บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมี และวัสดุที่ใช้ในงานวิจัย

1. Chitosan $(C_6H_{11}NO_4)_n$ ที่ 95% DD และ $M_v = 1 \times 10^6$ Dalton (Seafresh Chitosan (Lab) Co., Ltd., Thailand)
2. Alkaline phosphatase (ALP; EC 3.1.3.1, จาก bovine (recombinant in *Pichia pastoris* with ≥4000 units/mg protein, No. P8361, Sigma)
3. Se powder
4. Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB)
5. $Pb(CH_3COO)_2{\cdot}3H_2O$
6. KBH_4
7. Acetic acid (CH_3COOH) (Sigma)
8. Hydrochloric (HCl) (Sigma)
9. Diethanolamine (Sigma)
10. Deionized water (ddH_2O)
11. Disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4) (Sigma)
12. Tripolyphosphate (TPP) (Sigma – Aldrich)
13. Magnesium Chloride ($MgCl_2.6H_2O$) (Sigma)
14. p-Nitrophenyl Phosphate Solution (p-NPP) (Sigma – Aldrich)
15. Sodium acetate (CH_3COONa) (Sigma)
16. Sodium dihydrogen phosphate (NaH_2PO_4) (Sigma)
17. Trizma base (Sigma)
18. 4-Nitrophenyl phosphate disodium salt hexahydrate ($C_6H_4NNa_2O_6P.6H_2O$) (Sigma)
19. 96 micro – wells (Sigma)
20. *P*-DNA : 5'- TCTTTGGGACCACTGTCG -3'

21. target DNA : 5’- CGACAGTGGTCCCAAA GA -3’สังเคราะห์จาก SBS Genetech Co., Ltd. (Beijing, China)

3.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. เครื่องวัดพีเอช ยี่ห้อ Beckman
2. เครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดใหญ่และเล็ก ยี่ห้อ Harrier 18/80 sanyo
3. เครื่องทำลายเซลล์ด้วยเสียง ยี่ห้อ crest
4. เครื่องยูวีสเปกโตโฟโตมิเตอร์และคิวเวตควอทซ์ ยี่ห้อ Hitachi U-1900
5. บีกเกอร์
6. ขวดรูปชมพู่
7. ออโตปิเปตต์
8. หลอดหยดสาร และลูกยาง
9. กระบอกตวง
10. กระดาษวัดพีเอช
11. ช้อนตักสาร
12. ตาชั่งสมดุล
13. พาราฟีนฟิล์ม
14. อ่างควบคุมน้ำเย็น/ร้อน ยี่ห้อ Heto HMT 200
15. ขวดใสเก็บสารเคมี
16. ขวดสีชาเก็บสารเคมี
17. ขวดแก้วเก็บสารเคมี
18. ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่าง
19. แท่งแก้วคนสาร
20. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ยี่ห้อ Hitachi H-7000
21. เครื่องกวนสารและแม่เหล็ก ยี่ห้อ clifton cerastir
22. เครื่องชั่งสารเคมี 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler AE 200
23. เครื่องชั่งสารเคมี 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler TOLEPO PG5002-S
24. ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ memmert
25. Micro tube ขนาด1.5 มิลลิลิตร

26. ขวดปรับปริมาตรขนาด10, 50, 100, และ 500 มิลลิลิตร
27. หลอดปั่นเหวี่ยง
28. เครื่องผสมสาร ยี่ห้อ vortex Genie2
29. หลอดทดลองขนาด 13 x 100 มิลลิเมตร
30. เครื่องวัดแสง Quantum dots

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1. การเตรียมอนุภาคนาโนไคโตซานโดยวิธี ionization gelation (ดัดแปลงจาก Tang, et al. 2007 และ Lee, et al., 2006)

1. นำไคโตซาน 20 มิลลิกรัม มาละลายในสารละลายกรดอะซิติก (Acetic acid) ที่มีความเข้มข้น 2.0%(v/v) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร จากนั้นกวนเพื่อให้ไคโตซานละลายด้วยเครื่องกวนสาร (Magnetic Stirrer) ที่อุณหภูมิห้อง
2. นำสารละลาย Tripolyphosphate (TPP) ความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 มิลลิลิตร หยดลงในสารละลายไคโตซานที่เตรียมได้ในข้อ 1 ด้วยหลอดหยดภายใต้การกวนด้วยเครื่องกวนสารที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที โดยจะเห็นเป็นคอลลอยด์ที่มีลักษณะสีขาวขุ่นเกิดขึ้น
3. นำสารละลายไคโตซานที่ได้ไปทำการ sonicate ที่เวลาต่างๆ (0, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25 นาที) ด้วยเครื่องทำลายเซลล์ด้วยเสียง (Sonicator) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) เพื่อตกตะกอนอนุภาคนาโนไคโตซานที่ความเร็วรอบ 5,000 x g เป็นเวลา 15 นาที
4. เทส่วนใสออกแล้วล้างตะกอนด้วยน้ำปราศจากอิออน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง เพื่อทำการตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 5,000 x g เป็นเวลา 15 นาที และวัดค่าพีเอช
5. ทำซ้ำข้อ 4 จนกระทั่งได้ค่าพีเอชของตะกอนที่ได้ที่เป็นกลาง แล้วเก็บอนุภาคนาโนไคโตซานที่ได้ในน้ำปราศจากอิออน 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
6. นำอนุภาคนาโนไคโตซานที่ได้ต่างๆ ไปตรวจสอบคุณลักษณะด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope) และเครื่อง Nanosizer ต่อไป

7. ในกรณีที่จะนำอนุภาคนาโนไคโตซานไปใช้ต่อไป ให้นำอนุภาคนาโนไคโตซานที่เก็บไว้ไปทำการ resuspension ในน้ำปราศจากอิออน 15 มิลลิลิตร และนำไป sonicate เป็นเวลา 1 นาที

3.3.2. การตรึงเอนไซม์ ALP ลงบนอนุภาคนาโนไคโตซาน

<u>หาสภาวะการตรึงเอนไซม์ที่เหมาะสมลงบนอนุภาคนาโนไคโตซาน</u>

การหาสภาวะ pH ที่เหมาะสม

1. นำอนุภาคนาโนไคโตซานที่เก็บไว้ไป resuspension ในน้ำปราศจากอิออนพร้อมกับ sonicate เป็นเวลา 1 นาที แล้วทำการเจือจางให้เป็น 1:1 ด้วยบัฟเฟอร์ต่างๆ ที่ค่า pH ต่างๆ กัน ได้แก่ อะซิเตตบัฟเฟอร์ (Acetate buffer) ที่ pH 4, 4.5, 5, 6 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) ที่ pH 6, 6.5, 7, 7.5, 8 และทรีสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) ที่ pH 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5,10
2. จากนั้นทำการผสมอนุภาคนาโนไคโตซานที่ได้จาก ข้อ 1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตรกับเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (ALP)** ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงใน Micro tube แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าขึ้น – ลงเป็นเวลา 15 นาที ความเร็ว 55 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง*
3. นำอนุภาคนาโนไคโตซานที่ตรึงกับเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (ALP) (อนุภาคนาโนไคโตซาน – ALP) จากข้อ 2 ไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เกิดการตกตะกอนเป็นเวลา 2 นาที
4. ทำการแยกส่วนตะกอน และส่วนใสที่ได้ จากนั้นนำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตรด้วยเครื่องยูวีสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (UV-spectrophotometer) เพื่อหาปริมาณเอนไซม์ที่เหลือจากการตรึง
5. นำตะกอนที่ได้จากข้อ 4 มาทำการล้างอีกครั้งด้วยการเติมบัฟเฟอร์ที่พีเอชต่างๆ ที่เริ่มต้นใช้ในข้อ 1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปเขย่าให้เข้ากัน
6. นำสารละลายที่ได้จากข้อ 5 ไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เกิดการตกตะกอนเป็นเวลา 2 นาที

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

7. จากนั้นทำการแยกตะกอน และส่วนใส (ซึ่งจะเรียกว่าส่วนใสของตะกอน) อีกครั้ง เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV-spectrophotometer เพื่อหาปริมาณเอนไซม์ที่หลุดจากการตรึงครั้งแรก
8. นำตะกอน ส่วนใส และส่วนใสของตะกอนที่ได้ไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

เมื่อได้สภาวะ pH ที่เหมาะสมแล้ว จากนั้นนำมาหาสภาวะอุณหภูมิ และความเข้มข้นเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อไป ดังรายละเอียดข้างล่างนี้

* *การหาอุณหภูมิที่เหมาะสม* : ทำการศึกษาอุณหภูมิที่ตรึงที่ 20, 25, 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส

** *การหาความเข้มข้นเอนไซม์ที่เหมาะสม* : ทำการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (ALP) ที่ความเข้มข้นที่ 2, 6, 8, 8.5, 9, 11 และ 15 นาโนกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร

แล้วนำอนุภาคนาโนไคโตซานที่ตรึงเอนไซม์แล้วในสภาวะที่เหมาะสมที่สุดไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

3.3.3. การตรึง DNA ลงบนอนุภาคนาโนไคโตซาน-เอนไซม์ (ดัดแปลงจาก Bivas-Benita *et al.*, 2004 และ Xu *et al.*, 2001)

หลังจากได้อนุภาคนาโนไคโตซาน – ALP จากสภาวะการตรึงที่เหมาะสมแล้ว นำอนุภาคดังกล่าวมาตรึงกับ probe DNA ซึ่งในที่นี้ใช้ *dnaK* gene ด้วยวิธีที่ดัดแปลงมาจากรายงานก่อนหน้านี้ (Bivas-Benita *et al.*, 2004 และ Xu *et al.*, 2001) คือ นำอนุภาคนาโนไคโตซาน – ALP มาแช่ใน 1 ml (10:50) ของสารละลาย TE buffer (50 mM Tris/HCl pH 8.0) ที่มี 6.06 μmol/l ของสารละลาย denatured plasmid DNA หรือ ssDNA ซึ่งเตรียมได้โดย นำ native double-stranded DNA หรือ dsDNA มาให้ความร้อนในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปทำให้เย็นอย่างรวดเร็วในอ่างน้ำแข็ง สาย DNA เดิมจะแยกออกจากกันได้เป็น ssDNA จากนั้นทำการกวนสารละลายอนุภาคนาโนไคโตซาน – ALP และ ssDNA เป็นเวลา 120 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25 ±

0.5 °C) ได้อนุภาคนาโนไคโตซาน – ALP – ssDNA หรือ ssDNA/ALP/chitosan จากนั้นทำการล้างอนุภาคที่ได้ด้วย 0.1% SDS phosphate buffer (pH 7.0) จำนวน 3 ครั้ง แล้วนำอนุภาคที่ได้ไปแช่ใน 1 ml ของ TE buffer (10 mM Tris/HCl pH 8.0)

3.3.4. การเตรียม 96 micro – wells สำหรับการตรวจวัด target DNA

Target DNA ที่ใช้ซึ่งมีส่วนหนึ่งของลำดับเบสที่เข้าคู่กันได้กับ probe DNA จะถูกเติมลงใน 96 micro – wells ด้วยวิธีตามที่อธิบายในรายงานของ Christensen *et al.* (2000) ดังรายละเอียดย่อๆ ต่อไปนี้

1. เจือจางสารละลายดีเอ็นเอตั้งต้น (target DNA) (ตามความเข้มข้นต่างๆ) ใน 1-methylimidazole buffer (1-MeIm) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมล ที่เย็น มีค่าพีเอช 7 จากนั้นเติมใน microwell plate ช่องละ 75 ไมโครลิตร
2. เติม 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide (EDC) ความเข้มข้น 40 มิลลิโมล ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ที่ละลายอยู่ใน 1-MeIm ความเข้มข้น 10 มิลลิโมล จากนั้นปิดฝา นำบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง โดยไม่มีการเขย่า
3. ล้างด้วย NaOH ความเข้มข้น 0.4 โมล ที่ผสมกับ Tween 20 ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 3 ครั้ง แล้วแช่เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างอีกครั้ง
4. จากนั้นล้างโดยให้น้ำไหลผ่านด้วย MilliQ water 3 ครั้ง จากนั้นเติมน้ำ MilliQ water แล้ววางทิ้งไว้ 5 นาที แล้วจึงล้างโดยให้น้ำไหลผ่านด้วยน้ำอีก 3 ครั้ง
5. จากนั้นล้างด้วย NaOH ความเข้มข้น 0.2 โมลผสมกับ Tween 20 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร 3 ครั้ง ที่อุณหภูมิห้อง แล้วแช่ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นล้างออกด้วยสารละลาย NaOH 3 ครั้ง
6. ล้างด้วยสารละลายผสมของ Tris/HCl ความเข้มข้น 100 มิลลิโมล ค่าพีเอช 7.5 NaCl ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลและ Tween 20 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร จำนวน 3 ครั้ง ที่อุณหภูมิห้อง แล้วแช่ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วล้างอีก 3 ครั้ง
7. เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในถุงพลาสติกที่ปิดสนิทอย่างน้อย 5 วันก่อนนำไปใช้

3.3.5. การตรวจวัดของ DNA sensor (ต้นแบบ)

Target DNA ที่ผ่านการตรึงใน 96 micro – wells ดังขั้นตอนที่กล่าวมาแล้วนั้น ในการศึกษานี้ได้ออกแบบไว้ที่ความเข้มข้น 1 – 150 ng DNA/ µl จากนั้นเติม 10 µl ของอนุภาคตรวจวัด ssDNA/ALP/chitosan ลงในแต่ละช่องของ 96 micro – wells ปล่อยให้เกิด hybridization เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 0.5 °C) แล้วทำการล้าง อนุภาคตรวจวัด ssDNA/ALP/chitosan หรือ ssDNA / PbSe / Chitosan ที่เหลือด้วย saline sodium citrate buffer (SSC) pH 7.0 และ น้ำกลั่น deionized อย่างละ 3 ครั้ง แล้วเติม 5 µl ของ TE buffer (10 mM Tris/HCl pH 8.0) ลงในแต่ช่องของ 96 micro – wells เพื่อทำการแช่ hybridized DNA ไว้ ก่อนจะทำการตรวจวัดสัญญาณที่ได้ (รายละเอียดอยู่ในขั้นตอนที่ 3.3.6)

จากนั้นทำการหาค่าคุณลักษณะต่างๆ เบื้องต้นของ biosensor ที่ได้ คือ lower detection limit, response time, sensitivity และ stability

3.3.6. การวิเคราะห์ต่างๆ

3.3.6.1. <u>การวิเคราะห์โครงสร้างของอนุภาคนาโนไคโตซาน</u>

โดยหาขนาดของอนุภาคนาโนไคโตซานที่ได้ด้วยเครื่อง Scanning electron microscope, Transmission electron microscope และหาประจุบนผิวอนุภาคนาโนไคโตซานด้วยเครื่อง Nanosizer ที่ห้องปฏิบัติการเครื่องมือวิเคราะห์และทดสอบ ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

3.3.6.2. <u>การวิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์ ALP ที่เหลือจากการตรึง</u> (ดัดแปลงจาก Yu, et al. 2006)

ใช้เครื่อง Visible spectrophotometry ในการหาปริมาณเอนไซม์ ALP ที่เหลือ โดยนำ supernatant ที่ได้หลังจากการ centrifuge แล้วมาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 nm เพื่อหาปริมาณเอนไซม์ที่เหลือจากการตรึงต่อไป

3.3.6.3. การหาค่ากิจกรรมเอนไซม์ ALP (จากวิธีการตรวจวัดของ Sigma)

ค่ากิจกรรมเอนไซม์ ALP ที่เป็นเอนไซม์อิสระหรือที่ตรึงแล้วทำการวัดโดยอาศัยหลักการวัดแบบ Continuous Spectrophotometric rate อาศัย enzyme assay ของบริษัท Sigma โดยใช้ p-Nitrophenyl Phosphate เป็นวัตถุดิบ (ตามสมการข้างล่าง)

$$\text{p-Nitrophenyl Phosphate} + H_2O \xrightarrow{\text{Alkaline Phosphatase}} \text{p-Nitrophenol} + P_i$$

P_i = Inorganic Phosphate

CONDITIONS: T = 37°C, pH = 9.8, A_{405nm}, Light path = 1 cm

โดยทำการตรวจวัดดังนี้

1. ทำการทดลองเป็น 2 ชุดการตรวจวัด (โดยจะต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการตรวจวัด)
   a. ชุด blank : นำ 1.0 M Diethanolamine Buffer ปริมาตร 1.4 มิลลิลิตร มาผสมกับสารละลาย 150 มิลลิโมลาร์ p- Nitrophenyl Phosphate (PNPP) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าให้เข้ากัน
   b. ชุดตัวอย่าง : นำ 1.0 M Diethanolamine Buffer ปริมาตร 1.35 มิลลิลิตร มาผสมกับสารละลาย 150 มิลลิโมลาร์ p-Nitrophenyl Phosphate (PNPP) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าให้เข้ากัน
2. จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นเป็นเวลา 5 นาที ด้วยเครื่อง spectrophotometer
3. แล้วนำชุดตัวอย่าง มาเติมสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (เอนไซม์ ALP*) ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นเป็นเวลา 5 นาที ที่ 405 นาโนเมตร

*หมายเหตุ** : สำหรับชุดควบคุม ให้เตรียมเอนไซม์ ALP ที่มีค่า 0.1 - 0.2 unit/ml of Alkaline Phosphatase ใน 1.0 M Diethanolamine Buffer ที่เย็น และต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการวัด

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

การคำนวณ

$$\text{Units/ml enzyme} = \frac{(\Delta A_{405nm}/\text{min Test} - \Delta A_{405nm}/\text{min Blank})(V)(df)}{(18.5)(v)}$$

เมื่อ V = ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร) ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์

df = Dilution factor

18.5 = Millimolar extinction coefficient ของp-NPP ที่ 405nm

v = ปริมาตร (มิลลิลิตร) ของเอนไซม์ที่ใช้

3.3.7. การเตรียมอนุภาคนาโนเลดเซเลไนด์

1. นำผงเซเลเนียม (Se) 0.2 กรัม ละลายในบีกเกอร์ที่มี Potassium borohydride (KBH_4) 0.1 กรัมละลายอยู่ในน้ำปราศจากอิออนปริมาตร 30 มิลลิลิตร
2. เติม CTAB 0.25 กรัม ลงในสารละลาย KHSe ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ที่เตรียมได้ในข้อที่ 1 พร้อมกวนด้วยเครื่องกวนสาร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
3. ค่อยๆหยดสารละลาย $Pb(CH_3COO)_2{\cdot}3H_2O$ จนครบปริมาตร 10 มิลลิลิตร ภายใต้การกวนด้วยเครื่องกวนสาร เป็นเวลา 30 นาที โดยจะมีปริมาตรรวมเป็น 40 มิลลิลิตร
4. นำสารละลายไปเก็บที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
5. ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วกรองเอาตะกอน โดยล้างด้วยน้ำปราศจากอิออนและเอทธานอลซ้ำหลายครั้ง
6. ทำให้แห้งโดยอบในตู้อบแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

3.3.8. **การเตรียมสารละลาย PbSe/CHIT และตรึงกับ DNA**

1. นำผงแคดเมียมเซเลเนียม (PbSe) ที่ได้ในขั้นตอน 4.6.2 มาละลายในสารละลายไคโตซานที่ได้ในขั้นตอน 4.6.1 โดยใช้อัตราส่วนของ PbSe:CHIT คือ 1:2
2. นำสารผสมไปทำการ sonicate ที่เวลา 5 นาทีด้วยเครื่องทำลายเซลล์ด้วยเสียง (Sonicator) ก่อนนำมาใช้
3. จากนั้นนำไปติดกับ DNA ตามวิธีข้อ 3.3.3

3.3.9. การหาคุณลักษณะของเซนเซอร์ที่ได้

วิเคราะห์คุณสมบัติของเซ็นเซอร์ที่ได้ เช่น response time, สภาวะการวิเคราะห์ที่เหมาะสม, reproducibility, selectivity, sensitivity และ stability