T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARBON NANOFİBER VE KARBON NANOTOPLAR TEMELLİ BİR MODİFİYE ELEKTROT İLE KAFEİK ASİTİN SAPTANMASI

İmen ELSELLUM

KİMYA ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET i
ABSTRACT ii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
ÇİZELGELER DİZİNİ v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ vi
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 5
3. MATERYAL ve YÖNTEM 9
3.1. Materyal 9
3.2. Yöntem 9
3.2.1. Elektrotların temizlenmesi 9
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 11
4.1. CNF-CNB/GC Elektrodun Yüzey Karakterizasyonu 11
4.2. Kafeik Asitin Elektrokimyasal Davranışı 12
4.3. Tarama Hızının Etkisi 14
4.4. pH etkisi 15
4.5. Kalibrasyon 17
4.6. Kararlılık 19
4.7. Seçimlilik 20
4.8. Numune Analizi 21
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 22
KAYNAKLAR 23
ÖZGEÇMİŞ 27

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KARBON NANOFİBER ve KARBON NANOTOPLAR TEMELLİ BİR MODİFİYE ELEKTROT İLE KAFEİK ASİTİN SAPTANMASI

İmen ELSELLUM

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayşegül KUTLUAY BAYTAK
Yıl: 2022, Sayfa:27

Camımsı karbon elektrotların karbon nanofiber ve karbon nanotoplardan oluşan nanopartiküller ile modifikasyonuna dayalı olarak kafeik asitin belirlenmesi için tekrarlanabilir ve seçimli bir voltametrik yöntem geliştirildi. Önerilen modifiye elektrot, kafeik asitin oksidasyonuna karşı iyi bir elektrokatalitik etki gösterdi ve kafeik asitin akım cevabı arttı. Modifiye elektrot, pH 7.0'da 0.1 M PBS'de kafeik asitin kantitatif tayini için kullanıldı. Pik akımı, $3.3x10^{-9}$ M ile $1.5x10^{-6}$ M aralığında kafeik asit konsantrasyonu ile doğrusal olarak arttı. Saptama limiti $6.2x10^{-10}$ M (S/N=3) olarak belirlenmiştir. Önerilen yöntem, üzüm suyu örneklerinde kafeik asit saptanmasına pratik olarak uygulandı.

ANAHTAR KELİMELER: Kafeik asit, karbon nanotop, karbon nanofiber, saptama

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINATION OF CAFFEIC ACID USING A MODIFIED ELECTRODE BASED ON CARBON NANOFIBERS AND CARBON NANOBALLS

İmen ELSELLUM

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Chemistry Department

Supervisor: Prof. Dr. Ayşegül KUTLUAY BAYTAK
Year: 2022, Page:27

A reproducible and selective electrochemical method was produced for the determination of caffeic acid based on the modification of a glassy carbon electrode with carbon nanofibers and carbon nanoballs. The proposed novel modified electrode exhibited a good catalytic activity towards the oxidation of caffeic acid and enhanced the current response. The modified electrode was used for the quantitative determination of caffeic acid in 0.1 M PBS at pH 7.0. The peak current increased linearly with caffeic acid concentration in the range of $3.3x10^{-9}$ M to $1.5x10^{-6}$ M. The detection limit was $6.2x10^{-10}$ M (S/N=3). This method was pratically applied to the determination of caffeic acid in grape juice samples.

KEY WORDS: Caffeic acid, carbon nanofibers, carbon nanoballs, determination

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım süresince destek ve tecrübelerinden faydalandığım Danışmanım Sayın Prof. Dr. Ayşegül KUTLUAY BAYTAK' a ve Sayın Prof. Dr. Mehmet ASLANOĞLU Hocama çok teşekkür ederim. Laboratuvarda ve deneylerimde yardımlarını esirgemeyen hocalarım Sayın Dr. Tuğçe TEKER'e ve Sayın Şehriban DÜZMEN'e çok teşekkür ederim. Proje desteklerinden dolayı, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü' ne de ayrıca teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Kafeik asitin kimyasal yapısı 1
Şekil 3.1. CNF-CNB/GCE elektrodun hazırlanışının illüstrasyonu…….. 10
Şekil 4.1. CNF-CNB/GCE'nin yüzeyine ait SEM görüntüsü..... 11
Şekil 4.2. CNF-CNB kompozit malzemesine ait EDX spektrumu..... 12
Şekil 4.4. 2.0×10^{-6} M kafeik asitin 0.1 M pH: 7.0 PBS içinde CNF-CNB/GCE'de artan tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı 50 mV/s, 100 mV/s, 150 mV/s, 200 mV/s, 250mV/s. Denge süresi: 5 s. 14
Şekil 4.5. Kafeik asitin tarama hızına karşı anodik pik akımlarının grafiği..... 15
Şekil 4.6. $2.0x10^{-6}$ M kafeik asitin farklı pH'lardaki 0.1 M PBS içindeki dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s. Denge süresi: 5 s. 16
Şekil 4.7. Çözelti pH' sına karşı kafeik asitin anodik pik potansiyeli grafiği..... 17
Şekil 4.8. Kafeik asit için elektrot reaksiyonu 17
Şekil 4.9. 0.1 M pH:7.0 PBS içinde CNF-CNB/GCE' de kafeik asitin arttırılan konsantrasyonlarına ilişkin alınan kare dalga voltamogramları.Tarama hızı: 50mV/s. Denge süresi: 5s. CA konsantrasyonlar: (sırasıyla aşağıdan yukarıya doğru): a) 3.3×10^{-9} M; b) 6.6×10^{-9} M; c) 1.3×10^{-8} M; d) 2.6×10^{-8} M; e) 5.3×10^{-8} M; g) 1.0×10^{-7} M; h) 2.2×10^{-7} M; ı) 4.2×10^{-7} M; k) 5.8×10^{-7} M; l) 6.1×10^{-7} M; m) 9.0×10^{-7} M; n) 1.2×10^{-6} M; p) 1.5×10^{-6} M..... 18
Şekil 4.10. CNF-CNB/GCE kullanılarak kafeik asitin artan konsantrasyonlarına karşı pik akımlarının grafiği. 19
Şekil 4.11. 0.1 M pH 7.0 PBS' de CNF-CNB/GCE yüzeyinde sabit askorbik asit (AA) varlığında kafeik asitin arttırılan konsantrasyonlarına ait dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s. Denge süresi: 5 s..... 21

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

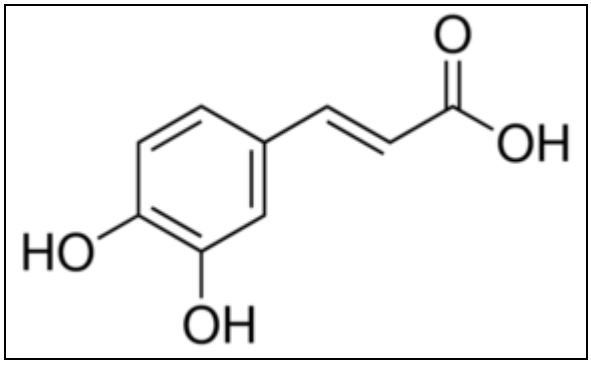
Çizelge 4.1. Önerilen elektrotun yayınlanmış elektrotlarla karşılaştırılması……..... 19
Çizelge 4.2. Numune analizi..... 21

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µM	Mikromolar
AA	Askorbik asit
B.S.S	Bağıl Standart Sapma
C	Konsantrasyon
CNB	Karbon Nanotop
CNF	Karbon Nanofiber
CNT	Karbon Nanotüp
CA	Kafeik asit
CV	Dönüşümlü Voltametri
EDX	Enerji Dağılım X ışını Spektrometresi
Ep	Pik Potansiyeli
Epa	Anodik Pik Potansiyeli
Epc	Katodik Pik Potansiyeli
GCE	Camımsı Karbon Elektrot
Ip	Pik Akımı
Ipa	Yükseltgenme Pik Akımı
Ipc	İndirgenme Pik Akımı
M	Molar
mV	Milivolt
n	Elektron Sayısı
PBS	Fosfat Tampon Çözelti
r^2	Korelasyon Katsayısı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu
SWV	Kare Dalga Voltametrisi
v	Tarama Hızı

1. GİRİŞ

Kafeik asit (CA), hidroksisinnamik asit sınıfında yer alan organik bir bileşiktir. Sarı renkli ve katı formda elde edilebilen bu organik molekülde hem fenolik hem de akrilik fonksiyonel gruplar bulunur. Kafeik asitin kimyasal yapısı Şekil 1.1.'de verilmiştir (Khan ve ark., 2016).



Şekil 1.1. Kafeik asitin kimyasal yapısı

Kafeik asit (CA), doğal olarak baharatlarda, bitkilerde ve tohumlarda bulunur. Kafeik asit kekik, adaçayı ve geleneksel nane bitkilerinde 100 gram numune başına yaklaşık 20 miligram; tarçın ve anason gibi aromatik bitkilerde ise 100 gram numune başına yaklaşık yirmi ikişer miligram gibi oldukça fazla miktarda bulunmaktadır. Yine kafeik asit, argan yağı gibi geleneksel ve tamamlayıcı tıpta çokça kullanılan aromatik yağların doğal ana fenolik bileşenlerindendir. CA özellikle şarap, çay, kahve, zeytinyağı gibi içeceklerde fazlaca bulunur. Bununla birlikte birçok bitkinin muhtevasında bulunur çünkü bitki biyokütlesini oluşturan ligninin biyosentezinde rol oynayan önemli bir ara madde olma özelliğine sahiptir (Sun ve ark., 2018). CA antioksidan özelliğinin yanısıra antienflamatuar, antibakteriyel, antikanserojenik ve immünomodülatör gibi birçok terapötik özelliklere sahiptir (Aguilar-Hernández ve ark, 2017; Manikandan ve ark., 2018). Son zamanlarda yapılmış kapsamlı bir çalışmada da CA'nın hücre kültürlerinde orta düzeyde anti-HIV aktivitesi ile HIV replikasyonunu engelleyebileceği ortaya konulmuştur (Sonar ve ark., 2017).

Biyolojik aktivitesi yüksek bir molekül olan CA'nın hassas bir şekilde belirlenmesi, gıda numunelerinin güvenliği ve kalitesi kadar analitik ve terapötik çalışmaların amaçları açısından da önemlidir. CA'nın kalitatif ve kantitatif analizi için kullanılan analitik yöntemlere bakıldığında, molekülün fazlaca bulunduğu bitkiler ve şarap numunelerinin tayini için kapiler elektroforez, spektrofotometri ve kromatografi gibi bir dizi yöntem uygulanmıştır (Wang ve ark., 2004; Aguilar-Hernández ve ark., 2017; Şanlı ve ark., 2016). Bununla birlikte bu yöntemler, türlendirme veya analitin numuneden izole edilmesi veya ekstrasksiyon gibi aşamaları içermesi açısından zaman alıcı adımlar da dahil olmak üzere bir dizi dezavantajdan muzdariptir. Ancak voltammetrik teknikler, gıda numuneleri üzerinde yüksek hassasiyet, doğruluk ve iyi bir şeçimlilik sağlayarak hızlı analiz yapılmasını sağlar (Bianchini ve ark., 2014; Liu ve ark., 2016a; Zhang ve ark., 2013; Chen ve ark., 2019; Filik ve ark., 2013; Gao ve ark., 2018).

Elektroanalitik yöntemler başlığı altında yer alan voltametri tekniği, başta kimya olmak üzere ve çeşitli endüstriyel işlemlerde başarıyla uygulanabilen, bilinen önemli bir yöntemdir. Yöntem temel olarak, redoks reaksiyonlarının mekanizması ve kinetiğinin araştırılması ve elektroaktif moleküllerin kantitatif tayini için elektrolitik indirgeme veya yükseltgenmeye dayanır (Bard ve Faulkner, 2001). Voltametri, akımı uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak ölçme tekniğidir. Burada maddenin türü ile ilişkili yükseltgendiği ve/veya indirgendiği potansiyel ve maddenin konsantrasyonuyla ilişkili olarak ölçülen akım, yöntemin karakteristik parametreleridir. 1920'li yılların başında Jaroslav Heyrovsky tarafından sadece iki elektrot kullanılarak ilk voltametrik teknik uygulanmış ve bilim dünyasına tanıtılmıştır. Günümüzde modern voltametri tekniğinde üç elektrotlu bir sistem kullanılır. Bir voltammetrik deneyin sonuçları, uygulanan potansiyele karşı analit tarafından üretilen akıma dayanan bir voltamogram ile gösterilmekte ve açıklanabilmektedir (Bard ve Faulkner, 2001).

Analitik çalışmalarda araştırmacıların büyük çaba harcadığı duyarlılığın, seçimliliğin, saptama limitinin, doğruluğun ve stabilitenin iyileştirilmesine bir çözüm olarak ortaya çıkan modifiye elektrotların hassas bir algılayıcı olarak işlev görmesi bu

tür elektrotların sensör olarak kullanılabilmesi hususunda araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir. Temelde bir sensör iki kısımdan oluşur ki; bunlardan biri algılama materyali ve diğeri bir sinyal dönüştürücüdür. Sensörün algılama materyali kimyasal, biyolojik, mekanik-elektrik veya optik bir malzemeden oluşabilir. Elektrokimyasal sensörlerin üretiminde kullanılan algılayıcı materyal elektrodun safsızlıklara karşı kararlılığını, duyarlılığını ve seçiciliğini de belirlerken elektrotların boyutu ve modifikasyon sonucu oluşan toplam yüzey alanı da bu anlamda önemlidir (Patel ve ark., 2020). Algılama materyalinin primer rolü, hedef maddeyi bir yükselticiye ihtiyaç duymadan algılayıp okunabilir bir sinyale dönüştürmektir. Sensörlerin sınıflandırılmasına bakıldığında sınıflandırmanın temeli genellikle çıkış sinyaline dayanır. Çeşitli numunelerdeki türleri ölçmek için pratik bir cihaza olan yüksek ilgi nedeniyle, son yıllarda yeni kimyasal sensörlerin tasarımında ve uygulamalarında güçlü bir rekabet yaşanmıştır. Bu hedefle elektrokimyasal sensörler diğer analitik tekniklere göre birçok avantaja sahiptir. Özellikle karbon nanomalzemeler, camsı karbon elektrotlar, kalem grafit elektrot, karbon macunu elektrodu dahil olmak üzere çeşitli çalışma elektrotları ile bir araya getirilerek; algılama malzemesi olarak kullanılmıştır ve bu tür elektrotlar çeşitli bitkisel kökenli ürünler içindeki fenolik yapılı elektroaktif bileşiklerin voltametrik analizi için başarıyla uygulanmıştır (Väärtnõu ve Lust, 2006; Chao ve Ma, 2014; Tomac ve ark., 2017).

Elektrotların modifikasyonu organik veya inorganik maddelerin elektrodepozisyonu, elektropolimerizasyonu, kaplama veya adsorsiyon yoluyla yüzeyin iletkenliğini arttıracak şekilde geleneksel elektrotların yüzey modifikasyonuyla yapılmaktadır. Bu yüzden elektrokimyasal sensörlerin reaktivitesini, seçiciliğini ve kararlılığını kontrol etmek için algılama malzemesi olarak çeşitli türler veya fonksiyonel gruplar kullanılmıştır (Cervini ve Cavalheiro, 2012; Sinha ve ark., 2018). Kompozit temelli çalışma elektrotları, elektrokimya ve elektroliz çalışmalarında büyük ilgi görmüştür. Karbon nanotüpler, karbon nanotoplar, grafen, karbon fiberler, karbon nanotoplar, karbon nanotüpler, fulleren ve grafit gibi karbon bazlı malzemeler, yüzey algılama malzemeleri olarak büyük avantaj sunar (Cervini ve Cavalheiro, 2012; Sinha ve ark., 2018).

Nanopartiküller, birçok alanda uygulamaları olan mükemmel optik, mekanik, elektrik ve katalitik özelliklere sahip oldukları için birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir. Nanomalzemeler, küçük boyutlarından dolayı pratik amaçlar için mükemmel fırsatlar sunar. Karbon nanofiberler ve karbon nanotoplar küçük malzeme boyutları sayesinde makro ve mikro malzemelere göre üstün mekanik ve kimyasal özelliklere sahiptir. Sonuç olarak, karbon nanotoplar ve karbon nanofiberler kataliz, adsorpsiyon, yapısal takviye malzemesi, sensör ve nanocihaz tasarımı gibi çeşitli alanlarda yaygın bir ilgi oluşturmuştur. Buna göre bu malzemelerin üretimi içinde çok çeşitli üretim yöntemleri oluşturulmuştur. Bunlar arasında, elektrospinning tekniği, nanolif üretmek için düşük maliyetli ve kolay bir yaklaşım olarak kabul görmeye başlamıştır (Peng ve ark., 2016).

Bu tez çalışmasının amacı, kafeik asitin tayini için yeni bir modifiye elektrot geliştirmektir. Bu çalışmada bir camsı karbon elektrot, karbon nanofiber ve karbon nanotoplardan oluşan bir nanokarbon temelli kompozit materyal ile modifiye edilerek voltametrik tekniklerde çalışma elektrodu olarak kullanılmıştır. Önerilen elektrot (CNF-CNB/GCE) kafeik asit içeren numunelerin analizinde analitik çalışma ilkeleriyle uyumlu olarak çeşitli ticari içeceklerin analizine de uygulanmıştır.

.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Elektrokimya, geleneksel elektroanalitik olmayan tekniklere kıyasla gıda numunelerinin analizi için umut verici ve arzu edilen analitik kolaylıklar sağlar. Bu nedenle, nanomalzemelere dayalı elektrokimyasal sensörler, çok çeşitli numunelerin analizinde yüksek hassasiyet ve seçicilik sağlaması nedeniyle büyük ilgi görmüştür (Manikadan ve ark., 2018). Şarap, yeşil çay ve siyah çay, kahve ve çeşitli otlar gibi gıda örneklerinde ve bitkilerde kafeik asit tayini için karbon nanotüpler, indirgenmiş grafen oksit, grafit, metalik nanoparçacıklar, karbon siyahı, polimerler, kitosan ve grafen gibi farklı elektrot malzemelerini kullanarak çeşitli elektrokimyasal sensörler tasarlamışlardır (Filik ve ark., 2013; Karabiberoğlu ve ark., 2013; Gao ve ark., 2018; Baytak ve Aslanoğlu., 2020; Tyszczuk ve ark., 2011).

Tyszczuk ve ark. (2011), pH 4.0'da bir tampon çözeltisi içinde bir Pb-film elektrotu (PEFE) kullanarak bitkilerde kafeik asit miktarını ölçmek için bir voltametrik yöntem önermiştir. Bu çalışmada oksidasyon akım yanıtı analit konsantrasyonla doğru orantılıydı. Çalışmada doğrusal çalışma aralığı 1×10^{-8} - 5×10^{-7} mol/L iken, Saptama sınırı olan LOD değeri kafeik asit için 4×10^{-9} mol/L olarak belirlenmiştir.

Zhang ve ark. (2013), kafeik asit için bir elektrokimyasal sensör olarak grafen nanotabaka (GN) ve altın nanoparçacık (AuNP) kaplı elektrot önermiştir. Sonuçlar, yalın bir GCE ile karşılaştırıldığında daha hızlı bir elektron transfer reaksiyonu göstermiştir. Kafeik asitin akım cevapları, 5×10^{-7} ila 5×10^{-5} M aralığında doğrusallık göstermiştir. Çalışmada kafeik asitin saptama sınırı 5×10-8 M olarak belirlenmiştir.

Karabiberoğlu ve ark. (2013), şarapta kafeik asiti belirlemek için gümüş nanopartiküller-poli(tiyofen) bazlı elektrottan oluşan bir bileşik hazırlamıştır. Çalışmada, kompozit elektrot kafeik asitin elektrokimyasal reaksiyonu için yüksek elektrokatalitik aktivite sergilemiştir. Bu elektrotta kafeik asit için 1.00×10^{-8} - 4.83×10^{-6} M olarak bir lineer çalışma aralığı belirlenmiştir. Çalışmada saptama limiti 5.3×10^{-9} M olarak hesaplanmıştır.

Filik ve ark. (2013), şarap örneklerinde kafeik asitin voltametrik tayini için grafen-nafyon nanokompozit malzemesi ile bir yüzey platformu hazırlamıştır. Bu çalışmada kafeik asitin voltametrik cevabı sinapik asit, kumarik asit, askorbik asit ve ferulik asitten etkilenmemiştir. Nafyon-grafen oksit temelli platform, camsı karbon elektrot yüzeyine damlatma yöntemiyle oluşturulmuştur. Daha sonra, çalışma elektrotu üzerinde döngüsel voltametri ile grafen oksitin indirgenmesi gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal analiz yöntemi, kafeik asitin Nafion/ER-GO/GCE üzerinde adsorpsiyonuna ve ardından sıyırma adımı sırasında CA'nın oksidasyonuna dayanıyordu. Bu yeni elektrot, kafeik asitin (CA) oksidasyonuna karşı mükemmel bir elektrokatalitik cevap göstermiştir. Nafion/ER-GO modifiye camsı karbon elektrotlar (GCE'ler) üzerindeki kafeik asitin elektrokimyası, döngüsel voltammetri ve kare dalga adsorpsiyon sıyırma voltametrisi (SW-AdSV) ile incelenmiştir. Optimize edilmiş test koşullarında, CA için kalibrasyon eğrisi iki lineer çalışma aralığı göstermiştir: birinci lineer çalışma aralığı 0,1 uM ile 1,5 uM iken; ikinci lineer çalışma aralığı 10 uM' ye kadar olarak belirlenmiştir. Saptama limiti SW-AdSV kullanılarak 9.1×10^{-8} mol L^{-1} olarak belirlenmiştir. Son olarak, önerilen yöntem beyaz şarap örneklerinde CA tayininde başarıyla kullanılmıştır.

Gültekin ve ark. (2014), bitki materyallerinde kafeik asitin seçici olarak saptanması için yeni bir kafeik asit baskılı kuvars kristali mikro terazi (QCM) nanosensörü tasarlanmıştır. Metal şelatlayıcı monomer olarak metakrilamido antipirin-demir(III) [MAAP-Fe(III)], seçici moleküler baskılı polimer (MIP) hazırlamak için kullanılmıştır. Kafeik asit tespiti için QCM elektrodu üzerinde MIP filmi geliştirilmiş ve kafeik asit baskılı QCM nanosensörünün seçicilik deneyleri ve analitik performansı incelenmiştir. Bu çalışmada saptama limiti 7.8 nM olarak bulunmuştur. Ayrıca hazırlanan kafeik asit baskılı nanosensörün seçiciliği klorojenik aside göre yüksek bulunmuştur. Yöntem bitki materyallerindeki kafeik asit seviyelerini tayin etmek için kullanılmıştır.

Vilian ve ark. (2014), kafeik asitin voltametrik ölçümü için grafen oksit bazlı bir platform oluşturmuşlardır. Bu elektrot ile kafeik asit için doğrusal çalışma

aralığını 1×10^{-8}-8×10^{-4} M olarak tanımlamışlardır. Bu çalışmada kafeik asitin saptama limiti 2×10^{-9} M olarak hesaplanmıştır.

Spagnol ve ark. (2015), kafeik asit tayini için UV saptamalı bir kromatografik yöntem geliştirmiş ve uygulamıştır. Yöntem kafeik asit tayininde düşük maliyet, hız ve basitlik sağlamıştır. Sonuçlar, geliştirilen HPLC-UV yönteminin seçicilik, doğruluk ve kesinlik sağladığını göstermektedir. David ve ark. (2015), tek kullanımlık bir kalem grafit elektrot üzerinde kafeik asit için voltametrik bir yöntem tanımlamışlardır ve Türk çayı örneklerine uygulamışlardır. Kafeik asitin anodik pik akımının 1×10^{-7} ile 3×10^{-3} M aralığında konsantrasyonla doğrusal olarak arttığını belirterek çalışma aralığı olarak bu sınırları belirtmişlerdir. Saptama limiti LOD $8.83x10^{-8}$ M ve LOQ 2.95x10-7 M olarak belirlenmiştir.

Liu ve ark. (2016a), bir kırmızı şarap örneğinde kafeik asitin hassas tayini için bir Au-PEDOT-grafen oksit kompoziti hazırlamışlardır. Au-PEDOT/rGO modifiye elektrot, büyük elektrokatalitik aktivitenin yanı sıra kafeik asit oksidasyonuna karşı hızlı bir yük transferi gerçekleştirmiştir. Platform, 0.01-46 mM'lik bir doğrusal aralık göstermiştir. Çalışmanın saptama limiti ise 0.004 mM'dir.

Liu ve ark. (2016b), kafeik asit tayininde kullanmak üzere; sulu ortamda bimetalik Pd-Au/PEDOT/grafen modifiye elektrot kullanmışlardır. Pd-Au bazlı elektrot, kafeik asitin oksidasyonuna yönelik elektrokatalitik aktivitede önemli bir rol oynamıştır. Çalışmada, Pd-Au/PEDOT/rGO modifiye elektrotta doğrusal çalışma aralığı 0.001–55 µM ve 0.37 nM'lik bir saptama sınırı hesaplandı.

Velmurgan ve ark. (2017), indirgenmiş grafen oksit film modifiye elektrot kullanarak kafeik asitin tayini için yeni bir elektrot hazırlamışlardır. Geliştirilen yöntem iyi bir seçicilik göstermiştir ve kafeik asit tayini için şarap numunelerine uygulanmıştır. Doğrusal çalışma aralığı 0.2-2100 uM ve saptama limiti ise 0.064 uM olarak hesaplanmıştır.

Titretir-Duran ve ark. (2017), kafeik asit tayini için poliüretan film elektrot kullanarak kararlı bir voltametrik sensör hazırlamışlardır. Akım yanıtı, kafeik asit için 1 ile 15 mM aralığındaki konsantrasyonla doğrusal olarak artmıştır. Çalışmanın saptama sınırı 0.25 mmol/L'dir.

Sousa ve ark. (2004), pH'si 5.6 olan asetat tamponunda portakal suyundaki fenolik antioksidanların belirlenmesi için voltammetrik yöntemler kullanan bir prosedürü tanımlamışlardır. 1×10^{-4} ile 1×10^{-3} mol L^{-1} konsantrasyon aralığında doğrusal bir kalibrasyon grafiği elde etmişlerdir.

Kostic ve ark. (2019), propolis analizi için yeni bir spektroskopik yöntem önermişlerdir. Yöntem, 345 nm'de kafeik asit absorbansının izlenmesine dayanmaktadır. Çalışmada doğrusal çalışma aralığı 1,94-19,4 µg/ml olarak bildirilmiştir. Önerilen spektroskopik yönteme göre kafeik asit için saptama limiti 0,6 µg/ml olarak hesaplanmıştır.

Baytak ve Aslanoğlu (2020), kafeik asitin voltametrik tayini için yeni bir sensör hazırlamışlardır. Çalışma, çok duvarlı karbon nanofiberler (MWCNTs) ve samaryum nanoparçacıklarına (SmNPs) dayanıyordu. Önerilen platform adsorptif ve klasik çözelti fazlı voltametrik yöntemleri karşılaştırmak için kullanılmıştır. Modifiye elektrot (SmNPs/MWCNTs/GCE) kullanılan adsorptif transfer yöntemi, kafeik asiti belirlemek için gıda numunelerine başarıyla uygulanmıştır. Çözelti fazı voltametrisi, elektrotun kafeik asit içeren bir voltametrik hücreye daldırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Pik akımları 5.0×10^{-9} mol L^{-1} ile 8.0×10^{-8} mol L^{-1} konsantrasyon aralığında doğrusallık göstermiştir. Önerilen platformda klasik bir çözelti fazı voltammetrisi kullanılarak kafeik asit için LOD ve LOQ değerleri 2.00×10^{-9} mol L^{-1} ve 6.67×10^{-9} mol L^{-1} olarak hesaplanmıştır. Adsorptif transfer voltammetrisinde elde edilen LOD'nin klasik çözelti fazı voltametrisine göre 10 kat daha düşük olduğu gösterilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Deneylerde voltametrik çalışmalar için Eco-Chemie Autolab PGSTAT 12 markalı bir potansiyostat kullanıldı. Voltametrik çalışmalarda, camsı karbon elektrot çalışma elektrodu olarak, Pt çubuk yardımcı elektrot olarak ve karşılaştırma elektrodu olarak Ag/AgCl referans elektrotu tercih edilmiştir. pH ölçümleri Metrohm 744 pH Metre (Metrohm, İsviçre) ile yapılmıştır. Elektrot modifikasyonunda kullanılan kompozit materyal KUDOS (SK3301OHP) model ultrasonik banyo kullanılarak hazırlanmıştır. Hassas tartım için SHIMADZU (AY-220) model terazi kullanılmıştır. Bütün kimyasal maddeler en muhtemel analitik saflıkta kullanıldı.

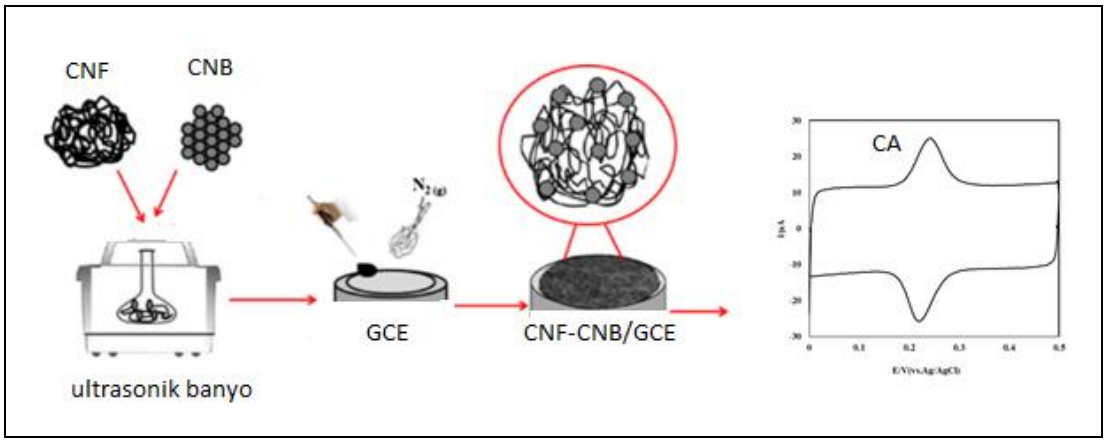
3.2. Yöntem

3.2.1. Elektrotların temizlenmesi

Bir yalın camsı karbon elektrot yüzeyi modifiye edilmeden önce, bir temizleme pedinde sırasıyla 1 mikron ve 0.05 mikron alümina ile bir temizleme ped üzerine hafifçe sürterek mekanik olarak temizlendi. Daha sonra elektrot su ile durulandı ve sırasıyla 1:1 nitrik asit, aseton ve su ile 10 dakika ultrasonik banyoda karıştırıldı. Elektrot mekanik olarak temizlendikten sonra, pH' si 7.0 olan PBS içinde -1.0 V'den +1.0 V'ye dönüşümlü voltametri ile 20 tarama yapılarak aktive edildi.

Elektrodun yüzeyinin modifikasyonunda kullanılacak nano malzemelerden olan karbon nanofiberler (CNF) ve karbon nanotoplar (CNB) katı formda beşer mg olacak şekilde tartıldı ve 25 mL kloroform içerisinde süspanse edildi. Bunun için tartılan maddeler klorofom içine eklenerek 60 dakika boyunca ultrasonik banyoda karıştırıldı. Daha sonra elde edilen homojen süspansiyondan bir mikropipet yardımıyla 5 µL siyah süspansiyon (CNF-CNB) daha önceden temizlenen elektrot üzerinde damlatıldı. Daha sonra, elektrot bir nozul yardımıyla püskürtülen azot gazı (N_2) ile 5 dk'lik bir sürede kurutuldu. Geleneksel camsı karbon elektrot yüzey

modifikasyonundan sonra artık yeni bir elektrot CNF-CNB/GCE olarak adlandırıldı. Şekil 3.1.'de modifiye elektrodun hazırlanışının bir illüstrasyonu gösterilmiştir. CNF-CNB/GCE kullanılmadan önce ultra saf su ile yıkandı. Daha sonra pH 7.0'da 0.1 M PBS'ye daldırılan elektrot 50 mV/s'lik bir tarama hızında -0.1 ila +0.8 V aralığında dönüşümlü voltametri ile 20 dönüşümlü tarama ile aktifleştirildi.

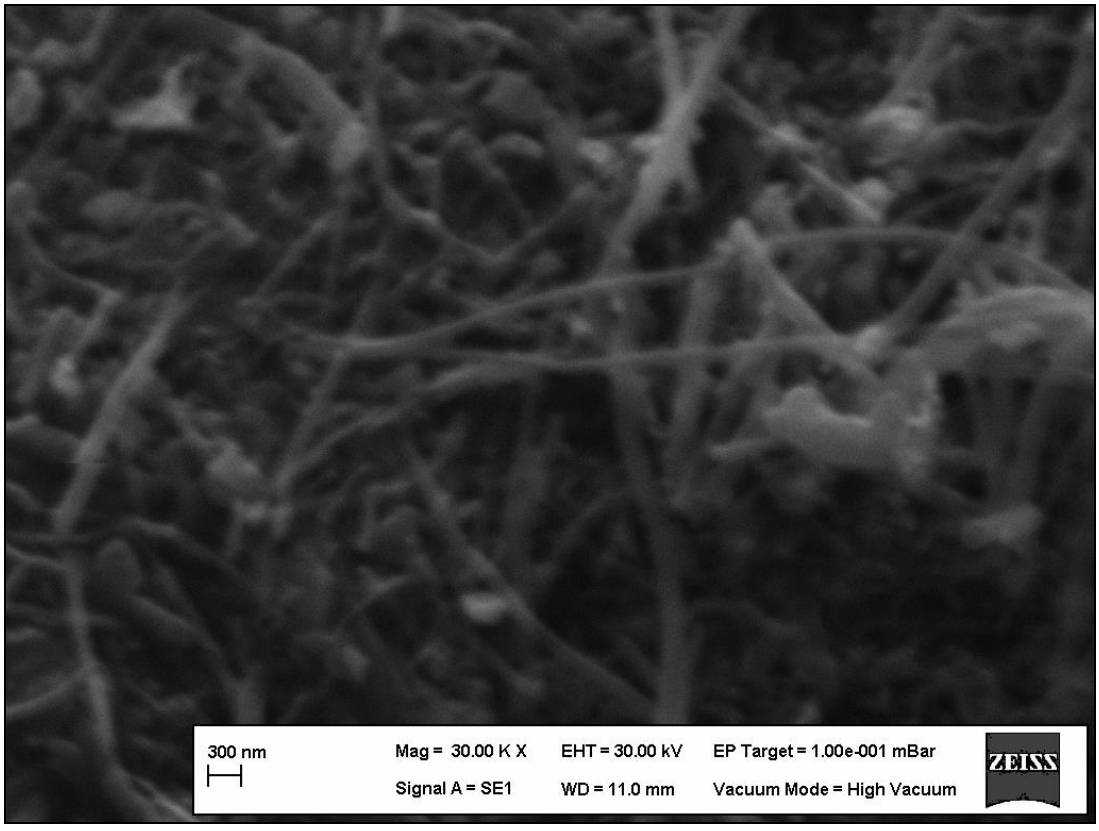


Şekil 3.1. CNF-CNB/GCE elektrodun hazırlanışının illüstrasyonı

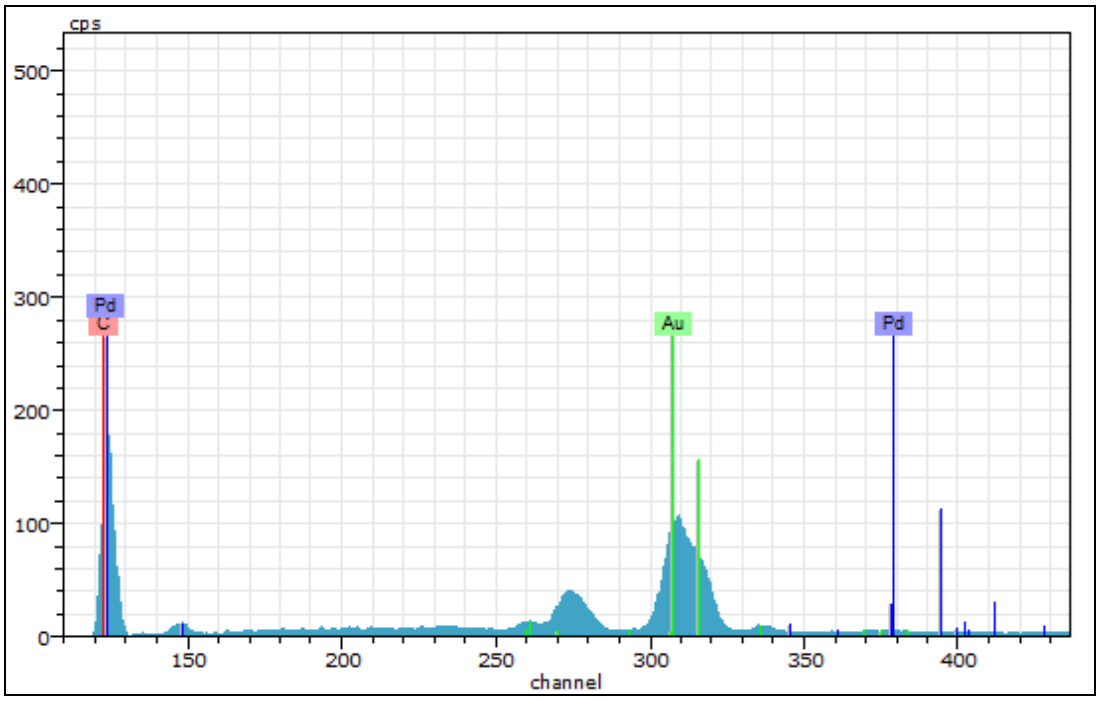
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. CNF-CNB/GC Elektrodun Yüzey Karakterizasyonu

Elektrot yüzeyinin, (CNF-CNB) ile modifikasyonundan sonra yüzeyin morfolojisini incelemek için SEM görüntüleri ve EDX spektrumları alındı. Şekil 4.1.' de yüzeyde karbon fiberler ve karbon nanotopların GCE yüzeyini kapladığı ve yüzey alanının oldukça geniş bir hale geldiği görülmektedir. Yüzeyi kaplayan malzemenin EDX (enerji dağılımlı X ışınları spektroskopisi) spektrumu da Şekil 4.2.'de verilmiştir. Yüzeyde karbon ağırlıklı malzeme olduğu görülürken spektrumda görülen Au ve Pd ise analiz öncesinde rutin olarak yapılan elektrot yüzeyinin iletkenliğini arttırmak için kullanılan Au-Pd kaplamasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.1. CNF-CNB/GCE'nin yüzeyine ait SEM görüntüsü

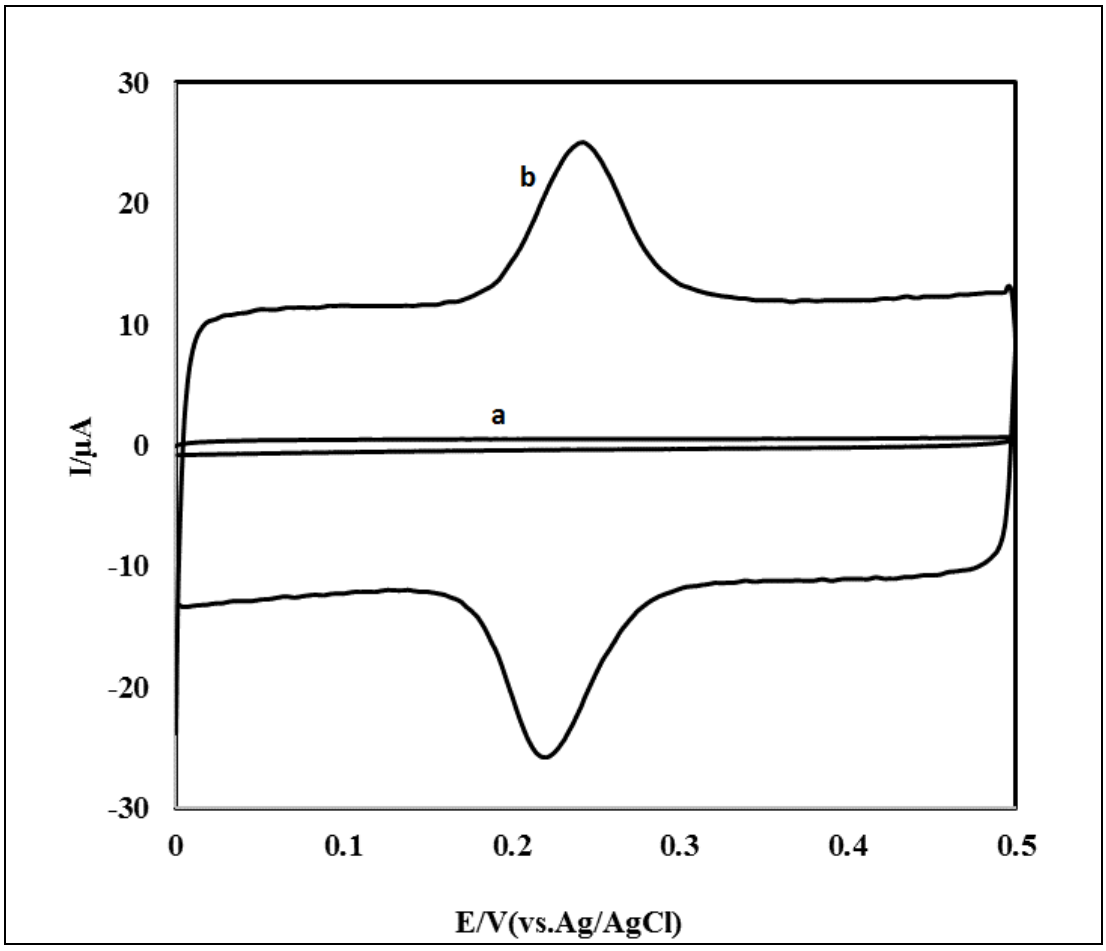


Şekil 4.2. CNF-CNB kompozit malzemesine ait EDX spektrumu

4.2. Kafeik Asitin Elektrokimyasal Davranışı

Kafeik asitin yalın GCE ve CNF-CNB/GCE elektrotlarındaki voltametrik davranışlarını incelemek için 2.0×10^{-6} M kafeik asitin pH 7.0 tampon çözeltisi içerisinde dönüşümlü voltametri ile 50 mV/s'lik tarama hızında alınan dönüşümlü voltamogramları Şekil 4.3.'te verilmiştir. Şekil 4.3.'te a ile simgelenen voltamogram, yalın bir camsı karbon elektrot yüzeyindeki kafeik asitin elektrokimyasal davranışını göstermektedir. Yalın GCE elektrodun çalışma elektrodu olarak kullanıldığı voltamogramda kafeik asitin herhangi bir yükseltgenme ve/veya indirgenme piki vermediği gözlenmiştir. Bu nedenle yalın camsı karbon elektrot çalışılan şartlarda kafeik asitin kalitatif ve kantitatif analizi için yeterince uygun bir çalışma elektrodu değildir. Bununla birlikte, karbon nanofiber ve karbon nanotop (CNB-CNF) ile modifiye edilmiş bir camsı karbon elektrot (CNB-CNF/GCE), çalışma elektrodu olarak kullanıldığında kafeik asit 0.241 V'de iyi tanımlanabilen bir oksidasyon piki verirken döngüsel voltametride indirgenme bölgesi 0.223 V olan bir indirgenme piki vermiştir. Kafeik asitin yükseltgenme ve indirgenme pik potansiyelleri arasındaki fark olan $\Delta Ep=0.018$ V=18 mV olarak hesaplanmıştır. Kafeik asitin yükseltgenme ve indirgenme pik akımları oranına bakıldığında da $Ipa/Ipc\approx1$ olduğu görülmektedir.

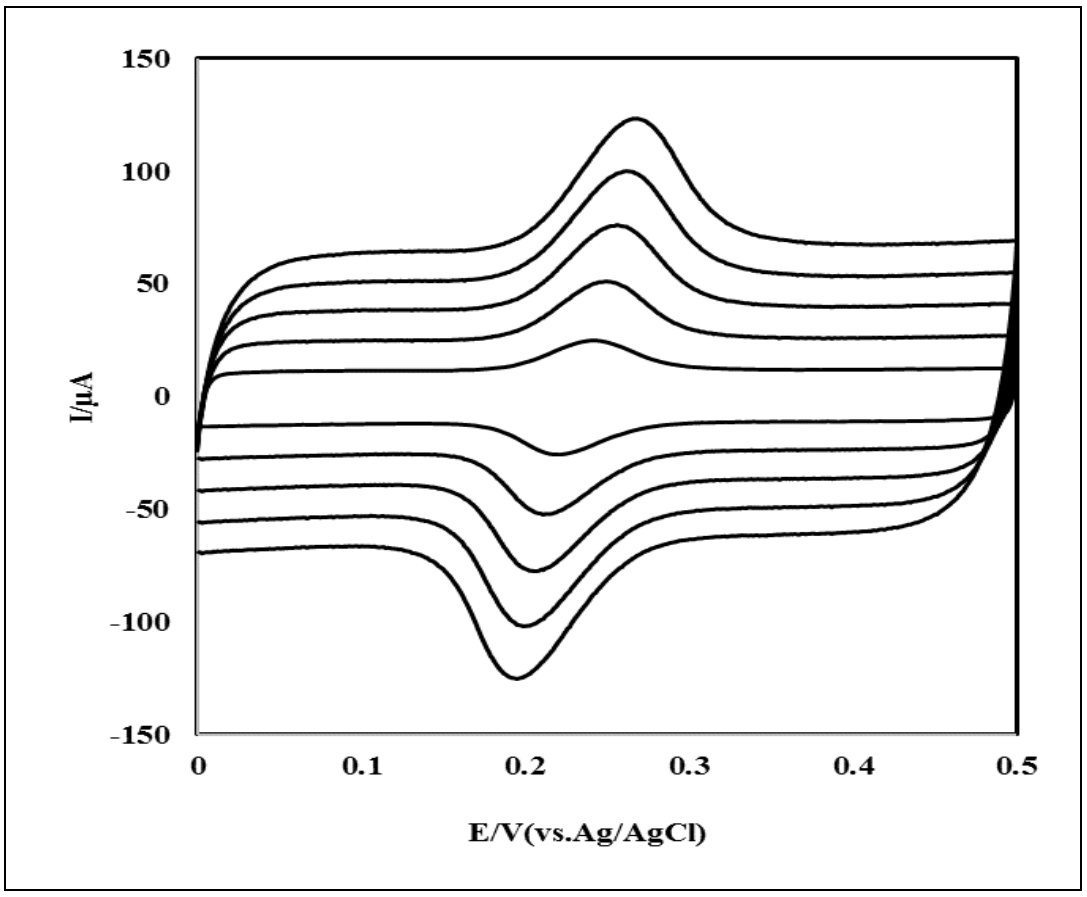
Önerilen elektrot sistemindeki ΔEp'deki bu küçük fark ve Ipa/Ipc≈1 oranı kafeik asitin elektrokimyasal reaksiyonunun oldukça hızlı ve tersinir bir elektrokimyasal reaksiyon olduğunu ispatlamaktadır. Bu da CNF-CNB/GCE'nin kafeik asitin elektrot reaksiyonunu incelemek için daha uygun olduğunu göstermiştir. Kafeik asitin elektrot reaksiyonunun CNF-CNB/GCE'de yalın GCE'ye kıyasla bu kadar iyileşmesinin nedeni modifikasyon materyali olarak karbon nanofiber ve karbon nanotop ile yüzey alanının artmasından ve bu modifiye edici materyalin kafeik asitin elektrokimyasal reaksiyonuna sağladıkları elektrokatalitik etkiden kaynaklanmaktadır (Fathi ve ark., 2020; Teker and Aslanoğlu, 2019; Baytak and Aslanoğlu, 2020).



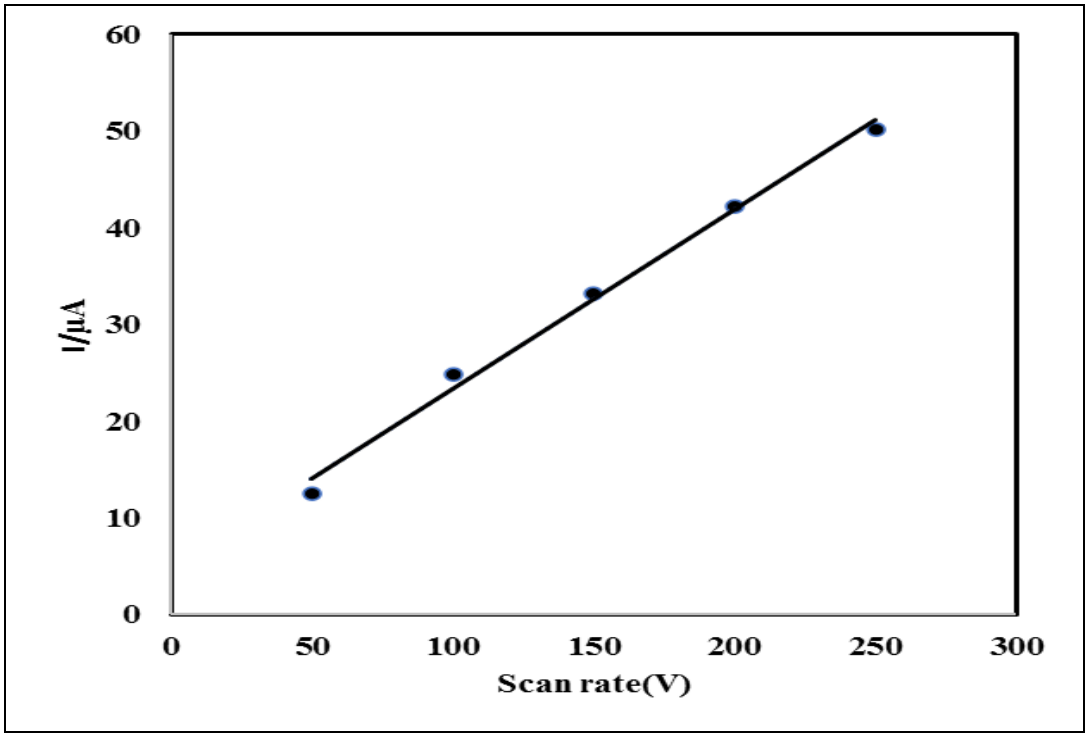
Şekil 4.3. 2.0×10^{-6} M kafeik asitin 0.1 M pH:7.0 fosfat tampon çözeltisi içinde alınan dönüşümlü voltamogramları. a) yalın GCE b) CNB-CNF/GCE Tarama hızı: 50 mV/s

4.3. Tarama Hızının Etkisi

CNF-CNB/GCE yüzeyinde, tarama hızının kafeik asitin elektrokimyasal davranışına etkisi Şekil 4.4.'te verilmiştir. Kafeik asitin elektrot reaksiyonunu açıklayabilmek için pH 7.0 PBS içinde 2.0×10^{-6} M kafeik asitin çeşitli tarama hızlarında 50-250 mV/s arasındaki dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Kafeik asitin tarama hızlarına karşı çizilen anodik pik akımlarının grafiğinin (Şekil 4.5) doğrusallığı kafeik asitin CNF-CNB/GCE'deki elektrokimyasal reaksiyonunun adsorpsiyon kontrollü bir mekanizma üzerinden gerçekleştiğini göstermiştir.



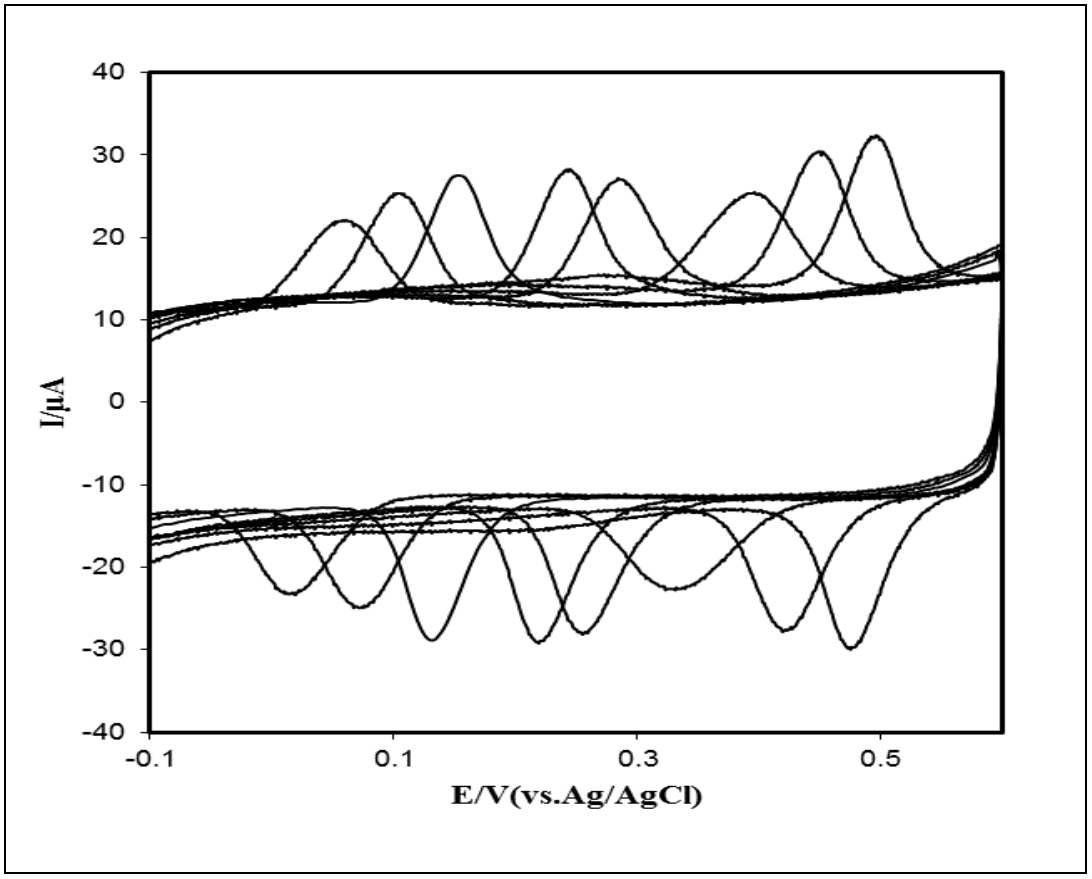
Şekil 4.3. 2.0×10^{-6} M kafeik asitin 0.1 M pH: 7.0 PBS içinde CNF-CNB/GCE'de artan tarama hızlarında alınan dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı 50 mV/s, 100 mV/s, 150 mV/s, 200 mV/s, 250mV/s. Denge süresi: 5 s



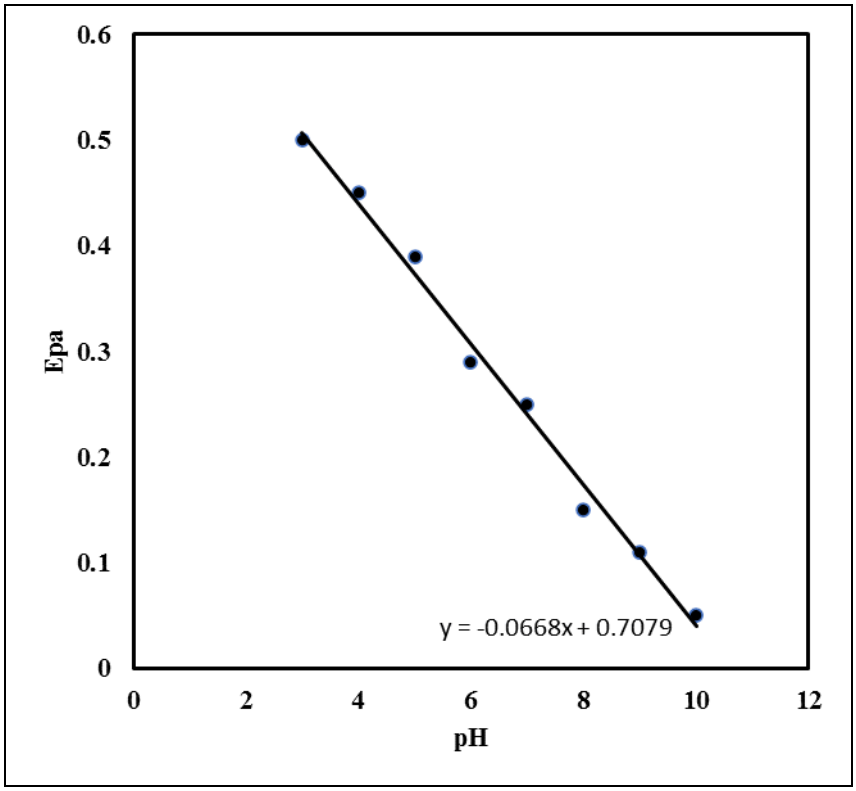
Şekil 4.4. Kafeik asitin tarama hızına karşı anodik pik akımlarının grafiği

4.4. pH etkisi

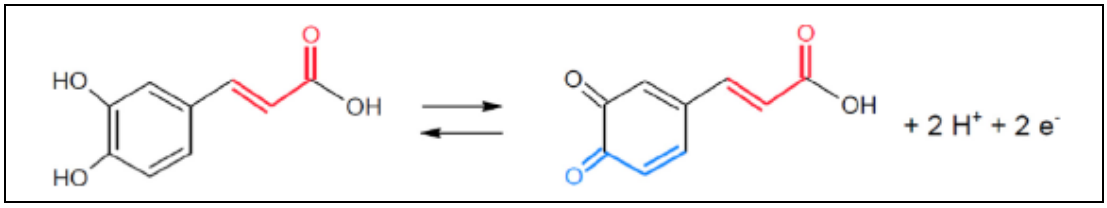
Kafeik asitin yükseltgenme ve indirgenme pik potansiyelleri çözelti pH'sinden etkilenmektedir. Bu amaçla, önerilen elektrotta çeşitli pH'lerdeki fosfat tampon çözeltileri içinde 2.0×10^{-6} M kafeik asitin dönüşümlü voltamogramları Şekil 4.6.'da gösterilmiştir. Kafeik asitin CNF-CNB/GCE'de farklı pH değerlerindeki PBS çözeltileri içindeyken, kafeik asitin pik potansiyellerinin pH artışına bağlı olarak negatif potansiyel değerlerine doğru kaydığı görülmektedir. Bu da kafeik asitin elektrokimyasal reaksiyonunda elektronlarla birlikte proton transferlerinin varlığının sonucudur. pH'ye karşı anodik pik potansiyeli grafiğinin eğimi (Şekil 4.7) 0.066 V= 66 mV' tur. Bu değer 59 mV'ye yakın bir değerdedir. Bu da kafeik asitin elektrokimyasal reaksiyonunda transfer edilen proton sayısı ile elektron sayısının oranının (m/n) 1:1 olduğunu göstermektedir. (Gao ve ark., 2018; Baytak ve ark., 2016). Burada ifade de geçen, m proton sayısını ve n elektron sayısını ifade eder. Kafeik asit CNF-CNB/GCE'deki elektrokimyasal reaksiyonunda 2 elektron ile birlikte 2 protonu da tersinir olarak transfer edebilmektedir. Kafeik asitin CNF-CNB/GCE'deki muhtemel elektrokimyasal reaksiyonu Şekil 4.8.'de verilmiştir.



Şekil 4.5. $2.0x10^{-6}$ M kafeik asitin farklı pH'lardaki 0.1 M PBS içindeki dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s. Denge süresi: 5 s



Şekil 4.6. Çözelti pH'sine karşı kafeik asitin anodik pik potansiyeli grafiği

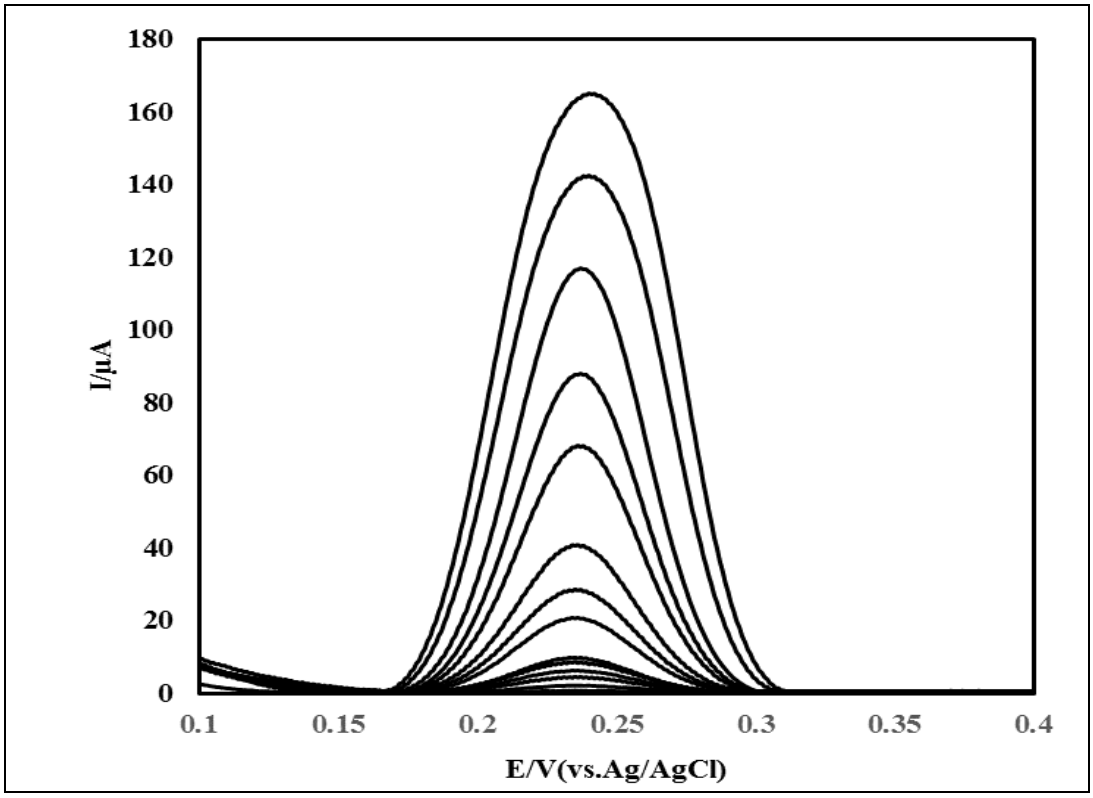


Şekil 4.7. Kafeik asit için elektrot reaksiyonu

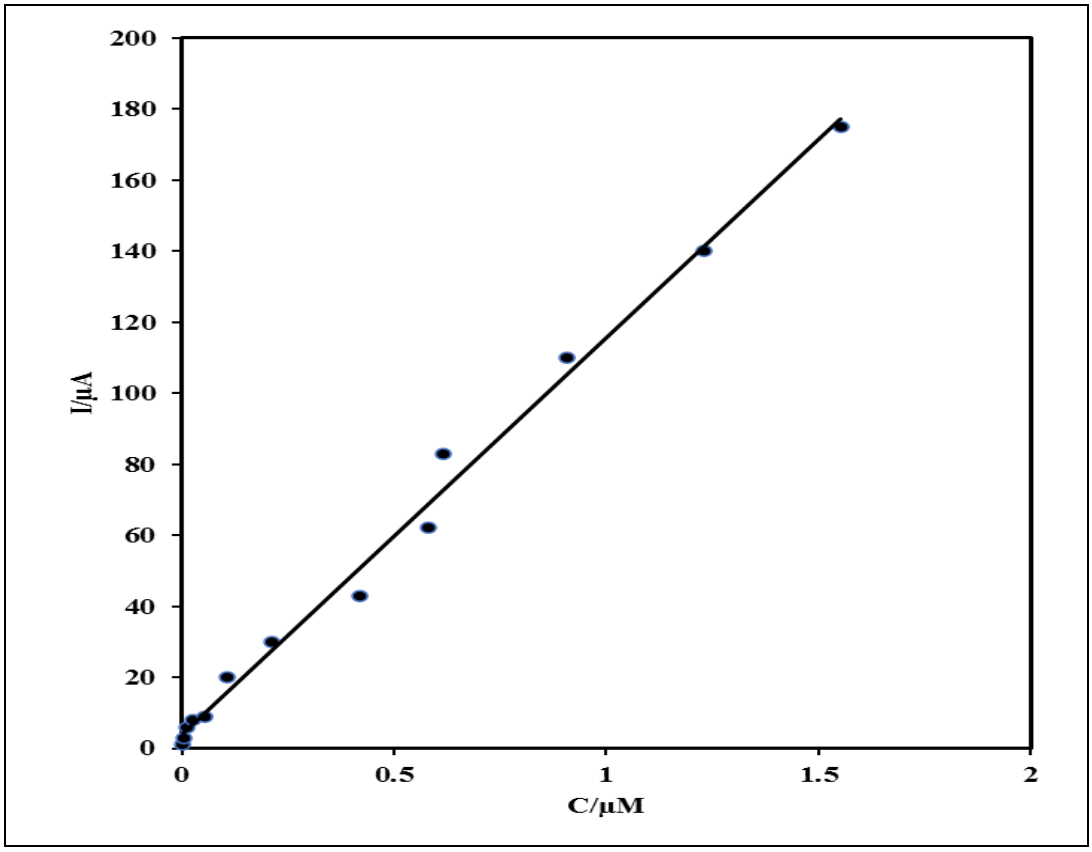
4.5. Kalibrasyon

Kafeik asitin artan konsantrasyonlarına karşılık alınan kare dalga voltamogramları Şekil 4.9.'da gösterilmiştir. Burada kafeik asitin pik akımı, Şekil 4.10.' da gösterildiği gibi kafeik asit konsantrasyonu ile doğru olarak artmaktadır. Bu önerilen yeni CNF-CNB/GC elektrotta pik akımı, 3.3×10^{-9} M-1.5×10^{-6} M aralığında kafeik asit konsantrasyonu ile doğrusallık göstermiştir. Bu aralıklar için hesaplanan lineer denklem; Ip(µA)=112.023C(µM)+3.48 (R^2=0.996) şeklindedir. CNF-CNB/GC elektrotta, kafeik asit için saptama sınırı 6.2×10^{-10} (LOD) (S/N=3) olarak hesaplanmıştır. CNF-CNB/GCE elektrodu literatürde kafeik asit analizi için üretilmiş çeşitli elektrotlar ile kıyaslandığında, çalışma aralığı ve saptama limiti

açısından oldukça iyi analitik sonuçlara sahiptir. Çizelge 4.1.' de çeşitli modifiye elektrotlara ait doğrusal çalışma aralığı ve saptama limiti değerleri sunulmuştur.



Şekil 4.8. 0.1 M pH:7.0 PBS içinde CNF-CNB/GCE' de kafeik asitin arttırılan konsantrasyonlarına ilişkin alınan kare dalga voltamogramları.Tarama hızı: 50mV/s. Denge süresi: 5s. CA konsantrasyonlar: (sırasıyla aşağıdan yukarıya doğru): a) 3.3×10^{-9} M; b) 6.6×10^{-9} M; c) 1.3×10^{-8} M; d) 2.6×10^{-8} M; e) 5.3×10^{-8} M; g) 1.0×10^{-7} M; h) 2.2×10^{-7} M; ı) 4.2×10^{-7} M; k) 5.8×10^{-7} M; l) 6.1×10^{-7} M; m) 9.0×10^{-7} M; n) 1.2×10^{-6} M; p) 1.5×10^{-6} M



Şekil 4.9. CNF-CNB/GCE kullanılarak kafeik asitin artan konsantrasyonlarına karşı pik akımlarının grafiği

Çizelge 4.1. Önerilen elektrotun yayınlanmış elektrotlarla karşılaştırılması

Elektrot	Yöntem	Doğrusal Çalışma aralığı (mol L-1)	Saptama Sınırı	Referans
Ag-poly(thiophene)/GCE	DPV	1.0×10^{-8}-5.5×10^{-7}	$5.3x10^{-9}$	Karabiberogu ve ark., 2013.
Pd-Au-PEDOT-graphene/GCE	DPV	1.0×10^{-9}-4.3×10^{-6}	$3.7x10^{-10}$	Liu ve ark., 2016a.
Pd-film/GCE	SWV	1.0×10^{-8}-5.0×10^{-7}	4.0×10^{-9}	Tyszczuk ve ark., 2011.
g-C_3N_4/chitosan/GCE	DPV	5.5×10^{-6}-$1.6x10^{-4}$	1.9×10^{-6}	Jing ve ark., 2017
SrV_2O_6/GCE	Amperometri	1.0×10^{-8}-2.07×10^{-4}	4.0×10^{-9}	Karthik ve ark., 2017
Au-graphene/GCE	SWV	5.0×10^{-7}-5.0×10^{-5}	5.0×10^{-8}	Zhang ve ark., 2013
CNF-CNB/GCE	SWV	3.3×10^{-9}-1.5×10^{-6}	6.2×10^{-10}	Bu çalışma

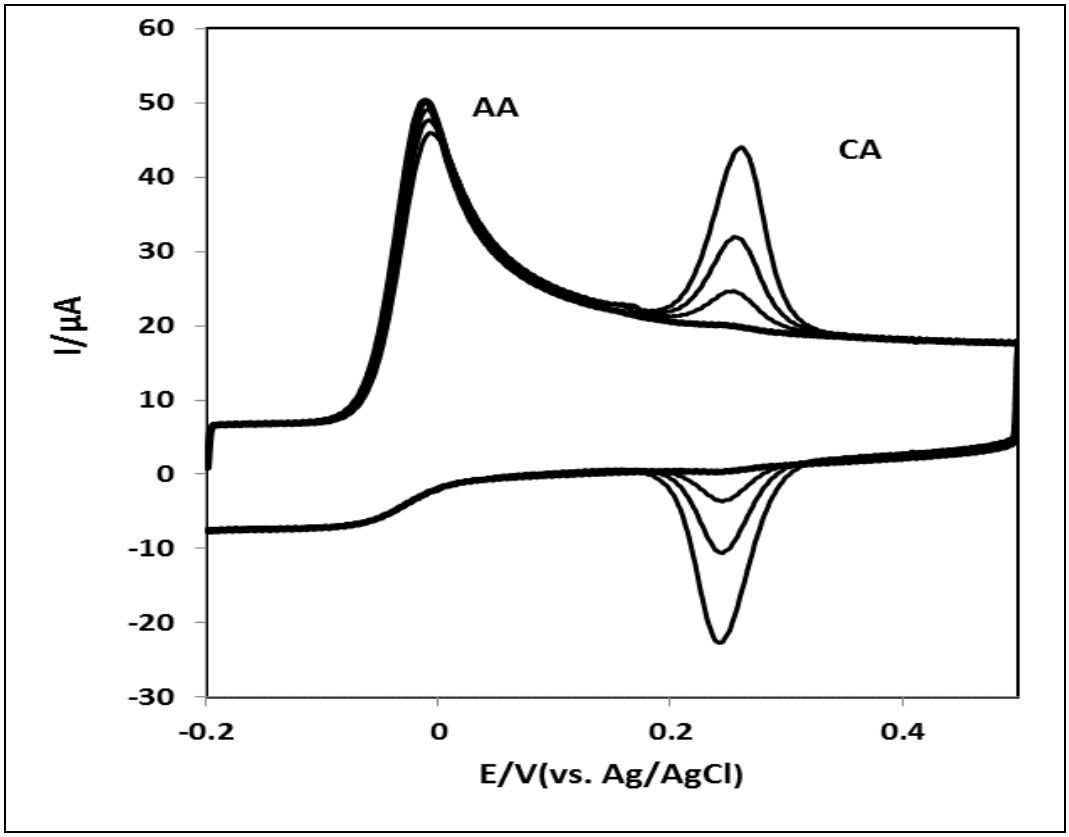
4.6. Kararlılık

Aynı koşullarda modifiye edilerek kullanılan CNF-CNB/GC elektrodun 2.0×10^{-6} M CA için dönüşümlü voltametride 50 mV/s tarama hızı ile alınan 20

dönüşümlü voltamogramın taramalarına ilişkin yüzde bağıl standart sapmanın (B.S.S %)≈1.2 olduğu hesaplanmıştır.

4.7. Seçimlilik

Modifiye elektrotlarda voltametrik algılama, hedef analitin dışında çok çeşitli analitlere karşı da duyarlılık ve seçimlilik gösterebilir. Bunun girişim etkisini anlayabilmek için kafeik asitin kendisine yakın bir potansiyelde yükseltgenme davranışı gösterdiği bilinmek üzere, elektrotta seçimlilik çalışması askorbik asit varlığında çalışılarak aydınlatılmaya çalışılmıştır (Wildgoose ve ark., 2006; Ensafi ve ark., 2009; Filik ve ark., 2013; Baytak ve Aslanoğlu, 2020a; Kachoosangi ve Compton, 2007). pH 7.0'da 0.1 PBS'de CNF-CNB/GCE'de sabit konsantrasyondaki askorbik asit varlığında artan kafeik asit konsantrasyonlarının voltamogramları, Şekil 4.11.'de gösterilmiştir. Görüldüğü üzere burada CA kendisine yakın potansiyelde yükseltgenme reaksiyonu veren askorbik asitten etkilenmemiş, askorbik asitten kesin sınırlarla ayrılmış, keskin iyi tanımlanan oksidasyon ve redüksiyon piklerini artan konsantrasyonlarına karşın düzgünce okunmayı başarmıştır. Buna göre bu yeni elektrodun (CNF-CNB/GCE) kafeik asit tayinine yönelik seçimliliğinin iyi olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.10. 0.1 M pH 7.0 PBS'de CNF-CNB/GCE yüzeyinde sabit askorbik asit (AA) varlığında kafeik asitin arttırılan konsantrasyonlarına ait dönüşümlü voltamogramları. Tarama hızı: 50 mV/s. Denge süresi: 5 s

4.8. Numune Analizi

CNF-CNB/GCE'de üzüm suyu numunelerinde kafeik asit tayini için kare dalga voltametri kullanıldı. Veriler Çizelge 4.2.'de sunulmuştur. Üzüm suyu örneklerindeki kafeik asit miktarı standart katma yöntemi uygulanarak, 13.30 mg/L olarak tespit edilmiştir. Bu analiz için RSD'nin = %1.8 (N=5) olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, CNF-CNB/GC elektrodun kafeik asitin gıda numunelerindeki miktarını belirlemek için kesinliğinin iyi olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.2. Numune analizi

Örnek	Added (µM)	Found (µM)	Recovery%	B.S.S %	Total miktar	B.S. S%
Üzüm suyu	0.050	0.052	100.5	1.1	13.30 mg/L	1.8
	0.400	0.402	100.4	1.5		
	0.600	0.574	98.9	0.9		

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada CNB ve CNF temelli çeşitli karbon nanoparçacıkları ile modifiye edilmiş bir GCE kullanılarak üzüm suyu numunelerinde kafeik asitin hassas ölçümü için yeni bir voltametrik yöntem geliştirilmiştir. Bu yeni yüzey sayesinde kafeik asitin elektrokimyasal davranışında yalın ve tek başına kullanılan karbon nanoparçacıklarla modifiye edilen elektrotlarla kıyaslandığında dikkat çekici bir elektrokatalitik aktivite gözlenmiştir. Önerilen CNF-CNB/GC elektrot, Askorbik asit gibi kafeik aside yakın potansiyellerde yükseltgenme davranışı gösteren elektroaktif maddelerin varlığında dahi kafeik asitin yükseltgenme ve indirgenmesinde iyi bir pik ayrımı sağlamıştır. Sonuçlar, bu elektroaktif maddelerin yüksek konsantrasyondaki varlığında dahi kafeik asit ile etkileşime girmediğini gösterdi. Modifiye elektrot, kare dalga voltametri kullanılarak kafeik asit için kalibrasyon denkleminin belirlenmesi için başarıyla gerçekleştirilmiştir. Pik akımı, kafeik asit konsantrasyonu ile doğrusal olarak arttı. 3.3×10^{-9} M-1.5×10^{-6} M aralığında doğrusal bir çalışma aralığı elde edildi. Saptama limiti, kafeik asit için 6.2×10^{-10} (LOD) (S/N=3) dir. Önerilen elektrot, üzüm suyu örneklerinde kafeik asit tayini için başarıyla uygulabilir.

KAYNAKLAR

AGUILAR-HERNANDEZ, I., AFSET, N.K., LOPEZ-LUKE, T., CONTRERAS-TORRES, F.F., WOLD, J.P. and ORNELAS-SOTO, N. 2017. Surface Enhanced Raman Spectroscopy of Phenolic Antioxidants: A Systematic Evaluation of Ferulic Acid, p-Coumaric Acid, Caffeic Acid And Sinapic Acid. Vibrational Spectroscopy, 89:113-122.

BARD, A. J. and FAULKNER, L. R. 2001. Fundamentals and Applications. Electrochemical Methods, 2:580-632.

BAYTAK, A. K. and ASLANOGLU, M. 2020. A Comparison Study of Adsorptive Transfer Voltammetry and Solution Phase Voltammetry for the Determination of Caffeic Acid. Arabian Journal of Chemistry, 13:5539-5551.

BAYTAK, A. K., TEKER, T., DUZMEN, S. and ASLANOGLU, M., 2016. A Novel Voltammetric Sensor Based on Carbon Nanotubes and Nanoparticles of Antimony Tin Oxide for The Determination of Ractopamine. Materials Science and Engineering: C, 59:368-374.

BIANCHINI, C., CURULLI, A., PASQUALI, M. and ZANE, D. 2014. Determination of Caffeic Acid in Wine Using PEDOT Film Modified Electrode. Food Chemistry, 156:81–86.

BLASCO, A. J., GONZÁLEZ, M. A. C., and ESCARPA, A. 2004. Electrochemical Approach For Discriminating and Measuring Predominant Flavonoids and Phenolic Acids Using Differential Pulse Voltammetry: Towards An Electrochemical İndex of Natural Antioxidants. Analytica Chimica Acta, 511:71-81.

CERVINI, P., and CAVALHEIRO, É. T. G. 2012. Strategies for Preparation of Molecularly Imprinted Polymers Modified Electrodes and Their Application in Electroanalysis: A Review. Analytical Letters, 45:297-313.

CHAO, M., and MA, X. 2014. Voltammetric Determination of Chlorogenic Acid in Pharmaceutical Products Using Poly (aminosulfonic acid) Modified Glassy Carbon Electrode. Journal of Food and Drug Analysis, 22:512-519.

CHEN, T. W., RAJAJI, U., CHEN, S.M., GOVINDASAMY, M., SELVIN, S. S. P., MANAVALAN, S. and ARUMUGAM, R. 2019. Sonochemical Synthesis of Graphene Oxide Sheets Supported Cu_2S Nanodots for High Sensitive Electrochemical Determination of Caffeic Acid in Red Wine and Soft Drinks. Composites Part B: Engineering, 158:419–427.

ENSAFI, A. A., THAEI, M. and KHAYAMIAN, T. 2009. A Differential Pulse Voltammetric Method for Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Dopamine, and Uric Acid Using Poly (3-(5-Chloro-2-Hydroxyphenylazo)-4,5-Dihydroxynaphthalene-2,7-Disulfonic Acid) Film Modified Glassy Carbon Electrode. Journal of Electroanalytical Chemistry, 663:212-220.

FILIK, H., CETINTAS, G., AVAN, A.A., AYDAR, S. and KOC, S.N. Boz, I. 2013. Square-Wave Stripping Voltammetric Determination of Caffeic Acid on Electrochemically Reduced Graphene Oxide-Nafion Composite Film. Talanta, 116:245–250.

GAO, L., YUE, R., XU, J., LIU, Z. and CHAI, J. 2018. Pt-PEDOT/rGO Nanocomposites: One-Pot Preparation and Superior Electrochemical Sensing

Performance for Caffeic Acid in Tea. Journal of Electroanalytical Chemistry, 816:14–20.

GULTEKIN, A., KARANFIL, G., KUS, M., SONMEZOGLU, S and SAY, R. 2014. Preparation of MIP-based QCM Nanosensor for Detection of Caffeic Acid. Talanta, 119:2-533-537.

JING, L., LIN, J., FEI, Q., TANG, H., YANG, X. and SUN, C. 2017. Simultaneous Quantitation of Caffeic Acid and Ferulic Acid Based on Graphite-Like C_3N_4/Chitosan Modified Film. Internatinal Journal of Electrochemical Science, 8504–8515

KARABIBEROĞLU, Ş. U., AYAN, E. M., and DURSUN, Z. 2013. Electroanalysis of Caffeic Acid in Red Wine And Investigation of Thermodynamic Parameters Using an Ag Nanoparticles Modified Poly(Thiophene) Film Glassy Carbon Electrode. Electroanalysis, *2*5:1933-1945.

KARTHIK, R., KUMAR, J.V., CHEN, S.M., KUMAR, P.S., SELVAM, V. and MUTHURAJ, V. 2017. A Selective Electrochemical Sensor for Caffeic Acid and Photocatalyst for Metronidazole Drug Pollutant - A Dual Role by Rod-like SrV_2O_6. Scientific Reports, 7, 7254–7265.

KHAN, A.F., MAALIK, A. and MURTAZA, G. 2016. Inhibitory Mechanism Against Oxidative Stress of Caffeic Acid. Journal of Food and Drug Analysis, 24(4):695-702.

KOSTIC, A. D., MITIC, S., MITIC, M., MARINKOVIC E. P., MISIC, I. R., ARSIC, B. and STOJANOVIC, G. 2019. Polyphenolic Profile and Antioxidant Properties of Bee-Collected Pollen from Sunflower (Helianthus Annuus L.) Plant. Journal of Food Safety and Food Quality, 70:91-124.

LIU, Z., LU, B., GAO, Y., YANG, T., YUE, R., XU, J. and GAO, L. 2016a. Facile One-Pot Preparation of Pd–Au/PEDOT/Graphene Nanocom- Posites and Their High Electrochemical Sensing Performance for Caffeic Acid Detection. RSC Advances, 6(92):89157–89166.

LIU, Z., XU, J., YUE, R., YANG, T. and GAO, L. 2016b. Facile One-Pot Synthesis of Au–PEDOT/RGO Nanocomposite for Highly Sensitive Detection of Caffeic Acidin Red Wine Sample. Electrochimica Acta, 196:1–12.

MACHEINER, L., SCHMIDT, A., SCHREINER, M. and MAYER, H. K. 2019. Green Coffee Infusion As a Source of Caffeine and Chlorogenic Acid. Journal of Food Composition and Analysis, 84:103307.

MANIKANDAN, V. S., ADHIKARI, B. and CHEN, A. 2018. Nanomaterial Based Electrochemical Sensors for The Safety and Quality Control of Food and Beverages. Analyst, 143:4537-4554.

SANLI, S., SANLI, N., OZKAN, S.A. and LUNTE, C. 2016. Development and Validation of a Green Capillary Electrophoretic Method for Determination of Polyphenolic Compounds in Red Wine Samples. Chromatographia, 79(19–20): 1351–1358.

SINHA, A., JAIN, R., ZHAO, H., KAROLIA, P. and JADON, N. 2018. Voltammetric Sensing Based on The Use of Advanced Carbonaceous Nanomaterials: A Review. Microchimica Acta, 185:89-118.

SONAR, V.P., CORONA, A., DISTINTO, S., MACCIONI, E., MELEDDU, R., FOIS, B., FLORIS, C., MALPURE, N.V., ALCARO, S., TRAMONTANO, E. and COTTIGLIA, F. 2017. Natural Product-Inspired Esters and Amides of

Ferulic And Caffeic Acid as Dual Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase. European Journal of Medicinal Chemistry, 130:248–260.

SOUSA, W. R., DA ROCHA, C., CARDOSO, C. L., SILVA, D. H. S. and ZANONI, M. V. B. 2004. Determination of The Relative Contribution of Phenolic Antioxidants in Orange Juice by Voltammetric Methods. Journal of Food Composition and Analysis, 17:619-633.

SPAGNOL, C. M., OLIVERIA, T. S., BORGES ISAAC, V. L., CORREA, M. A. and NUNES SALGADO, H. R. 2015. Validation of Caffeic Acid in Emulsion by UV-Spectrophotometric Method. Physical Chemistry, 5(1):16-22.

SUN, L., LIAO, K. and HANG, C. 2018. Caffeic Acid Phenethyl Ester Synergistically Enhances The Antifungal Activity of Fluconazole Against Resistant Candida Albicans. Phytomedicine, 40:55-58.

TEKER, T. and ASLANOGLU, M., 2019. Sensitive Determination of Terbutaline Using a Platform Based on Nanoparticles of Europium Oxide and Carbon Nanotubes. Electroanalysis, 31:146-152.

THANGAVELU, K., RAJA, N., CHEN, S.M. and LIAO, W.C. 2017. Nanomolar Electrochemical Detection of Caffeic Acid in Fortified Wine Samples Based on Gold/Palladium Nanoparticles Decorated Graphene Flakes. Journal of Colloid and Interface Science, 501:77-85.

TITRETIR DURAN, S., PAŞAHAN, A., AYHAN, N., GÜNGÖR, Ö., CENGIZ, M. A. and KÖYTEPE, S. 2017. Synthesis, characterization of Guar-Containing Polyurethane Films and Their Non-Enzymatic Caffeic Acid Sensor Applications. Polymer-Plastics Technology and Engineering, 56:1741-1751

TOMAC, I., ŠERUGA, M. and BEINROHR, E. 2017. Characterization of Chlorogenic Acids in Coffee by Flow-Through Chronopotentiometry. Food Analytical Methods, 10:3924-3933.

TYSZCZUK, K., SKALSKA-KAMIŃSKA, A. and WOŹNIAK, A. 2011. Voltammetric Method Using A Lead Film Electrode for The Determination of Caffeic Acid in A Plant Material. Food Chemistry, 125:1498-1503.

VÄÄRTNÕU, M. and LUST, E. 2006. Adsorption of Tetraethylammonium ions on Bi(111) Single Crystal Plane From Solutions in Ethanol. Journal of Electroanalytical Chemistry, 587:220-225.

VELMURUGAN, M. 2017. Determination of Caffeic Acid İn Wine Samples Based On The Electrochemical Reduction of Graphene Oxide Modified Screen Printed Carbon Electrode. International Journal of Electrochemical Science, 4173– 4182.

VILIAN, A.T., CHEN, S. M., CHEN, Y. H., ALI, M. A. and AL-HEMAID, F. M. 2014. An Electrocatalytic Oxidation and Voltammetric Method Using a Chemically Reduced Graphene Oxide film for The Determination of Caffeic Acid. Journal of Colloid Interface Science, 423:33–40.

WANG, H., PROVAN, J.G. and HELLIWELL, K. 2004. Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. Food Chemistry, 87(2): 307–311.

WILDGOOSE, G. G., BANKS, C. E., LEVENTIS, H. C. and COMPTON, R. G. 2006. Chemically Modified Carbon Nanotubes for Use in Electroanalysis. Microchimica Acta, 152:187–214.

ZHANG, Y., LIU, Y., H.E, J., PANG, P., GAO, Y. and HU, Q. 2013. Electrochemical behavior of caffeic acid assayed with

goldnanoparticles/graphene nanosheets modified glassy carbon electrode. Electroanalysis, 25(5):1230–1236.