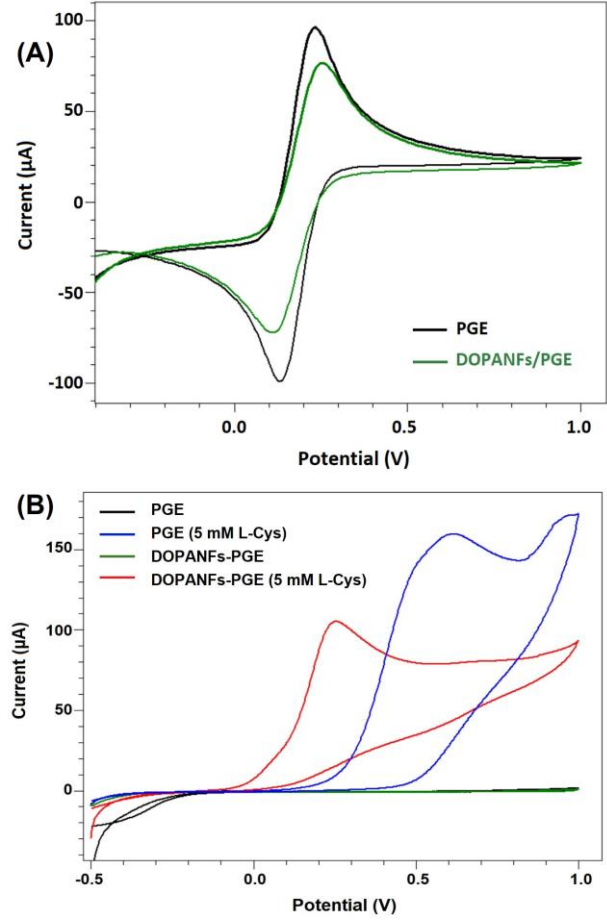
### 3.2 DOPANFs-PGE ile yapılan elektrokimyasal ölçümler

Üretilen DOPANFs-PGE yüzeyinin elektrokimyasal özelliği CV tekniği kullanılarak karakterize edilmiştir. Şekil 3A, PGE ve DOPANFs-PGE'nin 50 mV/s tarama hızında  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  içeren 0,2 M KCl çözeltisindeki CV eğrilerini göstermektedir. Sonuç incelendiğinde, DOPANFs'nin PGE yüzeyine modifikasyonu pik akımında önemli bir düşüşe yol açmıştır. Bu da DOPANFs'nin elektronların redoks probundan elektrot yüzeyine transferini bloke etmesinden kaynaklanıyor olabilir (Yang vd. 2022). Bu da DOPANFs-PGE'nin başarılı bir şekilde üretildiğini desteklemektedir (Yang vd. 2022). PGE ve DOPANFs-PGE elektrotlarının elektroaktif yüzey alanları Randles-Sevcik denkleminde göre hesaplanmıştır (1) (Cummings ve Elving 1978):

$$I_p = (2.69 \times 10^5) \cdot n^{\frac{3}{2}} \cdot A \cdot C \cdot D^{\frac{1}{2}} \cdot v^{\frac{1}{2}} \quad (1)$$

Bu denklemde, A: elektrot alanı ( $\text{cm}^2$ ),  $I_p$ : pik akım, C: konsantrasyon ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ ), n: elektron stokiyometrisi, v: tarama hızı ( $\text{volt}/\text{sn}$ ) ve D: difüzyon katsayısını ( $\text{cm}^2/\text{s}$ :  $7,6 \times 10^6$ ) tanımlamaktadır. Denkleme göre, modifiye

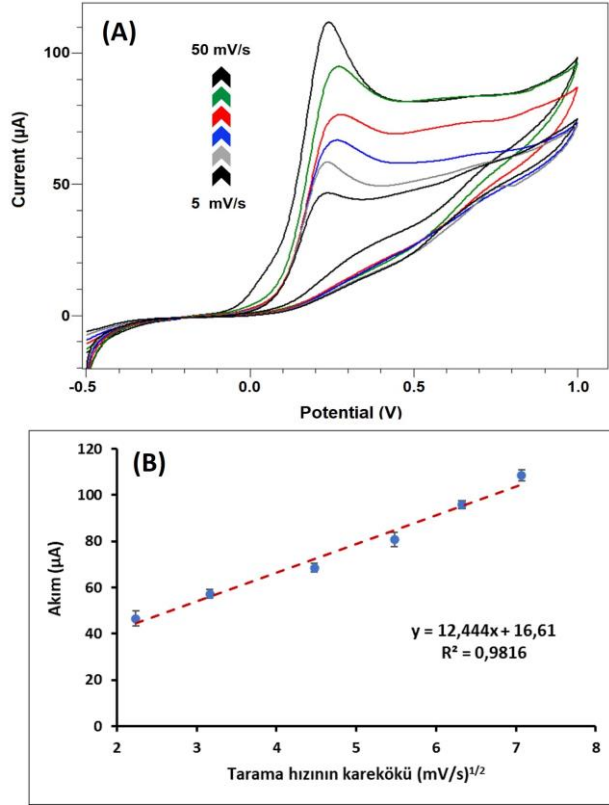
edilmemiş PGE'nin yüzey alanı  $0,29 \text{ cm}^2$  olarak hesaplanırken DOPANFs-PGE'nin yüzey alanı  $0,23 \text{ cm}^2$  olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3. (A) PGE ve DOPANFs-PGE yüzeylerinin 50 mV/s tarama hızında  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  içeren 0,2 M KCl çözeltisindeki CV eğrileri ve (B) 0,1 M PBS (pH 7) tamponunda 5 mM L-Cys çözeltisinin CV eğrileri.

Şekil 3B'de, 0,1 M PBS (pH 7) tamponunda 5 mM L-Cys çözeltisinin PGE ve DOPANFs-PGE yüzeyinde elde edilen CV eğrileri verilmiştir. Şekilde gösterildiği gibi, PGE yüzeyinin CV yanıtı 0,6 V'ta anodik bir pikten oluşurken, bu pik DOPANFs modifikasyonundan sonra 0,23 V'a kaymıştır. Potansiyeldeki bu düşüş, yüksek yüzey alanına sahip DOPANFs'nin iyi elektrokatalitik davranışı sonucu elektron transfer sürecinin hızını artırdığı şeklinde yorumlanabilir (Hosseini vd. 2013). Ayrıca, L-Cys pH 7'de negatif yüklü olduğundan, pozitif yüklü DOPANFs modifiye elektrot yüzeyine elektrostatik çekim de L-Cys yükseltgenme potansiyelindeki düşmeye katkıda bulunabilir (Silva vd. 2012). DOPANFs-PGE yüzeyinin akım türünü belirlemek için 5 mM L-Cys çözeltisinin farklı tarama hızlarındaki

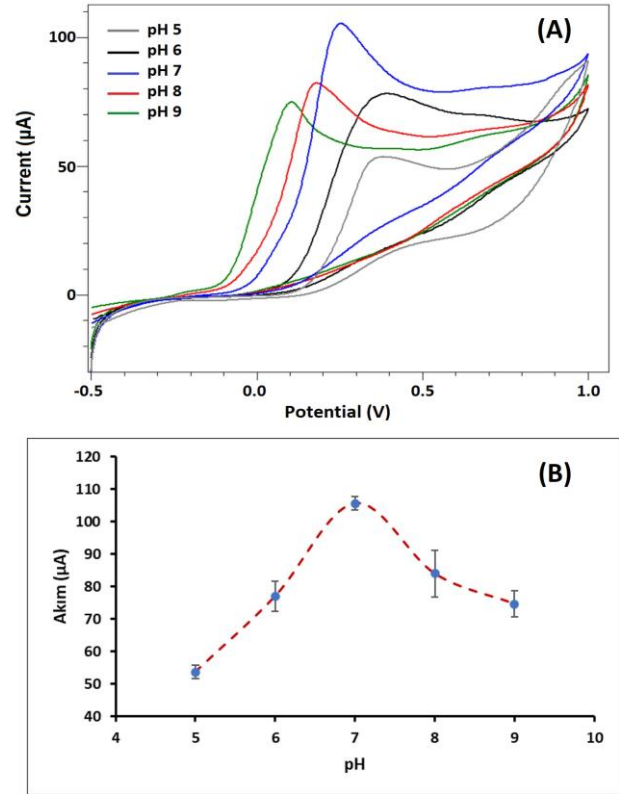
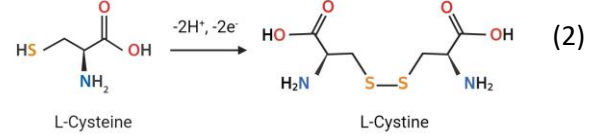
(10-50 mV/s) CV eğrileri Şekil 4A'da verilmiştir. Voltamogramlardan da görüldüğü gibi L-Cys çözeltisinin pik akımı tarama hızı arttıkça artmaktadır. Şekil 4B'de, tarama hızının karekökü ile L-Cys çözeltisinin yükseltgenme pik akımı şiddeti arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmektedir. Bu da akımın difüzyon kontrollü olduğunun bir göstergesidir ve kalibrasyon grafiğinden elde edilen doğru denklemi  $I_{pa}=12,444x+16,61$  ( $R^2=0,9816$ ) olarak bulunmuştur (Atacan 2019, Arul vd. 2022).



**Şekil 4.** (A) 0,1 M PBS (pH 7) tamponunda 5 mM L-Cys çözeltilerinin farklı tarama hızlarında (5, 10, 20, 30, 40, 50 mV/s) DOPANFs-PGE yüzeyinde elde edilen CV eğrileri ve (B) Anodik pik akımlarının tarama hızlarının kareköküne karşı doğrusal grafiği.

Elektrokimyasal sensör için önemli bir özellik, hedef analitin potansiyeli, pik şekli ve redoks mekanizması hakkında kapsamlı bilgi sunan elektrolitik destek ortamının (pH) etkisidir. Şekil 5'te PBS tamponunun farklı pH değerlerinde (5, 6, 7, 8, 9) 5 mM L-Cys çözeltisinin DOPANFs-PGE yüzeyinde CV tekniği kullanılarak elde edilen voltamogramları verilmiştir. Çalışma sonucuna göre, L-Cys çözeltisinin pik potansiyelleri pH 5'ten 9'a yükseldikçe negatif yönde kaymıştır. Bu da deprotonasyonun L-Cys'nin oksidasyonunda rol oynadığını göstermektedir.

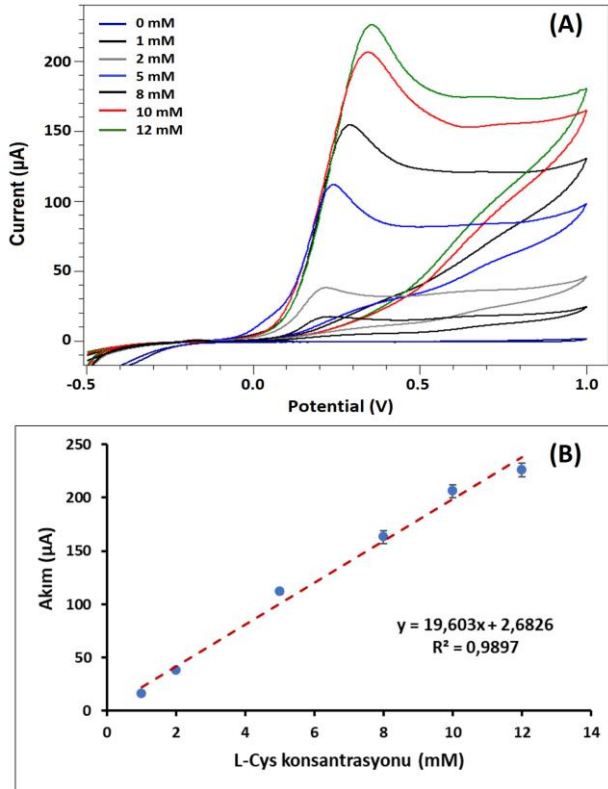
Ayrıca, oksidasyon pik akımları pH 5'ten 7'ye kadar artmış ve pH 7'den sonra kademeli olarak azalmıştır. pH 7, L-Cys tayini için optimum koşul olarak seçilmiştir. Potansiyel kayması, protonların L-Cys'in oksidasyonuna doğrudan katkıda bulunduğunu ve aşağıdaki denklemin olası bir mekanizma olduğunu göstermektedir (2) (Atacan 2019, Cao vd. 2018).



**Şekil 5.** (A) 0,1 M PBS tamponunda farklı pH'larda (5, 6, 7, 8, 9) 5 mM L-Cys çözeltilerinin DOPANFs-PGE yüzeyinde elde edilen CV eğrileri ve (B) pH'a karşı anodik pik akımlarının grafiği.

0.1 M PBS (pH 7) tamponunda L-Cys çözeltisinin 0-12 mM konsantrasyon aralığında DOPANFs-PGE yüzeyinde elde edilen CV eğrileri Şekil 6A'da verilmiştir. CV eğrilerine göre L-Cys çözeltisinin konsantrasyonu arttıkça yükseltgenme pik akımında belirgin bir artış olmuştur. Şekil 6B'deki L-Cys çözeltisinin konsantrasyonuna karşı yükseltgenme pik akımının kalibrasyon grafiğinin doğrusal olduğu görülmektedir. Kalibrasyon grafiğinden elde edilen doğru denklemi  $I_{pa}=19.603+2.6826$  ( $R^2=0.9897$ )

olarak bulunmuştur. Elektrokimyasal sensörler için sıklıkla kullanılan denklem ( $LOD=3\sigma/S$ , S: kalibrasyon eğrisinin hassasiyeti ve  $\sigma$ : on paralel boş sinyalin standart sapmasıdır) dikkate alınarak tespit limiti belirlenmiştir (Çakıroğlu vd. 2019). Kalibrasyon eğrisi denkleminde elde edilen sonuca göre elektrotun tayin sınırı (LOD) 0,083 mM olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuç geliştirilen elektrotun L-Cys tayini için yararlı olduğunu göstermektedir. Yüksek konsantrasyonlarda çalışırken CV tekniği daha doğru sonuçlar verirken düşük konsantrasyonlarda şarj akımının (faradik olmayan süreç) en aza indirildiği ve oldukça hassas bir teknik olan DPV tekniği tercih edilmektedir (Atacan 2019). Bu yüzden, araştırma daha düşük konsantrasyon aralıklarında DPV tekniği kullanılarak da gerçekleştirilmiştir.



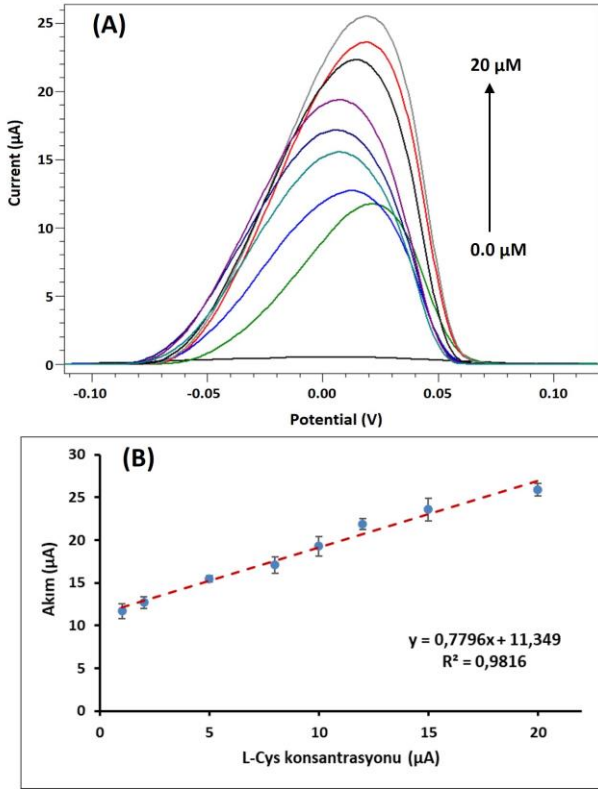
**Şekil 6.** (A) 0,1 M PBS (pH 7) tamponunda farklı konsantrasyonlarda L-Cys (0-12 mM) çözeltilerinin DOPANFs-PGE yüzeyinde elde edilen CV eğrileri ve (B) L-Cys konsantrasyonunun pik akımına karşılık gelen kalibrasyon grafiği.

Şekil 7A'da 0,1 M PBS (pH 7) tamponunda L-Cys çözeltilerinin farklı konsantrasyonlarda (1-20  $\mu$ M) DOPANFs-PGE yüzeyinde elde edilen DPV akım yanıtları gösterilmektedir. Voltamogramlar incelendiğinde L-Cys çözeltilerinin konsantrasyonu

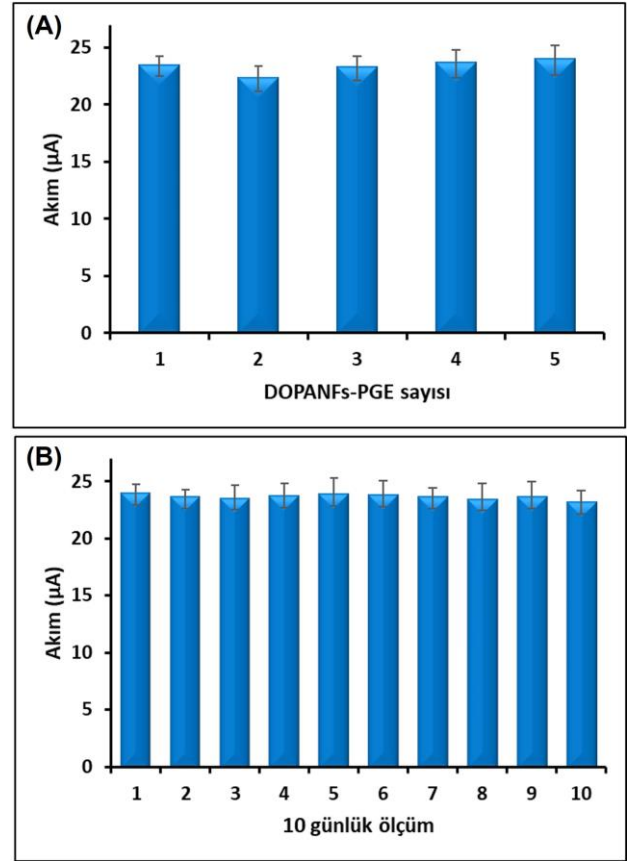
artıkça, pik akımda kademeli bir artış olduğu gözlenmiştir. L-Cys çözeltilerinin pik akımı ile konsantrasyonu arasındaki grafiğin doğrusal olduğu belirlenmiş ve kalibrasyon grafiğinden elde edilen doğru denklemi  $I_{pa}=0.7796+11.349$  ( $R^2=0.9816$ ) şeklindedir (Şekil 7B). Ayrıca L-Cys için hesaplanan tayin sınırı ve duyarlılık sırasıyla 0,989  $\mu$ M ve 2,688  $\mu$ A  $\mu$ M<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup> olarak hesaplanmıştır. L-Cys tayini için Silva ve ark tarafından yapılan çalışmada destek malzemesi olarak MWCNT/PVP/Cu<sup>2+</sup> kullanılmış ve tayin sınırı 1,5  $\mu$ M olarak hesaplanmıştır (Silva vd. 2012). Cai ve ark. tarafından yapılan çalışmada destek malzemesi olarak C-N@GC kullanılmış ve tayin sınırı 50  $\mu$ M olarak hesaplanmıştır (Cai vd. 2022). Tablo 1'de, L-Cys tayinine dayalı çalışmalar karşılaştırılmıştır. Daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, mevcut çalışmada geliştirilen DOPANFs-PGE yüzeyinin L-Cys tayininde daha düşük tayin sınırına sahip olduğu ve daha hassas bir yüzey olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen destek malzemesinin L-Cys tayininde daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Geliştirilen sensörün yeniden üretilebilirliğini araştırmak için aynı koşullarda hazırlanmış beş elektrot kullanılarak 0,1 M PBS (pH 7) tamponunda 20  $\mu$ M L-Cys çözeltilerinin DPV pik akımları karşılaştırılmıştır. Şekil 8A'da DOPANFs ile modifiye edilmiş elektrotun L-Cys çözeltilerinde gerçekleştirilen DPV ölçümlerinden alınan yükseltgenme pik akımlarına ait bar grafiği verilmiştir. Elde edilen bu pik akımlarından RSD (bağıl standart sapma) değeri % 4,8 olarak belirlenmiş olup geliştirilen sensörün tekrar edilebilirliğinin oldukça iyi olduğu görülmüştür. Bu da sensör için seri üretim yapılabileceğini kanıtlamaktadır.

Geliştirilen sensörün tekrarlanabilirliğini tayin etmek için hazırlanan elektrot 10 gün boyunca 4 °C'de saklanmış ve günlük ölçülen 0,1 M PBS (pH 7) tamponunda hazırlanmış 20  $\mu$ M L-Cys çözeltilerinin DPV pik akımları karşılaştırılmıştır. Elde edilen bu pik akımlarından RSD değeri % 4,7 olarak belirlenmiş ve 10 günün sonunda % 95,8 oranında başlangıç akımlarını koruduğu gözlenmiştir. Bu da elektrotun uzun vadeli kararlılığını göstermektedir (Şekil 8B).



**Şekil 7.** (A) 0,1 M PBS (pH 7) tamponunda farklı konsantrasyonlarda L-Cys (0-20 μM) çözeltilerinin DOPANFs-PGE yüzeyinde elde edilen DPV eğrileri ve (B) L-Cys konsantrasyonunun pik akımına karşılık gelen kalibrasyon grafiği.



**Şekil 8.** (A) 20 mM L-Cys çözeltisinin aynı koşullar altında hazırlanan beş farklı DOPANFs-PGE yüzeyinde elde edilen DPV sinyallerinin bar grafiği ve (B) On günlük süre boyunca kararlılığı.

**Tablo 1.** L-Cys tayininin farklı çalışmalarla karşılaştırılması.

Çalışma elektrotu	Metot	Çalışma aralığı (μM)	Hassasiyet (μA μM <sup>-1</sup> cm <sup>-2</sup> )	LOD (μM)	Kaynaklar
Poly(p-coumaric acid)/MWNT/GCE	DPV	7.5-1000	-	1.1	Ziyatdinova vd. 2018
MWCNTs-Co3O4/BF/IL/CPE	DPV	0.1-100	0.1449	0.04	Mohammadnavaz vd. 2023
CILE-CuO/CPE	Amperometri	10-5000	-	0.51	Zaeifi vd. 2022
C-N@GC/GCE	CV	200-8000	-	50	Cai vd. 2022
Au-Cu@CuxO Nws-3DF	Amperometri	1.25-1940	2945	1.250	Le vd. 2019
MWCNT/PVP/Cu <sup>2+</sup> /GCE	Kronoamperometri	5.0-60	7	1.5	Silva vd. 2012
Mg-Al-Ce LDH/GCE	Amperometri	10-5400	1.9	4.2	Wang vd. 2012
Cu-CoHCF/CPE	CV	6-1000	-	4.00	Abbaspour vd. 2008
Pt-Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /rGO/GCE	DPV	100-1000	-	10	Wang vd. 2016
DOPANFs-PGE	DPV	1-20	2.688	0.989	Mevcut çalışma

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, L-Cys tayini için tek kullanımlık DOPANFs modifiye PGE geliştirilmiştir. DOPANFs sentezinde organik materyal olarak L-DOPA ve inorganik materyal olarak  $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$  kullanılmış ve DOPANFs elde edilmiştir. Elde edilen malzeme morfolojik ve yapısal olarak karakterize edilmiş ve yapısı kanıtlanmıştır. Elde edilen DOPANFs 3D hiyerarşik yapıya, geniş yüzey alanına ve biyoyumluya sahiptir. Daha da önemlisi yapısında bulunan inorganik bileşenden dolayı DOPANFs, elektrokatalitik aktiviteyi kolaylaştıran bir yapıya sahip olduğu yapılan çalışmalar sonucu belirlenmiştir (Song vd. 2017). L-Cys tayini için geliştirilen sensör, sensör hazırlama kolaylığı, tekrarlanabilirlik ve yüksek kararlılık gibi önemli elektrokimyasal avantajlara sahiptir. Önerilen yöntem klinik çalışmalarda hızlı teşhis için umut vericidir.

#### Teşekkür

Necmettin Erbakan Üniversitesi öğretim üyelerinden Prof. Dr. Emine Güler Akgemci'ye deneyler için laboratuvarını ve tüm laboratuvar olanaklarını sağladığı için teşekkür ederim.

#### 5. Kaynaklar

Abbaspour, A., Ghaffarinejad, A., 2008. Electrocatalytic oxidation of L-cysteine with a stable copper–cobalt hexacyanoferrate electrochemically modified carbon paste electrode. *Electrochimica Acta*, **53**, 6643–6650.

Arul, P., Huang, S.T., Mani, V., Huang, C.H., 2022. Graphene quantum dots-based nanocomposite for electrocatalytic application of L-cysteine in whole blood and live cells. *Electrochimica Acta*, **428**, 140937.

Atacan, K., 2019.  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$ /reduced graphene oxide nanocomposite decorated with gold nanoparticles as a new electrochemical sensor material for L-cysteine detection. *Journal of Alloys and Compounds*, **791**, 391-401.

Cai, Y., Chen, J., Liu, X., Hu, S., Wang, Z., 2022. Synthesis of C–N@GC Nanomaterial Derived from Core-Shell ZIF-8@ZIF-67 and Its Application in the Detection of L-Cysteine. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, **96**, S153–S159.

Cao, F., Dong, Q., Li, C., Kwak, D., Huang, Y., Song, D., Lei, Y., 2018. Sensitive and Selective electrochemical Determination of L-Cysteine Based on Cerium Oxide Nanofibers Modified Screen Printed Carbon Electrode. *Electroanalysis*, **30**, 1133-1139.

Cui, J., Jia, S., 2017. Organic–inorganic hybrid nanoflowers: A novel host platform for immobilizing biomolecules. *Coordination Chemistry Reviews*, **352**, 249-263.

Cummings, T.E., Elving, P.J., 1978 Determination of the electrochemically effective electrode area. *Analytical Chemistry*, **50**, 480–488.

Çakıroğlu, B., Demirci, Y.C., Gökğöz, E., Özacar, M., 2019. A photoelectrochemical glucose and lactose biosensor consisting of gold nanoparticles,  $\text{MnO}_2$  and g- $\text{C}_3\text{N}_4$  decorated  $\text{TiO}_2$ . *Sensors and Actuators B: Chemical*, **282**, 282-289.

dos Santos Silva, F.D.A., da Silva, M.G.A, Lima, P.R., Meneghetti, M.R., Kubota, L.T., Goulart, M.O.F., 2013. A very low potential electrochemical detection of L-cysteine based on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes/gold nanorods. *Biosensors and Bioelectronics*, **50**, 202–209.

<sup>a</sup>Findik, M., Bingol, H., Erdem, A., 2021. Hybrid nanoflowers modified pencil graphite electrodes developed for electrochemical monitoring of interaction between Mitomycin C and DNA. *Talanta*, **222**, 121647.

<sup>b</sup>Findik, M., Bingol, H., Erdem, A., 2021. Electrochemical detection of interaction between daunorubicin and DNA by hybrid nanoflowers modified graphite electrodes. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **329**, 129120.

Findik, M., 2023. ZnO nanoflowers modified pencil graphite electrode for voltammetric DNA detection and investigation of Gemcitabine–DNA interaction. *Materials Chemistry and Physics*, **307**, 128117.

Gallo, M.C., Pires, B.M., Toledo, K.C., Jannuzzi, S.A., Arruda, E.G., Formiga, A.L., Bonacin, J.A., 2014. The use of modified electrodes by hybrid systems gold nanoparticles/Mn-porphyrin in electrochemical detection of cysteine. *Synthetic Metals*, **198**, 335–339.

He, L., Zhang, S., Ji, H., Wang, M., Peng, D., Yan, F., Fang, S., Zhang, H., Jia, C., Zhang, Z., 2016. Protein-



- templated cobaltous phosphate nanocomposites for the highly sensitive and selective detection of platelet-derived growth factor-BB. *Biosensors and Bioelectronics*, **79**, 553–560.
- Hosseini, H., Ahmar, H., Dehghani, A., Bagheri, A., Tadjarodi, A., Fakhari, A.R., 2013. A novel electrochemical sensor based on metal-organic framework for electro-catalytic oxidation of L-cysteine. *Biosensors and Bioelectronics*, **42**, 426–429.
- Huang, J., Tao, F., Sun, Z., Li, F., Cai, Z., Zhang, Y., Fan, C., Pei, L., 2022. A facile synthesis route to BiPr composite nanosheets and sensitive electrochemical detection of L-cysteine. *Microchemical Journal*, **182**, 107915.
- Jerome, R., Keerthivasan, P.V., Murugan, N., Devi, N.R., Sundramoorthy, A.K., 2020. Preparation of Stable CuO/Boron Nitride Nanocomposite Modified Electrode for Selective Electrochemical Detection of L-Cysteine. *Chemistry Select*, **5**, 9111–9118.
- Kalinke, C., Oliveira, P.R., Janegitz, B.C., Bonacin, J.A., 2022. Prussian blue nanoparticles anchored on activated 3D printed sensor for the detection of L-cysteine. *Sensors & Actuators: B. Chemical*, **362**, 131797.
- Karsli, B., Uras, I. S., Konuklugil, B., Demirbas, A., 2023. Synthesis of Axinyssa digitata Extract Directed Hybrid Nanoflower and Investigation of Its Antimicrobial Activity. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, **22**(3), 523 – 528.
- Kazemi, S., Karimi-Maleh, H., Hosseinzadeh, R., Faraji, F., 2013. Selective and sensitive voltammetric sensor based on modified multiwall carbon nanotubes paste electrode for simultaneous determination of L-cysteine and folic acid. *Ionics*, **19**, 933–940.
- Kılıç, A.B., Ildız, N., Yusufbeyoğlu, S., Öçsoy, İ., 2023. Nanoflower synthesis formed at different pH based on Crocus sativus L. (Croc stigma, saffron) extract and its major components: a new approach for enhancing antioxidant, antimicrobial and catalytic activities. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*. DOI: 10.1080/24701556.2023.2240757
- Koca, F.D., 2022. Preparation of thymol incorporated organic-inorganic hybrid nanoflowers as a novel fenton agent with intrinsic catalytic and antimicrobial activities. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, **52** (2), 322-327.
- Koca, F.D., Muhy, H.M., Halici, M.G., 2023. Synthesis of hybrid Cu nanoflowers by using Tornabea scutellifera lichen extract, and evaluation of their dye degradation, and antioxidant activities. *South African Journal of Botany*, **16**, 394-401.
- Kubalczyk, P., Bald, E., Furmaniak, P., Głowacki, R., 2014. Simultaneous determination of total homocysteine and cysteine in human plasma by capillary zone electrophoresis with pH-mediated sample stacking, *Analytical Methods*, **6**, 4138.
- Kurniawan, A. Kurniawan, F. Gunawan, F. Chou, S.H. Wang, M.J., 2019. Disposable electrochemical sensor based on copper-electrodeposited screenprinted gold electrode and its application in sensing L-cysteine. *Electrochimica Acta*, **293**, 318–327.
- Le, H.T., Tran, D.T., Doan, T.L.L., Kim, N.H., Lee, J.H., 2019. Hierarchical Cu@Cu<sub>x</sub>O nanowires arrays-coated gold nanodots as a highly sensitive self-supported electrocatalyst for L-cysteine oxidation. *Biosensor and Bioelectronic*, **139**, 111327.
- Lee, S.W., Cheon, S.A., Kim, M.I., Park, T.J., 2015. Organic-inorganic hybrid nanoflowers: types, characteristics, and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, **13**, 54.
- Lianga, S., Lia, F., Wangb, C., Duc, C., Wanga, Z., Wang, L., 2023. Hemoglobin-inorganic hybrid nanoflowers: Synthesis and applications for carbene N-H insertion reaction. *Biocatalysis and Biotransformation*. DOI: 10.1080/10242422.2023.2195036
- Liu, W. Luo, J. Guo, Y. Kou, J. Li, B. Zhang, Z., 2014. Nanoparticle coated paper-based chemiluminescence device for the determination of L-cysteine. *Talanta*, **120**, 336–341.
- Malkondu, S., Erdemir, S., 2022. Sistein Tayini İçin Yeni Bir Algılayıcı Molekülün Sentezi ve Karakterizasyonu. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, **48**(2), 79-87.
- Manibalan, G., Murugadoss, G., Marimuthu, R., Rajabathar, J.R., Kumar, M.R., 2022. Facile synthesis of heterostructure NiO-SnO<sub>2</sub> nanocomposite for selective electrochemical determination of L-cysteine. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, **33**, 6592–6602.

- Mohammadnavaz, A., Beitollahi, H., Modiri, S., 2023. Electro-catalytic determination of L-Cysteine using multi walled carbon nanotubes-Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocomposite/benzoylferrocene/ionic liquid modified carbon paste electrode. *Inorganica Chimica Acta*, **548**, 121340.
- Saylam, E., Akkaya, Y., İlhan, E., Cesur, S., Guler, E., Sahin, A., Cam, M.E., Ekren, N., Oktar, F.N., Gunduz, O., Fıcaı, D., Fıcaı, A., 2021. Levodopa-Loaded 3D-Printed Poly (Lactic) Acid/Chitosan Neural Tissue Scaffold as a Promising Drug Delivery System for the Treatment of Parkinson's Disease. *Applied Sciences*, **11**, 10727.
- Silva, C.C.C., Breikreitz, M.C., Santhiago, M., Corrêa, C.C., Kubota, L.T., 2012. Construction of a new functional platform by grafting poly(4-vinylpyridine) in multi-walled carbon nanotubes for complexing copper ions aiming the amperometric detection of L-cysteine. *Electrochimica Acta*, **71**(3), 150-158.
- Song, Y., Ji, H., Wang, M., He, L., Song, R., Zhang, Z., 2017. Feasible synthesis of protein-templated zinc phosphate-supported Pt nanoparticle with enhanced electrocatalysis for methanol oxidation. *Applied Surface Science*, **422**, 228-238.
- Wang, L., Tricard, S., Yue, P., Zhao, J., Fang, J., Shen, W., 2016. Polypyrrole and graphene quantum dots@Prussian blue hybrid film on graphite felt electrodes: application for amperometric determination of L-cysteine. *Biosensors and Bioelectronics*, **77**, 1112-1118.
- Wang, Y., Peng, W., Liu, L., Gao, F., Li, M., 2012. The electrochemical determination of L-cysteine at a Ce-doped Mg-Al layered double hydroxide glassy carbon electrode. *Electrochimica Acta*, **70**, 193-198.
- Wang, Y.Q., Wang, W., Li, G.F., Liu, Q., Wei, T., Li, B.S., Jiang, C.Y., Sun, Y.M., 2016. Electrochemical detection of L-cysteine using a glassy carbon electrode modified with a two-dimensional composite prepared from platinum and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles on reduced graphene oxide. *Microchimica Acta*, **183**, 3221-3228.
- Tao, Y., Zhang, X., Wang, J., Wang, X., Yang, N., 2012. Simultaneous determination of cysteine, ascorbic acid and uric acid by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **674**, 65-70.
- Yang, L., Zhang, X., Li, M., Qu, L., Liu, Z., 2022. Acetylcholinesterase-Cu<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> hybrid nanoflowers for electrochemical detection of dichlorvos using square-wave voltammetry. *Analytical Methods*, **14**, 3911-3920.
- Yang, S., Li, G., Xia, N., Wang, Y., Liu, P., Qu, L., 2021. Fabrication of hierarchical 3D prickly ball-like Co-La oxides/reduced graphene oxide composite for electrochemical sensing of L-cysteine. *Journal of Alloys and Compounds*, **853**, 157077.
- Yu, X., Hu, L., He, H., Zhang, F., Wang, M., Wei, W., Xia, Z., 2019. Y-shaped DNA-Mediated hybrid nanoflowers as efficient gene carriers for fluorescence imaging of tumor-related mRNA in living cells. *Analytica Chimica Acta*, **1057**, 114-122.
- Zaeifi, F., Sedaghati, F., Samari, F., 2022. A new electrochemical sensor based on green synthesized CuO nanostructures modified carbon ionic liquid electrode for electrocatalytic oxidation and monitoring of L-cysteine. *Microchemical Journal*, **183**, 107969.
- Ziyatdinova, G., Kozlova, E., Budnikov, H., 2018. Selective electrochemical sensor based on the electropolymerized p-coumaric acid for the direct determination of L-cysteine. *Electrochimica Acta*, **270**, 369-377.