

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI

**ALTIN NANOPARÇACIKLARIN AKTİFLEŞTİRİLMİŞ CAMSI KARBON  
ELEKTROT ÜZERİNDE BİRİKTİRİLMESİ VE L-TRİPTOFAN İÇİN  
ELEKTROKİMYASAL UYGULAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gamze SUVARİ  
Danışman: Doç. Dr. Muhammet GÜLER

VAN – 2024



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI

**ALTIN NANOPARÇACIKLARIN AKTİFLEŞTİRİLMİŞ CAMSI KARBON  
ELEKTROT ÜZERİNDE BİRİKTİRİLMESİ VE L-TRİPTOFAN İÇİN  
ELEKTROKİMYASAL UYGULAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gamze SUVARI

Tez Savunma Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İbrahim Hakkı YÖRÜK (Başkan)

Doç. Dr. Muhammet GÜLER (Danışman)

Doç. Dr. Mehmet Nuri ATALAR (Üye)

VAN – 2024



## KABUL VE ONAY SAYFASI

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Muhammet GÜLER danışmanlığında, Gamze SUVARİ tarafından sunulan “Altın Nanoparçacıkların Aktifleştirilmiş Camsı Karbon Elektrot Üzerinde Biriktirilmesi ve L-Triptofan İçin Elektrokimyasal Uygulamaları” başlıklı bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 18/11/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. İbrahim Hakkı YÖRÜK

İmza:

Üye: Doç. Dr. Muhammet GÜLER

İmza:

Üye: Doç. Dr. Mehmet Nuri ATALAR

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .... /.... /..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

.....

Enstitü Müdürü



## ETİK BEYAN

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İmza

Gamze SUVARİ





## ÖZET

### ALTIN NANOPARÇACIKLARIN AKTİFLEŞTİRİLMİŞ CAMSI KARBON ELEKTROT ÜZERİNDE BİRİKTİRİLMESİ VE L-TRİPTOFAN İÇİN ELEKTROKİMYASAL UYGULAMALARI

SUVARİ, Gamze

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Muhammet GÜLER

Kasım 2024, 65 sayfa

Çalışmamızda triptofanın (Trp) elektrokimyasal olarak tayin edilmesi için yeni bir sensör tasarlandı. Bunun için çalışma elektrodu olarak kullanılan camsı karbon elektrot (GCE) önce pH değeri 7 olan 0.1 M fosfat tamponunda dönüşümlü voltametri kullanılarak aktifleştirildi. Daha sonra altın (Au) nanoparçacıkları aktifleştirilmiş GCE (AGCE) elektrodu üzerine elektrokimyasal olarak biriktirildi. Elde edilen Au@AGCE Trp'nin tayini için kullanıldı. Sensörün en iyi cevap verdiği koşullar elde edildikten sonra Trp için doğrusal tayin aralığı, gözlenebilme sınırı (LOD), tekrarlanabilirliği, tekrar oluşturulabilirliği ve depolama kararlılığı gibi performans faktörleri değerlendirildi. Sensör Trp için iki tane doğrusal aralık gösterdi. 1. Tayin aralığı, duyarlılığı  $2280.79 \mu\text{A} \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$  olan 0.4-75.8  $\mu\text{M}$  aralığında, 2. Tayin aralığı ise duyarlılığı  $260.1 \mu\text{A} \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$  olan 75.8-175  $\mu\text{M}$  aralığında belirlendi. Sensörün tekrarlanabilirliği için aynı elektrot ile 3 farklı Trp derişimi kullanıldı. Bağlı standart sapma değerleri (RSD) 0.29-5.26 aralığında bulundu. Sensörün tekrar oluşturulabilirliği için 5 farklı elektrot ile 3 farklı Trp derişimi kullanıldı. Bağlı standart sapma değerleri (RSD) 3.43-6.03 aralığında bulundu. Ayrıca gerçek örnekte Trp'nin tayini için Trp tabletleri kullanıldı. Elde edilen sonuçlar sensörün tatmin edici performans faktörleri sergilediği görüldü.

**Anahtar kelimeler:** Aktifleştirilmiş camsı karbon elektrot, Au nanoparçacıklar, Sensör, Triptofan



## ABSTRACT

### ELECTRODEPOSITION OF AU NANOPARTICLES ON ACTIVATED GLASSY CARBON ELECTRODE AND ITS ELECTROCHEMICAL APPLICATION FOR L-TRYPTOPHAN

SUVARİ, Gamze

M.Sc. Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Muhammet GÜLER

November 2024, 65 pages

In our study, a new sensor was designed for the electrochemical determination of tryptophan (Trp). For this purpose, the glassy carbon electrode (GCE), used as the working electrode, was first activated using cyclic voltammetry in a 0.1 M phosphate buffer solution with a pH of 7. Subsequently, gold (Au) nanoparticles were electrochemically deposited onto the activated GCE (AGCE) electrode. The resulting Au@AGCE was used for the detection of Trp. After optimizing the conditions for the best sensor response, performance factors such as linear detection range, limit of detection (LOD), repeatability, reproducibility, and storage stability for Trp were evaluated. The sensor exhibited two linear detection ranges for Trp. The first range, with a sensitivity of  $2280.79 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ , was found to be between 0.4–75.8  $\mu\text{M}$ , and the second range, with a sensitivity of  $260.1 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ , was observed between 75.8–175  $\mu\text{M}$ . For sensor repeatability, three different Trp concentrations were tested with the same electrode, and the relative standard deviation (RSD) values were found to be in the range of 0.29–5.26%. For reproducibility, three different Trp concentrations were tested using five different electrodes, and the RSD values ranged from 3.43 to 6.03%. Additionally, Trp tablets were used to determine Trp as the real sample. The results demonstrated that the sensor exhibited satisfactory performance factors.

**Keywords:** Activated glassy carbon electrode, Au nanoparticles, Sensor, Tryptophan



## TEŞEKKÜR

Bu tez alıőmasında, her tŸrlŸ ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, tecrŸbe ve bilgisiyle yŸn gŸsteren danışmanım Sayın Doç. Dr. Muhammet GŸLER'e teőekkŸr ederim.

Yapmak istediklerim konusunda her zaman destek olan eőim Serdar Suvari'ye ve canım oğlum Kerem Ege Suvari'ye sevgilerimi ve teőekkŸrlerimi sunarım. Beni bugŸnlere getiren, okutan ve her tŸrlŸ fedakarlığı gŸsteren babama ve anneme sevgilerimi ve sayėılarımı sunarım.

Biyokimyadan yŸksek lisans yapmak Ÿniversite hayalimdi. Bu hayali gecikmeli de olsa gerçekleőtirdiėim için kendime de teőekkŸr ederim.

2024

Gamze SUVARI



# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Biyosensörler .....	2
1.1.1 Elektrokimyasal Biyosensörler .....	4
1.2 Voltametri.....	6
1.2.1 Dönüştürümlü Voltametri .....	8
1.3 Triptofan Tanımı ve Biyosentezi .....	13
1.3.1 Triptofanın Metabolizması.....	14
1.3.2 Triptofan Ne İşe Yarar? .....	16
1.3.3 Günlük Triptofan İhtiyacı Ne Kadardır? .....	16
1.3.4 Triptofan Eksikliği Nedir? .....	16
1.3.5 Triptofan İçeren Besinler Nelerdir? .....	17
1.3.6 Aşırı Triptofan Takviyesinin Zararları Nelerdir?.....	17
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ .....	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1 Materyal .....	27
3.2 Yöntem.....	29
3.2.1 Çalışma Elektrotlarının Hazırlanışı .....	29
3.2.2 Elektrokimyasal Çalışmalar .....	30
3.2.3 Gerçek Örnekte Triptofan Tayini .....	31
4. BULGULAR .....	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	49
KAYNAKLAR.....	57
ÖZ GEÇMİŞ.....	65



## ÇİZELGELER LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.1 Trp amino asidi içeren tablet örnekleri kullanılarak hazırlanan çözeltilerde Trp'nin Au@AGCE/GCE sensörü ile elektrokimyasal olarak tayini.....	47
Çizelge 5.1 Hazırlanan elektrokimyasal sensörlerin bazı performans faktörlerinin karşılaştırılması.....	54





## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 1.1	Biyosensörlerin genel gösterimi ..... 4
Şekil 1.2	Çözelti içinde bulunan iyonların göçü ..... 5
Şekil 1.3	Dönüşümlü voltametrimin potansiyeli (A1) ve tipik cevap akımı (A2); diferansiyel puls voltametrisinin potansiyel dalga formu (B1) ve voltamogramı (B2)..... 8
Şekil 1.4	GCE kullanılarak 0.1 M KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1:1) çözeltide 0.1 V/s tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogram..... 9
Şekil 1.5	(A–G): $\text{Fc}^+$ (mavi) ve $\text{Fc}$ (yeşil) için konsantrasyon profilleri (mM), elektrottan uzaklığın (d, elektrot yüzeyinden toplu çözeltiliye kadar, örneğin 0.5 mm) bir fonksiyonu olarak voltamogram üzerinde çeşitli noktaların gösterimi. (H): 100 $\text{mVs}^{-1}$ tarama hızında 1 mM $\text{Fc}^+$ çözeltisinin $\text{Fc}$ 'ye geri dönüşümlü indirgenmesinin voltammogramı. (I): Genel bir döngüsel voltametri deneyi için zamanın bir fonksiyonu olarak uygulanan potansiyel grafiği..... 10
Şekil 1.6	Üç elektrotlu bir elektrokimyasal hücrenin gösterimi ..... 11
Şekil 1.7	Çalışma elektrodunun parlatma pedi üzerindeki temizleme şekli ..... 12
Şekil 1.8	Triptofanın biyosentezi ..... 13
Şekil 1.9	Triptofanın metabolizması..... 14
Şekil 4.1	(a) AGCE ve (c) $\text{Au}@AGCE$ elektrotların SEM görüntüleri (b) AGCE ve (d) $\text{Au}@AGCE$ elektrotların EDX grafikleri..... 33
Şekil 4.2	Yalın GCE elektrodun 0.1 M PBS (pH 7.0) içinde 0.1 V/s tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları ..... 34
Şekil 4.3	$\text{Au}(\text{III})$ 'nun $\text{N}_2$ ile doyurulmuş ve 1.0 mM $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ içeren 0.1 M $\text{NaNO}_3$ (pH 3.0) 0.05 V/s tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar ..... 34
Şekil 4.4	0.5 M $\text{H}_2\text{SO}_4$ çözeltisinde 0.1 V/s tarama hızında $\text{Au}@AGCE$ elektrodu üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogram ..... 35
Şekil 4.5	GCE, $\text{Au}@GCE$ , AGCE, $\text{Au}@AGCE$ elektrotları kullanılarak 0.1 M KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1:1) çözeltide elde edilen Nyquist grafiği ..... 35

Şekil 4.6	GCE, Au@GCE, AGCE, Au@AGCE elektrotları kullanılarak 0.1 M KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1:1) çözeltide 0.05 V/s tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar .....	36
Şekil 4.7	Doğrusal taramalı voltametri kullanılarak farklı pH değerlerine sahip ve Trp içeren BR tamponunda Au@AGCE üzerinde elde edilen voltamogramlar .....	37
Şekil 4.8	(a) Trp içeren BR tamponunda (pH 2.5) farklı döngülerde hazırlanan AGCE sensörü üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. (b) döngü sayısına karşı akım grafiği .....	38
Şekil 4.9	(a) Trp içeren BR tamponunda (pH 2.5) farklı döngülerde hazırlanan Au@AGCE sensörü üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. (b) döngü sayısına karşı akım grafiği .....	39
Şekil 4.10	Çalışmada kullanılan elektrotların BR (pH 2.5) tamponunda 0.05 V/s tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar (a) Trp içermeyen (b) 40 $\mu\text{M}$ Trp içeren .....	40
Şekil 4.11	0.1 M KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1:1) içeren çözeltide farklı tarama hızlarında (0.02-0.26 V/s) GCE elektrodu üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar .....	41
Şekil 4.12	0.1 M KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1:1) içeren çözeltide farklı tarama hızlarında (0.02-0.26 V/s) Au@GCE elektrodu üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar .....	41
Şekil 4.13	0.1 M KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1:1) içeren çözeltide farklı tarama hızlarında (0.02-0.26 V/s) AGCE elektrodu üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar .....	42
Şekil 4.14	0.1 M KCl içeren 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1:1) içeren çözeltide farklı tarama hızlarında (0.02-0.26 V/s) Au@AGCE elektrodu üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar .....	42

Şekil 4.15	Çalışma elektrotları üzerinden $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ probun tarama hızının kareköküne karşı anodik pik akımı kullanılarak elde edilen grafik.....	43
Şekil 4.16	(a) Au@AGCE sensörü kullanılarak $10\mu\text{M}$ Trp içeren BR (pH 2.5) tamponunda farklı tarama hızlarında (0.06-0.4 V/s) elde edilen voltamogramlar. (b) Tarama hızının kareköküne karşı Trp nin yükseltgenme pik akımı grafiği. (c) Tarama hızına karşı Trp nin yükseltgenme pik akımı grafiği. (d) $\log v$ (V/s) karşı $\log I$ ( $\mu\text{A}$ ) grafiği .....	43
Şekil 4.17	Au@AGCE elektrodu kullanılarak BR (pH 2.5) tamponuna farklı derişimlerde Trp eklenerek elde edilen doğrusal taramalı voltamogramlar .....	44
Şekil 4.18	Farklı derişimlerde kullanılan glisin (Gly), askorbik asit (AA), pirokatekol (PC), dopamin (DA), ürik asit (UA), hidrokinon (HQ), bisfenol A(BPA), 4-nitrofenol (4-NP) ve fenol (Ph) elektroaktif bileşiklerin Trp cevabı üzerindeki etkisini gösteren grafik.....	45
Şekil 4.19	Au@AGCE çalışma elektrodunun farklı derişimlerde (20, 30 ve $40\mu\text{M}$ ) Trp kullanılarak elde edilen tekrarlanabilirlik voltamogramları .....	46
Şekil 4.20	Aynı çalışma koşullarında elde edilen Au@AGCE çalışma elektrotlarının farklı derişimlerde (20, 30 ve $40\mu\text{M}$ ) Trp kullanılarak elde edilen tekrar oluşturulabilirlik grafikleri.....	47
Şekil 5.1	Triptofanın muhtemel elektrokimyasal reaksiyonu.....	52



## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamalarıyla aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$\mu\text{A}$	Mikroamper
$\mu\text{M}$	Mikromolar
<b>Ag</b>	Gümüş
<b>AgCl</b>	Gümüş Klorür
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	Alüminyum Oksit
<b>Au</b>	Altın
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Kalsiyum Klorür
<b>CeO<sub>2</sub></b>	Seryum Oksit
<b>CH<sub>3</sub>COOH</b>	Asetik Asit
<b>g</b>	Gram
<b>Glu</b>	Glukoz
<b>Gly</b>	Glisin
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Sülfürik Asit
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	Borik Asit
<b>H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub></b>	Fosforik Asit
<b>I</b>	Akım
<b>K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Potasyum Karbonat
<b>KCl</b>	Potasyum Klorür
<b>KOH</b>	Potasyum Hidroksit
<b>M</b>	Molar
<b>mM</b>	Milimolar
<b>mL</b>	Mililitre
<b>nM</b>	Nanomolar
<b>NaCl</b>	Sodyum Klorür
<b>NaOH</b>	Sodyum Hidroksit

<b>Pt</b>	Platin
<b>Trp</b>	Triptofan
<b>Tyr</b>	Tirozin
<b>V</b>	Potansiyel

## **Kısaltmalar**

## **Açıklama**

<b>AA</b>	Askorbik Asit
<b>AGCE</b>	Aktifleştirilmiş Camsı Karbon Elektrot
<b>BR</b>	Britton- Robinson
<b>CNS</b>	Santral Sinir Sistemi
<b>CV</b>	Dönüşümlü Voltametri
<b>DA</b>	Dopamin
<b>DPV</b>	Diferansiyel Puls Voltametri
<b>EIS</b>	Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
<b>FTIR</b>	Fourier Dönüşümü-Kızılötesi Spektroskopisi
<b>GCE</b>	Camsı Karbon Elektrot
<b>GO</b>	Grafen Oksit
<b>GOx</b>	Glikoz Oksidaz
<b>HPLC</b>	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
<b>HPTLC</b>	Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi
<b>IBS</b>	İrritabl Bağırsak Sendromu
<b>LC-MS</b>	Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi
<b>LOD</b>	Gözlenebilme Sınırı
<b>NAD</b>	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>SCE</b>	Doygun Kalomel Elektrodu
<b>SEM</b>	Taramalı Elektron Mikroskobu
<b>SWV</b>	Kare Dalga Voltametrisi
<b>TEM</b>	Transmisyon Elektron Mikroskobu
<b>UA</b>	Ürik Asit
<b>XPS</b>	X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi
<b>XRD</b>	X-Işını Toz Difraktometrisi





## 1. GİRİŞ

Triptofan, proteinleri oluşturan temel amino asitlerden bir tanesidir ve esansiyel amino asitler grubunda yer alır. Triptofan, 1900'lü yılların başında sütte bulunan bir protein olan kazeinden izole edilerek keşfedilmesinin ardından moleküler yapısı birkaç yıl geçtikten sonra belirlenmiştir. Beslenme yoluyla öncelikli olarak bitki ve hayvan bazı proteinlerle vücuda alınır. Triptofan organizma tarafından sentezlenemediği için vazgeçilmez aminoasitlerden biridir. Beynin biyokimyasal dengesini takip etmek için triptofan konsantrasyonu hassas bir parametredir.

L-triptofan (L-Trp) genellikle insan vücudunda nörotransmitterlerin (örneğin, 5-hidroksitriptamin, 5-HT), niasin, serotonin, kinolinik asit ve diğer biyolojik bileşiklerin öncüsü olarak işlev görür (Sainio vd., 1996; Sa vd., 2012). Uyku ve bağışıklık sistemini iyileştirebilir ve Parkinson (Zhou vd., 2017) ile pellegra tedavisinde geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak aşırı dozda alındığında kas ağrısı, ağızda yaralar, karın ağrısı ve nefes darlığı gibi bazı semptomlara neden olabilir. L-Trp, günümüzde yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (HPTLC) (Goswami vd., 2015) yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Lian vd., 2012), sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) (Ohashi vd., 2013), floresan dedektörlü HPLC (Zhang vd., 2012) ve florometri (Bagheri vd., 2015) gibi yöntemler kullanılarak belirlenmektedir. Bunun yanı sıra, potansiyometri, amperometri ve voltametri de L-Trp'nin tayini için bugüne kadar kullanılan yöntemler arasındadır. Bu yöntemlerden HPLC, florometri ve HPTLC gibi yöntemler karmaşık yöntemler olup kullanımı zaman alıcıdır. Ayrıca bu cihazları kullanacak personelin yeterince donanımlı olması gerekmektedir. Amperometri ve voltametri gibi elektrokimyasal yöntemler kullanılarak triptofan nispeten daha hızlı, ucuz ve doğru bir şekilde tayin edilebilir. Ancak bu yöntemlerin dezavantajı kullanılan elektrodun tekrarlanabilirlik ve tekrar oluşturabilirlik gibi performans faktörleri gerekli düzeyde değildir.

Triptofan, sinir ileticileri olan serotonin ve melatonin için hayati öneme sahip bir maddedir. Bu tür kimyasal taşıyıcılar ile vücudumuzda bulunan sinirler bir hücreden diğerine taşınırlar. Eğer bu taşıyıcılar vücudumuzda yeterli miktarda bulunmazsa, beyin fonksiyonlarını düzgün şekilde yerine getiremez. Melatoninin ve serotoninin üretimine yardımcı olan triptofanın, besinlerden ya da triptofan desteklerinden yeterli miktarda

alınmasının yaşamsal önemi vardır. Bu yüzden farklı besin gıdalarında triptofan tayini ve miktarının belirlenmesi için basit, hızlı, ucuz ve doğru bir metot geliştirilmesi son derece önemlidir.

Hızlı, kolay, düşük fiyatlı, spesifik ve yüksek duyarlı olarak tayin edilmesine imkan veren elektrokatalitik sensörler triptofan analizi için iyi bir yöntemdir ve literatürde bugüne kadar triptofan teşhisi için oluşturulmuş pek çok sensör vardır (Compagnone vd., 2001; Costa vd., 2016). Bugüne kadar triptofan teşhisi için oluşturulan sensörlerde karbon nanomateryaller gibi çeşitli malzemeler kullanılmıştır (Xing vd., 2012; Meng vd., 2014). Nanomateryaller, üstün özelliklerinden dolayı, son dönemlerde biyosensörlerin geliştirmesinde oldukça sık kullanılmaktadır (Holzinger vd., 2014).

Çalışmada yeni bir elektrokimyasal triptofan sensörü geliştirmek için çalışma elektrodun yüzeyi dönüşümlü voltametri kullanılarak aktifleştirilmiştir. Daha sonra optimum döngü sayısı belirlenmiştir. Aktifleştirilmiş çalışma elektrodu altın tuzunun bulunduğu ortama daldırılıp Au nanoparçacıkları elektrokimyasal olarak elektrodun yüzeyinde biriktirilmiştir. Sensörün doğrusal tayin aralığı, gözlenebilme sınırı (LOD), seçiciliği, tekrarlanabilirliği, tekrar oluşturulabilirliği, depolama kararlılığı, duyarlılığı gibi performans faktörleri değerlendirilmiştir. Sensörün optimum koşulları belirlendikten sonra bu sensör kullanılarak gerçek örneklerde triptofan tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçların standart sapması, bağıl standart sapması, verimi gibi deneysel veriler değerlendirilmiştir.

## **1.1 Biyosensörler**

Klinik kimya laboratuvarlarında yapılan analizler genellikle pahalı ve zaman alıcı süreçlerdir, bu nedenle analizlerin giderek artan bir kısmı hastanelerde, hastane dışı ortamlarda bakım veren kişiler tarafından ve hastaların evde kendi kendine gerçekleştirdiği ortamlarda yapılmaktadır. Günümüzde karşılaşılan en büyük zorluklardan biri, bu hızlı “yerinde” analizleri gerçekleştirecek yöntemlerin geliştirilmesidir. Bu yöntemlerin hassas, doğru ve “gerçek yaşam” örneklerinde farklı özelliklere sahip çeşitli maddeleri belirleyebilecek nitelikte olması gerekmektedir. Elektrokimyasal sensörler, yüksek hassasiyet ve seçicilik, taşınabilirlik, hızlı yanıt süresi

ve düşük maliyet gibi avantajlarıyla klinik kimyada ilgi duyulan analitlerin ölçümünde bu yeni uygulamalar için ideal seçeneklerden biridir.

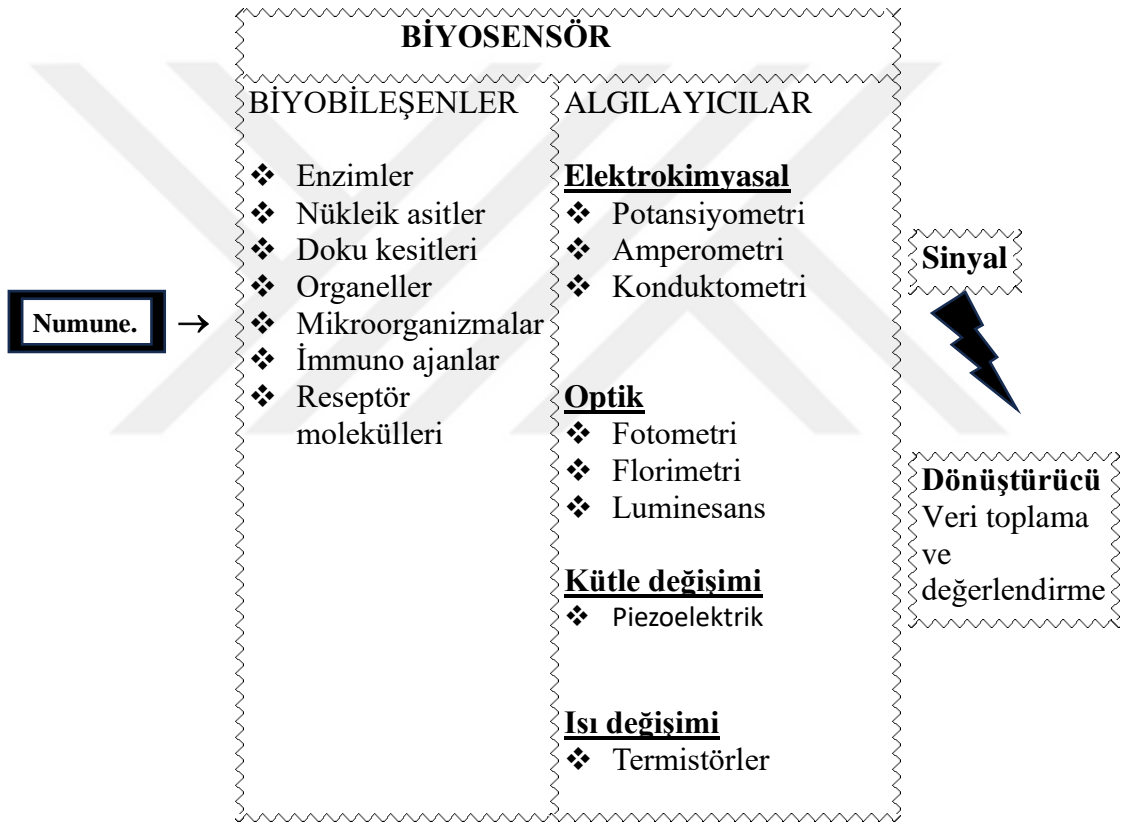
1962'de Clark ve Lyons'ın enzim glikoz oksidazı (GOx) kullanarak ilk elektrokimyasal biyosensörü, yani amperometrik bir elektrota bağlı "enzim elektrodu" olarak bilinen çözünmüş oksijen sensörünü icat etmesinden bu yana, biyolojik öneme sahip maddelerin ve diğer parametrelerin konsantrasyonunu belirlemek için elektrokimyasal sensörlerin kullanılması, hızla büyüyen bir alan haline gelmiştir (Clark ve Lyons, 1962). Elektrokimyasal sensörler, geleneksel analitik araçların performansını iyileştirmiş, yavaş hazırlık süreçlerini ve pahalı reaktiflerin kullanımını ortadan kaldırmış ve düşük maliyetli analitik araçlar sunmuştur. Ucuz, taşınabilir ve kullanımı kolay araçlar olarak elektrokimyasal sensörler, geleneksel analitik cihazlara göre belirli avantajlar sağlamaktadır. Bununla birlikte, bu sensörlerin bazı sınırlamaları da bulunmaktadır: örneğin, örnekteki elektrokimyasal olarak aktif girişimler, zayıf uzun vadeli stabilite ve karmaşık elektron transfer yolları gibi. Yine de, elektrokimyasal sensörler klinik teşhis, çevresel izleme ve gıda analizlerinde geniş uygulama alanları sunmaktadır. Prensip, klinik uygulamalar için elektrokimyasal sensörler çeşitli şekillerde kategorize edilebilir; örneğin, analit türüne veya sensör türüne göre.

Glikoz biyosensörlerinin mevcut ve gelecekteki uygulamaları, diyabetiklerde kılcal kan şekerinin kendi kendine izlenmesinde acil kullanımları nedeniyle çok geniştir. Bu tür izleme cihazları günümüzde biyosensörler için en büyük pazarlardan birini oluşturmaktadır ve bunların varlığı, diyabetli kişilerin yaşam kalitesini önemli ölçüde arttırmaktadır (Mohanty vd., 2006).

Canlılarda yer alan biyolojik maddeler miligram/litre ya da milimol/litre miktarı derecesindedir (Shichiri vd., 1982; Feldman vd., 2003; Klonoff, 2005; Zhai vd., 2013). Nanobiyosensörlerin hassasiyeti bu miktarlardan 1 milyon kattan daha fazladır (nanomol/L ya da pikomol/L). Şayet canlı yapısında bir değişim söz konusu ise bu değişim anında ölçülüp hastaya gerekli müdahale yapılabilir. Başka bir ifadeyle, oldukça hassas olan nanobiyosensörler hastalığı henüz başlangıç aşamasındayken önleme olanağı sağlamaktadır (Lobo vd., 1997; Wang vd., 1997; Zhang ve Tadigadapa, 2004; Mukhopadhyay vd., 2005; Tang vd., 2006).

### 1.1.1 Elektrokimyasal Biyosensörler

Elektrot yüzeyinde meydana gelen kimyasal reaksiyon sonucunda elektron(lar) aktarımı hedef analitin konsantrasyonu ile orantılı elektriksel sinyaller oluşmaktadır. Elde edilen bu sinyaller ile elektrokimyasal biyosensörlerin tasarımında genellikle altın, gümüş, karbon veya platinden elde edilen elektrotlar kullanılmaktadır (Heinemann vd., 1979). Amperometrik, potansiyometrik, konduktometrik biyosensörler elektrokimyasal biyosensörlere örnektir. Şekil 1.1 biyosensörlerin genel çalışma prensibini göstermektedir.



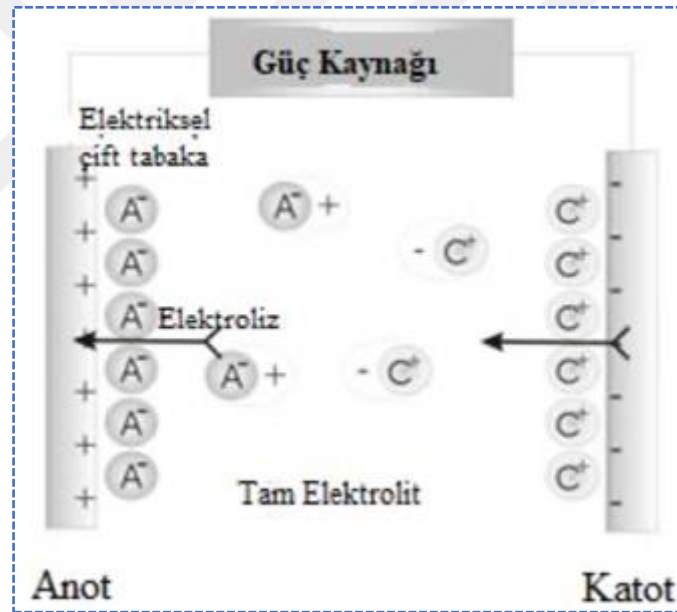
Şekil 1.1 Biyosensörlerin genel gösterimi (Keskin ve Arslan, 2020)

Elektrokimyasal, optik ve gravimetrik sensörler, en yaygın ve etkili dönüştürücü sistemler arasında yer almaktadır. Bir yandan, amperometrik sensörler, optik sensörlerden farklı olarak opak ortamlarda da çalışabilirler. Diğer yandan, optik teknikler tarafından sağlanan seçicilik, elektromanyetik radyasyon spektrumunun farklı bölgelerinde çalışabilmeleri ve dalga boyunu değiştirerek sınırlı bir bölge üzerinde işlem yapabilmeleri nedeniyle, elektroda uygulanan potansiyel aralığına kıyasla çok daha yüksektir. Her iki

durumda da, ölçüm işlemi, numune çok sayıda ölçüme tabi tutulsa bile, numunenin bileşimini önemli ölçüde değiştirmez. Bununla birlikte, bir elektrodun dezavantajı olarak bilinen, güvenilir ve tekrarlanabilir yanıtlar elde edilmesinde genellikle ciddi bir engel teşkil etmektedir.

Amperometrik sensörler için kullanılan birçok elektrot malzemesi, farklı amaçlar için geliştirildikten sonra (örneğin, yakıt hücreleri, piller veya preparatif elektrokimya) elektrokimyasal analiz için de kullanılabilir hale gelmiştir. Önerilen çeşitli malzemeler arasında, özellikle yüksek seçicilik özelliğine sahip biyolojik tanıma elementleri önemli bir yer tutmaktadır.

Sıvıların iletkenliğinin esas alındığı biyosensörde iyonların göçü söz konusudur. Çözelti içerisinde potansiyel uygulandığında bir elektrik alanı oluşur ve iyon göçü başlar. Şekil 1.2’te çözelti ortamında iyonların göçü özetlenmiştir.



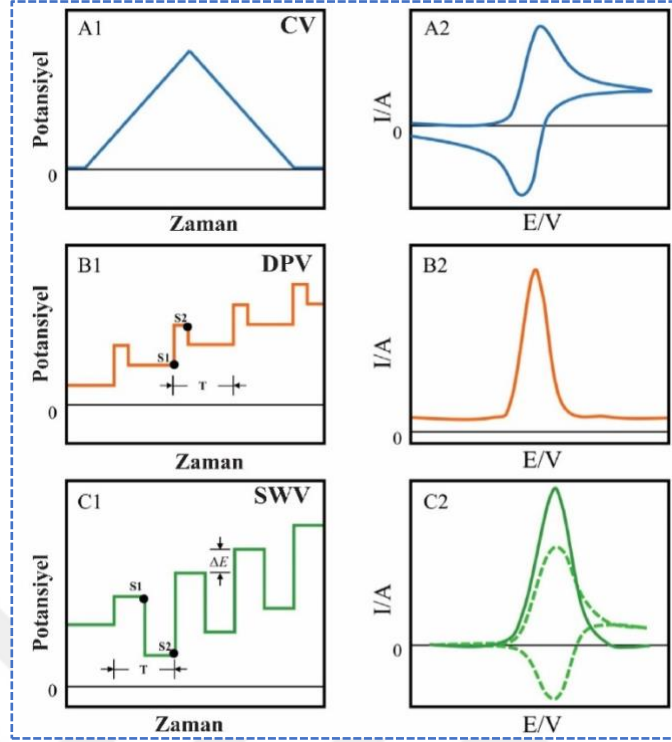
Şekil 1.2 Çözelti içinde bulunan iyonların göçü (Jaffrezic-Renault ve Dzyadevych, 2008)

## 1.2 Voltametri

Voltametri, iyi duyarlılık, tespit hızı, güvenilirlik ve doğruluğa sahip olan ve biyosensörlük alanında en yaygın kullanılan elektrokimyasal tekniklerden biridir (Chen ve Shah, 2013; Lu vd., 2018; Wei vd., 2018; Chauhan, 2021). Bu teknik, bir hedef analitin reaksiyon mekanizmasını elektrokimyasal bir bakış açısıyla incelemenin yanı sıra, farklı voltametrik teknikler kullanılarak örnek parametrelerini nicelendirebilir (örneğin, dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri, kare dalga puls voltametri ve anodik çözünme kare dalga voltametri). Bir çözeltinin elektroanalizi sırasında oluşan yanıt akımı ve uyarım potansiyeli, geniş boyutlu özelliklere sahip bir voltamogram oluşturur (Torrecilla vd., 2008; Nesakumar vd., 2015).

Voltametri genellikle standart üç elektrotlu sistemde (çalışma elektrodu, karşı elektrot ve referans elektrot) kullanılır. Bu yöntem, elektrokimyasal olarak aktif maddelerin çalışma elektrodu üzerindeki oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarını tetiklemek için belirli bir potansiyel uygular ve ardından belirli bir zaman aralığında yanıt akımını ölçer (Achterberg, 1996). Dönüşümlü voltametri (CV) (Kissinger ve Heineman, 1983), diferansiyel puls voltametri (DPV) (Lovrić ve Osteryoung, 1982) ve kare dalga voltametrisi (SWV) (Osteryoung ve Osteryoung, 1985) yaygın analitik tekniklerdir. Uygun bir voltametrik tekniğin seçimi, biyosensörlerin duyarlılığını ve seçiciliğini artırmaya yönelik çalışmalarda faydalı olabilir. Çeşitli voltametrik yöntemler, yüksek duyarlı, hızlı yanıt veren elektrokimyasal biyosensörlerle birlikte biyosensör uygulamalarında geniş ölçüde kullanılmaktadır. Dönüşümlü voltametri, üretilen bir akımı algılamak için bir çalışma elektroduna üçgen bir dalga formundaki bir tarama potansiyeli uygulayan en yaygın kullanılan elektrokimyasal tekniktir (Şekil 1.3A1). Çalışma elektrodundaki potansiyel döngüsü, çözeltideki elektrokimyasal olarak aktif türlerin sürekli oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarını sürdürür. Çalışma elektroduna uygulanan potansiyel, çözeltideki türlerin denge potansiyeline yaklaştıkça, yanıt akımı yavaş yavaş artar ve elektrot yüzeyindeki yükseltgenmiş/indirgenmiş türler azalır. Yük transferi ve difüzyon hareketlerinin dengesine ulaşana kadar bir oksidasyon/indirgeme pik noktası belirir (Şekil 1.3A2). Voltammogramdaki pik noktalarının şeklinin analiz edilmesiyle, reaksiyonun reversibilitesi, redoks potansiyeli, reaksiyon hızı ve analit konsantrasyonu gibi reaksiyon mekanizmasıyla ilgili bilgiler elde edilebilir (Evans vd.,

1983; Gosser, 1993). Puls tabanlı voltametri, iz sürme deteksiyonu için dönüşümlü voltametriye açık bir avantaja sahiptir. Diferansiyel puls voltametri, sabit bir amplitüd pulsunu bir adım potansiyeline bindirir. Akım, potansiyel pulsunun uygulanmadan önce örneklendirilir ve pulsun sonunda tekrar örneklendirilir (Şekil 1.3B1). Ardından, farkı hesaplayarak nispeten saf bir Faraday akımı elde edilebilir (Şekil 1.3B2). Yük akımı, voltammogramda nispeten sabit bir taban çizgisi olarak temsil edilir, bu nedenle arka plan daha iyi ayırt edilebilir ve daha düşük bir gözlenebilme sınırı sağlanabilir. DPV'nin iyi duyarlılığı, inorganik ve biyolojik olarak önemli bileşiklerin tayini için tercih edilen elektrokimyasal analiz yöntemi olmasını sağlar (Adeloju vd., 1985; Deshmukh vd., 2018; Liu vd., 2020). SWV, puls ve dönüşümlü voltametrimin avantajlarını birleştirir ve daha güçlü bir elektrokimyasal teknik olarak kabul edilir (Mirceski vd., 2013). Tipik potansiyel dalga formu, bir merdiven dalga ile simetrik bir kare dalga ile birleştirilir. Her adım düzlemine eşit ve simetrik potansiyel yükseklikleriyle pulslar uygulanır ve her döngünün ileri ve geri pulsları elektrotları anodik ve katodik yönlere doğru elektrokimyasal reaksiyonlara sokar (Şekil 1.3C1). SWV, orta artışlarla yüksek tarama hızları elde edebilir. Yük akımını ve Faraday akımını ayırt etmek için SWV'nin stratejisi, her pulsun sonunda akımı örneklendirmektir. İki örnekleme noktası, ileri ve geri akımları alır, ve net akım, ileri ve geri akım arasındaki fark alınarak elde edilebilir (Şekil 1.3C2). SWV ve DPV benzer hassasiyetlere sahiptir, ancak SWV, daha kısa bir potansiyel periyodu ile daha hızlı bir tespit hızına ulaşabilir. Aynı zamanda, SWV, geri dönüşümlü veya yarı geri dönüşümlü elektrot süreçlerini analiz etmek için uygundur. Bu özellikler, SWV'nin biyolojik bileşiklerin temel araştırma ve analizinde yaygın olarak kullanılan bir yöntem olmasını sağlar (El Mhammedi vd., 2009; Pohanka vd., 2009; Gulaboski vd., 2012).

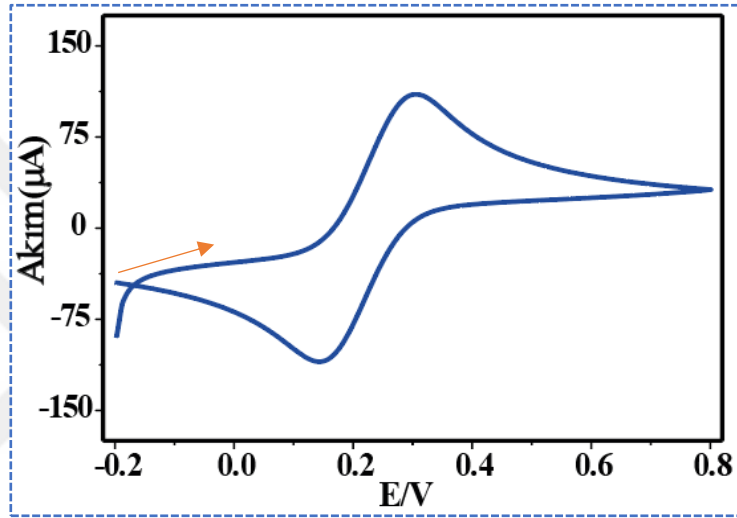


Şekil 1.3 Dönüşümlü voltametrinin potansiyeli (A1) ve tipik cevAP akımı (A2); diferansiyel puls voltametrinin potansiyel dalga formu (B1) ve voltamogramı (B2), potansiyel dalga formunda, T dalga formu periyodudur ve S1 ve S2 iki akım örnekleme noktasıdır; kare dalga voltametrinin tipik potansiyel dalga formu (C1),  $\Delta E$  potansiyel artışıdır, T potansiyel periyodudur. Akım cevabı İleri (anot akımı) ve geri (katot akımı) yönlü bileşenlerden oluşur ((C2)'deki kesik çizgi) ve bunların farkı net bir akımla sonuçlanır ((C2)'deki kesintisiz çizgi) (Liu vd., 2022)

### 1.2.1 Dönüşümlü Voltametri

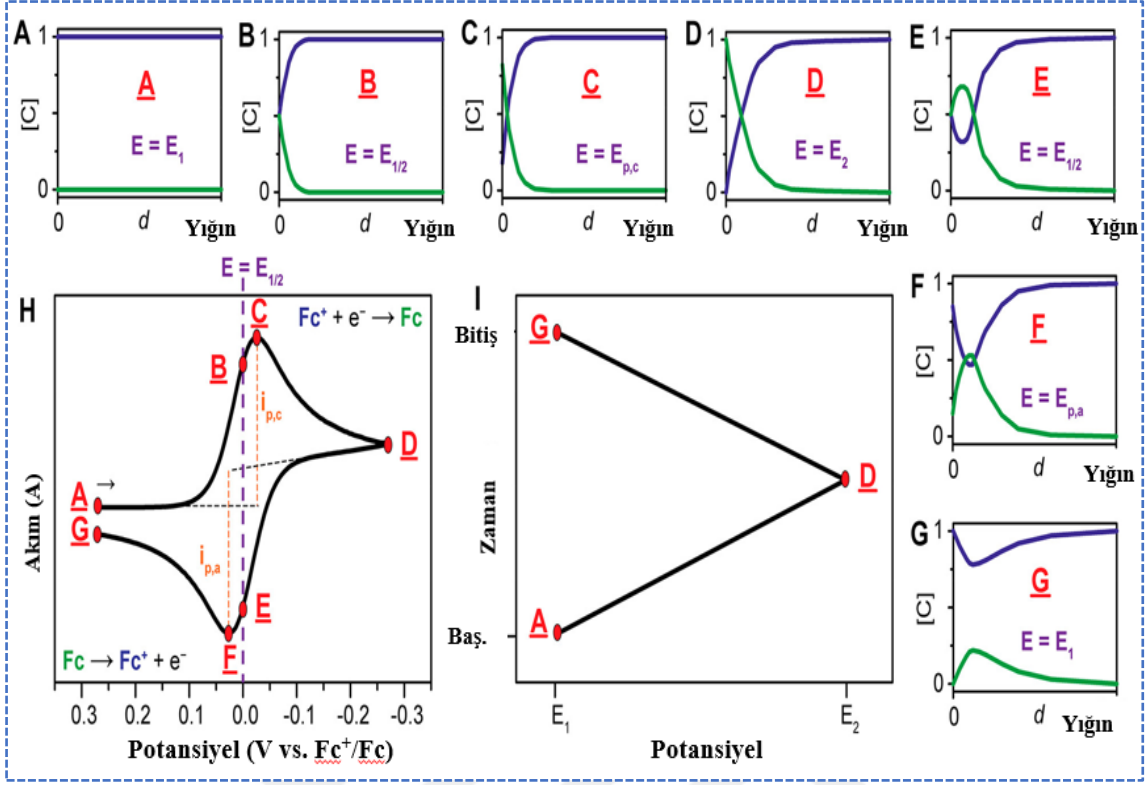
Dönüşümlü voltametri yönteminde, küçük ve sabit bir çalışma elektrodu potansiyeli, bir elektrot reaksiyonunun meydana gelmediği bir potansiyelden başlayarak zamanla doğrusal olarak değiştirilir ve bir maddenin (çalışılan materyal) indirgenmesi veya yükseltgenmesinin meydana geldiği potansiyellere hareket eder. Bir veya daha fazla elektrod reaksiyonunun meydana geldiği potansiyel bölgesini geçtikten sonra, doğrusal taramanın yönü tersine çevrilir ve elektrot reaksiyonları sırasında ortaya çıkan ara ürünler, genellikle ileri taramada tespit edilebilir. Deneyin zaman ölçeği, tarama hızı ve toplam geçilen potansiyel tarafından kontrol edilir ve genellikle  $10^2$  ile  $10^{-5}$  s aralığında değişebilir, ancak nicel deneyler genellikle  $10^{-10}$  ile  $10^{-3}$  s arasında sınırlıdır. Yüklü reaktanların ve ürünlerin göçünü bastırmak için destekleyici bir elektrolit bulunmaktadır.

Şekil 1.4'te elde edilen eğriler voltammogramlar veya dönüşümlü voltammogramlar olarak adlandırılır. X eksenini, sisteme uygulanan bir parametreyi temsil eden uygulanan potansiyeli (E), y eksenini ise cevabı temsil eden elde edilen akımı (i) göstermektedir. Akım eksenini bazen gösterilmez bunun yerine grafik içine bir ölçek çubuğu yerleştirilir. CV verilerini rapor etmek için iki yaygın kural kullanılır, ancak verilerin toplanması ve çizilmesi için kullanılan işaret konvansiyonunu açıklayan bir ifade nadiren sağlanır.



Şekil 1.4 GCE kullanılarak 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1:1) çözeltide 0.1 V/s tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltammogram

Ancak potansiyel eksenini, kullanılan kuralın bir ipucunu verir. Her işaret, verileri kaydetmek için potansiyelin tarandığı yönde bir ok içerir. Ok, ilk bölümün başlangıcını ve tarama yönünü (veya "ileri tarama" olarak adlandırılır) gösterir ve başlık deneyin koşullarını belirtir. Şekil 1.4'ün başlığında bulunan önemli bir parametre vardır ki bu değere tarama hızı (v) denir. Deney sırasında saniyede uygulanan potansiyel doğrusal olarak değiştirildiğini belirtir.



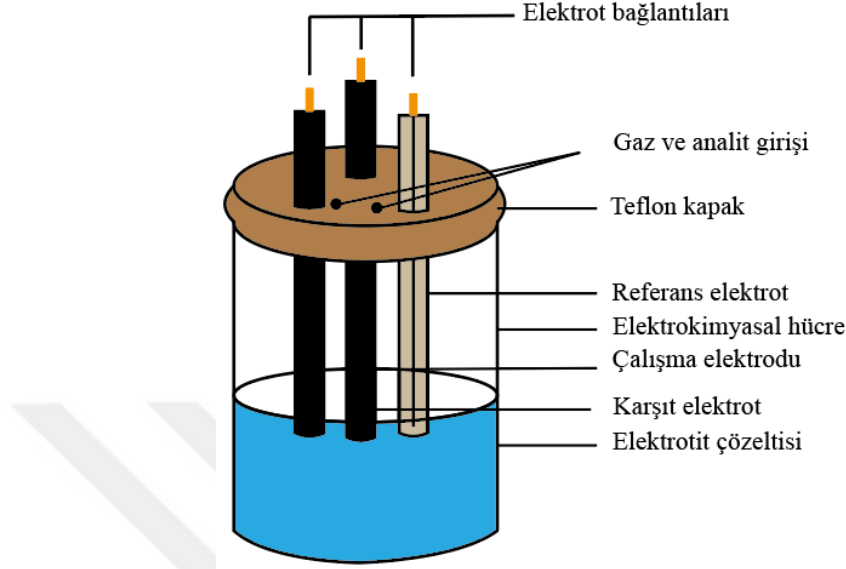
Şekil 1.5 (A–G):  $Fc^+$  (mavi) ve  $Fc$  (yeşil) için konsantrasyon profilleri (mM), elektrottan uzaklığın ( $d$ , elektrot yüzeyinden toplu çözeltiye kadar, örneğin 0.5 mm) bir fonksiyonu olarak voltamogram üzerinde çeşitli noktaların gösterimi. (H):  $100 \text{ mVs}^{-1}$  tarama hızında 1 mM  $Fc^+$  çözeltisinin  $Fc$ 'ye geri dönüşümlü indirgenmesinin voltammogramı. (I): Genel bir dögüsel voltametri deneyi için zamanın bir fonksiyonu olarak uygulanan potansiyel; başlangıç, anahtarlama ve bitiş potansiyelleri temsil edilir (sırasıyla A, D ve G) (Elgrishi vd., 2018)

Şekil 1.5I akımın zamanla uygulanan potansiyel arasındaki ilişkiyi gösterir ve Şekil 1.5H ise Şekil 1.5I 'de karşılık gelen voltamogramla ilişkiyi görmek için potansiyel eksenini x eksenini kullanarak zaman ve uygulanan potansiyel arasındaki ilişkiyi göstermektedir.

Bu örnekte, ileri taramada, potansiyel başlangıç potansiyelinden  $E_1$ 'den dönüş potansiyeline  $E_2$  negatif olarak taranır. Bu katodik tarama olarak adlandırılır. Tarama yönü daha sonra tersine çevrilir ve potansiyel  $E_1$ 'e pozitif olarak taranır, bu da anodik tarama olarak adlandırılır.

Bir dönüşümlü voltametri deneyinde kullanılan kap, bir elektrokimyasal hücre olarak adlandırılır. Bir elektrokimyasal hücrenin şematik bir temsili Şekil 1.6'te gösterilmiştir. Sonraki bölümler, her bileşenin rolünü ve bir dönüşümlü voltametri deneyi

sırasında veri toplamak için bir elektrokimyasal hücre nasıl oluşturulduğunu açıklamaktadır.



Şekil 1.6 Üç elektrotlu bir elektrokimyasal hücrenin gösterimi

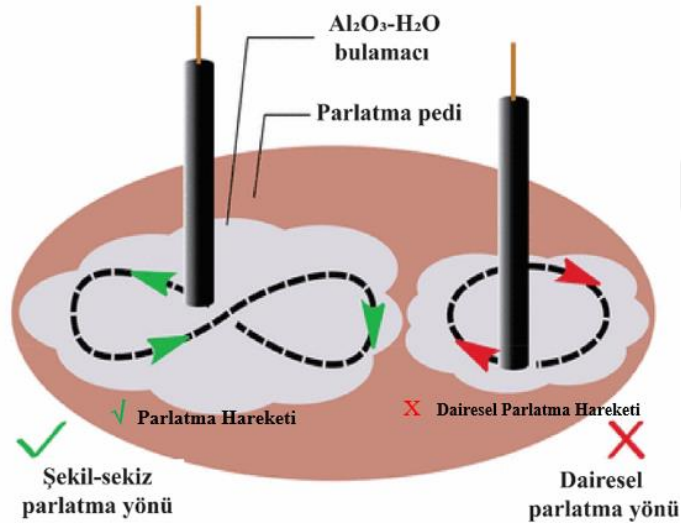
Bir CV deneyi sırasında elektron transferi gerçekleştiğinde, elektriksel nötrallik, çözeltildeki iyonların göçü aracılığıyla korunur. Elektronlar elektrottan analite aktarıldığında, iyonlar yükü dengelemek ve elektrik devresini kapatmak için çözeltilde hareket eder. Çözücüye çözülmüş bir tuz, destekleyici elektrolit olarak adlandırılır ve çözelti direncini azaltmaya yardımcı olmak için kullanılır. Çözücü ve destekleyici elektrolitin karışımı genellikle "elektrolit çözeltisi" olarak adlandırılır.

Çalışma elektrodu ilgi duyulan elektrokimyasal olayı gerçekleştirir. Bir potansiyostat, çalışma elektrodunun uygulanan potansiyelini referans elektrot potansiyeline bağlı olarak kontrol etmek için kullanılır. Çalışma elektrodunun en önemli özelliği, ilgi duyulan potansiyel aralığında redoks-inert malzemeden oluşmasıdır. Çalışma elektrodunun türü, farklı potansiyel aralıkları sağlamak veya ilgi duyulan türlerin yüzey adsorpsiyonunu azaltmak için deneyden deneye değiştirilebilir.

İlgilenilen elektrokimyasal olayın çalışma elektrodu yüzeyinde gerçekleştiği için elektrot yüzeyinin son derece temiz ve yüzey alanının iyi tanımlanmış olması hayati önem taşır. Elektrotların temizlenme işlemi, elektrot türüne bağlı olarak değişebilir ve laboratuvaradan laboratuvara farklılık gösterebilir. Camsı karbon veya platin gibi

elektrotlar kullanılırken, temiz elektrot yüzeyleri mekanik temizleme ile hazırlanabilir. Parçacıkları çıkarmak için elektrot daha sonra ultra saf su içinde temizlenir. Camsı karbon elektrotları için yüzey, temizleme yoluyla etkinleştirildikten sonra oldukça reaktiftir. Solventte kirleticiler bulunduğunda, bunlar elektrotun karbon yüzeyine öncelikle adsorbe olabilir ve voltamogramların değişmesine neden olabilir. Solvent kirleticilerinin adsorpsiyonunu sınırlamak için solventin aktif karbon ile işlenmesi kullanılabilir (Ranganathan vd., 1999).

Ayrıca temizleme işleminden kalan herhangi bir adsorbe türünü uzaklaştırmak için geniş bir potansiyel aralık boyunca basit bir elektrolit içinde birkaç CV taraması yapmak sıklıkla gerekli olabilir. Bu işlem, taramaların örtüşmesi ve herhangi bir pik gözlemlenmediğinde tekrarlanabilir. Bu işlem bazen "elektrotun ön işlemi" olarak adlandırılır (Şekil 1.7) (McCarthy vd., 2014).



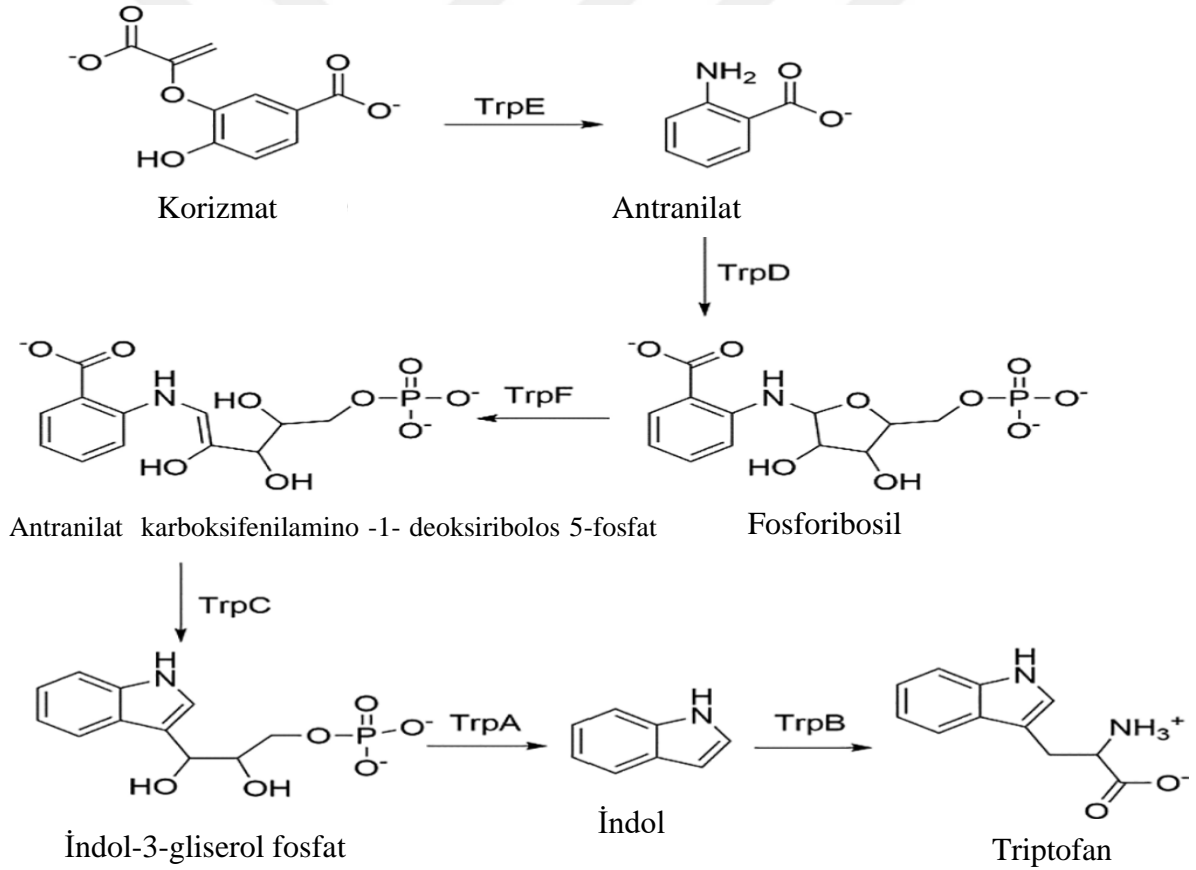
Şekil 1.7 Çalışma elektrodunun parlatma pedi üzerindeki temizleme şekli

Bir referans elektrodu, iyi tanımlanmış ve kararlı bir denge potansiyeline sahiptir. Bir elektrokimyasal hücrede diğer elektrotların potansiyeli karşılaştırılabilir bir referans noktası olarak kullanılır. Dolayısıyla, uygulanan potansiyel genellikle belirli bir referans karşısında "karşılaştırma" olarak rapor edilir. Bir hücrede kullanılan elektrolitten bağımsız bir elektrot potansiyeline sahip birkaç yaygın (ve genellikle ticari olarak temin edilebilir) elektrot sistemi vardır. Sulu ortamda kullanılan bazı yaygın referans elektrotları arasında doygun kalomel elektrodu (SCE), standart hidrojen elektrodu (SHE)

ve Ag/AgCl elektrodu bulunmaktadır. Bu referans elektrotları genellikle bir gözenekli frit ile çözeltiden ayrılmıştır. Gözenekli bağlantı potansiyellerini minimuma indirmek için, referans bölmesindeki çözücü ve elektroliti, deneyde kullanılanla eşleştirmek en iyisidir (Elgrishi vd., 2018).

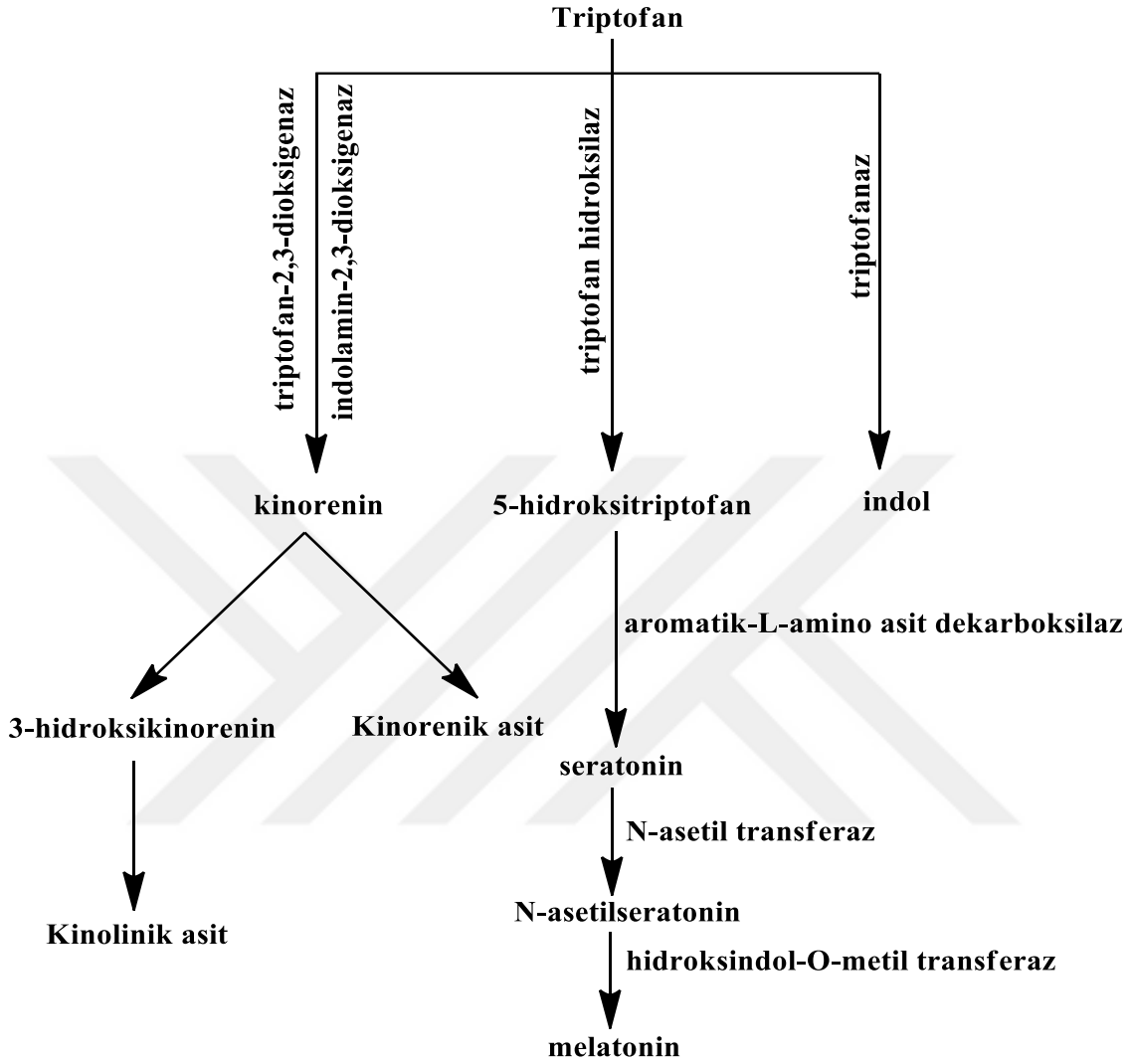
### 1.3 Triptofan Tanımı ve Biyosentezi

Sistemik adı (S)-2-Amino-3-(1H-indol-3-il)-propiyonik asittir. Kısaca Trp olarak gösterilir. Kimyasal formülü  $C_{11}H_{12}N_2O_2$  olup molekül ağırlığı 204.225 g/mol'dür. Erime noktası  $289^{\circ}C$ , yoğunluğu  $1.34 \text{ g/cm}^3$  (Ünüvar, 2017). Şekil 1.8 triptofanın biyosentezini sematik olarak göstermektedir.



Şekil 1.8 Triptofanın biyosentezi (Consalvi vd., 2019)

### 1.3.1 Triptofanın Metabolizması



Şekil 1.9 Triptofanın metabolizması (Jena vd., 2020)

Triptofan başlıca kinurenin üzerinden asetoasetil KoA ve nikotinati verir (Şekil 1.9). Parçalanmadan önce triptofan oksigenaz ile N-formil kinurenin meydana gelir. Sonra kinurenin, 3OH antranilik asit ve bir seri reaksiyonlarla asetoasetil KoA, diğer taraftan yine 3OH antranilat üzerinden NAD (Nikotinamid adenin dinükleotit) ve NADP meydana gelir.

Proteinleri meydana getiren 20 amino asitten biri olan triptofanın genetik kodu UGG olup, nonpolar bir amino asittir. L- Triptofan  $\beta$ -Karbon üzerinde süstitüe indol halkası içeren alanin türevi bir esansiyel amino asittir. Bu süstitüe indol halkaları,

biyokimyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Triptofan esansiyel bir amino asit olduğu için insan vücudunun sentezleyemediği amino asitler grubundadır. Bundan dolayı bu amino asitin beslenme ile dışardan vücuda alınması şarttır. Glukojenik ve ketojenik bir amino asit olan triptofan piruvat ve asetil KoA üzerinden yıkılır. Yapısında indol halkası bulunur. Bu indol halkası serotonin ve melatonin çeşitli bileşiklerin yapısına katılır. Karaciğerde triptofan yıkımı ile nikotinik asit sentezlenir.

Triptofan, insan vücudunda oldukça değişik fizyolojik görevleri olan temel bir amino asittir (Mazloun-Ardakani vd., 2011). Triptofan nörotransmitter serotonin (5-hidroksitriptamin) dahil olmak üzere, insan bedeninde pek çok önemli maddelerin üretilmesi için gereklidir. Bunun yanında biyolojik süreçlerde örneğin, protein sentezinde, hayvan büyümesinde ve bitki gelişiminde önemli bir görevi vardır (Diem vd., 2000; Miller vd., 2003; Von Nussbaum, 2003; Mackay vd., 2006). Triptofan bununla beraber protein aktivitesini, hidrofobikliği ve çeşitliliği belirleyen en önemli etkenlerden arasında yer alır (Friedman ve Cuq, 1988; Budisa vd., 2002). Triptofan proteinlerin önemli bir bileşenidir ve insan beslenmesinde pozitif azot dengesinin kurulması ve korunmasında oldukça gereklidir (Fiorucci ve Cavalheiro, 2002). Triptofandan üretilen serotonin hormonu “mutluluk hormonu” ismiyle bildiğimiz ve duygu durumumuzu oldukça etkileyen bir hormondur. Serotonin büyümekte olan beynin bazı bölgelerinin serotonerjik büyümesini, olgunlaşmasını düzenler ve hipofiz büyüme hormonunun salgılanması üzerine etkileri bulunur (Whitaker-Azmitia, 2005). Ayrıca kilo kontrolü, toplumsal düzen, beslenme, saldırganlık ve intihar, saplantı-takıntı bozuklukları, alkolizm, anksiyete gibi oldukça yaygın konu kapsamı içeren davranışlarla ilgilidir (Best vd., 2010).

Melatonin, serotonin asetillenmesi ve metillenmesiyle epifiz bezinde oluşmaktadır (Onat vd., 2006). Asıl görevi insan bedeninin biyolojik saatini koruyup, ritmini ayarlamak olan melatonin, vücudun çoğu biyolojik ve fizyolojik süreçlerinde bulunur.

Triptofan; metabolizmasının karışıklığı, metabolitlerinin çeşitliliği ve önemi, ayrıca saflaştırılmış hâlde farmakolojik ajan olarak kullanılması açısından farklı bir amino asittir. Esansiyel aromatik amino asit olan ve yapısında indol halkası taşıyan triptofan, önemli bileşiklerin oluşumunda görev alır. Bu sebeple serotonin, melatonin, triptamin, kuinolinik asit ve kinürenik asit gibi birçok biyolojik aktif bileşiğin ön

maddesidir. Bununla beraber triptofanın karaciğerdeki yıkım yolunda niasin (B<sub>3</sub> vitamini) oluşur (Sainio vd., 1996; Onat vd., 2006).

### 1.3.2 Triptofan Ne İşe Yarar?

Triptofan, amino asitlerin vücuttaki en düşük konsantrasyonuna sahiptir. İnsan davranışları ve duygu durumunu etkileyen, hayati önem taşıyan işlevleri bulunur.

- Uyku bozukluklarını azaltır.
- Hafıza becerilerini güçlendirdiği varsayılmaktadır.
- Depresyon riskini azaltır.
- Saldırganlık eğilimlerini azaltır.
- Elastin ve kolajen gibi proteinlerin temel parçasıdır.
- İştahı düzenleme yardımcı olur.
- Serotonin içerir. Bu sebeple mutluluk verdiği düşünülmektedir.
- Triptofanın ürettiği moleküller, vücudun optimal işleyişi için gereklidir.
- Sigarayı bırakırken oluşan kaygı bozukluklarını azaltır.
- Sinir hücrelerinin çalışmasını daha iyi bir duruma getirir (Zilpah Sheikh, 2023).

### 1.3.3 Günlük Triptofan İhtiyacı Ne Kadardır?

Yetişkin bir insanın bedeninin alması gereken günlük triptofan ihtiyacı, her kilo için yaklaşık 3.6-6 mg arası değişiklik gösterir. Triptofan ihtiyacı kişinin kilosuna, yaşına ve yaptığı spora göre farklılık gösterir (Zilpah Sheikh, 2023).

### 1.3.4 Triptofan Eksikliği Nedir?

Dengesiz ve yanlış beslenme alışkanlıkları triptofan eksikliğinin en sık bilinen nedenidir. Triptofan protein sentezinde kullanılan bir amino asittir. Vücutta triptofan seviyesinin azalması, protein eksikliğine de neden olur.

- Triptofan seviyesinin düşmesi, serotonin üretiminin azalmasına sebep olur. Bu yüzden duygu bozukluklarına ve depresyona neden olabilir.
- Çocuklarda kilo kaybının sebeplerinden biridir.

- Triptofan eksikliği, hafıza performansını düşürür.
- Konsantrasyon kaybı ve öğrenme güçlüğüne yol açar.
- Serotonin ve melatonin seviyesinin azaldığı durumlarda, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları ortaya çıkmaktadır. Serotonin ve melatonin seviyelerinin düşük olduğu durumlarda uzun süreli depresyon da görülür. Triptofan yeteri kadar metabolize olmadığında, beyinde zehirli bir atık ürün meydana getirerek halüsinasyonlara ve hezeyanlara neden olur (Kochen ve Steinhart, 1994)
- Kandaki triptofan seviyesi beyinde serotonin ve melatonin seviyesi ile ilişkili olduğu kadar plazmada karaciğer hastalığı ile de ilişkilidir (Fan vd., 2011). Triptofan anksiyetesi olan endişeli ve kaygılı insanlar için oldukça önemlidir. Aynı zamanda, uyku yardımcı ve antidepresan olarak kullanılır (Shahrokhian ve Bayat, 2011).

### 1.3.5 Triptofan İçeren Besinler Nelerdir?

L- Triptofan doğada enantiomer yapıdadır. İnsan vücudu tarafından sentezlenemediğinden dolayı yalnızca beslenme yoluyla alınan temel bir amino asittir (Moranta vd., 2014).

Triptofan içeren besinler; hindi, soya fasulyesi, ceviz, soyulmamış pirinç, muz, mısır, çilek, domates, , tavuk, konserve ton balığı, fındık, mercimek, bezelye, yulaf, kaşar peyniri, yer fıstığı, inek sütü, tam buğdaylı ekmek, üzüm, kabak çekirdeği, ananas ve çikolatadır. Süt, beslenme ile alınan en önemli triptofan kaynağıdır. Morina, uskumru, sardalya, levrek, somon gibi yağlı balıklar, karides ve tarak kabuğu gibi deniz canlıları da triptofan bakımından zengindir besinlerdir.

Triptofan, bu besinlerde serbest halde bulunmaz. Besinlerin içindeki proteinlerin yapısında bulunur.

### 1.3.6 Aşırı Triptofan Takviyesinin Zararları Nelerdir?

Triptofan gerektiği kadar miktarda vücuda alındığında sağlık yönünden oldukça faydalıdır. Fakat triptofanın aşırı miktarda alınması, baş dönmesi, baş ağrısı ve mide

bulantısı gibi yan etkilere neden olur. Özellikle 50 yaşın üzerindeki insanlar, triptofan içeren besinleri aşırıya kaçmayacak şekilde ölçülü tüketmelidir.



## 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Triptofan (Trp), insan sağlığında esansiyel amino asitlerden biri olarak bilinmektedir ve metabolizma, protein ve nörotransmitter sentezi gibi birçok biyolojik sürece dahil olmaktadır. Triptofan eksikliği metabolik bozukluklara ve anksiyete, depresyon ve uykusuzluk gibi bazı nörolojik hastalıklara neden olabilir. Triptofan vücutta sentezlenemediği için gıda ve ilaç kaynakları yoluyla seviyesinin korunması gerekir. Ancak aşırı Triptofan alımı aynı zamanda ciddi hastalıklara da neden olabilir; baş ağrıları, mide bulantısı, uyuşukluk, karaciğer hastalıkları ve insan şizofrenisi (Shahrokhian ve Fotouhi, 2007; Kokulnathan vd., 2019; Prongmanee vd., 2019). Bu bağlamda gıda ve biyolojik numunelerde triptofan tespiti için seçici ve hassas yöntemlerin geliştirilmesi son derece önemli hale gelmektedir. Elektrokimyasal teknik, yüksek duyarlılığı ve seçiciliği, düşük maliyeti ve basitliği nedeniyle amino asitlerin belirlenmesinde büyük ilgi görmüştür (Alaejos ve Garcia Montelongo, 2004). Ne yazık ki, çıplak elektrot (örneğin camsı karbon elektrot) genellikle triptofan tespitine yönelik zayıf algılama performansı gösterdi. Bu nedenle, elektrokimyasal sensörün performansının, elektrot malzemelerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerine güçlü bir şekilde bağlı olması nedeniyle, gelişmiş elektrot malzemesinin üretimi oldukça arzu edilmektedir (Abdulbari ve Basheer, 2017). Zhang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada indirgenmiş grafen oksit üzerine seryum oksit nanopartiküllerinin yüklenmesiyle üretilen elektrot malzemesi ve bunun triptofan için elektrokimyasal sensörde uygulanması yapmışlar. Burada, seryum oksit ( $CeO_2$ ) nanopartikülleri, tek adımlı hidrotermal sentez yaklaşımıyla indirgenmiş grafen oksit (RGO) üzerine yüklemişler ve hazırlanan nanokompozit ( $CeO_2/RGO$ ), triptofanın elektrokimyasal tayini için yeni elektrot malzemesi olarak kullanılmış.  $CeO_2/RGO$  (seryum oksit/indirgenmiş grafen oksit) nanokompozitin yapısı ve bileşimi, sırasıyla transmisyon elektron mikroskobu (TEM), X-ışını toz difraktometrisi (XRD) ve X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ile tamamen karakterize edilmiştir. Elektrokimyasal özellikler, dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametri (DPV) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) gibi çeşitli tekniklerle karakterize edilmiştir.  $CeO_2/RGO$  nanokompozit elektrodunun,  $CeO_2$  veya RGO malzemesiyle karşılaştırıldığında gelişmiş bir pik akım tepkisi sergilediği bulunmuştur. Elektrokimyasal sensör bazlı  $CeO_2/RGO$  malzemesi, triptofan belirlemeye karşı seçici ve

hassas bir yanıt göstermiş ve 80 nM değerinde bir gözlenebilme sınırı 0.2 ile 25 mM doğrusal aralık elde etmişler. Mevcut elektrokimyasal sensör mükemmel bir stabilite ve tekrarlanabilirlik sergilemiş ve gerçek gıda ve biyolojik örneklerde triptofanın belirlenmesinde başarıyla uygulanmış (Zhang ve Zhang, 2020).

Bir diğer çalışmada (Liu ve Xu, 2007), Bakır-kobalt hekzasianoferrat film modifiye grafit elektrota dayalı triptofan tayini için elektrokimyasal sensör geliştirmişlerdir. Bakır ve kobalt hekzasianoferratlar, grafit elektrot üzerinde elektrokimyasal olarak biriktirilerek elde edilen bu film, triptofanın oksidasyonuna yönelik bir elektrokatalitik aktivite sergilemiştir. Tarama döngüleri, bakır (II) ve kobalt (II) oranı, pH değeri, uygulanan potansiyel gibi deneysel koşullar ayrıntılı olarak incelenmiştir. Optimum koşullarda, elektrokatalitik yanıt, yaklaşık 6 µM'lik bir gözlenebilme sınırıyla, 10 µM ile 900 µM aralığında triptofan konsantrasyonuyla doğrusal bir ilişki olduğu görülmüştür. Bu modifiye edilmiş elektrot aynı zamanda sütteki triptofan konsantrasyonunu tespit etmek için de başarıyla kullanılmıştır. Triptofan tespiti için çözelti pH'sını optimize etmek amacıyla, pH'nın cevap akımı üzerindeki etkisi, 0.5 M KCl içeren tamponlu çözeltide incelenmiş. pH 7'nin altında katalitik akımda bir miktar artış olmuş ancak pH 7'nin üzerinde katalitik akımda bir azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca triptofanın aktivitesi izoelektrik noktasında çok daha yüksek olduğunu, dolayısıyla bu pH değerinde daha yüksek akım cevabı meydana gelebilir diye ifade etmişlerdir. Cevap akımını uygulanan potansiyelle 0.4 V'tan 0.65 V'a kademeli olarak artarken, potansiyel 0.7 V'tan yüksekse azaldığını görmüşler ve optimal potansiyel 0.65 V olarak seçmişler (Liu ve Xu, 2007).

Başka bir çalışmada ise (Mao vd., 2012), Ag@C ile modifiye edilmiş camısı karbon (Ag@C/GC) elektroduna dayalı olarak triptofanın (Trp) tespiti için basit bir elektrokimyasal yöntem bildirmişlerdir. Ag@C çekirdek-kabuk yapılı nanopartiküller, hidrotermal yöntem kullanılarak sentezlenmişler ve taramalı elektron mikroskobu (SEM), transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve Fourier dönüşümü-kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile karakterize etmişler. Trp'nin Ag@C/GC elektrotu üzerindeki elektrokimyasal davranışları araştırılmış ve doğrudan bir elektrokimyasal süreç sergilediği görülmüş. Ag@C/GC elektrotunun olumlu elektrokimyasal özellikleri, Ag çekirdeğinin ve karbon kabuğunun sinerjistik etkisine atfedilmiş. Karbon kabuk yalnızca Ag çekirdeğini korumakla kalmadığı, aynı zamanda gelişmiş substrat erişilebilirliğine ve Trp-substrat

etkileşimlerine de katkıda bulunurken, nano-Ag çekirdek aynı zamanda Trp'ye karşı iyi bir elektrokatalitik aktivite sergileyebildiğini görmüşler. Optimum deneysel koşullar altında oksidasyon pik akımı,  $4.0 \times 10^{-8}$  M gözlenebilir sınırla  $1.0 \times 10^{-7}$  ile  $1.0 \times 10^{-4}$  M aralığında Trp konsantrasyonuna doğrusal olarak bağlı olduğu görülmüş. Ayrıca önerilen elektrot gerçek numunelerde Trp konsantrasyonunun belirlenmesi için uygulanmış ve tatmin edici sonuçlar elde edilmiştir (Mao vd., 2012).

Bir diğer çalışmada (Palego vd., 2016) L-Triptofan, indol halkası taşıyan tek protein amino asittir (AA): canlı organizmalardaki biyotransformasyonu, hücrelerde ve dokularda bu kimyasal grubun korunmasına veya kırılmasına katkıda bulunarak her iki durumda da çeşitli biyoaktif moleküllerin oluşumuna neden olduğu denilmiştir (Palego vd., 2016). Trp biyolojisi üzerine yapılan araştırmalar, küçük türevlerinin homeostaz süreçleri üzerindeki çok yönlü etkilerini vurgulamaktadır. Protein döngüsünün yanı sıra, insanlarda Trp indol türevlerinin yolları, nörotransmitter/hormon serotonin (5-HT), pineal bez melatonin (MLT) ve iz amin triptaminin sentezini kapsamaktadır. Trp indol halkasının parçalanması ise "kinürenin yolağını" tanımlar ve hücre yanıt adaptörleri olan L-kinürenin, kinürenik ve kinolinik asitler veya koenzim nikotinamid adenin dinükleotid (NAD<sup>+</sup>) üretir. Bu derleme, dolayısıyla insan triptofan (Trp) araştırmalarında temel moleküler etkileycilerin bir "haritasını" çıkarmayı amaçlamaktadır. Bu AA'nın kimyasıyla başlayarak, biyosfer dağılımını ve insanlar için besinsel değerini ele alırken, aynı zamanda dokuya bağımlı alımını ve biyotransformasyonunu sağlayan bazı proteinlere odaklanıyoruz. Bu nedenle, Trp biyokimyasının insan kompleks hastalıklar/sendromlarının patogeneziindeki rolünü vurgularız, öncelikle bağırsak, nöroimmünendokrin/stres yanıtlarını ve santral sinir sistemi (CNS) ile ilgili olarak, bu alandaki Omics yaklaşımlarının kullanımını destekleriz. L-Triptofan (L-Trp), canlı organizmalarda bulunan büyük bir nötr amino asittir (LNAA) ve kesin olarak mRNA çevirisinin bir parçası olarak proteinlere dahil edilen 20 L-amino asitten biridir. Protein ve peptid dizilerindeki tüm Trp kalıntıları geleneksel olarak alfabenin "W" harfi ile gösterilir. İngiliz kimyager F. Hopkins tarafından 1901 yılında keşfedilen L-Trp amino asidi, insanlar için endojen olarak sentezlenemeyen ve gıdalarla sağlanması gereken 9 esansiyel amino asitten biridir, bu da diyet manipülasyonu çalışmalarıyla ortaya çıkarılmıştır. Protein/peptid sentezi ve döngüsünün bir ara maddesi olmasının yanı sıra, Trp, emilimden sonra bir dizi küçük biyoaktif, pleiotropik bileşiklere dönüşen ve her biri

birçok hücrel metabolik yol ve fizyolojik tepkiyi etkileyebilen bir nesne olarak insan biyolojik araştırmalarında yıllardır bilimsel araştırmaların konusu olmuştur. Böylelikle, L-Trp'den türetilen bileşiklerin değişiklikleri, kimyasal, hücrel ve davranışsal homeostazı sürdürmekle görevli olan sistemler ve organlar üzerinde etkili olan çeşitli metabolik hastalıklar ve sendromlar ile ilişkilendirilebilir: bağırsak-karaciğer sistemi ve santral sinir sistemi ile birlikte nöroendokrin ve bağışıklık sistemleri. Özellikle, bu amino asidin düzensiz metabolizması, bu sistemlerin gelişimi sırasında stresörlerin ve uyarıcıların, dış ve i antijenlerin, besin maddelerinin ve yabancı maddelerin etkileşim yeteneğini ve ayırt etme yeteneğini engelleyebilir. İnsan vücudunda üretilen Trp türevi bileşikler arasında, eski bir nörotransmitter olan serotonin (5-hidroksi-triptamin, 5-HT) bulunur. Bu biyojenik amin, insan CNS'sinde, ruh hali-anksiyete, kognisyon, nozisepsiyon, dürtüsellik, saldırganlık, libidoyu, beslenme davranışını ve vücut sıcaklığını içeren çevresel değişikliklere adaptif reaksiyonları ve yanıtları düzenlemesiyle bilinir (Frazer ve Hensler, 1999; Berger vd., 2009). 5-HT nörotransmitter olarak rol almasının yanı sıra, aynı zamanda periferik bölgelerin aktivitesini de modüle eder, özellikle bağırsak fonksiyonunu, immün ve inflamatuvar yanıtları, kan kök hücrelerinin diferansiyasyon sürecini ve hemodinamik fonksiyonu gibi (Berger vd., 2009). Gerçekten de, değiştirilmiş bir 5-HT iletiminin ruh halini etkileyen bozukluklar (Gingrich ve Hen, 2001) otizm ve bilişsel eksiklik (Whitaker-Azmitia, 2001; Giannaccini vd., 2013) anoreksiya veya bulimiya nervosa ve obezite (Giannaccini vd., 2013), ve diğer periferik semptomlar sunan sendromlarla, fibromiyalji, kronik yorgunluk sendromu ve irritabl bağırsak sendromu (IBS) ilişkilendirildiği bulunmuştur (Gruber vd., 1996). Ayrıca, 5-HT sırasıyla sirkadiyen düzenleyicilerin öncüsüdür, N-asetil-5-HT (NAS) ve melatonin (MLT), başta pineal bezde üretilirler ancak periferide de bu iki indolamin temizleyici bileşik olarak işlev görür (Oxenkrug ve Ratner, 2012). Omurgalılarda ve insanlarda, Trp'nin bir diğer ana metabolik yolu indol halkasının parçalanmasıdır, bu da birçok molekülün iltihap, bağışıklık yanıtı, uyarıcı nörotransmisyon ve diğer birçok fonksiyonda rol aldığı sözde "kinurenin yolağını" retilir. Endojen/diyet L-Trp'nin çok küçük bir miktarı 5-HT'ye dönüştürülür, bu da bu AA'nın biyokimyasal olarak yararlanabilirliğinin ve/veya dokulardaki metabolizmasının düzenlenmesindeki değişikliklerin, tüm farklı yolları ve kaderlerini dengede tutmak için kritik olabileceğini düşündürmektedir (Bender, 1983; Carrol, 1971). L-Trp metabolizmasının çeşitli bileşenleri uzun bir süredir incelenmesine

rağmen, bunların insanlardaki düzenleyici mekanizmaları özellikle de gelişimsel ve/veya cinsiyete bağımlı yönler açısından daha az ölçüde araştırılmıştır (Palego vd., 2016).

Başka bir çalışmada ise (Heine vd., 1995) protein metabolizmasında sınırlayıcı esansiyel amino asitlerden biri olarak rol oynamasının yanı sıra triptofan (Trp), nörotransmitter serotonin ve triptaminin sentezi için öncülük ederken aynı zamanda antipelagra vitamin nikotik asit ve epifiz hormonu melatonin için de öncülük eder demişlerdir. Bu kadar çok yönlü yolların içinde yer alarak, Trp ve metabolitleri iştah, uyku-uyanıklık ritmi ve ağrı algısı gibi nörolojik davranış etkilerini düzenler. Trp, serum albüminine yüksek derecede bağlanan tek amino asittir. Hücre zarlarından geçişi büyük nötr amino asitler (NAA) tarafından rekabetçi olarak engellenir. Plazmadaki Trp/NAA oranı, Trp nin uygunluğu ve dolayısıyla beyinde serotonin sentezi için esastır. Yüksek Trp konsantrasyonuna sahip olan insan sütü proteini, nörotransmitter serotoninun uygun koşullarda bulunabilirliği için optimal koşullar sağlar. Düşük proteinli inek sütü bazı bebek formülleri, %5.8 Trp içeren bir peynir altı protein fraksiyonu olan  $\alpha$ -laktalbumin ile takviye edilmiş olarak kendilerini yeni bir nesil formül olarak sunarlar, mevcut adaptasyon formüllerinin kullanılan protein karışımlarından çok daha fazla insan sütüne benzeyen bir amino asit formülü sunarlar. Triptofan (Trp), birçok açıdan en ilginç amino asitlerden biridir. Sinir iletici serotonin ve pelagradan korunma vitamininin çoğunluğu olan nikotik asit sentezinin öncüsü olarak hizmet eder. İnsan beslenmesi için önemli olan neredeyse tüm protein kaynaklarında sınırlayıcı bir amino asittir. Jölede tamamen eksiktir ve maya ile mısırdaki içeriği dikkate değer derecede düşüktür. Orantılı olarak yüksek Trp içeriğine sahip besinler, yumurta, süt, et, soya fasulyesi, patates ve pirinç, arpa, buğday, çavdar ve yulaf gibi tahıllardır (Wurtman vd., 2003). Trp'nin gıda proteinlerindeki dağılımı farklı fraksiyonlar arasında önemli ölçüde farklılık gösterir. İnek sütü proteininde,  $\alpha$ -laktalbumin yaklaşık % 5.8 Trp içerirken, sığır serum albümini ve  $\beta$ -kazein Trp bakımından son derece yoksuldur (Heine vd., 1991).  $\alpha$ -Laktalbumin fraksiyonunun amino asit bileşimi ve insan sütü  $\alpha$ -laktalbumininin amino asit dizileri ve inek sütü  $\alpha$ -laktalbumininin amino asit dizileri benzerdir. Ancak, insan sütü proteini %28  $\alpha$ -laktalbumin içerirken, inek sütündeki  $\alpha$ -laktalbumin toplam proteinin sadece %3'üne katkıda bulunur. Dolayısıyla, insan sütünden Trp tedariki, sığır sütüne eşit azot içeren miktarlardan çok daha yüksektir. Trp analizi önceden belirli ve duyarlı yöntemlerin eksikliği nedeniyle proteinlerde ve biyolojik sıvılarda Trp'nin kantitatif tayinleri eski

zamanlarda yapılması zordu. Bu nedenle, eski çalışmalarda proteinlerde ve biyolojik sıvılarda Trp konsantrasyonuna ilişkin veriler sıklıkla eksikti (Dickinson vd., 1965; Pohlandt, 1975; Widdowson vd., 1979). Hatta günümüzde, örneğin insan sütü için Trp konsantrasyonuna ilişkin veriler geniş çapta değişmektedir (Heine, 1994), bu da kısmen analitik zorluklardan kaynaklanmaktadır. Proteinlerin asidik hidrolizi, Trp 'nin neredeyse tamamen yok olması ile ilişkilendirilmiştir. Proteinlerdeki Trp'nin kantitatif belirlenmesi, tripsinik sindirim veya dikkatli alkalik hidroliz gerektirir. Serbest Trp'nin tespiti eskiden renk reaksiyonlarına ve mikrobiyolojik belirlemelere dayanıyordu (Friedman ve Finley, 1975; Williams vd., 1982) gibi birçok renk reaksiyonlu, iyon-değişim kromatografisiyle, florometrik veya elektrokimyasal tespit yöntemi önerilmiş olmasına rağmen (Nielsen ve Hurrell, 1985), Trp'nin tayini şu anda bir problem olarak görülmektedir. Trp'nin belirlenmesi, i) total protein Trp'si (asidik veya alkalik hidrolizle), veya ii) serbest Trp (hidroliz olmaksızın ancak protein çökeltilme), veya iii) albumin-bağlı Trp'nin analiz edilip edilmeyeceğine bağlıdır. Normalde, insan plazmasındaki serbest Trp miktarı toplam Trp'nin sadece %5-12'sini oluşturur (Eccleston, 1973). Serbest Trp'nin %80 ile %90'ı, amino asitler arasında benzersiz olan serum albüminine bağlıdır (Fuller ve Roush, 1973; Tricklebank vd., 1979). Yüksek serbest yağ asidi konsantrasyonları, Trp bağlanmasında rekabet edebilir ve taşıma proteinlerinden Trp'yi çıkarabilir (Greiling ve Gressner, 1989). Toplam Trp'yi (serbest ve albumin bağlı) tahmin etmek için en umut verici tekniklerden biri, insan plazmasının %10'luk trikloroasetik asit (20:80 vol-%) ile işlenmesidir (Körbel, 1984). Hafif yarı hidrolitik koşulların, Trp'nin serum albümininden serbest bırakılmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir (Heine vd., 1995).

Başka çalışmada (Wang vd., 2019) ise grafen oksit nano tabakaları (GO) ve askorbik asit (AA) kullanılarak sulu çözeltide poli (sodyum 4-stirensülfonat) fonksiyonelleştirilmiş grafen (PSS-grafen) sentezi için yeni bir green yöntem kullanmışlardır. Yapılan nanokompozitleri karakterize etmek için FTIR, XRD, SEM ve çeşitli elektrokimyasal teknikler kullanılmıştır. PSS-grafen, triptofan (Trp) için bir elektrokimyasal sensör üretmek amacıyla bir modifikatör olarak kullanılmıştır. PSS-grafenin Trp ve Tirozin (Tyr) için adsorpsiyon kapasitesindeki farklar ve Trp ile diğer muhtemel bulunan maddelerin farklı yük durumları nedeniyle sensör Trp için mükemmel seçicilik göstermiştir. Daha zengin ve artırılmış elektron transfer hızının sinerjik amplifikasyonu sayesinde, yalnız GCE ile karşılaştırıldığında PSS-grafen modifiye

edilmiş elektrot üzerinde Trp sinyali, yaklaşık 100 kat arttığı görülmüştür. Trp'nin pik akımı, 0.04 ile 10.0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  geniş aralıkta konsantrasyonu ile doğru orantılı olup gözlenebilirlik sınırı 0.02  $\mu\text{mol L}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Ayrıca önerilen sensör insan serum örneklerinde Trp tespiti için uygulanmıştır. Olumlu sonuçlar bu çalışmanın karmaşık örneklerde Trp'nin yüksek seçicilik ve duyarlılıkla belirlenmesi için yeni bir tasarım stratejisi ve değerli bir platform sağladığını ortaya koymuştur (Wang vd., 2019).

Başka bir çalışmada ise (Waterhouse vd., 2020), Trp hassas ve seçici ölçümü için nitrojen katkılı düzenli mezo gözenekli karbon (NOMC) içeren yeni bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. İlk olarak Trp'nin NOMC/Nafion/camsı karbon elektrot (GCE) üzerindeki elektro-oksidasyon mekanizması araştırılmış ve devamında iki elektron/iki proton transfer mekanizmasını takip ettiği görülmüştür. Daha sonra analitik çalışma koşulları optimize edilmiştir. Optimum test koşulları altında, yükseltgenme akımının Trp konsantrasyonu ile 0.5–70.0  $\mu\text{M}$  ve 70.0–200.0  $\mu\text{M}$  (her aralıkta farklı eğimler) aralığında doğrusal olarak arttığı ve gözlenebilirlik sınırının 35.0 nM olduğu belirlendi ( $S/G = 3$ ). Ek olarak sensör, Trp için oldukça seçiciydi ve iyi bir tekrarlanabilirlik ve uzun vadeli stabilite göstermiştir. 18 amino asit karışımı ve enzimatik protein hidrolizati gibi ortamlarda Trp çalışmaları mükemmel geri kazanımlar göstermiştir (%99.30–103.60). Sonuçlar NOMC/Nafion/GCE sensörünün rutin Trp analizi için mükemmel performans özelliklerine sahip olduğunu göstermektedir (Waterhouse vd., 2020).

Başka bir çalışmada (Peng vd., 2016) bilinen bir metal-organik kafes MIL-101(Fe) ve gümüş nanopartikül kompoziti (AgNPs/MIL-101), triptofanın (Trp) tespiti için elektrodu modifiye eden yeni bir malzeme görevi görmüştür. AgNPs/MIL-101 ile modifiye edilmiş camsı karbon elektrot (AgNPs/MIL-101/GCE) yalın elektrotla karşılaştırıldığında Trp'nin (10) yükseltgenme pik akımını arttırdığı görülmüştür. Ayrıca Trp'nin AgNPs/MIL-101/GCE üzerindeki elektrokimyasal davranışları dönüşümlü voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ile araştırılmıştır. Optimum deneysel koşullar altında yükseltgenme pik akımları, sırasıyla 1  $\mu\text{M}$  ile 50  $\mu\text{M}$  ve 50  $\mu\text{M}$  ile 150  $\mu\text{M}$  aralıklarındaki triptofan konsantrasyonlarıyla orantılıdır. Gözlenebilirlik sınırı 0.14  $\mu\text{M}$  ( $S/N=3$ ) olarak belirlenmiştir (Peng vd., 2016).



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Hidrojen tetrakloroaurat (III) trihidrat ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), Potasyum hidroksit (KOH), sodyum hidroksit (NaOH), potasyum hekzasiyanoferrat (II) trihidrat ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), potasyum klorür (KCl), bisfenol A (BPA), potasyum hekzasiyanoferrat (III) ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ), kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ), sodyum fosfat monobazik dihidrat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), glukoz (Glu), potasyum karbonat ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ), sodyum klorür (NaCl), glisin (Gly), pirokatekol (PC), sülfürik asit ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), Askorbik asit (AA), hidrokinon (HQ) ve dopamin (DA) Sigma-Aldrich® şirketinden satın alındı. Etanol, fenol, ürik asit, nitrik asit ve diğer kimyasal malzemeler Merck® şirketinden temin edildi. Elektrokimyasal ölçümler, opsiyonel FRA 32M ile birlikte Autolab PGSTAT128N potansiyostat/galvanostat kullanılarak yapıldı. Taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM; Zeiss sigma 300) analizleri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilim Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Elektrotların yüzeyini temizlemek için VWR USC300TH marka bir ultrasonic banyo kullanıldı. Ag/AgCl (3 M KCl) referans elektrodu, platin (Pt) tel karşıt elektrodu ve camısı karbon çalışma elektrodu (GCE) BASi Corp.'dan satın alınarak üç elektrotlu bir elektrokimyasal hücre için kullanıldı. Deneysel çalışmalarda kullanılan saf su GFL 2108 marka saf su cihazı kullanılarak elde edildi.

**Britton -Robinson tamponunun hazırlanması :** Britton-Robinson (BR) tamponunu hazırlamak için 0.04 M  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$  ve  $\text{H}_3\text{BO}_3$  kullanıldı. Bunun için yoğunluğu 1.71 g/mL ve %85 lik  $\text{H}_3\text{PO}_4$  stok çözeltisinden 2.697 mL, yoğunluğu 1.05 g/mL ve %100 lük asetik asit çözeltisinden 2.288 mL ve  $\text{H}_3\text{BO}_3$  den 2.473 g alınarak 1'lt lik behere konulmuştur. Daha sonra yaklaşık 950 mL saf su eklenerek NaOH ile istenilen pH değerinde tampon çözeltiler elde edildi.

**0.1 M Fosfat ( PBS, pH: 7.0 ) tamponunun hazırlanışı :** 7.8005 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  tartılarak yaklaşık 450 mL saf suda çözüldü ve pH değeri bir pH metre yardımıyla 7.0 olarak ayarlandı.

**0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinin hazırlanışı :** %98 lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> stok çözeltisinden 13.6 mL alınıp toplam hacim 500 mL ye tamamlandı.

**0.1 M NaNO<sub>3</sub> (pH: 3) çözeltisinin hazırlanışı :** 4.25 g NaNO<sub>3</sub> yaklaşık 450 mL saf suda çözüldü daha sonra pH değeri pH metreyle 3 e ayarlandı.

**20 mM Askorbik asit çözeltisinin hazırlanışı :** 0.0176 g askorbik asit alınarak bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi saf su ile 5 ml ye tamamlandı.

**5 mM Ürik asit (UA) çözeltisinin hazırlanışı :** 0.0042 g ürik asit alınarak bir miktar suda çözüldü. ürik asitin çözülmesi için yaklaşık 1-2 damla NaOH ilave edildi ve hacmi saf su ile 5 mL'ye tamamlandı.

**20 mM Glisin çözeltisinin hazırlanışı :** 0.0075 g glisin alınarak bir miktar suda çözüldü ve hacmi saf su ile 5 mL'ye tamamlandı.

**20 mM Glikoz çözeltisinin hazırlanışı :** 0.018 g glikoz alınarak bir miktar suda çözüldü ve hacmi saf su ile 5 mL'ye tamamlandı.

**20 mM Pirokatekol çözeltisinin hazırlanışı :** 0.0011 g pirokatekol alınarak bir miktar suda çözüldü ve hacmi saf su ile 5 mL'ye tamamlandı.

**5 mM Dopamin (DA) çözeltisinin hazırlanışı :** 0.0047 g dopaminhidroklorür alınarak bir miktar suda çözüldü ve hacmi saf su ile 5 mL'ye tamamlandı.

**5 mM Hidrokinon (HQ) çözeltisinin hazırlanışı :** 0.0028 g hidrokinon alınarak bir miktar suda çözüldü ve hacmi saf su ile 5 mL'ye tamamlandı.

**5 mM Bisfenol A (BPA) çözeltisinin hazırlanışı :** 0.0057 g Bisfenol A alınarak bir miktar suda çözüldü ve hacmi saf su ile 5 mL'ye tamamlandı.

**5 mM 4-nitrofenol (4-NP) çözeltisinin hazırlanışı :** 0.0035 g 4-nitrofenol alınarak bir miktar suda çözüldü ve hacmi saf su ile 5 mL'ye tamamlandı.

**5 mM Fenol (Ph) çözeltisinin hazırlanışı :** 0.0024 g fenol alınarak bir miktar suda çözüldü ve hacmi saf su ile 5 mL'ye tamamlandı.

**Gerçek örneğin hazırlanışı :** Bir tane triptofan tableti 500 mL suda çözüldü. Daha sonra bu çözelti bir süzgeç kağıdı yardımıyla süzüldü, sonraki çalışmalar için belirli bir miktarı alındı.

**Altın (Au) stok çözeltisinin hazırlanışı :** Yaklaşık olarak 0.3938 gr hidrojen tetrakloroaurat (III) trihidrat alınarak 20 mL saf suda çözünerek altın stok çözeltisi hazırlanmış oldu.

## **3.2 Yöntem**

### **3.2.1 Çalışma Elektrotlarının Hazırlanışı**

Camsı karbon elektrot (GCE) modifiye edilmeden önce yüzeyi alümina ( $Al_2O_3$ ) bulamacı ile parlatıldı. Daha sonra sırasıyla  $HNO_3/H_2O$  (1:1) ve etanol içinde ultrasonik banyo yardımıyla temizlendi. Temizlenen yalın elektrot pH değeri 7 olan 0.1 M PBS tamponuna daldırıldı ve dönüşümlü voltametri (CV) yardımıyla 0.1 V/s tarama hızında -1.5 ile +2.5 volt potansiyel aralığında 6 defa tarama yapıldı. Bu işlemten sonra elektrot saf suyla yıkanarak sonraki işlemler için hazır hale getirildi. Hazırlanan bu elektrot AGCE olarak isimlendirildi (Abdel-Aziz vd., 2022).

Yukarda elde edilen AGCE elektrodu 1mM altın çözeltisi içeren 0.1 M ve pH değeri 3 olan  $NaNO_3$  çözeltisine daldırıldı. Daha sonra CV kullanılarak 0.05 V/s tarama hızında 0 ile 1.4 volt potansiyelde 4 döngü ile tarama yapıldı. Elde edilen bu elektrot Au@AGCE olarak isimlendirildi. Au@AGCE elektrodu 0.5 M  $H_2SO_4$  çözeltisinde 0.1 V/s tarama hızında ve 0.4 ile 1.3 volt potansiyelde 10 defa tarama yapılarak aktifleştirildi (Hezard vd., 2012).

### 3.2.2 Elektrokimyasal Çalışmalar

Çalışmamızda yukarıda ifade edildiği gibi elde edilen çalışma elektrotların optimizasyonu için önce triptofanın maksimum yükseltgenme pik akımını veren CV döngüleri belirlendi. Daha sonra sensörün (elektrodun) en iyi cevap verdiği tamponun pH değeri belirlendi. Bu amaçla değişik pH değerlerinde (pH: 2.0–5.5) BR tamponları hazırlandı. Her bir tampona 0.1 mM Trp eklenerek 0.2-1.2 volt potansiyelde doğrusal taramalı voltamogramları elde edildi. Elde edilen bu voltamogramlar yardımıyla Trp'nin yükseltgenme pik akımına karşı pH grafiği elde edildi. Bu grafikte elde edilen en yüksek yükseltgenme pik akımını veren tampon sonraki deneysel çalışmalarda kullanıldı. Elektrokimyasal hücrede gerçekleşen reaksiyonun yapısını değerlendirmek için CV kullanılarak farklı tarama hızlarında voltamogramlar elde edildi. Yalın ve hazırlanmış elektrotların iletkenlik düzeylerini ve yük transfer dirençlerini bulmak için elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) kullanıldı. Çalışmada prob olarak 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  çözeltisi kullanıldı. Elektrotların aktif yüzey alanlarını hesaplamak için 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  çözeltide farklı tarama hızlarında voltamogramlar elde edildi. Elde edilen bu voltamogramlarda  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  nin yükseltgenme pik akımına karşı tarama hızının karekökü grafiği elde edildi. Bu grafiğin eğimi kullanılarak Randles- Sevcik formülü kullanılarak her bir çalışma elektrodun aktif yüzey alanı belirlenmiş oldu.

Elde edilen sensörün Trp için vermiş olduğu doğrusal tayin aralığı ve gözlenebilme sınırını (LOD) belirlemek için doğrusal taramalı voltametri kullanıldı. Sensörün tekrarlanabilirliğini değerlendirmek için aynı koşullar altında hazırlanan bir tane elektrot ile aynı derişimde Trp için en az 5 tane ölçüm elde edildi. Sensörün tekrar oluşturulabilirliğini değerlendirmek için de aynı koşullar altında hazırlanan farklı elektrotlarla en az 5 tane ölçüm yapıldı. Bu ölçümlerin ortalama değerleri standart sapmaları ve verim değerleri hesaplandı. Ayrıca öğrenci t testi kullanılarak her bir derişim için ölçüm aralığı belirlendi.

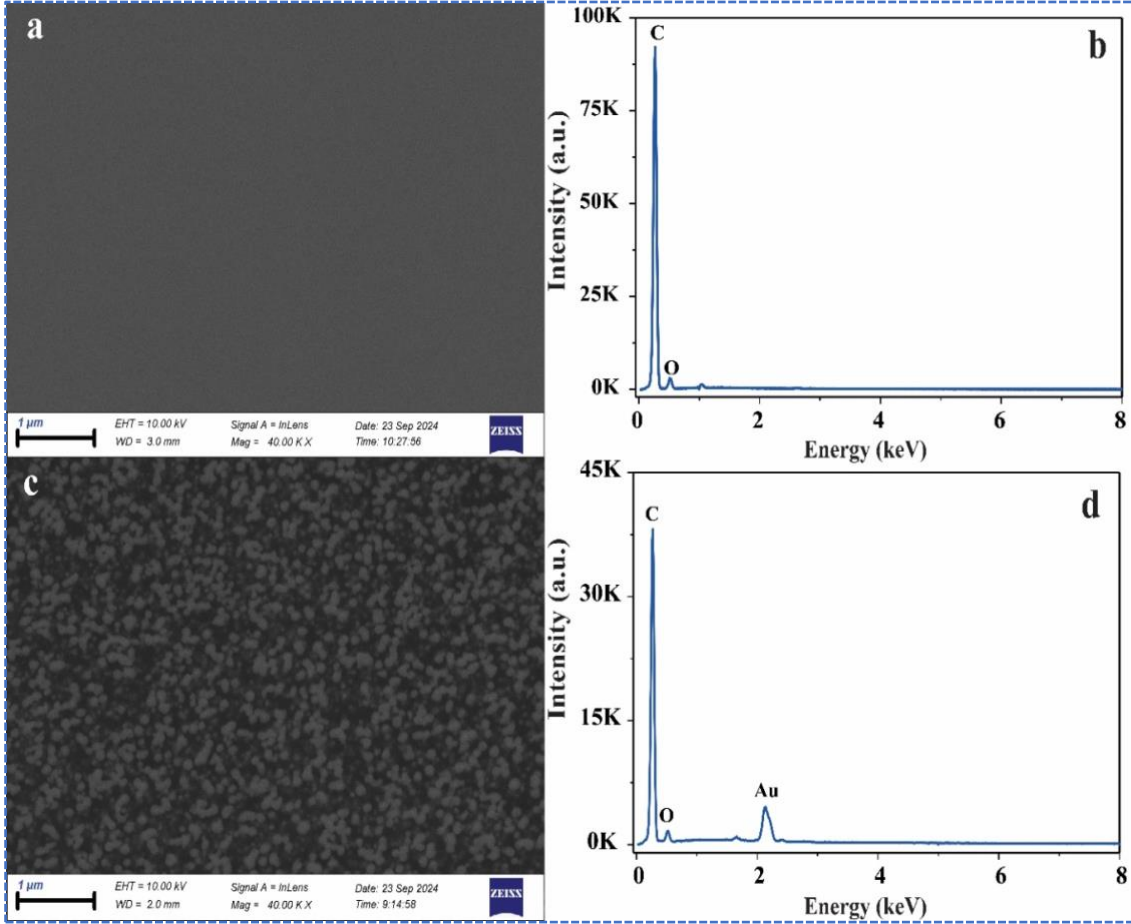
### 3.2.3 Gerçek Örnekte Triptofan Tayini

Çalışmada oluşturduğumuz Au@AGCE sensörün gerçek örnekte kullanabilir olduğunu denemek için triptofan tableti kullanılmıştır. Triptofan tableti 500 mL saf suda çözüldü. Daha sonra 3 numaralı süzgeç kağıdı kullanılarak süzüldü. Elde edilen süzüntüden bir miktar alınarak sonraki çalışmalarda kullanıldı. Tabletteki Trp miktarını belirlemek için önce standart grafik elde edildi daha sonra farklı hacimlerde tablet çözeltisi hücreye eklenerek ölçümler elde edildi. Elde edilen bu ölçümlerin ortalama değerleri, standart sapmaları, bağıl standart sapmaları ve verim değerleri hesaplandı. Ayrıca her bir derişimin ölçüm aralığını belirlemek için de öğrenci t testinden yararlandı.



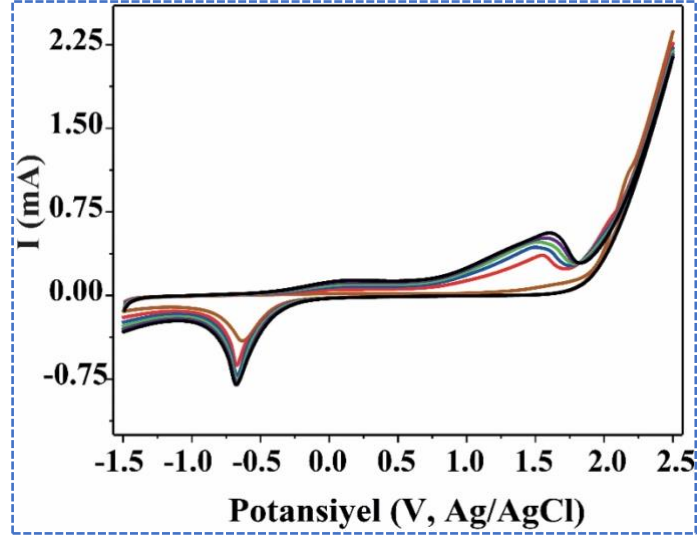


#### 4. BULGULAR

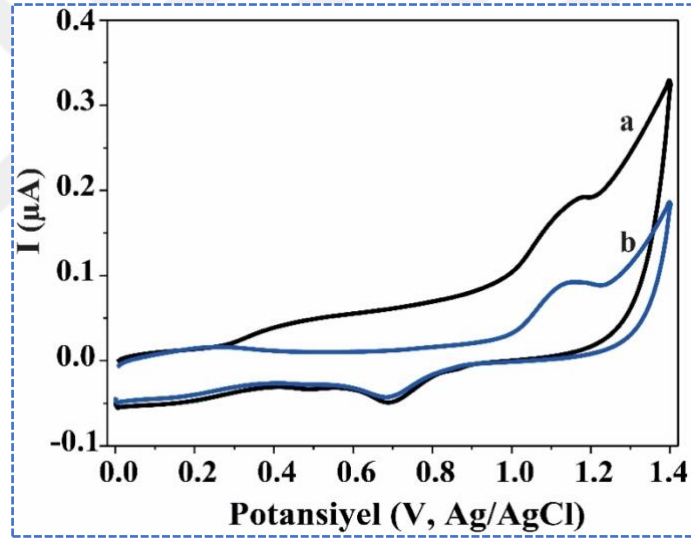


Şekil 4.1 (a) AGCE ve (c) Au@AGCE elektrotların SEM görüntüleri (b) AGCE ve (d) Au@AGCE elektrotların EDX grafikleri

Çalışma elektrotların yüzey morfolojisini değerlendirmek için SEM-EDX görüntüleri elde edildi. Şekil 4.1 aktifleştirilmiş camcı karbon elektrot (a) ve Au yüklü aktifleştirilmiş camcı karbon elektrodun SEM-EDX görüntülerini göstermektedir.

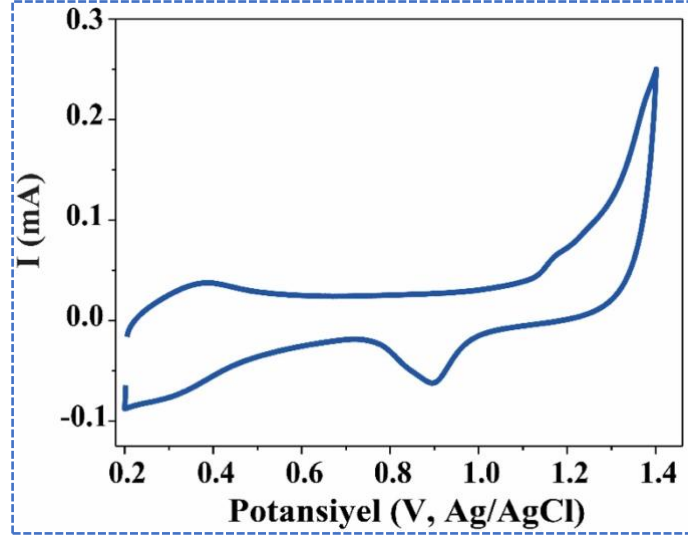


Şekil 4.2 Yalın GCE elektrodun 0.1 M PBS (pH 7.0) içinde 0.1 V/s tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramları

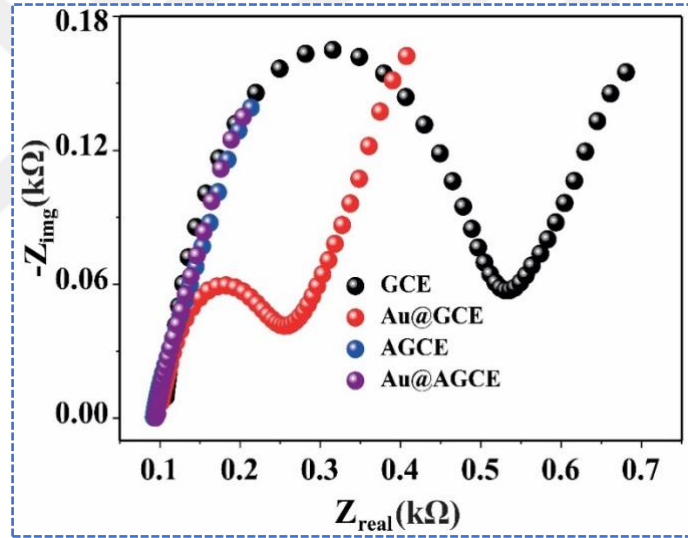


Şekil 4.3 Au (III)'nun N<sub>2</sub> ile doyurulmuş ve 1.0 mM HAuCl<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O içeren 0.1 M NaNO<sub>3</sub> (pH 3.0) 0.05 V/s tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar (a: birinci voltamogram b: dördüncü voltamogram)

Yalın elektrodun yüzeyini aktifleştirmek için elektrot, 0.1 M PBS (pH 7.0) içinde 0.1 V/s tarama hızında dönüşümlü voltamogramları elde edildi (Şekil 4.2). Daha sonra bu aktifleştirilmiş çalışma elektrodun yüzeyine Au nanoparçacıkları biriktirmek için 1.0 mM HAuCl<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O içeren 0.1 M NaNO<sub>3</sub> (pH 3.0) çözeltisinde 0.05 V/s tarama hızında dönüşümlü voltamogramlar elde edildi (Şekil 4.2).

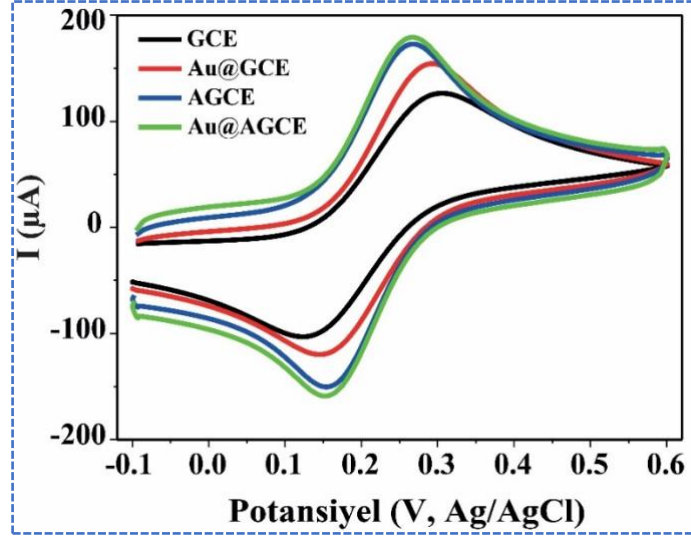


Şekil 4.4 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinde 0.1 V/s tarama hızında Au@AGCE elektrodu üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogram



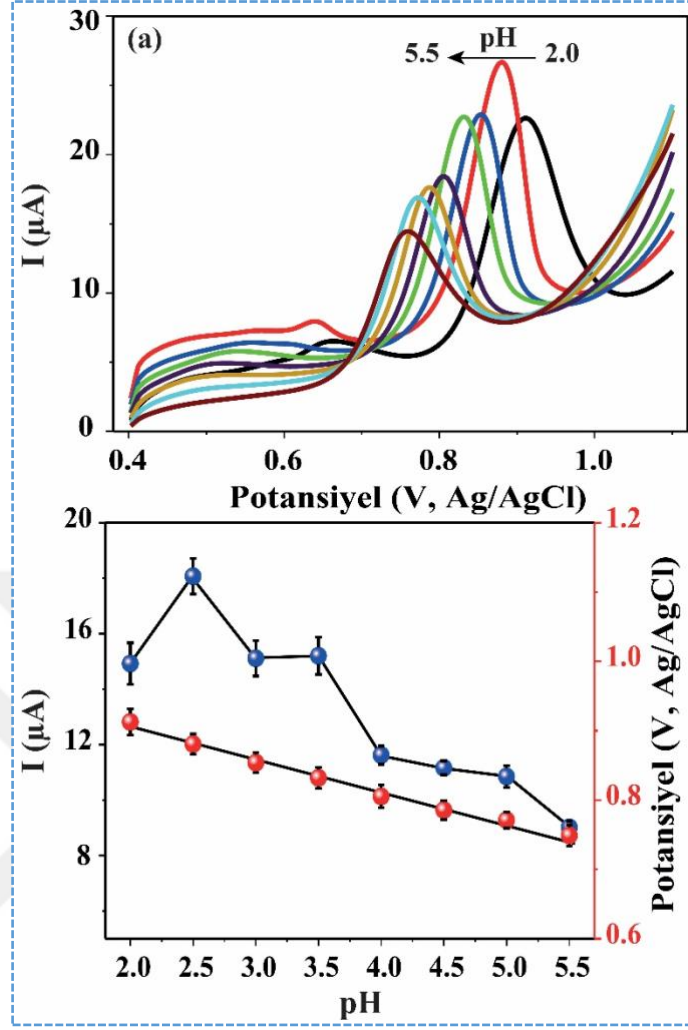
Şekil 4.5 GCE, Au@GCE, AGCE, Au@AGCE elektrotları kullanılarak 0.1 M KCl içeren 5 mM [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-/4-</sup> (1:1) çözeltide elde edilen Nyquist grafiği

AGCE sensörü üzerinde biriktirilen Au nanoparçacıkları, 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi kullanılarak karakterize edildi. Bu amaçla dönüşümlü voltametri kullanılarak 0.1 V/s tarama hızında 0.2-1.4 V potansiyelde tarama yapıldı (Şekil 4.4). Kullanılan çalışma elektrotların iletkenliğini değerlendirmek için EIS yöntemi kullanıldı. Şekil 4.5, 0.1 M KCl içeren 5 mM [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-/4-</sup> (1:1) çözeltide elde edilen Nyquist grafiğini göstermektedir.



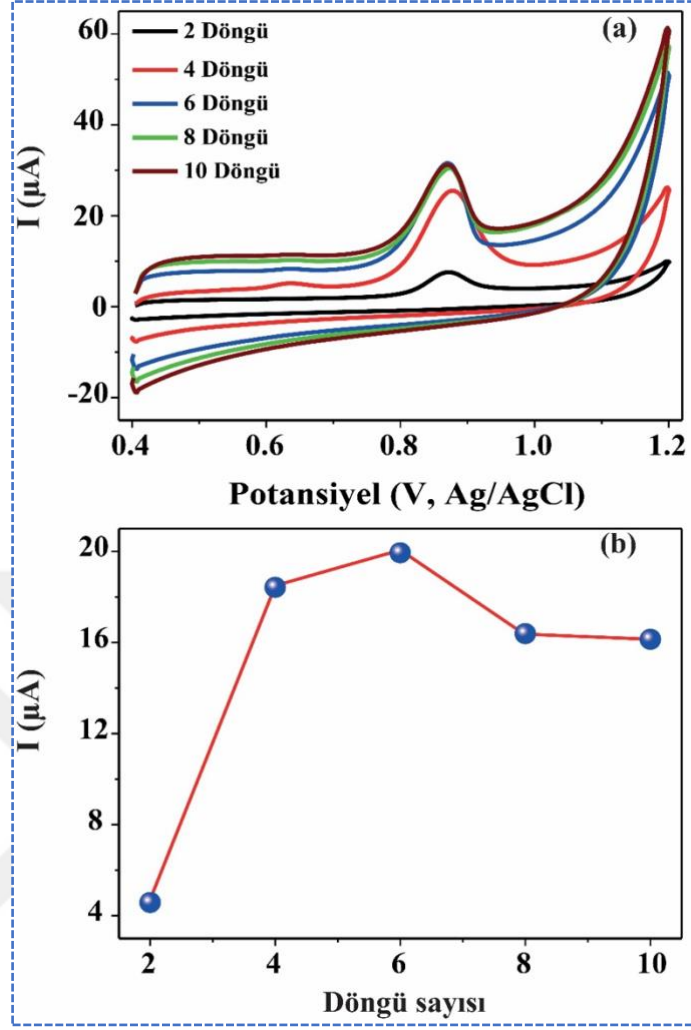
Şekil 4.6 GCE, Au@GCE, AGCE, Au@AGCE elektrotları kullanılarak 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1:1) çözeltide 0.05 V/s tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar

Şekil 4.6, GCE, her bir çalışma kullanılarak 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1:1) çözeltide elde edilen dönüşümlü voltamogramları göstermektedir. Kullanılan potansiyel aralığı -0.1 V ile +0.6 V olarak belirlendi. Her bir elektrot için belirlenen tarama hızı 0.05 V/s olarak ayarlandı.



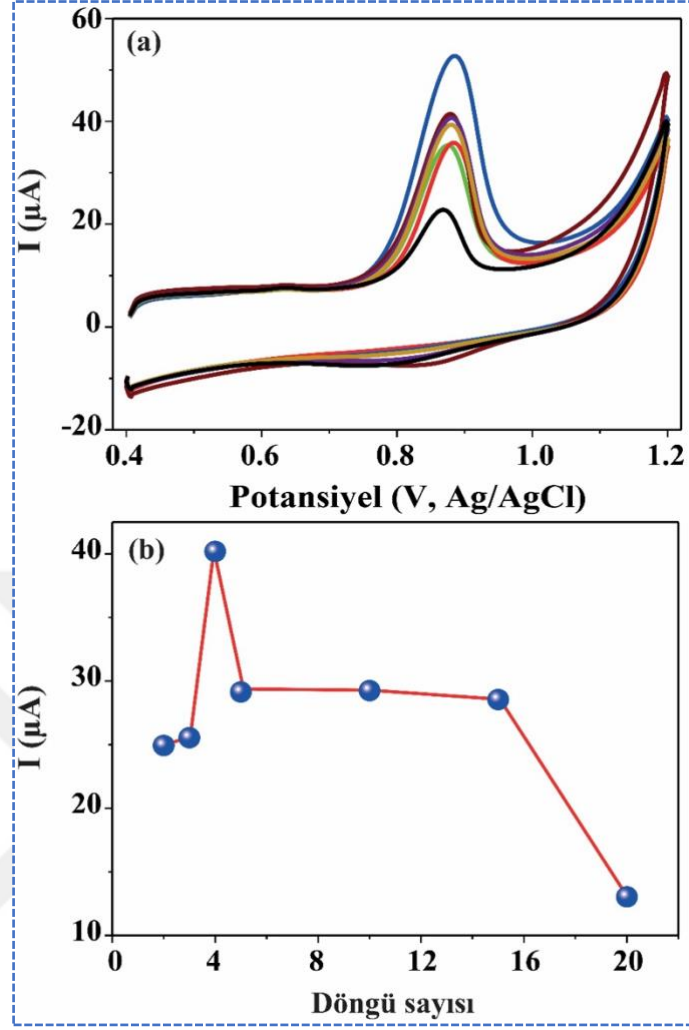
Şekil 4.7 Doğrusal taramalı voltametri kullanılarak farklı pH değerlerine sahip ve Trp içeren BR tamponunda Au@AGCE üzerinde elde edilen voltamogramlar

Çalışmamızda sensörün en iyi cevap verdiği tamponun pH değerini belirlemek için farklı pH değerlerine sahip BR tamponu hazırlandı. Hazırlanan bu tampon kullanılarak aynı Trp derişimi ile LSV voltamogramları elde edildi (Şekil 4.7a). Daha sonra elde edilen bu voltamogramlar kullanılarak Trp'nin yükseltgenme pik akımlarına karşı pH grafiği ve yükseltgenme pik potansiyeline karşı Ph grafiği elde edildi (Şekil 4.7b).



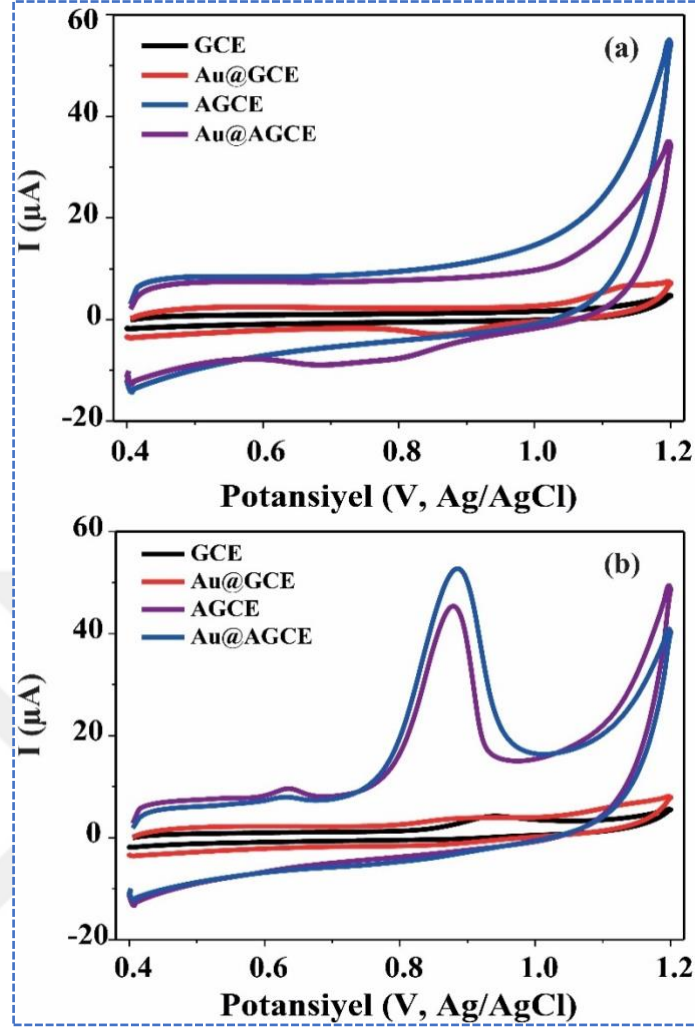
Şekil 4.8 (a) Trp içeren BR tamponunda (pH 2.5) farklı döngülerde hazırlanan AGCE sensörü üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. (b) döngü sayısına karşı akım grafiği

Çalışma elektrodunu aktifleştirmek ve en iyi döngü sayısını veren elektrodu elde etmek için farklı döngülerde elektrotlar elde edildi. Daha sonra bu elektrotlar kullanılarak aynı derişinde Trp için dönüşümlü voltamogramlar elde edildi (Şekil 4.8a). Bu grafiklerde Trp'nin yükseltgenme pik akımları hesaplanarak yükseltgenme pik akımına karşı döngü sayısı grafiği elde edildi (Şekil 4.8b).



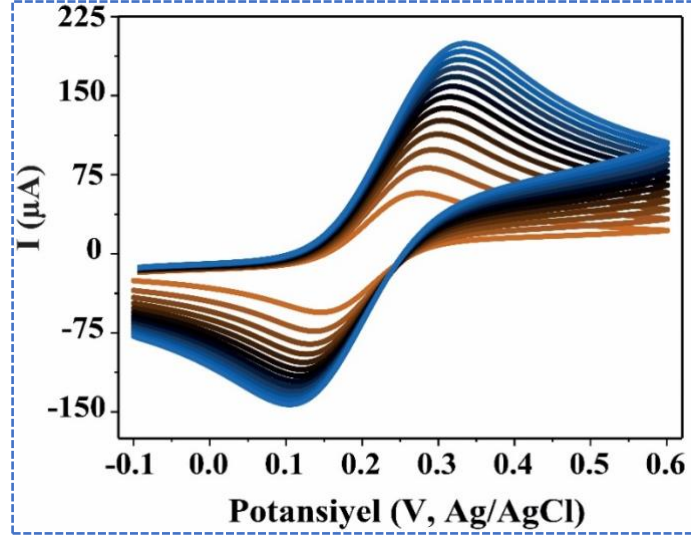
Şekil 4.9 (a) Trp içeren BR tamponunda (pH 2.5) farklı döngülerde hazırlanan Au@AGCE sensörü üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar. (b) döngü sayısına karşı akım grafiği

Aktifleştirilmiş çalışma elektrodun yüzeyinde biriktirilen Au nanoparçacıkları için en iyi döngü sayısını veren elektrodu elde etmek için farklı döngülerde elektrotlar elde edildi. Daha sonra bu elektrotlar kullanılarak aynı derişinde Trp için dönüşümlü voltamogramlar elde edildi (Şekil 4.9a). Bu grafiklerde Trp'nin yükseltgenme pik akımları hesaplanarak yükseltgenme pik akımına karşı döngü sayısı grafiği elde edildi (Şekil 4.9b).

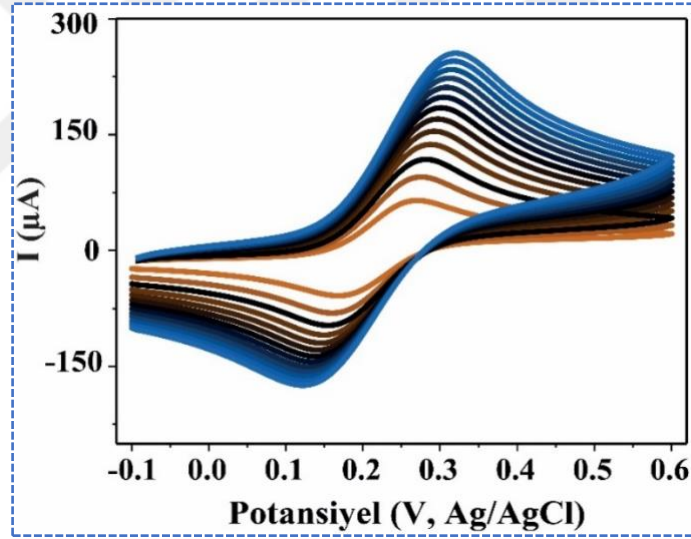


Şekil 4.10 Çalışmada kullanılan elektrotların BR (pH 2.5) tamponunda 0.05 V/s tarama hızında elde edilen dönüşümlü voltamogramlar (a) Trp içermeyen (b) 40  $\mu$ M Trp içeren

Optimum koşullar belirlendikten sonra çalışma elektrotlarının BR (pH 2.5) tamponunda 0.05 V/s tarama hızında dönüşümlü voltamogramları elde edildi. Bunun için önce Trp içermeyen hücrede voltamogramlar elde edildi (Şekil 4.10a). Daha sonra aynı derişimde Trp içeren hücrede her bir elektrot için voltamogramlar elde edildi (Şekil 4.10b). Bu voltamogramların yükseltgenme pik akımları karşılaştırıldı.

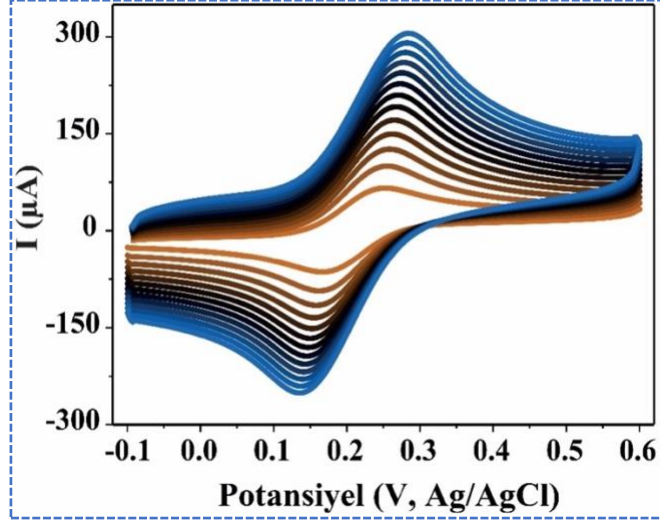


Şekil 4.11 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1:1) içeren çözeltide farklı tarama hızlarında (0.02-0.26 V/s) GCE elektrodu üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar

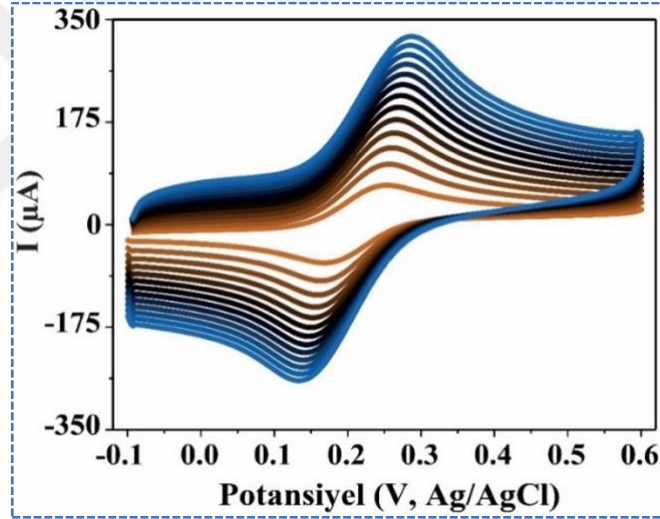


Şekil 4.12 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1:1) içeren çözeltide farklı tarama hızlarında (0.02-0.26 V/s) Au@GCE elektrodu üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar

Hazırlanan her bir çalışma elektrodunun aktif yüzey alanını belirlemek için 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  içeren çözeltide farklı tarama hızlarında (0.02-0.26 V/s) voltamogramlar elde edildi. Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14, sırasıyla GCE, Au@GCE, AGCE ve Au@AGCE elektrotları kullanılarak elde edilen voltamogramları göstermektedir. Elde edilen bu voltamogramalarda Fe (II) iyonun yükseltgenme pik akımına karşı tarama hızının karekökü grafiği çizildi (Şekil 4.15).

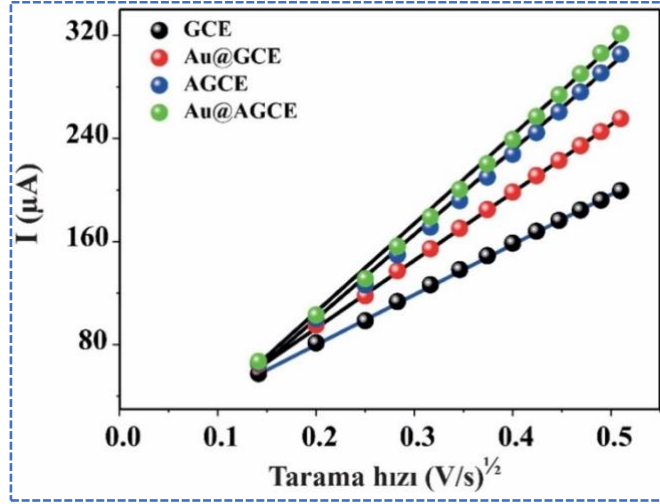


Şekil 4.13 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1:1) içeren çözeltide farklı tarama hızlarında (0.02-0.26 V/s) AGCE elektrodu üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar

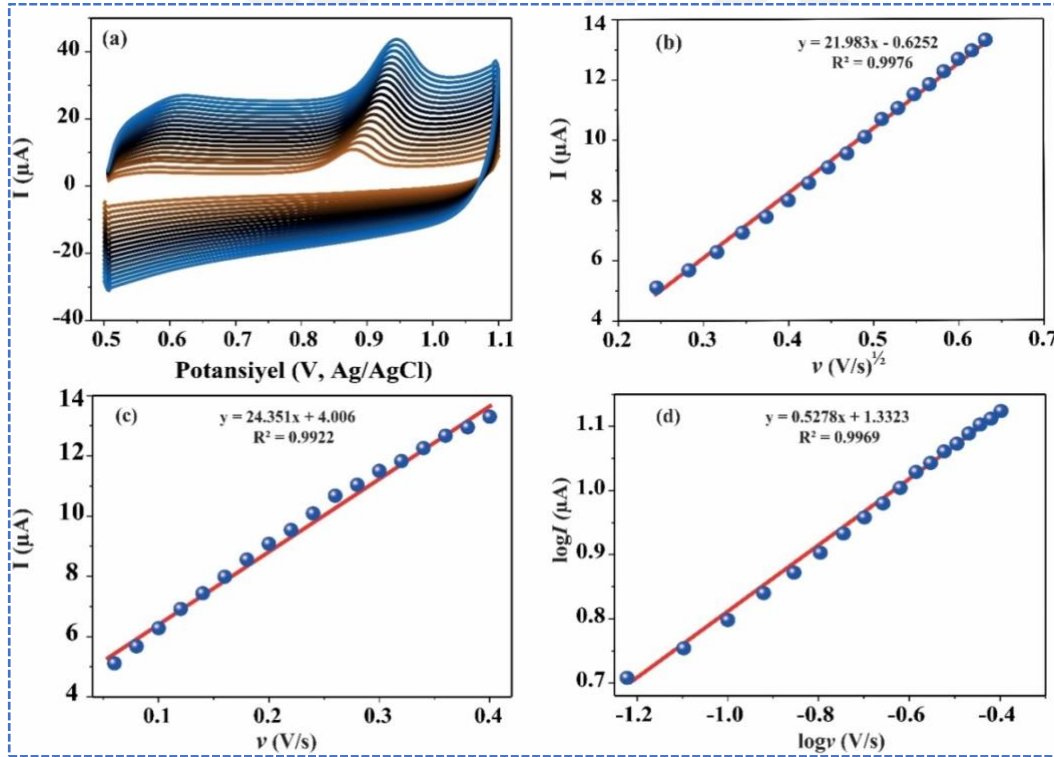


Şekil 4.14 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1:1) içeren çözeltide farklı tarama hızlarında (0.02-0.26 V/s) Au@AGCE elektrodu üzerinde elde edilen dönüşümlü voltamogramlar

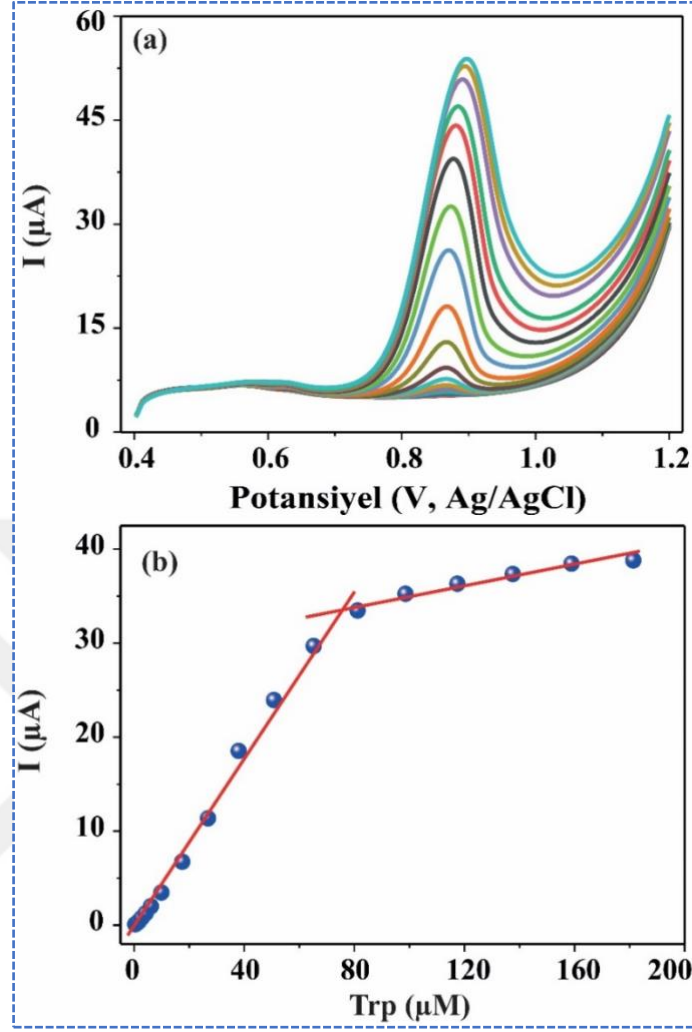
Elektrokimyasal reaksiyon prosesini değerlendirmek için Au@AGCE elektrodu kullanılarak Trp içeren BR (pH 2.5) tamponu içinde farklı tarama hızlarında voltamogramlar elde edildi (Şekil 4.16a). Daha sonra Trp'nin yükseltgenme pik akımına karşı tarama hızının karekökü grafiği (Şekil 4.16b), Trp'nin yükseltgenme pik akımına karşı tarama hızı grafiği (Şekil 4.16c) ve Trp'nin yükseltgenme pik akımının logaritmasına karşı tarama hızını logaritması grafiği elde edildi (Şekil 4.16d).



Şekil 4.15 Çalışma elektrotları üzerinden  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  probun tarama hızının kareköküne karşı anodik pik akımı kullanılarak elde edilen grafik

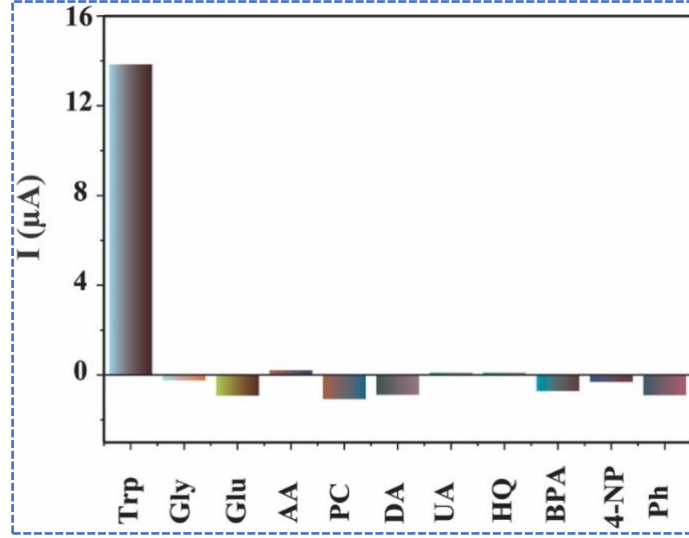


Şekil 4.16 (a) Au@AGCE sensörü kullanılarak  $10\mu\text{M}$  Trp içeren BR (pH 2.5) tamponunda farklı tarama hızlarında (0.06-0.4 V/s) elde edilen voltamogramlar. (b) Tarama hızının kareköküne karşı Trp nin yükseltgenme pik akımı grafiği. (c) Tarama hızına karşı Trp nin yükseltgenme pik akımı grafiği. (d)  $\log v$  (V/s) karşı  $\log I$  ( $\mu\text{A}$ ) grafiği



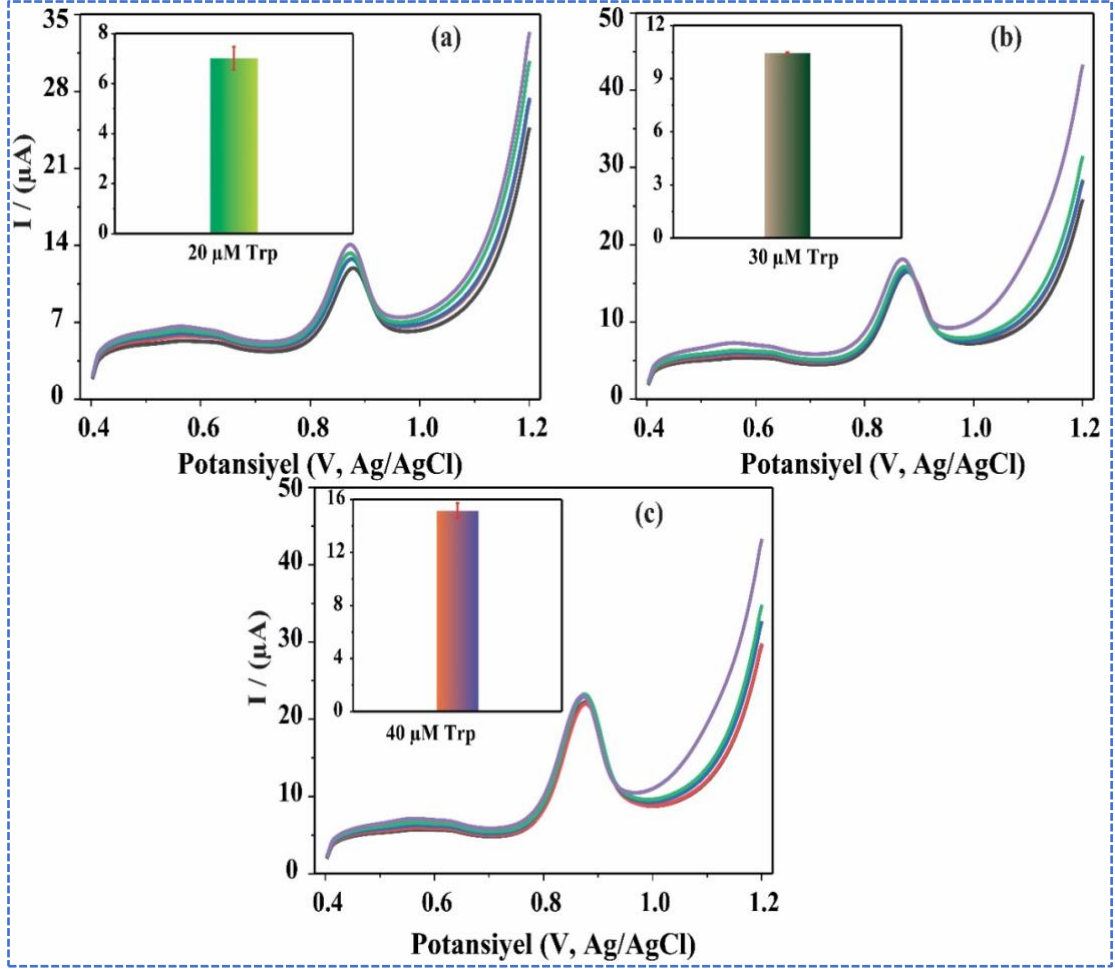
Şekil 4.17 Au@AGCE elektrodu kullanılarak BR (pH 2.5) tamponuna farklı derişimlerde Trp eklenerek elde edilen doğrusal taramalı voltamogramlar

Sensör için gerekli optimum koşullar elde edildikten sonra Trp için verdiği doğrusal tayin aralığı, aktif yüzey alanına bağlı duyarlılığı ve gözlenebilme sınırını (LOD) belirlemek için doğrusal taramalı voltametri kullanıldı. Şekil 4.17a, farklı derişilerde Trp BR tamponu (pH 2.5) içeren elektrokimyasal hücreye eklenerek elde edilen voltamogramları göstermektedir. Daha sonra Trp'nin yükseltgenme pik akımına karşı analit derişimi grafiğı çizildi (Şekil 4.17b).



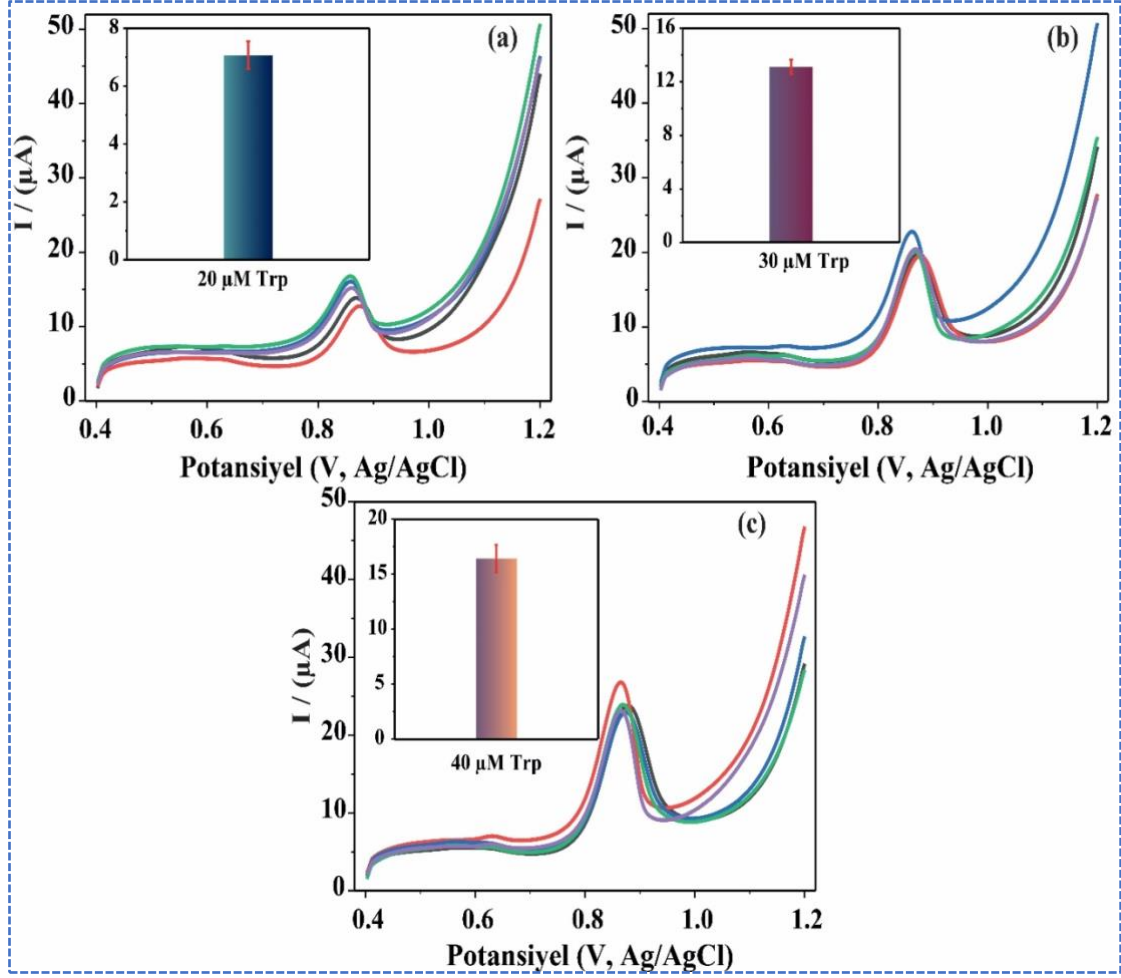
Şekil 4.18 Farklı derişimlerde kullanılan glisin (Gly), askorbik asit (AA), pirokatekol (PC), dopamin (DA), ürik asit (UA), hidrokinon (HQ), bisfenol A(BPA), 4-nitrofenol (4-NP) ve fenol (Ph) elektroaktif bileşiklerin Trp cevabı üzerindeki etkisi

Çalışma elektrodun seçiciliğini değerlendirmek için elektrokimyasal olarak aktif olan bileşiklere sensörün cevabı araştırıldı. Şekil 4.18, Trp'ye ek olarak glisin, hidrokinon, askorbik asit gibi bileşiklerin elektrokimyasal yanıtını göstermektedir.



Şekil 4.19 Au@AGCE çalışma elektrodunun farklı derişimlerde (20, 30 ve 40 μM) Trp kullanılarak elde edilen tekrarlanabilirlik voltamogramları

Au@AGCE sensörün tekrarlanabilirliğini belirlemek için aynı elektrot kullanılarak aynı koşullar altında ve aynı analit derişimi için 5 tane ölçüm elde edildi. Bu proses analitin üç farklı derişimi kullanılarak tekrar edildi (Şekil 4.19). Daha sonra elde edilen cevapların ortama değeri, standart sapması ve bağıl standart sapması değerleri elde edildi. Au@AGCE sensörün tekrar oluşturulabilirliğini belirlemek için farklı elektrot kullanılarak aynı koşullar altında ve aynı analit derişimi için 5 tane ölçüm elde edildi. Bu proses analitin üç farklı derişimi kullanılarak tekrar edildi (Şekil 4.20). Daha sonra tekrarlanabilirlik çalışmasında olduğu gibi elde edilen cevapların ortama değeri, standart sapması ve bağıl standart sapması değerleri elde edildi.



Şekil 4.20 Aynı çalışma koşullarında elde edilen Au@AGCE çalışma elektrotlarının farklı derişimlerde (20, 30 ve 40  $\mu\text{M}$ ) Trp kullanılarak elde edilen tekrar oluşturulabilirlik grafikleri

Çizelge 4.1 Trp amino asidi içeren tablet örnekleri kullanılarak hazırlanan çözeltilerde Trp'nin Au@AGCE/GCE sensörü ile elektrokimyasal olarak tayini

Örnek	Eklene ( $\mu\text{M}$ )	Bulunan ( $\mu\text{M}$ )	RSD (%)	Verim (%)
	2.00	$2.07 \pm 0.093$	3.57	103.5
	4.00	$3.86 \pm 0.104$	2.18	95.6
	6.00	$6.00 \pm 0.175$	2.34	100
	20.00	$19.22 \pm 1.042$	4.37	96.10

Çalışmamızda elde edilen Au@AGCE elektrokimyasal sensörün kullanılabilirliğini test etmek için Trp tabletlerinde Trp tayin edildi. Bunun için farklı derişimlerde hazırlanan Trp çözeltisi kullanıldı. Herbir çözeltideki Trp derişimini belirlemek için LSV yöntemi kullanıldı. Elde edilen yükseltgenme pik akımlarının ortalama değeri, standart sapması, bağıl standart sapması ve verim değeri hesaplandı (Çizelge 4.1).



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Triptofan (Trp), insanın tüketmeden yaşayamayacağı temel bir aminoasittir. Bu bileşik, serotonin (bir nörotransmitter), melatonin (bir nörohormon) ve niasinin öncüsüdür. Metabolizması düzgün olmayan kişilerde şizofreniye neden olabileceği düşünülmektedir. Uygun bir şekilde metabolize edilemediğinde, beyinde toksik olan ve halüsinasyonlara ve sanrılara neden olan bir atık ürün oluşturur (Kochen ve Steinhart., 1994). Bugüne kadar çeşitli örneklerde Trp'nin belirlenmesi için farklı yöntemler kullanılmıştır. Spektroflorimetri (Reynolds, 2003), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (Lian vd.,2012), spektrofotometri (Li vd., 2010), kapiler elektroforez (Malone vd., 1995) ve elektrokimyasal yöntemler (Shahrokhian ve Fotouhi, 2007) dahil olmak üzere çeşitli teknikler Trp'yi tanımlamak ve ölçmek için oluşturulmuştur. Küçük moleküllerin tayininde elektrokimyasal yöntemler, hızlı cevap vermeleri, yüksek duyarlılıkları ve kolay kullanımları nedeniyle daha popüler hale gelmiştir. Ancak düşük duyarlılık veya dar doğrusal aralık gibi bazı dezavantajlar hala mevcuttur (Fan vd., 2011). Özellikle biyolojik sıvılarda ürik asit (UA), askorbik asit (AA) ve dopamin (DA) gibi elektroaktif bileşikler bir arada bulunmakta ve bunların oksidasyon pik potansiyelleri daima örtüşmekte, bu da Trp'nin seçiciliğini etkilemektedir.

Bu çalışmada yalın camsı karbon elektrot (GCE) pH değeri 7.0 olan 0.1M PBS tamponunda elektrokimyasal olarak aktifleştirildi. Aktifleştirilen GCE, AGCE olarak isimlendirildi. Au nanoparçacıkları, AGCE elektrodu üzerinde 0.1 M NaNO<sub>3</sub> (pH 3.0) çözeltisinde CV yardımıyla biriktirilip Au@AGCE elektrodu hazırlanmış oldu. Hazırlanan elektrotların yüzeyi FE-SEM ile karakterize edildi. Elektrotların elektrokatalitik özellikleri CV, elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), doğrusal taramalı voltametri (LSV) kullanılarak değerlendirildi.

GCE yüzeyinin yüksek voltajda anodizasyonunun, yüzeyde oksijen içeren fonksiyonel gruplarının eş zamanlı oluşumuyla birlikte elektrodun yüzeyinin aktifleştiği görüldü. Bu tür oksijen içeren fonksiyonel gruplar, bir katodik proses kullanılarak indirgenmesi sağlanabilir. GCE çalışma elektrodunun yüzeyine oksijen içeren fonksiyonel grupların bağlanması adsorpsiyon aktif bölgelerinin ve elektrodun aktif yüzeyinin arttırmasına neden olur. Bununla birlikte oksijen içeren fonksiyonel gruplar çalışma elektrodun hem elektron transfer hızını ve hem de aktivitesini arttırdığı

görülmüştür (Abdel-Aziz vd., 2022). Oksijen içeren fonksiyonel gruplar çeşitli analitlerin indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarında etkin rol oynayabilir. Bu çalışmada aktifleştirilen GCE triptofanın yükseltgenme reaksiyonunda son derece iyi bir elektro katalizör görevi gördü. Şekil 4.1a, AGCE elektrodun SEM görüntüsünü göstermektedir. Şekil 4.1b, AGCE elektrodun EDX grafiğini göstermektedir. Grafikte oksijenin varlığı elektrodun yüzeyinde oksijen içeren grupların varlığını göstermektedir. Şekil 4.1c, AGCE yüzeyine Au nanoparçacıkların elektrokimyasal olarak biriktirilmesi sonucu elde edilen Au@AGCE elektrodun SEM görüntüsünü göstermektedir. Şekilde görüldüğü gibi Au nanoparçacıkların yüzeyde dağıldığı görülmektedir. Şekil 4.1d, Au@AGCE elektrodunun EDX grafiğini göstermektedir. Grafikten de anlaşılacağı gibi elektrodun yüzeyinde karbon, oksijen ve altının olduğu görülmektedir.

Şekil 4.2 Yalın GCE elektrodunun 0.1M PBS, pH 7.0 tamponunda -1.5 ve +2.5 V potansiyel aralığında elde edilen voltamogramları göstermektedir. Tarama sırasında katodik ve anodik pik akımları sırasıyla -0.67 ve +1.56 V potansiyellerde gözlemlendi. Tarama sayısı arttıkça anodik ve katodik pik akımlarının arttığı gözlemlendi. Elde edilen bu elektrokimyasal davranış Abdel -Aziz ve çalışma arkadaşlarının yaptığı çalışmada da gözlemlenmiştir (Abdel-Aziz vd., 2022).

Au nanoparçacıkların AGCE elektrodu yüzeyine biriktirilmesi sırasında elde edilen CVs Şekil 4.3.'te gösterilmektedir. Au nanoparçacıkların elektrokimyasal olarak AGCE elektrodu yüzeyinde biriktirilmesi 1 mM HAuCl<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O içeren 0.1 M NaNO<sub>3</sub> (pH 3) çözeltisinde gerçekleştirildi. Şekil 4.3.'te görüldüğü gibi Au'nun elektrot yüzeyinde biriktirilmesi 0.0 ile 1.4 V potansiyel aralığında gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 0.69 V potansiyelde görülen pikin Au (III) 'ün Au (0) 'a elektrokimyasal olarak indirgendiğini göstermektedir (Hezard vd., 2012).

AGCE çalışma elektrodu üzerinde biriktirilen Au nanoparçacıkları, 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinde karakterize edildi. Bunun için CV kullanılarak 0.1 V/s tarama hızında 0.2-1.4 V potansiyelde tarama yapıldı. Şekil 4.4'te gösterildiği gibi yaklaşık +1.12 V potansiyelde yükseltgenme pik akımının oluşmaya başladığı gözlemlendi. Oluşan bu pikin Au'nun oksidasyon (AuO) piki olduğu bildirilmiştir. Geri tarama sırasında, ileri tarama sırasında oluşan oksitlerin indirgenmesine ait olduğu düşünülen 0.90 V'da bir indirgeme pik noktası gözlemlendi (Angerstein-Kozłowska vd., 1986).

GCE, Au@GCE, AGCE ve Au@AGCE'nin davranışını araştırmak için EIS yöntemi kullanıldı. Hazırlanan katalizörlerin elektrokimyasal davranışını araştırmak için Nyquist grafiği kullanıldı. Elektrokimyasal impedans çalışmaları, 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1:1) çözeltide yapıldı (Şekil 4.5). Hazırlanan elektrotlar arasında, GCE'ye ait Nyquist grafiğinde, elektrolit ve elektrot arayüzündeki yük transfer süreciyle ilişkili olan yüksek frekans bölgesinde daha büyük bir yarı daireye ve hazırlanan elektrottaki difüzyon sürecinden kaynaklanan düşük frekans bölgesinde bir doğrusal bölgeye sahip olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte Au@AGCE daha dikey bir doğru gösterip değeri daha küçük olan bir yarı daire çapını verdi, bu da bu katalizörün daha hızlı bir iyon difüzyon kinetiğine ve yük transfer reaksiyon hızına sahip olduğunu göstermektedir (Hareesha vd., 2022).

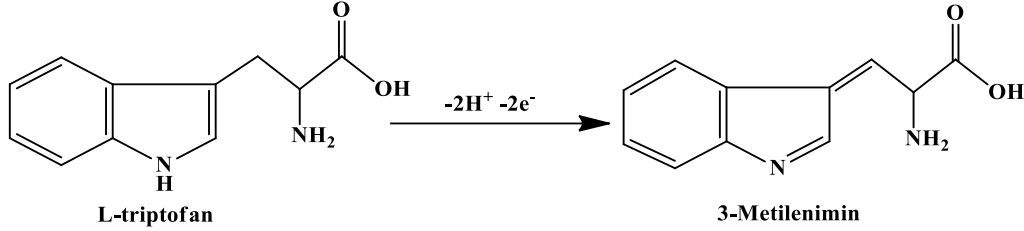
Şekil 4.6 GCE, Au@GCE, AGCE ve Au@AGCE elektrotları kullanılarak 0.1 M KCl içeren 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (1:1) çözeltide elde edilen dönüşümlü voltamogramları göstermektedir. Voltamogramlar -0.1 V ile +0.6 V arasında tarama yapıldı. Taramalar 0.05 V/s tarama hızında yapıldı. Şekilde görüldüğü gibi GCE, Au@GCE, AGCE ve Au@AGCE elektrotları üzerinde probun yükseltgenme pik akım değerleri sırasıyla 56.80  $\mu\text{A}$ , 129.36  $\mu\text{A}$ , 135.26  $\mu\text{A}$  ve 138.75  $\mu\text{A}$  olarak hesaplandı. Elde edilen bu değerler Au ile kaplanmış AGCE elektrodun daha yüksek bir yükseltgenme pik akım değeri verdiği görüldü. Bu değerler EIS sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Çalışma elektrodun Trp için en yüksek yükseltgenme pik akımını veren pH değerini belirlemek için farklı pH değerlerine sahip BR tamponu hazırlandı. Daha sonra doğrusal taramalı voltametri (LSV) kullanılarak aynı derişimde Trp için voltamogramlar elde edildi (Şekil 4.7a). Elde edilen bu voltamogramlara göre pH 2'den 2.5'e kadar yükseltgenme pik akımının arttığı gözlemlendi. pH 2.5'ten 5.5'a kadar olan ölçümlerde de yükseltgenme pik akımının düzenli olarak düştüğü gözlemlendi. Dolayısıyla sonraki elektrokimyasal çalışmalarda pH değeri 2.5 olan BR tamponu kullanıldı.

Şekil 4.7b pH-I ve pH-V grafiklerini göstermektedir. pH-I grafiğinin denklemi  $y = -0.0459x + 0.9959$  ( $R^2 = 0.9971$ ) olarak belirlendi. Bu denklemin eğimi Eşitlik (5.1)'de teorik Nernst denkleminin eğim değerine yakın olduğu görüldü.

$$E_p = E^0 - 0.059 \left( \frac{m}{n} \right) pH \quad (5.1)$$

Yukarıdaki denklemde m ve n sırasıyla reaksiyona katılan proton ve elektronları göstermektedir. Çalışmada elde edilen bu sonuçlara göre eşdeğer miktarda proton ve elektron reaksiyona katılmıştır (Liu vd., 2014). Aşağıda triptofanın muhtemel elektrokimyasal reaksiyonunu göstermektedir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1 Triptofanın muhtemel elektrokimyasal reaksiyonu

GCE çalışma elektrodu 0.1 M PBS (pH 7) içinde aktifleştirildi. Bunun için dönüşümlü voltametri kullanıldı ve -1.5 V ile +2.5 V potansiyel aralığında 0.1 V/s tarama hızında farklı döngüler kullanıldı. Elde edilen bu döngülere göre Trp için en yüksek yükseltgenme pik akım değerini veren döngü sayısının 6 olduğu görüldü (Şekil 4.8a ve Şekil 4.8b). Trp tayini için elektrot hazırlanırken 6 döngü kullanılarak elektrodun yüzeyi aktifleştirildi.

AGCE elektrodunun yüzeyine Au biriktirmek için dönüşümlü voltametri kullanıldı. Bunun için voltamogramlar, 0.1 M NaNO<sub>3</sub> (pH 3) çözeltisinde 0.0 V ile +1.4 V tarama aralığında ve 0.1 V/s tarama hızında elde edildi. Elde edilen bu elektrotlara göre Trp için en yüksek yükseltgenme pik akım değerini veren döngü sayısının 4 olduğu görüldü (Şekil 4.9a ve Şekil 4.9b). Trp tayini için elektrot hazırlanırken 4 döngü kullanılarak Au, AGCE elektrodun yüzeyde biriktirilerek Au@AGCE hazırlanıp sonraki Trp tayininde kullanıldı.

Çalışmada kullanılan çalışma elektrotları için gerekli optimum koşullar elde edildikten sonra her bir elektrot için triptofan içeren (Şekil 4.10a) ve içermeyen (Şekil 4.10b) BR tamponunda (pH 2.5) 0.4-1.2 V potansiyel aralığında 50 mV/s tarama hızında voltamogramlar elde edildi. GCE, Au@GCE, AGCE ve Au@AGCE elektrotları Trp için sırasıyla 1.92, 0.71, 32.98 ve 40.19  $\mu$ A değerinde yükseltgenme pik akımları verdi. Elde edilen bu değerlere göre en iyi cevabı Au nanoparçacıkları ile kaplanmış AGCE elektrodu verdi.

Çalışma elektrodu olarak kullanılan GCE, Au@GCE, AGCE ve Au@AGCE elektrotların aktif yüzey alanlarını belirlemek için Eşitlik (5.2)'deki Randles-Sevcik denklemi kullanıldı.

$$I_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A D_0^{1/2} C_0 v^{1/2} \quad (5.2)$$

Yukarıdaki eşitlikte  $I_p$ ,  $n$ ,  $A$ ,  $D_0$ ,  $C_0$  ve  $v$  sırasıyla akım (amper), reaksiyona katılan elektron sayısı, aktif yüzey alanı, difüzyon sabiti, probun derişimi ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ ) ve tarama hızını (V/s) göstermektedir. 5 mM probun 25 °C 'daki  $D_0$  değerinin  $6.56 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  olduğu belirlenmiştir (Konopka and McDuffie,1970). Bunun için her bir elektrodun farklı tarama hızlarında dönüşümlü voltamogramları elde edildi (Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14). Elde edilen bu voltamogramlardaki yükseltgenme pik akımlarına karşı tarama hızının karekökü grafiği çizildi (Şekil 4.15) Bu grafik yardımıyla GCE, Au@GCE, AGCE ve Au@AGCE çalışma elektrotların aktif yüzey alanların değerleri sırasıyla 0.112, 0.151, 0.191 ve 0.203  $\text{cm}^2$  olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre yalın elektrodun aktifleştirilmesi elektrodun aktif yüzey alanını büyütmüş Au'nun yüzeyde biriktirilmesi ile de en geniş aktif yüzey alanı elde edilmiştir.

Çalışmada tarama hızının Au@AGCE elektrodu üzerindeki etkisini araştırmak için 10  $\mu\text{M}$  Trp içeren BR (pH 2.5) tamponunda farklı tarama hızlarında (0.06-0.4 V/s) dönüşümlü voltamogramlar elde edildi. Şekil 4.16a 'da görüldüğü gibi tarama hızı arttırıldığında Trp'nin yükseltgenme pik akım değeri de artmaktadır. Elektrokimyasal reaksiyonun reaksiyon prosesini değerlendirmek için tarama hızının karekökü-akım (Şekil 4.16b), tarama hızı-akım (Şekil 4.16c) ve  $\log v$ - $\log I$  (Şekil 4.16d) grafikleri çizildi. Tarama hızının karekökü-akım grafiğinin doğrusal denklemi  $y = 21.983x - 0.6252$  ( $R^2 = 0.9976$ ), tarama hızı-akım grafiğinin doğrusal denklemi  $y = 24.351x + 4.006$  ( $R^2 = 0.9922$ ) ve  $\log v$ - $\log I$  grafiğinin doğrusal denklemi  $y = 0.5278x + 1.3323$  ( $R^2 = 0.9969$ ) olarak belirlendi. Şekil 4.16b ve Şekil 4.16c elde edilen bu verilere göre elektrokimyasal reaksiyonun hem adsorpsiyon ve hem de difüzyon kontrollü olabileceği düşünülebilir. Bunun için  $\log v - \log I$  grafiği çizildi (Şekil 4.16d). Grafiğin eğim değeri 0.5 olduğunda elektrot prosesinin difüzyon kontrollü olduğu, bu değer 1.0 olduğunda elektrot prosesinin adsorpsiyon kontrollü olduğu bildirilmiştir. Bu değer 0.5 ile 1.0 arasında olduğunda ise elektrot prosesinin hem difüzyon hem de adsorpsiyon

kontrollü olduğu ileri sürülmüştür. Dolayısıyla çalışmamızda elde edilen 0.5278 değerindeki eğime göre elektrokimyasal reaksiyon prosesinin güçlü bir difüzyon-kontrollü olduğu görüldü (Zhang vd., 2016).

Çalışmamızda Au@AGCE sensörün Trp için vermiş olduğu doğrusal tayin aralığını belirlemek için LSV metodu kullanıldı. Bunun için daha önce belirlenen optimum koşullar altında hazırlanan sensör BR (pH 2.5) tamponuna daldırıldı ve düşük derişimden itibaren elektrokimyasal hücreye Trp eklenerek voltamogramlar elde edildi. Şekil 4.17a, b’de görüldüğü gibi 2 tane doğrusal tayin aralığı elde edildi. Birinci doğrusal tayin aralığı 0.4-75.8  $\mu\text{M}$  aralığında olup doğrunun denklemi ise  $y = 0.463x - 0.5286$  ( $R^2 = 0.9968$ ) olarak belirlendi. İkinci dorusal tayin aralığı için belirlenen aralık 75.8-175  $\mu\text{M}$  olup doğrunun denklemi  $y = 0.0528x + 29.924$  ( $R^2 = 0.9834$ ) olarak belirlendi. Her iki doğrusal tayin aralığı için sensörün duyarlılığı elektrodun aktif yüzey alanına bağlı olarak sırasıyla 2280.79 ve 260.1  $\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$  olarak hesaplandı. Sensörün gözlenebilme sınırı için birinci doğrusal tayin aralığı için elde edilen eğimlerin standart sapması belirlendi. Daha sonra  $3x\text{SD}/\text{Eğim}$  formülü kullanılarak 0.15  $\mu\text{M}$  olarak hesaplandı.

Çizelge 5.1, çalışmamızda elde ettiğimiz sensörün elektrokimyasal cevaplarının daha önce yapılan çalışmalarla karşılaştırılmasını göstermektedir. Çizelgeye göre Au@AGCE sensörü tatmin edici sonuçlar verdiği görülmektedir.

Çizelge 5.1 Hazırlanan elektrokimyasal sensörlerin bazı performans faktörlerinin karşılaştırılması

Elektrot	Tayin Aralığı (M)	LOD ( $\mu\text{M}$ )	Kaynaklar
<b>NiO–CuO/graphene/GCE</b>	0.3–40	0.1	(Liu vd., 2016)
<b>Graphene/GCE</b>	0.2–40.0	0.1	(Deng vd., 2013)
<b>Ag–MoS<sub>2</sub>/CS/GCE</b>	0.5–120	0.05	(Xia vd., 2014)
<b>Ag@C core–shell/GCE</b>	0.1–100	0.04	(Mao vd., 2012)
<b>Nafion/TiO<sub>2</sub>-graphene/GCE</b>	5.0–140	0.7	(Fan vd., 2011)
<b>Butyrylcholine/GCE</b>	2–60.0	0.6	(Jin ve Lin, 2004)
<b>Au@AGCE</b>	0.4-75.8 75.8-175	0.15	Bu çalışma

Elektrokimyasal sensörlerde sensörün en önemli performans faktörlerinden bir tanesi de hiç kuşkusuz sensörün seçiciliğidir. Çünkü tayinin yapıldığı ortamda son derece elektroaktif bileşikler olabilmektedir. Dolayısıyla gerçek örnek analizini yapmadan önce analitin bulunduğu ortamdaki muhtemel bileşiklerin sensör üzerindeki girişim etkileri araştırılmalıdır. Yaptığımız bu çalışmada elektroaktif bileşikler olan glisin (Gly), askorbik asit (AA), pirokatekol (PC), dopamin (DA), ürik asit (UA), hidrokinon (HQ), bisfenol A(BPA),4-nitrofenol (4-NP), glukoz(glu) ve fenolün (Ph) sensör üzerindeki girişim etkileri değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre Gly -%1.73, glu -% 6.64, AA +%1.52, PC -%7.73, DA -%6.28, UA ve HQ -%0.7, BPA -%5.13, 4-NP -%2.24 ve Ph -%6.50 olarak hesaplandı (Şekil 4.18). Elde edilen bu sonuçlara göre sensörümüz tatmin edici bir seçicilik göstermiştir.

Sensörün tekrarlanabilirliğini değerlendirmek için aynı koşullar altında hazırlanan Au@AGCE elektrodu kullanılarak ölçümler elde edildi. Bunun için farklı Trp derişimi kullanıldı. Her bir derişim için 5 farklı ölçüm elde edildi. Her bir ölçümün ortalama değeri, standart sapması ve bağıl standart sapması değerleri hesaplandı. Elde edilen sonuçlara göre bağıl standart sapma değerleri %0.29 ile %5.26 arasında olduğu hesaplandı (Şekil 4.19). Bu sonuçlara göre sensörün tekrarlanabilirliğinin iyi olduğu görüldü.

Sensörün tekrar oluşturulabilirliğini değerlendirmek için aynı koşullar altında 5 tane Au@AGCE elektrodu hazırlandı. Aynı derişimlerde Trp kullanılarak bu 5 elektrot kullanılarak ölçümler elde edildi. Tekrarlanabilirlikte olduğu gibi tekrar oluşturulabilirlikte de ortalama değer, standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri hesaplandı. Bağıl standart sapma değerleri %3.43 ile %6.03 arasında olduğu belirlendi (Şekil 4.20). Bu da sensörün iyi bir tekrar oluşturulabilir olduğunu göstermektedir. Sensörün depolama kararlılığını değerlendirmek için hazırlanan sensör ile 41 gün sonra aynı koşullar altında tekrar ölçüm yapıldı. Sensör ilk güne göre yaklaşık %87'lik bir cevap verdi. Bu da sensörün iyi bir depolama kararlılığına sahip olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda hazırlamış olduğumuz Au@AGCE elektrokimyasal sensörün uygulanabilirliğini değerlendirmek için tablet içerisindeki Trp miktarı belirlendi. Bunun için tabletler ultra saf suda çözünmesi sağlandı ve ardından bir süzgeç kâğıdı yardımıyla süzüldü. Süzüntüden bir miktar alınıp farklı hacimlerde elektrokimyasal hücreye eklenip

ölçümler elde edildi. Elde edilen ölçümlere göre bağıl standart sapma değerleri %2.18 ile %4.37 arasında, verim ise %95.6 ile %103.5 arasında olduğu görüldü (Çizelge 4.1). Bu sonuçlara göre sensörün gerçek örnek tayininde son derece iyi sonuçlar verdiği görüldü.

Genel olarak Trp nin elektrokimyasal olarak tayin edilmesi için aktifleştirilmiş GCE elektrodu üzerine Au nanoparçacıkları elektrokimyasal olarak biriktirilerek bir Trp sensörü geliştirilmiştir. Elektrodun yüzeyi SEM-EDX kullanılarak karakterize edildi. Elektrokimyasal çalışmalar için elektrokimyasal empedans spektroskopisi, dönüşümlü voltametri ve doğrusal taramalı voltametrik yöntemler kullanıldı. Sensör triptofan için 2 tane doğrusal tayin aralığı gösterdi. Gözlenebilme sınırı 0.15  $\mu\text{M}$  olarak belirlendi. Sensörün tekrarlanabilirlik, tekrar oluşturulabilirlik, seçicilik ve uygulanabilirlik gibi performans faktörleri tatmin edici olduğu görüldü. Elde edilen bu sonuçlara göre hazırlanmış olduğumuz bu sensörün sonraki sensör çalışmalarında iyi bir kaynak olabileceği ve etki faktörü yüksek olan bir dergide yayınlanabileceği görülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Aziz, A. M., Hassan, H. H., Badr, I. H. (2022). Activated glassy carbon electrode as an electrochemical sensing platform for the determination of 4-nitrophenol and dopamine in real samples. *American Chemical Society Omega*, 7(38), 34127-34135.
- Abdulbari, H. A., Basheer, E. A. (2017). Electrochemical biosensors: electrode development, materials, design, and fabrication. *ChemBioEng Reviews*, 4(2), 92-105.
- Achterberg, E. P. (1996). Laboratory techniques in electroanalytical chemistry. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry*, 15(10), 550-550.
- Adelaju, S. B., Bond, A. M., Briggs, M. H. (1985). Multielement determination in biological materials by differential pulse voltammetry. *Analytical Chemistry*, 57(7), 1386-1390.
- Alaejos, M. S., Garcia Montelongo, F. J. (2004). Application of amperometric biosensors to the determination of vitamins and  $\alpha$ -amino acids. *Chemical Reviews*, 104(7), 3239-3266.
- Angerstein-Kozłowska, H., Conway, B. E., Hamelin, A., Stoicoviciu, L. (1986). Elementary steps of electrochemical oxidation of single-crystal planes of Au—I. Chemical basis of processes involving geometry of anions and the electrode surfaces. *Electrochimica Acta*, 31(8), 1051-1061.
- Bagheri, H., Ahmadi, M., Madrakian, T., Afkhami, A. (2015). Preconcentration and spectrofluorometric determination of L-tryptophan in the presence of D-tryptophan using a chiral magnetic nanoselector. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 221, 681-687.
- Bender, D. A. (1983). Biochemistry of tryptophan in health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 6(2), 101-197.
- Berger, M., Gray, J. A., Roth, B. L. (2009). The expanded biology of serotonin. *Annual Review of Medicine*, 60(1), 355-366.
- Best, J., Nijhout, H. F., Reed, M. (2010). Serotonin synthesis, release and reuptake in terminals: a mathematical model. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 7, 1-26.
- Budisa, N., Rubini, M., Bae, J. H., Weyher, E., Wenger, W., Golbik, R., Huber R., Moroder, L. (2002). Global replacement of tryptophan with aminotryptophans generates non-invasive protein-based optical pH sensors. *Angewandte Chemie International Edition*, 41(21), 4066-4069.
- Carroll, B. J. (1971). Monoamine precursors in the treatment of depression. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 12(5), 743-761.
- Chauhan, C. (2021). Contemporary voltammetric techniques and its application to pesticide analysis: A review. *Materials Today: Proceedings*, 37, 3231-3240.
- Chen, A., Shah, B. (2013). Electrochemical sensing and biosensing based on square wave voltammetry. *Analytical Methods*, 5(9), 2158-2173.
- Clark Jr, L. C., Lyons, C. (1962). Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 102(1), 29-45.
- Compagnone, D., Isoldi, G., Moscone, D., Palleschi, G. (2001). Amperometric detection of biogenic amines in cheese using immobilised diamine oxidase. *Analytical Letters*, 34(6), 841-854.

- Consalvi, S., Scarpecci, C., Biava, M., Poce, G. (2019). Mycobacterial tryptophan biosynthesis: A promising target for tuberculosis drug development? *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 29(23), 126731.
- Costa, D. J., Martínez, A. M., Ribeiro, W. F., Bichinho, K. M., Di Nezio, M. S., Pistonesi, M. F., Araujo, M. C. (2016). Determination of tryptamine in foods using square wave adsorptive stripping voltammetry. *Talanta*, 154, 134-140.
- Deng, K. Q., Zhou, J. H., Li, X. F. (2013). Direct electrochemical reduction of graphene oxide and its application to determination of L-tryptophan and L-tyrosine. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 101, 183-188.
- Deshmukh, M. A., Patil, H. K., Bodkhe, G. A., Yasuzawa, M., Koinkar, P., Ramanaviciene, A., Shirsat M.D., Ramanavicius, A. (2018). EDTA-modified PANI/SWNTs nanocomposite for differential pulse voltammetry based determination of Cu (II) ions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 260, 331-338.
- Dickinson, J. C., Rosenblum, H., Hamilton, P. B. (1965). Ion exchange chromatography of the free amino acids in the plasma of the newborn infant. *Pediatrics*, 36(1), 2-13.
- Diem, S., Bergmann, J., Herderich, M. (2000). Tryptophan-N-glucoside in fruits and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4913-4917.
- Eccleston, E. G. (1973). A method for the estimation of free and total acid-soluble plasma tryptophan using an ultrafiltration technique. *Clinica Chimica Acta*, 48(3), 269-272.
- El Mhammedi, M. A., Achak, M., Najih, R., Bakasse, M., Chtaini, A. (2009). Micro-extraction and trace determination of cadmium by square wave voltammetry at the carbon paste electrode impregnated with Ca<sub>10</sub> (PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub> (OH)<sub>2</sub>. *Materials Chemistry and Physics*, 115(2-3), 567-571.
- Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T., Dempsey, J. L. (2018). A practical beginner's guide to cyclic voltammetry. *Journal of Chemical Education*, 95(2), 197-206
- Evans, D. H., O'Connell, K. M., Petersen, R. A., Kelly, M. J. (1983). Cyclic voltammetry. **Electrochemistry, ACS meeting, Kansas City**
- Fan, Y., Liu, J. H., Lu, H. T., Zhang, Q. (2011). Electrochemistry and voltammetric determination of L-tryptophan and L-tyrosine using a glassy carbon electrode modified with a Nafion/TiO<sub>2</sub>-graphene composite film. *Microchimica Acta*, 173, 241-247.
- Feldman, B., Brazg, R., Schwartz, S., Weinstein, R. (2003). A continuous glucose sensor based on Wired Enzyme™ technology-Results from a 3-day trial in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 5(5), 769-779.
- Fiorucci, A. R., Cavalleiro, É. T. G. (2002). The use of carbon paste electrode in the direct voltammetric determination of tryptophan in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 28(5), 909-915.
- Frazer, A., Hensler, J. G. (1999). **Serotonin basic neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects**, 6th edition
- Friedman, M., Cuq, J. L. (1988). Chemistry, analysis, nutritional value, and toxicology of tryptophan in food. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(5), 1079-1093.
- Friedman, M., Finley, J. W. (1971). Methods of tryptophan analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19(4), 626-631.

- Fuller, R. W., Roush, B. W. (1973). Binding of tryptophan to plasma proteins in several species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 46(2), 273-276.
- Giannaccini, G., Betti, L., Palego, L., Marsili, A., Santini, F., Pelosini, C., Lucacchini, A. (2013). The expression of platelet serotonin transporter (SERT) in human obesity. *BMC Neuroscience*, 14, 1-8.
- Gingrich, J. A., Hen, R. (2001). Dissecting the role of the serotonin system in neuropsychiatric disorders using knockout mice. *Psychopharmacology*, 155, 1-10.
- Gosser, D. K. (1993). *Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms* (Vol. 43). New York: VCH.
- Goswami, D., Thakker, J. N., Dhandhukia, P. C. (2015). Simultaneous detection and quantification of indole-3-acetic acid (IAA) and indole-3-butyric acid (IBA) produced by rhizobacteria from l-tryptophan (Trp) using HPTLC. *Journal of Microbiological Methods*, 110, 7-14.
- Greiling, H., Gressner, A. M. (1989). *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobio-chemie*, 2. Aufl. Schattauer, Stuttgart New York, S 501-503.
- Gruber, A. J., Hudson, J. I., Pope Jr, H. G. (1996). The management of treatment-resistant depression in disorders on the interface of psychiatry and medicine: fibromyalgia, chronic fatigue syndrome, migraine, irritable bowel syndrome, atypical facial pain, and premenstrual dysphoric disorder. *Psychiatric Clinics of North America*, 19(2), 351-369.
- Gulaboski, R., Mirčeski, V., Bogeski, I., Hoth, M. (2012). Protein film voltammetry: electrochemical enzymatic spectroscopy. A review on recent progress. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 16, 2315-2328.
- Hareesha, N., Manjunatha, J. G., Alothman, Z. A., Sillanpää, M. (2022). Simple and affordable graphene nano-platelets and carbon nanocomposite surface decorated with cetrimonium bromide as a highly responsive electrochemical sensor for rutin detection. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 917, 116388.
- Heine W., (1994) Qualitative aspects of protein in human milk and formula: amino acid pattern. *Agricultural and Food Sciences, Medicine*, 121-132.
- Heine, W. E., Klein, P. D., Reeds, P. J. (1991). The importance of  $\alpha$ -lactalbumin in infant nutrition. *The Journal of Nutrition*, 121(3), 277-283.
- Heine, W., Radke, M., Wutzke, K. D. (1995). The significance of tryptophan in human nutrition. *Amino Acids*, 9, 91-205.
- Heineman, W. R., Anderson, C. W., Halsall, H. B. (1979). Immunoassay by differential pulse polarography. *Science*, 204(4395), 865-866.
- Hezard, T., Fajerweg, K., Evrard, D., Collière, V., Behra, P., Gros, P. (2012). Gold nanoparticles electrodeposited on glassy carbon using cyclic voltammetry: Application to Hg (II) trace analysis. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 664, 46-52.
- Holzinger, M., Le Goff, A., Cosnier, S. (2014). Nanomaterials for biosensing applications: a review. *Frontiers in chemistry*, 2, 63.
- Jaffrezic-Renault, N., Dzyadevych, S. V. (2008). Conductometric microbiosensors for environmental monitoring. *Sensors*, 8(4), 2569-2588.
- Jena, A., Montoya, C. A., Mullaney, J. A., Dilger, R. N., Young, W., McNabb, W. C., Roy, N. C. (2020). Gut-brain axis in the early postnatal years of life: a developmental perspective. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 14, 44.

- Jin, G. P., Lin, X. Q. (2004). The electrochemical behavior and amperometric determination of tyrosine and tryptophan at a glassy carbon electrode modified with butyrylcholine. *Electrochemistry Communications*, 6(5), 454-460.
- Keskin, M., Arslan, F. (2020). Biyosensörler. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 1(1-2), 51-60.
- Kissinger, P. T., Heineman, W. R. (1983). Cyclic voltammetry. *Journal of Chemical Education*, 60(9), 702.
- Klonoff, D. C. (2005). A review of continuous glucose monitoring technology. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 7(5), 770-775.
- Kochen, W., Steinhart, H. (1994). **L-Tryptophan: current prospects in medicine and drug safety**. Walter de Gruyter, Berlin, Germany.
- Kokulnathan, T., Chen, T. W., Chen, S. M., Kumar, J. V., Sakthinathan, S., Nagarajan, E. R. (2019). Hydrothermal synthesis of silver molybdate/reduced graphene oxide hybrid composite: an efficient electrode material for the electrochemical detection of tryptophan in food and biological samples. *Composites Part B: Engineering*, 169, 249-257.
- Konopka, S. J., McDuffie, B. (1970). Diffusion coefficients of ferri- and ferrocyanide ions in aqueous media, using twin-electrode thin-layer electrochemistry. *Analytical Chemistry*, 42(14), 1741-1746.
- Körbel, I. M. (1984). **Untersuchungen über die Tryptophankonzentration im Plasma von Kindern und Erwachsenen**. Med Diss, University of Düsseldorf.
- Li, H., Li, F., Han, C., Cui, Z., Xie, G., Zhang, A. (2010). Highly sensitive and selective tryptophan colorimetric sensor based on 4, 4'-bipyridine-functionalized silver nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 145(1), 194-199.
- Lian, W., Ma, D. J., Xu, X. U., Chen, Y., Wu, Y. L. (2012). Rapid high-performance liquid chromatography method for determination of tryptophan in gastric juice. *Journal of Digestive Diseases*, 13(2), 100-106.
- Liu, B., Ouyang, X., Ding, Y., Luo, L., Xu, D., Ning, Y. (2016). Electrochemical preparation of nickel and copper oxides-decorated graphene composite for simultaneous determination of dopamine, acetaminophen and tryptophan. *Talanta*, 146, 114-121.
- Liu, J., Xu, N., Men, H., Li, S., Lu, Y., Low, S. S., Li X., Zhu L., Cheng C., Xu G., Liu, Q. (2020). Salivary cortisol determination on smartphone-based differential pulse voltammetry system. *Sensors*, 20(5), 1422.
- Liu, J., Xu, Y., Liu, S., Yu, S., Yu, Z., Low, S. S. (2022). Application and progress of chemometrics in voltammetric biosensing. *Biosensors*, 12(7), 494.
- Liu, X., Zhang, X. Y., Wang, L. L., Wang, Y. Y. (2014). A sensitive electrochemical sensor for paracetamol based on a glassy carbon electrode modified with multiwalled carbon nanotubes and dopamine nanospheres functionalized with gold nanoparticles. *Microchimica Acta*, 181, 1439-1446.
- Liu, Y., Xu, L. (2007). Electrochemical sensor for tryptophan determination based on copper-cobalt hexacyanoferrate film modified graphite electrode. *Sensors*, 7(10), 2446-2457.
- Lobo, M. J., Miranda, A. J., Tuñón, P. (1997). Amperometric biosensors based on NAD (P)-dependent dehydrogenase enzymes. *Electroanalysis*, 9(3), 191-202.
- Lovrić, M., Osteryoung, J. (1982). Theory of differential normal pulse voltammetry. *Electrochimica Acta*, 27(7), 963-968.

- Lu, Y., Liang, X., Niyungeko, C., Zhou, J., Xu, J., Tian, G. (2018). A review of the identification and detection of heavy metal ions in the environment by voltammetry. *Talanta*, 178, 324-338.
- Mackay, G. M., Forrest, C. M., Stoy, N., Christofides, J., Egerton, M., Stone, T. W., Darlington, L. G. (2006). Tryptophan metabolism and oxidative stress in patients with chronic brain injury. *European Journal of Neurology*, 13(1), 30-42.
- Malone, M. A., Zuo, H., Lunte, S. M., Smyth, M. R. (1995). Determination of tryptophan and kynurenine in brain microdialysis samples by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Journal of Chromatography A*, 700(1-2), 73-80.
- Mao, S., Li, W., Long, Y., Tu, Y., Deng, A. (2012). Sensitive electrochemical sensor of tryptophan based on Ag@C core-shell nanocomposite modified glassy carbon electrode. *Analytica Chimica Acta*, 738, 35-40.
- Mazloun-Ardakani, M., Beitollahi, H., Amini, M. K., Mirkhalaf, F., Mirjalili, B. F. (2011). A highly sensitive nanostructure-based electrochemical sensor for electrocatalytic determination of norepinephrine in the presence of acetaminophen and tryptophan. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(5), 2102-2106.
- McCarthy, B. D., Martin, D. J., Rountree, E. S., Ullman, A. C., Dempsey, J. L. (2014). Electrochemical reduction of brønsted acids by glassy carbon in acetonitrile implications for electrocatalytic hydrogen evolution. *Inorganic Chemistry*, 53(16), 8350-8361.
- Meng, X., Guo, W., Qin, X., Liu, Y., Zhu, X., Pei, M., Wang, L. (2014). A molecularly imprinted electrochemical sensor based on gold nanoparticles and multiwalled carbon nanotube-chitosan for the detection of tryptamine. *RSC Advances*, 4(73), 38649-38654.
- Miller, J. E., Gradinaru, C., Crane, B. R., Di Bilio, A. J., Wehbi, W. A., Un, S., Winkler J.R., Gray, H. B. (2003). Spectroscopy and reactivity of a photogenerated tryptophan radical in a structurally defined protein environment. *Journal of the American Chemical Society*, 125(47), 14220-14221.
- Mirceski, V., Gulaboski, R., Lovric, M., Bogeski, I., Kappl, R., Hoth, M. (2013). Square-wave voltammetry: a review on the recent progress. *Electroanalysis*, 25(11), 2411-2422.
- Mohanty, S. P., Kougiannos, E. (2006). Biosensors: A tutorial review. *Ieee Potentials*, 25(2), 35-40.
- Moranta, D., Barceló, P., Aparicio, S., Garau, C., Sarubbo, F., Ramis, M., Nicolau C., Esteban, S. (2014). Intake of melatonin increases tryptophan hydroxylase type 1 activity in aged rats: Preliminary study. *Experimental Gerontology*, 49, 1-4.
- Mukhopadhyay, R., Sumbayev, V. V., Lorentzen, M., Kjems, J., Andreasen, P. A., Besenbacher, F. (2005). Cantilever sensor for nanomechanical detection of specific protein conformations. *Nano Letters*, 5(12), 2385-2388.
- Nesakumar, N., Sethuraman, S., Krishnan, U. M., Rayappan, J. B. B. (2015). Cyclic voltammetric acetylcholinesterase biosensor for the detection of captan in apple samples with the aid of chemometrics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407, 4863-4868.
- Nielsen, H. K., Hurrell, R. F. (1985). Tryptophan determination of food proteins by HPLC after alkaline hydrolysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36(9), 893-907.
- Ohashi, H., Iizuka, H., Yoshihara, S., Otani, H., Kume, M., Sadamoto, K., Ichiba H., Fukushima, T. (2013). Determination of l-tryptophan and l-kynurenine in human

- serum by using LC-MS after derivatization with (R)-DBD-PyNCS. *International Journal of Tryptophan Research*, 6, IJTR-S11459.
- Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E. Y. (2006). *İnsan Biyokimyası*. Ankara: Palme Yayıncılık; p.1-848
- Osteryoung, J. G., Osteryoung, R. A. (1985). Square wave voltammetry. *Analytical Chemistry*, 57(1), 101-110.
- Oxenkrug, G., Ratner, R. (2012). N-acetylserotonin and aging-associated cognitive impairment and depression. *Aging and Disease*, 3(4), 330.
- Palego, L., Betti, L., Rossi, A., Giannaccini, G. (2016). Tryptophan biochemistry: structural, nutritional, metabolic, and medical aspects in humans. *Journal of Amino Acids*, 2016(1), 8952520.
- Peng, Z., Jiang, Z., Huang, X., Li, Y. (2016). A novel electrochemical sensor of tryptophan based on silver nanoparticles/metal–organic framework composite modified glassy carbon electrode. *RSC Advances*, 6(17), 13742-13748.
- Pohanka, M., Bandouchova, H., Sobotka, J., Sedlackova, J., Soukupova, I., Pikula, J. (2009). Ferric reducing antioxidant power and square wave voltammetry for assay of low molecular weight antioxidants in blood plasma: Performance and comparison of methods. *Sensors*, 9(11), 9094-9103.
- Pohlandt, F. (1975). Zur Vermeidung von Aminosäureimbalanzen bei Neugeborenen mit parenteraler Ernährung. *Monatsschr Kinderheilkd*, 123, 448-450.
- Prongmanee, W., Alam, I., Asanithi, P. (2019). Hydroxyapatite/Graphene oxide composite for electrochemical detection of L-Tryptophan. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 102, 415-423.
- Ranganathan, S., Kuo, T. C., McCreery, R. L. (1999). Facile preparation of active glassy carbon electrodes with activated carbon and organic solvents. *Analytical Chemistry*, 71(16), 3574-3580.
- Reynolds, D. M. (2003). Rapid and direct determination of tryptophan in water using synchronous fluorescence spectroscopy. *Water Research*, 37(13), 3055-3060.
- Sa, M., Ying, L., Tang, A. G., Xiao, L. D., Ren, Y. P. (2012). Simultaneous determination of tyrosine, tryptophan and 5-hydroxytryptamine in serum of MDD patients by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Clinica Chimica Acta*, 413(11-12), 973-977.
- Sainio, E. L., Pulkki, K., Young, S. N. (1996). L-Tryptophan: Biochemical, nutritional and pharmacological aspects. *Amino Acids*, 10, 21-47.
- Shahrokhian, S., Bayat, M. (2011). Pyrolytic graphite electrode modified with a thin film of a graphite/diamond nano-mixture for highly sensitive voltammetric determination of tryptophan and 5-hydroxytryptophan. *Microchimica Acta*, 174, 361-366.
- Shahrokhian, S., Fotouhi, L. (2007). Carbon paste electrode incorporating multi-walled carbon nanotube/cobalt salophen for sensitive voltammetric determination of tryptophan. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 123(2), 942-949.
- Shichiri, M., Yamasaki, Y., Kawamori, R., Hakui, N., Abe, H. (1982). Wearable artificial endocrine pancreas with needle-type glucose sensor. *The Lancet*, 320(8308), 1129-1131.
- Tang, X., Bansaruntip, S., Nakayama, N., Yenilmez, E., Chang, Y. L., Wang, Q. (2006). Carbon nanotube DNA sensor and sensing mechanism. *Nano Letters*, 6(8), 1632-1636.

- Torrecilla, J. S., Mena, M. L., Yáñez-Sedeño, P., García, J. (2008). A neural network approach based on gold-nanoparticle enzyme biosensor. *Journal of Chemometrics: A Journal of the Chemometrics Society*, 22(1), 46-53.
- Tricklebank, M. D., Pickard, F. J., Souza, S. D. (1979). Free and bound tryptophan in human plasma during the perinatal period. *Acta Paediatrica*, 68(3), 199-204.
- Ünüvar A., (2017). *Triptofan tespiti için moleküler baskılanmış polimer temelli kuvars kristal mikroterazi nanosensör geliştirilmesi*, Yüksek lisans tezi. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman, Türkiye.
- Von Nussbaum, F. (2003). Stephacidin B—a new stage of complexity within prenylated indole alkaloids from fungi. *Angewandte Chemie International Edition*, 42(27), 3068-3071.
- Wang, J., Rivas, G., Cai, X., Palecek, E., Nielsen, P., Shiraiishi, H., Dontha N., Luo D., Parrado C., Chicharro M., Farias P.A.M., Valera F.S., Grant D.H., Ozsoz M., Flair, M. N. (1997). DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring. A review. *Analytica Chimica Acta*, 347(1-2), 1-8.
- Wang, L., Yang, R., Li, J., Qu, L., Harrington, P. D. B. (2019). A highly selective and sensitive electrochemical sensor for tryptophan based on the excellent surface adsorption and electrochemical properties of PSS functionalized graphene. *Talanta*, 196, 309-316.
- Waterhouse, G. I., Zhang, Y., Xiang, Z. P., Che, J., Chen, C., Sun, W. (2020). A highly sensitive electrochemical sensor containing nitrogen-doped ordered mesoporous carbon (NOMC) for voltammetric determination of L-tryptophan. *Food Chemistry*, 326, 126976.
- Wei, Z., Yang, Y., Wang, J., Zhang, W., Ren, Q. (2018). The measurement principles, working parameters and configurations of voltammetric electronic tongues and its applications for foodstuff analysis. *Journal of Food Engineering*, 217, 75-92.
- Whitaker-Azmitia, P. M. (2001). Serotonin and brain development: role in human developmental diseases. *Brain Research Bulletin*, 56(5), 479-485.
- Whitaker-Azmitia, P. M. (2005). Behavioral and cellular consequences of increasing serotonergic activity during brain development: a role in autism? *International Journal of Developmental Neuroscience*, 23(1), 75-83.
- Widdowson, E. M., Southgate, D. A. T., & Hey, E. N. (1979). **Body composition of the fetus and infant. In Nutrition and Metabolism of the Fetus and Infant**, Rotterdam 11–13 October 1978 (pp. 169-177). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Williams, A. P., Hewitt, D., Buttery, P. J. (1982). A collaborative study on the determination of tryptophan in feedingstuffs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33(9), 860-865.
- Wurtman, R. J., Wurtman, J. J., Regan, M. M., McDermott, J. M., Tsay, R. H., Breu, J. J. (2003). Effects of normal meals rich in carbohydrates or proteins on plasma tryptophan and tyrosine ratios. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(1), 128-132.
- Xia, X., Zheng, Z., Zhang, Y., Zhao, X., Wang, C. (2014). Synthesis of Ag-MoS<sub>2</sub>/chitosan nanocomposite and its application for catalytic oxidation of tryptophan. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 192, 42-50.
- Xing, X., Liu, S., Yu, J., Lian, W., Huang, J. (2012). Electrochemical sensor based on molecularly imprinted film at polypyrrole-sulfonated graphene/hyaluronic acid-multiwalled carbon nanotubes modified electrode for determination of tryptamine. *Biosensors and Bioelectronics*, 31(1), 277-283.

- Zhai, D., Liu, B., Shi, Y., Pan, L., Wang, Y., Li, W., Zhang R., Yu, G. (2013). Highly sensitive glucose sensor based on Pt nanoparticle/polyaniline hydrogel heterostructures. *ACS Nano*, 7(4), 3540-3546.
- Zhang, J. W., Zhang, X. (2020). Electrode material fabricated by loading cerium oxide nanoparticles on reduced graphene oxide and its application in electrochemical sensor for tryptophan. *Journal of Alloys and Compounds*, 842, 155934.
- Zhang, W., Chai, Y., Yuan, R., Chen, S., Han, J., Yuan, D. (2012). Facile synthesis of graphene hybrid tube-like structure for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, uric acid and tryptophan. *Analytica Chimica Acta*, 756, 7-12.
- Zhang, Y., Tadigadapa, S. (2004). Calorimetric biosensors with integrated microfluidic channels. *Biosensors and Bioelectronics*, 19(12), 1733-1743.
- Zhang, Z., Zhang, J., Zhang, H., Xu, J., Wen, Y., Ding, W. (2016). Characterization of PEDOT: PSS-reduced graphene oxide@ Pd composite electrode and its application in voltammetric determination of vitamin K3. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 775, 258-266.
- Zhou, Z., He, L., Mao, Y., Chai, W., Ren, Z. (2017). Green preparation and selective permeation of d-Tryptophan imprinted composite membrane for racemic tryptophan. *Chemical Engineering Journal*, 310, 63-71.
- Zilpah Sheikh, MD., (2023). Top foods high in tryptophan medically reviewed by Jabeen Begum Erişim tarihi:13 Kasım 2023. Erişim adresi: <https://www.webmd.com/diet/foods-high-in-tryptophan>

## ÖZ GEÇMİŞ

### **Kişisel Bilgiler**

Adı Soyadı : Gamze Suvari

### **Eğitim Bilgileri**

Lisans

Üniversite : Trakya Üniversitesi

Fakülte : Fen

Bölüm : Kimya

Mezuniyet Yılı : 2012



**VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU**

Tarih 09/12/2024

Tez Başlığı: **ALTIN NANOPARÇACIKLARIN AKTİFLEŞTİRİLMİŞ CAMSI  
KARBON ELEKTROT ÜZERİNDE BİRİKTİRİLMESİ VE L-  
TRİPTOFAN İÇİN ELEKTROKİMYASAL UYGULAMALARI**

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışmamın, kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç bölümlerinden oluşan toplam 57 (elli yedi) sayfalık kısmına ilişkin, 21/10/2024 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre tezimin benzerlik oranı %13 (on üç) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Tarih ve İmza  
10/12/2024

Adı Soyadı: Gamze Suvari  
Öğrenci No: 21910001436  
Anabilim Dalı: Kimya (Biyokimya)  
Programı: Fen Bilimleri  
Statüsü: ( X ) Yüksek lisans ( ) Doktora

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Muhammet GÜLER**

**ENSTİTÜ ONAYI**

UYGUNDUR

UYGUNDUR



