



Empedans Spektroskopisi Analizi için MIP Tabanlı Biyosensör Geliştirilmesi

Development of an MIP Based Biosensor for Impedance Spectroscopic Analysis

Feride Şermin Utku¹, Ozan Enver Özdemir¹, Melahat Sevgül Bakay¹

¹Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Yeditepe University, Istanbul, Türkiye

sermin.utku@yeditepe.edu.tr

ozanenverozdemir@gmail.com

sevgul.bakay@gmail.com

Özetçe- Bu çalışmanın amacı, amino asit gibi düşük ağırlıklı moleküllerin elektrokimyasal analizinde kullanılacak, moleküler baskılama tabanlı empedimetrik biyosensör geliştirmektir. Moleküler baskılama yöntemiyle hazırlanan seçici moleküler tanıma özelliğine sahip, sentetik matrislerinin, tanıma bölgeleri, analitin fonksiyonel gruplarının biçim ve konumlarını tamamlayıcı niteliktedir. Bu çalışmada, grafit kalem ucu, analit olarak TRIS içeren poliakrilamid jelle kaplanarak, çalışma elektrodu olarak hazırlanmıştır. Elektrodun modifikasyonu ve performansı açık hücre potansiyeli, döngüsel voltametri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi kullanılarak izlenmiştir. Elektrodun elektrokimyasal özellikleri değişen konsantrasyonlardaki TRIS ve EDTA ve redoks çifti içeren fosfat tampon çözeltisinde, Ag/AgCl referans elektrodu, platin karşıt elektrod ve grafit kalem ucundan üretilmiş çalışma elektrodundan oluşan elektrokimyasal hücrede incelenmiştir. Sonuçlar, grafit kalem ucu elektrodun TRIS ve EDTA çözeltilerinin derişimindeki farklılığa korelasyon gösterir şekilde I-V ve empedans değerlerinde değişim gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler – EIS, MIP, TRIS, biyokimyasal analiz.

Abstract- The aim of this study is to develop an MIP based impedimetric biosensor to be used in the electrochemical analysis of low weight molecules, such as amino acids. Using the molecular imprinting method, synthetic polymers with specific and selective recognition sites of polymer matrices, complementary to the shapes and sites of the functional groups of the analyte can be prepared. In this study, graphite pencil tip was prepared as the working electrode by coating with TRIS-containing polyacrylamide gel. Electrode modification and performance was observed using open cell potential, cyclic voltammetry, and electrochemical impedance spectroscopy. The electrochemical properties were observed in different concentrations of TRIS and EDTA in phosphate buffer solution containing a redox pair, in an electrochemical cell consisting of a Ag/AgCl reference electrode, a platinum wire as the counter electrode and a pencil graphite tip working electrode. The results indicated that the I-V and impedance values of the chemically modified graphite pencil tip electrodes displayed a change correlating with the change in TRIS and EDTA solution concentrations.

Keywords - EIS, MIP, TRIS, biochemical analysis.

I. GİRİŞ

Biyosensör, analitin tanısında kullanılan, biyolojik komponentle fizikokimyasal dönüştürücüyü birleştiren analitik elemandır. Doku, mikroorganizma, organel, reseptör, enzim, antikor, nükleik asit, molekül vs. şeklindeki biyolojik eleman, sensörün metal, polimer veya cam yüzeyine farklı yöntemlerle, örneğin, farklı yük taşıyan polimer katmanlar, 3-B hidrojel latisler, ya da polimerizasyon sırasında bağlanan moleküllerle, kimyasal/fiziksel olarak bağlanır. Algılayıcı eleman analiti tanıyarak, bir dönüştürücü yardımıyla kantitatif ve/ya kantitatif olarak tespit eder [1-3].

Moleküler Baskılama Teknolojisi (MIT) hem seçiciliği, hem de özgünlüğü olan yapay reseptörler geliştirmekte kullanılan bir yöntemdir. Moleküler Baskılanmış Polimer (MIP) antikorlar ve reseptörler gibi doğal tanıma elemanlarını taklit eden güvenilir moleküler tanıma elemanlarıdır. Biyolojik ve kimyasal molekülleri, amino asitleri ve proteinleri, nükleotidleri, toksinleri, ilaçları ve gıda maddelerini tanımada, ayrıştırma, saflaştırmada da kullanılır. Analitle monomer arasında işlevsel hidrojen bağları, dipole-dipole ve iyonik etkileşimler şeklinde bağ oluştuktan sonra 3-B polimer ağı gelişir. Polimerizasyon sonrasında, analit uzaklaştırılarak, polimerde analitin şeklinde, ebadında ve kimyasal yapısında, özgün tanıma bölgeleri oluşturulur. MIP oda sıcaklığında uzun süre stabilitesini koruyabilir [4-11].

MIP tabanlı algılayıcı ve SPRS ve QCM [4] dönüştürücü kullanan biyosensör örnekleri literatürde bulunmaktadır. Bu çalışmada, MIP tabanlı algılayıcı ve döngüsel voltametri (CV) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) [12] kullanarak, kan plazma analizinde kullanılabilecek grafit kalem ucu elektrod (PGE) geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, PGE poliakrilamid jelle kaplanarak, TRIS moleküllerinin yüzeyde immobilizasyonu yüzeyde TRIS reseptörlerinin oluşturulması amaçlanmıştır. CV ve EIS kullanılarak, MIP-PGE elektrodun yüzeyine ilgili analitin bağlanması



Biyosensörler

3. Gün / 29 Ekim 2016, Cumartesi

sonrasında I-V özelliklerinin değişmesi ve elektrodun empedansının artması beklenmiştir.

II. DENEYSSEL YÖNTEM

A. Kimyasallar ve Malzemeler

Bu çalışmada Merck analitik kalitede kimyasallar kullanılmıştır. (a) On adet grafit kalem elektrodun (PGE) elektriksel işleminde asetik tampon çözeltisi (ABS, 0,1 N asetik asit, 0,1 N sodyum asetat, 20 mM NaCl, pH 4.8) kullanılmıştır. (b) Kontrol grubunu oluşturan elektrodun (PAGE-PGE), %12'lik poliakrilamid jelle kaplanmasında, %30 akrilamid jel, TRIS-Cl/SDS (pH 6.8), %10 APS ve TEMED kullanılmıştır. (c) Hidroksimetilaminometan (TRIS) analizi için kullanılan elektrodun (TRIS-MIP-PGE), %12'lik PAGE içerisinde 10M TRIS olacak şekilde hazırlanmıştır. (d) Elektrokimyasal analizler için 20 mM $K_3[Fe(CN)_6]$ redoks çifti içeren fosfat tampon çözeltisi (Redoks-PBS) (137mM NaCl, 2,7mM KCl, 10mM Na_2HPO_4 , 1,8mM KH_2PO_4 , pH 7.4) kullanılmıştır [13-15].

B. Cihazlar

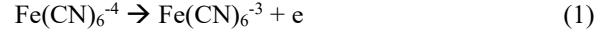
Elektrokimyasal ölçümler, ZMAN EIS data analiz yazılımıyla, ZIVE SP2 Potentiostat/Galvonostat, Referans 600 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Üç elektrodlu hücrede referans elektrodu olarak, doymuş KCl içinde Ag/AgCl, karşıt elektrod olarak, platin tel, çalışma elektrodu olarak da grafit kalem ucu (PGE) kullanılmıştır. Çalışma elektrodunun morfolojik özelliklerinin karakterizasyonu Taramalı Elektron Mikroskopuyla (SEM) (Carl ZEISS EVO40) gerçekleştirilmiştir.

C. Grafit Elektrodun Modifikasyonu

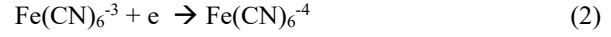
Üç elektrod çeşidi oluşturularak PGE, PAGE-PGE ve TRIS-MIP-PGE olarak adlandırılmıştır. (a) Tüm PGE elektrodun ABS (pH 4.8) içerisinde 60 saniye süreyle +1.4V akım geçirilerek hazırlanmış, SEM ile görüntülenmiştir. (b) PGE'ler daha sonra %12'lik PAGE ile kaplanarak, kontrol grubu (PAGE-PGE) oluşturulmuştur. (c) TRIS analizinde kullanılan elektrodun (TRIS-MIP-PGE) polimerizasyon çözeltisine 0,1 gr TRIS katılmasıyla hazırlanmıştır.

D. Elektrokimyasal Ölçüm Yöntemi

Elektrodun, çözeltide 2,5 cm derinlikte ve karşıt elektrodun 5 cm uzaklıkta yerleştirilerek ölçüm alınmıştır. PGE'lerin açık hücre potansiyelleri (OCP), Redoks-PBS çözeltisinde 10 dakika süreyle tutularak bulunmuştur. Döngüsel voltametri kullanılarak elektrodun I-V eğrileri, OCP'e göre -500 ile +500 mV aralığında, tarama hızı 50 mV/s olacak şekilde 20 mV'lik artışlarla, 20mM $K_3[Fe(CN)_6]$ Redoks-PBS çözeltisi içerisinde elde edilmiştir. $K_3[Fe(CN)_6]$ gibi sıklıkla kullanılan ve elektron transfer kinetiği bilinen redoks çiftiyle $[Fe(CN)_6]^{4-} / [Fe(CN)_6]^{3-}$ CV ve EIS tekniğiyle belirlenmiştir. I-V döngüleri potansiyel önce anodik, sonra katodik yönde artırılarak oluşturulmuştur. Potansiyel pozitif yönde (forward scan) artırılarak $Fe(CN)_6^{4-}$, okside edilmiş, oksidatif akıma ait pik,



ters yöndeki redüktif akımla da redüktif akıma ait pik görülmüştür.



Elektrodun empedans spectrumu Redoks-PBS içerisinde OCP'e göre +10 mV genliğinde potansiyel uygulanarak, 10,000 and 0.001 Hz aralığında elde edilmiştir.

PAGE-PGE ve TRIS-MIP-PGE elektrodun elektriksel karakterizasyonu da yukarıda belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir. TRIS analizinde kullanılan çözeltiler, 0,25 M TRIS ve 0,25 M EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) olarak hazırlanarak, artan analit miktarına bağlı olarak elektrodun verdiği yanıt, CV ve EIS ile tespit edilmiştir.

III. SONUÇLAR

Bu çalışmada PGE elektrodun modifikasyonu TRIS-MIP-PGE elektrodu geliştirilmiş ve elektrokimyasal yöntemlerle TRIS'in yüzeye bağlanarak elektrodun empedansını arttırdığı gösterilmiştir. EDTA kullanılarak yapılan negatif kontrol deneylerinde de yüzeye bağlanmayan kimyasalın empedans değişimine neden olmadan, çözeltinin iletkenliğini artırdığı gösterilmiştir.

ABS çözeltisinde farklı sürelerle +1,4V gerilim uygulaması sonrasında PGE'nin iletkenlik özelliklerinde değişim görülmüştür. 30s.'lik sürenin ilave bir 30s. ile 60s.'ye çıkarılmasıyla, iletkenlikte belirgin azalma elde edilmiş, düşük iletkenlik gösteren elektrodun seçilerek, kullanılmıştır (Şekil 1). Polimerle kaplanmamış elektrodun yüzeyi (Şekil 2a), PAGE-PGE kontrol grubu elektrodunun yüzeyinde oluşan PAGE polimer tabakası (Şekil 2b), TRIS-MIP-PGE elektrodun yüzeyi (Şekil 2c) SEM görüntülemeyle karakterize edilmiştir.

PGE (C1/E1) ve PAGE-PGE (C2/E2) elektrodun Redoks-PBS çözeltisindeki elektrokimyasal özellikleri CV (Şekil 3) ve EIS (Şekil 4) teknikleri kullanılarak belirlenmiştir. PAGE kaplanması sonrasında PAGE-PGE'nin hücre potansiyelinde bir farklılaşma olmasa da, akım genliğinde ve pik potansiyellerinde belirgin miktarda azalma (Şekil 3) ve empedansında da artış (Şekil 4) görülmektedir. Oksidatif ve redüktif pik akımlarında görülen azalmanın, elektrodun yüzeylerinde yük transfer direncindeki değişime bağlı olduğu düşünülebilir [16, 17]. Böylelikle, redoks çiftinin pik akımlarında görülen değişimin incelenmesinde CV, biyosensörün yüzeyinde oluşan değişimin adım adım karakterizasyonu yük transfer direncinin yorumlanmasında da EIS kullanılabilir.

TRIS-MIP-PGE elektrodun döngüsel voltamogramlarında (Şekil 6, C3-C6) hücre potansiyelinde belirgin bir değişim olmasa da, akım genliğindeki azalma ve pik potansiyellerindeki artış, EIS spektrumlarında görülen empedans artışı (Şekil 7, E3-E6), artan TRIS konsantrasyonuna paralellik göstermektedir.

Redoks-PBS çözeltisinde artan EDTA konsantrasyonları (400 µl , 800 µl ve 1000 µl) TRIS-MIP-PGE elektrodun -



500 and +500 mV aralığındaki I-V davranışı üzerinde belirgin bir etki göstermiştir (Şekil 5). TRIS-MIP-PGE elektrodunun farklı EDTA konsantrasyonlarındaki (400 µl, 800 µl ve 1000 µl) EIS spektrumunda konsantrasyondaki artışa bağlı olarak empedans düşmekte, çözelti iletkenliği artmaktadır (Şekil 6). EDTA konsantrasyonundaki artışla birlikte, grafiğin yarıdairesel kısmında çözeltinin empedansının ve yük transfer direncinin azaldığı görülmektedir. EDTA elektroda bağlanmamış, elektrodun empedansını arttırmamış, buna karşın çözeltiye bağlı empedansı azaltarak, iletkenliği arttırmıştır.

IV. TARTIŞMA

Grafit kalem uçları, çalışma elektroduları olarak kullanılmak üzere hazırlanmıştır. İçerdikleri grafit ve polimer miktarlarındaki farklılıklara bağlı olarak grafit kalem uçlarının yapıları ve yüzeyel özellikleri değişkenlik göstermektedir. Bu farklılıklar, fiziksel ve kimyasal özelliklerine de yansımaktadır. ABS çözeltisinde anodizasyon sonucunda karbon yüzeyi oksitlenmekteyse de [18], ancak 60 s. süreyle gerçekleşen oksidasyon sonucunda PGE elektrodun empedansında yeterli artış ve dolayısıyla geçen akım miktarında yeterli düşüş görülmüştür (Şekil 1). Deneylerde bu özelliklere sahip (60-150 uA aralığında akım ileten) elektrodular kullanılmıştır.

TRIS-MIP-PGE elektrodun voltametrik özelliklerinde PGE ve PAGE-PGE elektroda kıyasla anodik ve katodik akımda düşüş görülmesi (Şekil 3) yüzeyde oluşan polimer tabakası nedeniyle redoks çiftine bağlı elektron transfer hızındaki düşüşe bağlı olduğundandır [15]. Buradan hareketle, TRIS-MIP-PGE elektrodunda TRIS konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak düşüş görülmesi beklenmekle birlikte, 800 µl ile 1000 µl TRIS arasındaki anodik ve katodik akımda konsantrasyon değişimine paralel, belirgin bir düşüş görülmemesi, polimer matrisinin artan TRIS miktarına bağlı olarak doygunluğa erişmesi olabilir.

TRIS-MIP-PGE elektrodun empedimetrik özelliklerinde PGE ve PAGE-PGE elektroda kıyasla artış görülmesi (Şekil 4) yüzeyde oluşan polimer tabakası nedeniyle redoks çiftine bağlı elektron transfer hızındaki düşüşe bağlı olduğudur [15]. Buradan hareketle, TRIS-MIP-PGE elektrodunda TRIS konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak empedansta artış görülmesi beklenmekle birlikte, 600, 800 ile 1000 µl TRIS arasındaki konsantrasyon değişimine paralel, belirgin bir empedans artışı görülmemesi, polimer matrisin kompleksinin artan TRIS miktarına bağlı olarak elektrod yüzeyinde moleküler katman oluşması nedeniyle elektrodun kapasitif özelliklerinin ve difüzyon direncinin artması olabilir. Yarıdaireselin çapındaki artış, elektrod yüzeyindeki yük transfer direncindeki artışı göstermektedir [12].

Biyosensörün TRIS'e özgünlüğünü belirlemek amacıyla yapılan CV ve EIS deneylerinin sonuçları (Şekiller 5,6) elektrodun seçilen analite (TRIS) özgün olduğunu göstermiştir. EDTA kullanılarak yapılan deneylerde anodik ve katodik pik akımda konsantrasyona bağlı herhangi bir değişim görülmediği gibi, EDTA iyonlarının TRIS-MIP-PGE yüzeyine bağlanmadığına, empedimetrik

özelliklerinde görülen düşüşün, EDTA'nın eklenmesiyle çözeltinin iletkenliğindeki artışa bağlı olduğuna da işaret edebilir.

Böylelikle, bu çalışmada TRIS'e özgün ve seçici biyosensör prototipi oluşturulabilmiştir. Çalışmalarımız, elektrodun fiziksel ve kimyasal özelliklerinin üzerinde çalışılması, hassasiyetinin ve kalibrasyon eğrilerinin çıkarılması ve eşdeğer devrelerinin çıkarılması şeklinde devam edecektir.

V. ÇIKARIMLAR

Bu çalışmada TRIS moleküllerin elektrokimyasal analizinde kullanılacak, moleküler baskılama tabanlı bir biyosensör geliştirilmiştir. Elektroduların modifikasyonu ve performansı açık hücre potansiyeli, döngüsel voltametri ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi kullanılarak izlenmiştir. Grafit kalem ucu, analit olarak TRIS içeren poliakrilamid jelle kaplanarak, çalışma elektrodu olarak hazırlanmıştır. Elektroduların elektrokimyasal özellikleri değişen konsantrasyonlardaki TRIS ve EDTA ve $K_3[Fe(CN)_6]$ redoks çifti içeren fosfat tampon çözeltisinde, Ag/AgCl referans elektrodu, platin karşıt elektrod ve grafit kalem ucundan üretilmiş çalışma elektrodundan oluşan elektrokimyasal hücrede incelenmiştir. Sonuçlar, grafit kalem ucu elektroduların TRIS ve EDTA çözeltilerinin derişimindeki farklılığa korelasyon gösterir şekilde I-V ve empedans değerlerinde değişim gözlenmiştir.

VI. TEŞEKKÜR

Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi'nin değerli hocaları, Prof. Dr. Ali Ümit Keskin, Prof. Dr. Mustafa Çulha, Yard. Doç. Dr. Levent Urgan ve Yard. Doç. Dr. Erde Can'a teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

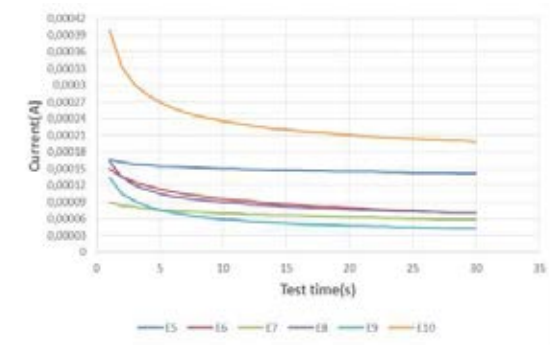
- 1 Turner, A., Karube, I. ve Wilson, G. S., *Biosensors: Fundamentals and Applications*, Oxford University Press, Oxford, 1987.
- 2 Banica, F. G., ed., *Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2012.
- 3 Eggins, B. R. *Chemical Sensors and Biosensors*, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2002.
- 4 Yan, S., Fang, Y. ve Gao, Z. "Quartz crystal microbalance for the determination of daminozide using molecularly imprinted polymers as recognition element", *Biosensors and Bioelectronics*, 22(6):1087-1091, 2007.
- 5 Alexander, C., Andersson, H. S., Andersson, L. I., Ansell, R. J., Kirsch, N., Nicholls, I. A. and Whitcombe, M. J., "Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003", *Journal of Molecular Recognition*, 19(2):106-180, 2006.
- 6 Li, W. ve Li, S., *Oligomers-Polymer Composites-Molecular Imprinting*, Springer, Berlin-Heidelberg, 2006.
- 7 Guan, G., Liu, B., Wang, Z. ve Zhang, Z., "Imprinting of molecular recognition sites on nanostructures and its applications in chemosensors", *Sensors*, 8(12):8291-8320, 2008.
- 8 Ye, L. ve Haupt, K., "Molecularly imprinted polymers as antibody and receptor mimics for assays, sensors and drug discovery", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378(8):1887-1897, 2004.
- 9 Bossi, A., Bonini, F., Turner, A. P. F. ve Piletsky, S. A., "Molecularly imprinted polymers for the recognition of proteins: the state of the art", *Biosensors and Bioelectronics*, 22(6), 1131-1137, 2007.



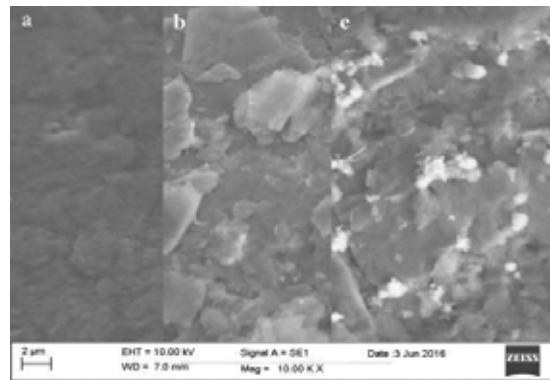
Biyosensörler

3. Gün / 29 Ekim 2016, Cumartesi

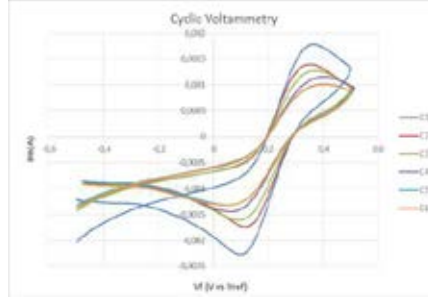
- 10 Caro, E., Masqué, N., Marcé, R. M., Borrull, F., Cormack, P. A. ve Sherrington, D. C., "Non-covalent and semi-covalent molecularly imprinted polymers for selective on-line solid-phase extraction of 4-nitrophenol from water samples", *Journal of Chromatography A*, 963(1):169-178, 2002.
- 11 Vasapollo, G., Sole, R. D., Mergola, L., Lazzoi, M. R., Scardino, A., Scorrano, S. ve Mele, G., "Molecularly imprinted polymers: present and future prospective", *International Journal of Molecular Sciences*, 12(9):5908-5945, 2011.
- 12 Barsoukov, E. ve Macdonald, J. R., *Impedance spectroscopy: theory, experiment, and applications*, 2nd Ed. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2005.
- 13 Özcan, B., Demirbakan, B., Yeşiller, G. ve Sezgintürk, M. K., "Introducing a new method for evaluation of the interaction between an antigen and an antibody: Single frequency impedance analysis for biosensing systems", *Talanta*, 125:7-13, 2014.
- 14 Topkaya, S. N., Özkan-Ariksoysal, D., Kosova, B., Özel, R. ve Özsöz, M., "Electrochemical DNA biosensor for detecting cancer biomarker related to glutathione S-transferase P1 (GSTP1) hypermethylation in real samples", *Biosensors and Bioelectronics*, 31(1):516-522, 2012.
- 15 Asav, E. ve Sezgintürk, M. K., "A novel impedimetric disposable immunosensor for rapid detection of a potential cancer biomarker", *International Journal of Biological Macromolecules*, 66: 273-280, 2014.
- 16 Park, I. S. ve Kim, N., "Thiolated Salmonella antibody immobilization onto the gold surface of piezoelectric quartz crystal", *Biosensors and Bioelectronics*, 13(10):1091-1097, 1998.
- 17 Markovich, I. ve Mandler, D., "The effect of an alkylsilane monolayer on an indium tin oxide surface on the electrochemistry of hexacyanoferrate", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 484(2):194-202, 2000.
- 18 Figueiredo, J. L., Pereira, M. F. R., Freitas, M. M. A. ve Orfao, J. J. M., "Modification of the surface chemistry of activated carbons", *Carbon*, 37(9):1379-1389, 1999.



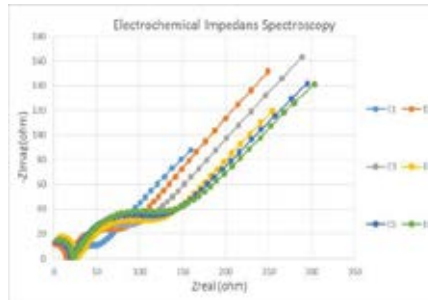
Şekil 1. ABS içerisinde +1,4V gerilim uygulanmış PGE zaman-akım eğrisi



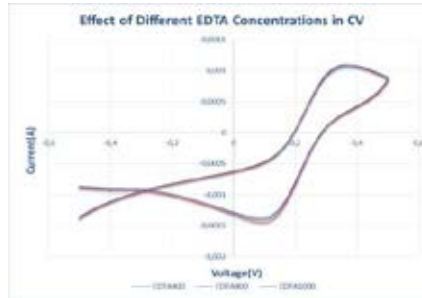
Şekil 2. (a) PGE'un grafit yüzeyinin SEM görüntüsü, 10kX; (b) PAG-PGE elektrodun yüzeyinin SEM görüntüsü, 10kX; (c) TRIS-MIP-PGE elektrodun yüzeyinin SEM görüntüsü, 10kX. Yüzeğe bağlanan TRIS partikülleri belirgin olarak görülmektedir.



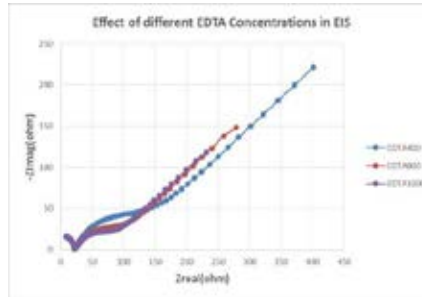
Şekil 3. Modifiye elektrotların Redoks-PBS çözeltisinde elde edilmiş CV grafikleri verilmektedir. C1- PAGE, C2- PAGE-PGE, C3-C6: TRIS-MIP-PGE elektrotlarla yapılan ölçümler; C3: 400 µl TRIS, C4: 600 µl TRIS, C5: 800 µl TRIS, C6: 1000 µl TRIS.



Şekil 4. Modifiye PGE elektrotların Redoks-PBS çözeltisinde elde edilmiş EIS grafikleri verilmektedir. E1: kaplanmamış PGE, E2: PAGE-PGE, E3-E6 TRIS-MIP-PGE elektrotlarla yapılan ölçümler; E3: 400 µl TRIS, E4: 600 µl TRIS, E5: 800 µl TRIS, E6: 1000 µl TRIS.



Şekil 5. TRIS-MIP-PGE elektrotların Redoks-PBS çözeltisinde farklı EDTA çözeltilerinde elde edilen CV grafikleri. EDTA400, EDTA800 ve EDTA1000 sırasıyla 400, 800 ve 1000 µl EDTA içermektedir.



Şekil 6. TRIS-MIP-PGE elektrotların Redoks-PBS çözeltisinde farklı EDTA çözeltilerinde elde edilen EIS grafikleri. EDTA400, EDTA800 ve EDTA1000 sırasıyla 400, 800 ve 1000 µl EDTA içermektedir.