Accurately Small Volume Liquid Transferring

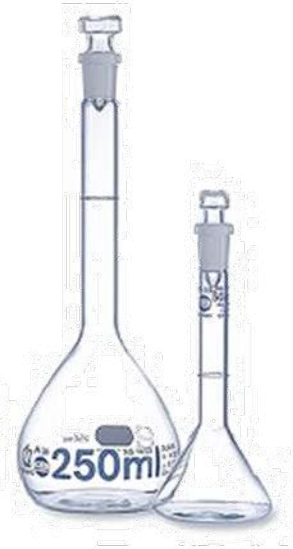


ดุษฎี มั่นความดี

dusmun@gmail.com

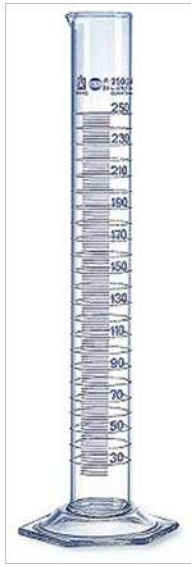
Tel: 063 225 2216

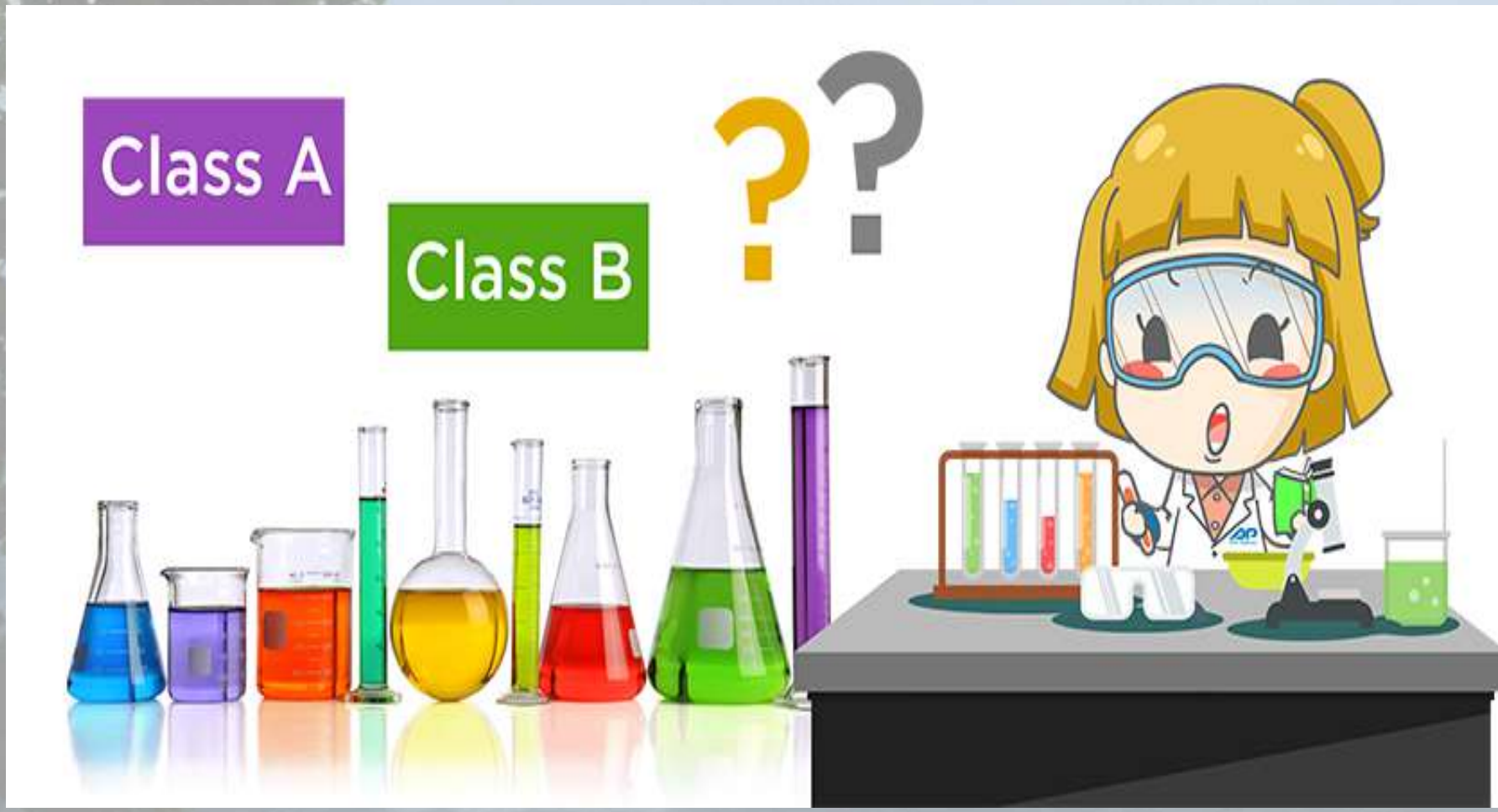
Volumetric glassware










Class A
Class B
??

การกำหนดมาตรฐานเครื่องแก้วปริมาตร

- UKAS: LAB 15
- ASTM :
  - E542-2012 :ASTM standards;Practice for Calibration of Laboratory Volumetric Apparatus
  - E193 Specification for Laboratory Glass Micropipets.
  - E287 Glass Graduated Burets.
  - E288 Glass Volumetric flasks.
  - E694 Glass Volumetric Apparatus.

การกำหนดมาตรฐานเครื่องแก้วปริมาตร

- **ISO**
  - **ISO 385/1-3 Laboratory glassware-Burettes.**
    - **1 General requirements**
    - **2 Burettes for which no waiting time is specified**
    - **3 Burettes for which a waiting time of 30 s is specified**
  - **ISO 648 One-mark pipettes.**
  - **ISO 4788 Graduated Measuring Cylinders.**
  - **ISO 1042 One-mark volumetric flasks.**

การกำหนดมาตรฐานเครื่องแก้วปริมาตร

- ISO 835/1-4 Graduated pipettes
  - 1 General requirements
  - 2 Pipettes for which no waiting time is specified
  - 3 Pipettes for which a waiting time of 15 s is specified
  - 4 Blow-out pipettes

Accurately Small Volume Liquid Transferring in Laboratory

ISO 8655:2022

Piston-operated volumetric apparatus

- ISO 8655-2: Pipettes
- ISO 8655-3: Burettes
- ISO 8655-4: Dilutors
- ISO 8655-5: Dispensers
- ISO 8655-9: Manually operated precision laboratory syringes

ไม่รวมถึง Syringe ที่ใช้การแพทย์

ISO 8655:2022

Piston-operated volumetric apparatus

- ISO 8655-6: Gravimetric reference measurement procedure for the determination of volume
- ISO 8655-7: Alternative measurement procedures for the determination of volume
- ISO 8655-8: Photometric reference measurement procedure for the determination of volume



Auto-burette



Auto-dilutor



Auto-dispenser



Auto-pipette

การดูดจ่ายของเหลวปริมาณน้อยๆอย่างถูกต้อง

- Glass pipette
- Piston pipette/auto pipette/micropipette
- Syringe

เทคนิคการใช้ปิเปตแก้ว









(ระยะที่เหมาะสม ~ 2-3 cm)



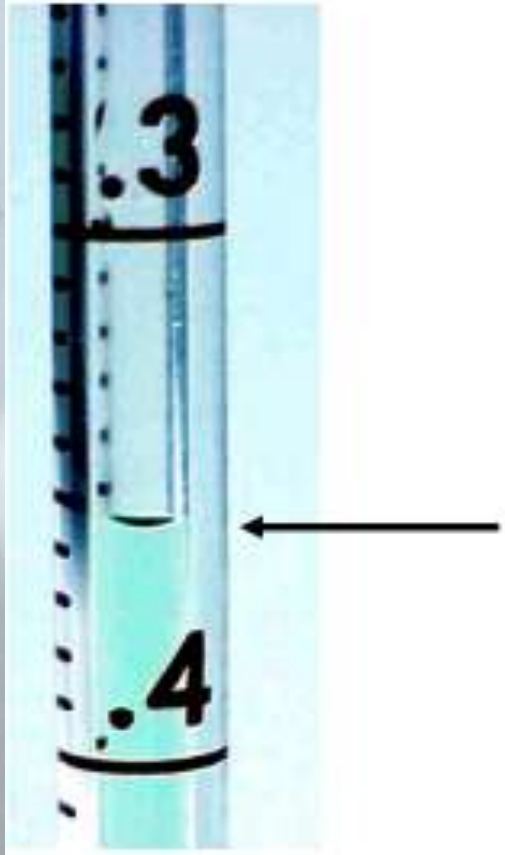


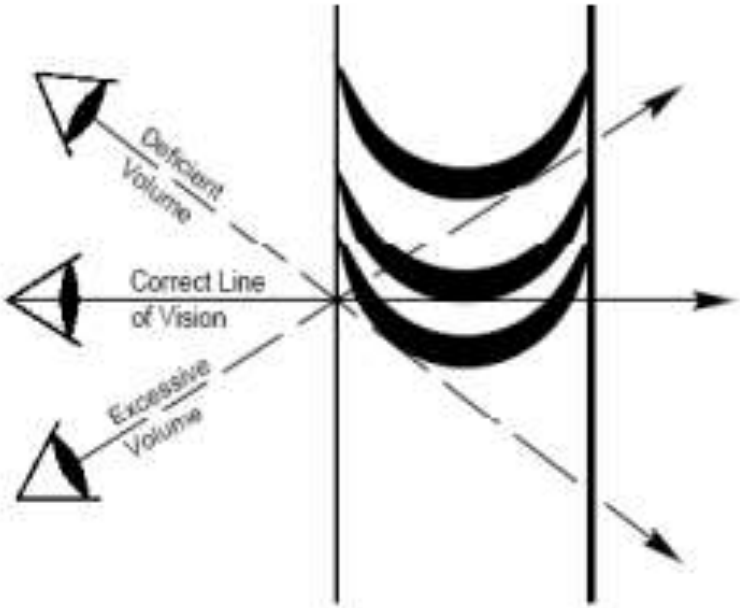




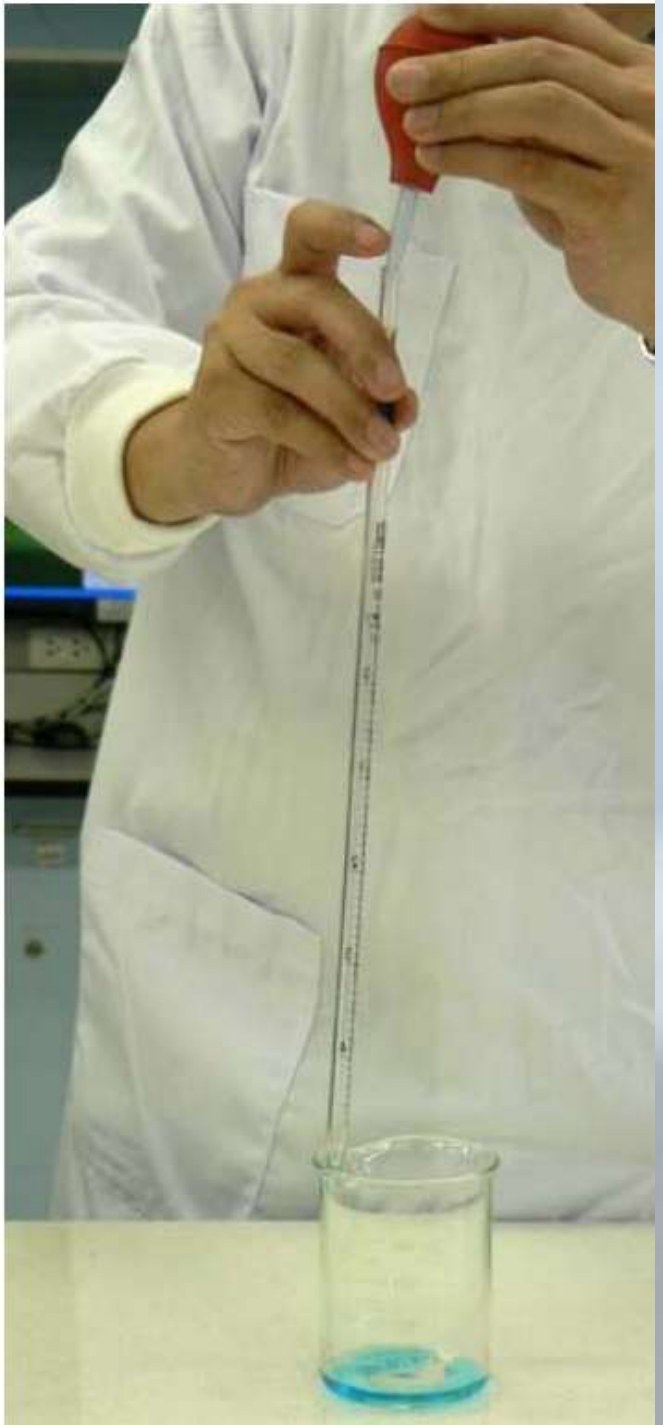





.3
.4


Deficient Volume
Correct Line of Vision
Excessive Volume






1000

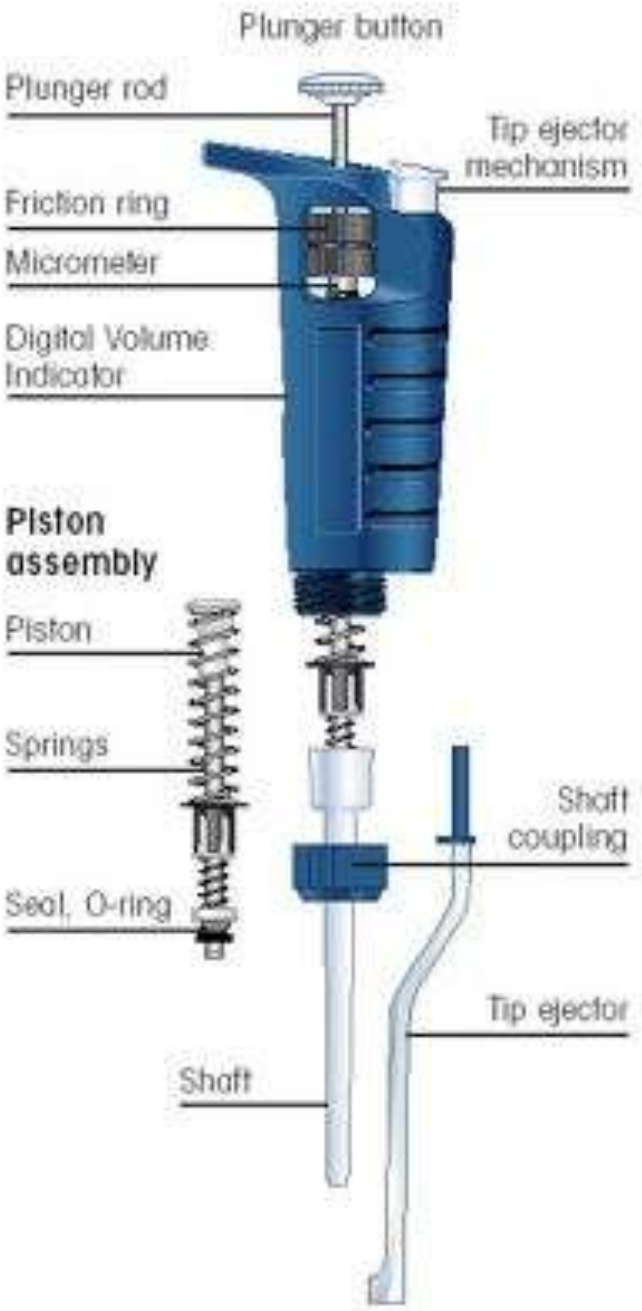


adjustable, single channel precision pipettes

includes eight models that can hold volumes ranging from 0.2 µL to 10 mL

Piston pipette ชนิด Air displacement




Plunger button
Plunger rod
Tip ejector mechanism
Friction ring
Micrometer
Digital Volume Indicator
Piston assembly
Piston
Springs
Seal, O-ring
Shaft coupling
Tip ejector
Shaft



multichannel pipettes

The ISO 8655 series

addresses the needs of:

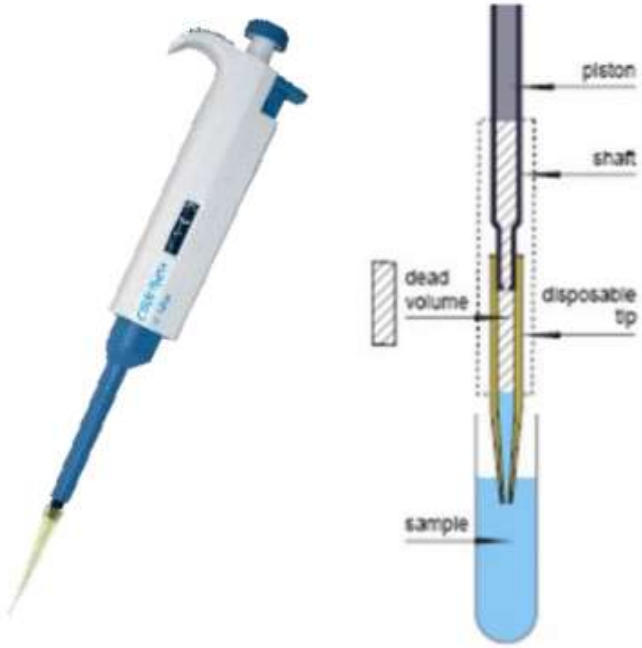
- manufacturers
- calibration laboratories,
- users of the equipment
- other bodies as a basis for independent calibration, testing, verification and routine tests.

- The tests specified in the ISO 8655 series are intended to be carried out by trained personnel.

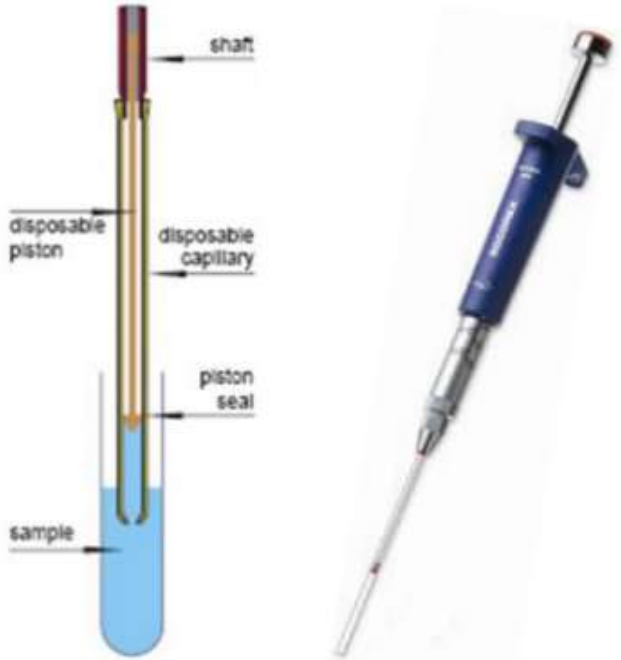
ตัวอย่าง specification

Volume Range	Volume µL	Increment µL	Accuracy %	Accuracy µL (±)	Precision %	Precision µL (±)
0.1 - 2µL	0.2 1.0 2.0	0.002	12 2.7 1.5	0.024 0.027 0.030	6 1.3 0.7	0.012 0.013 0.014
0.5 - 10µL	1 5 10	0.02	2.5 1.5 1	0.025 0.075 0.1	1.2 0.6 0.4	0.012 0.03 0.04
2 - 20µL	2 5 10 20	0.02	7.5 3 1.5 1	0.15 0.15 0.15 0.2	2 0.9 0.5 0.3	0.04 0.045 0.05 0.06
10 - 100µL	10 50 100	0.2	3.5 0.8 0.8	0.35 0.4 0.8	1 0.24 0.15	0.1 0.12 0.15
20 - 200µL	20 100 200	0.2	2.5 0.8 0.8	0.5 0.8 1.6	1 0.25 0.15	0.2 0.25 0.3
100 - 1000µL	100 500 1000	2	3 0.8 0.8	3 4 8	0.6 0.2 0.15	0.6 1 1.5
500 - 5000µL	500 2500 5000	2	2.4 0.6 0.6	12 15 30	0.6 0.2 0.16	3 5 8
1 - 10mL	1mL 5mL 10mL	20	5 1 0.6	50 50 60	0.6 0.2 0.16	6 10 16

หลักการทำงานของ
autopipette/micropipette/piston pipette



Air-displacement pipette



Positive-displacement pipette

Tip ของ Piston pipette แต่ละชนิด

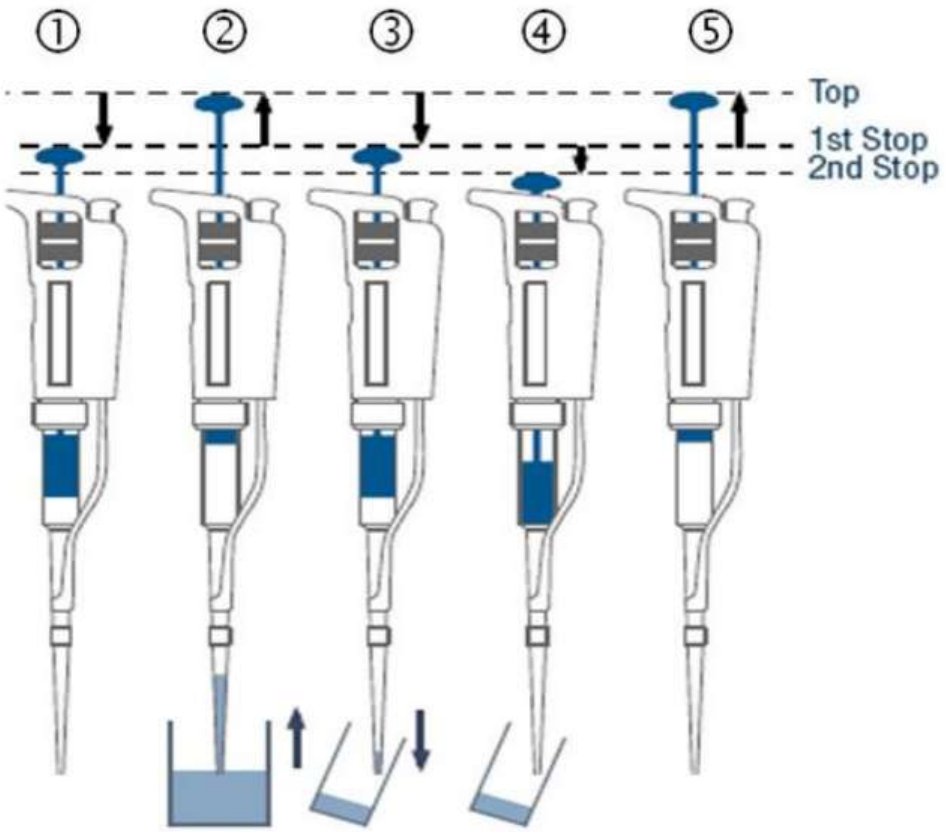


Air-displacement



Positive-displacement

เทคนิคการใช้Piston pipette ที่ถูกต้อง



เทคนิคการปิเปตขั้นพื้นฐานซึ่งอาจส่งผลต่อความแม่นยำ

- ห้ามปรับปริมาตรเกินขีดต่ำสุดและสูงสุด
- ช่วงปริมาตรที่เหมาะสม : 35%-100% (>10%)
- ขณะดูดของเหลวควรให้ piston pipette ตั้งฉากกับพื้น
- หมุนปรับลงเพื่อตั้งค่าปริมาตร
- ดูดช้าๆ รอเวลา
- Pre-rinse tip
- ห้ามจุ่มปิเปตในสารละลายโดยไม่มีปิเปตทิป
- จุ่มปลาย tip ด้วยความลึกที่เหมาะสม

ปริมาตร (µl)	ความลึก (mm)
0.1-10	1-2
10-200	2-3
200-2000	3-6
มากกว่า 2000	6-10

เทคนิคการปล่อยของเหลวจาก tip







ข้อควรระวังในการใช้ Piston pipette

- ถ้ามีฟองอากาศ ให้ดูดใหม่
- ปล่อยปุ่มกด อย่างรวดเร็วอาจทำให้น้ำยาถูกดูดเข้าสู่ตัว Piston ทำให้เกิดความเสียหายและเกิดการปนเปื้อนได้
- ไม่ควรปรับปริมาตรเกินขีดต่ำสุดและสูงสุดของช่วงที่กำหนด

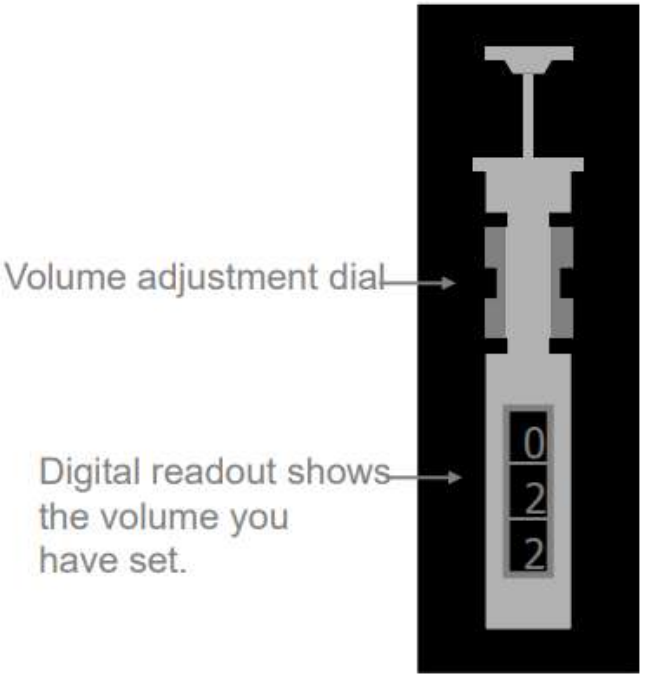
เคล็ดลับง่ายๆ ในการรักษาปิเปตให้ปราศจากการปนเปื้อน

- ตรวจสอบลูกสูบ: หารอยบากหรือการกัดกร่อน
- ทำความสะอาดโดยใช้สำลีโฟมก้านยาว: ชุบด้วยสารทำความสะอาด
- ตรวจดูด้านในก้านปิเปต: หาสิ่งกีดขวาง

เทคนิคการใช้ปิเปตอัตโนมัติ

1. เลือกขนาดปิเปตให้ตรงกับปริมาตรที่ต้องการวัด ตัวเลขบนปิเปตมีหน่วยเป็น microliter μL





2. ปรับปริมาตรที่ต้องการโดยหมุนที่ปุ่มปรับปริมาตรบนตัว automatic pipette

ตัวอย่าง วิธีการอ่านค่าปริมาตรจากปิเปต



หลัก
พัน
ร้อย
สิบ

ปริมาตร 262 µl



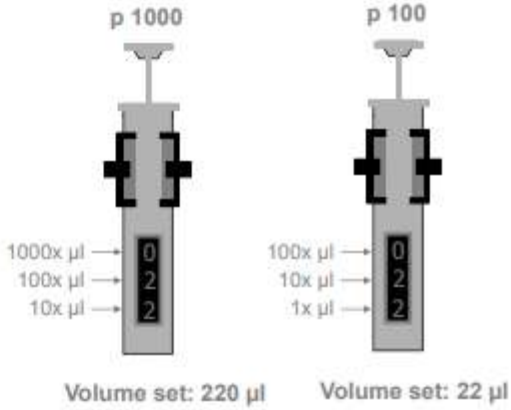
Automatic pipette
ขนาด 200 - 1000 µl

3. เลือก pipette tip ให้ตรงขนาดของปีเปต โดยสวมเข้ากับปลายของ automatic pipette (อย่าให้หลวมหรือแน่นจนเกินไป)





Tip สำหรับ automatic pipette ขนาด 20 - 100 µl (สีเหลือง)
ขนาด 200 - 1000 µl (สีฟ้า)



Volume set: 220 µl Volume set: 22 µl

4. กด plunger จนรู้สึกถึงแรงต้านระดับที่หนึ่ง



1

จังหวะที่ 1 กด plunger เพื่อทำให้เกิดภาวะสูญญากาศในปีเปต*

* เมื่อกด plunger จะมีระดับที่กดอยู่สองระดับ (สามารถรู้สึกได้จากการต้านทานต่อการกด ซึ่งนักศึกษาจะได้ฝึกหัดในชม. กลุ่มย่อย) การกดเพื่อดูดสารละลายให้กด plunger ลงไปถึงระดับแรก แล้วปล่อย plunger ออก



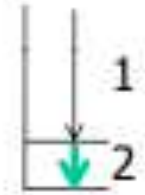


2

(กด plunger ค้างไว้) จับ pipetman ตั้งฉากกับพื้น จุ่มปลาย tip ในสาร ให้ปลายอยู่อยู่ต่ำกว่าระดับผิวเพียงเล็กน้อย

ค่อยๆปล่อย plunger ถอยกลับคืนสู่ตำแหน่งเดิม
จุ่มปลาย tip ค้างไว้ประมาณ 3 วินาที (เวลานี้ขึ้นอยู่กับความหนืดของสาร)
เพื่อให้สารไหลเข้า tip จนครบตามปริมาตรที่ตั้งไว้

วิธีการปล่อยน้ำยา







จังหวะที่ 1 แตะปลาย tip กับภาชนะรับ แล้วกด plunger ไปจนถึงระดับที่ 1 จะทำให้น้ำยาจาก pipette tip ไหลลงสู่ภาชนะรับ

จังหวะที่ 2 รอเป็นเวลา 1-2 วินาที ก่อนที่จะกด plunger ลงไปจนสุด (ระดับที่ 2) ซึ่งจะเป็นการไล่น้ำยาที่เหลืออยู่ใน pipette tip ลงสู่ภาชนะรับจนหมด (คล้ายกับปีเปตชนิดแตะเป่า)



5. หลังจากปล่อยน้ำยาแล้ว ค่อยๆปล่อย plunger อย่างช้าๆ จนสุด



กด plunger ค้างไว้ พร้อมดึง pipetman ออกจากภาชนะ แล้วค่อยๆ ปล่อย plunger ให้คืนสู่ตำแหน่งเดิม

ปลด tip ออกจาก pipetman ลงสู่ภาชนะรองรับ ด้วยการ กดปุ่ม ejector



การสอบเทียบปิเปตแก้ว : หลักการ

- หาปริมาตรโดยวิธีชั่งน้ำหนักของน้ำบริสุทธิ์ที่ใช้แทนที่ปริมาตรของปิเปตแก้ว ที่อุณหภูมิอ้างอิง

$$V = M/D$$

V = ปริมาตร (ml)

M = น้ำหนัก (g)

D = ความหนาแน่น

Principles

- ชั่งน้ำหนักน้ำที่บรรจุในเครื่องแก้วที่ต้องการสอบเทียบที่อุณหภูมิ 20◦C
- คำนวณปริมาตรของน้ำที่ 20 ◦C = ปริมาตรของเครื่องแก้ว ที่ 20 ◦C
- คำนวณปริมาตรของเครื่องแก้วที่อุณหภูมิห้อง

ข้อจำกัด

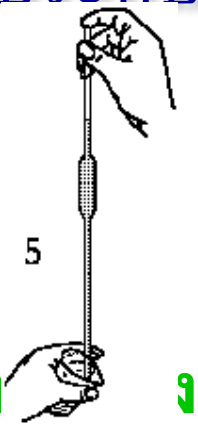
- เครื่องแก้วต้องสะอาด
- ขนาด 0.1-2000 ml
- อุณหภูมิห้องคงที่(ควรเปลี่ยนแปลงไม่เกิน 1°C/ชม
- อุณหภูมิน้ำควร = อุณหภูมิห้อง

Reagents / Apparatus

- Calibrated balance: ความละเอียดตามความเหมาะสมกับขนาดและปริมาตรของเครื่องแก้ว
- Calibrated thermometer: ช่วง 0-100 ◦C ความละเอียด 0.1 ◦C
- Calibrated barometer
- น้ำกลั่น / Deionized water
- Glassware to be calibrated

วิธีการสอบเทียบ volumetric pipette

- ชั่งน้ำหนักขวดชั่งสารที่แห้งพร้อมฝาปิด จดบันทึก
- บรรจุน้ำกลั่นในปิเปต โดยใช้อุปกรณ์ช่วยดูดจนปริมาณน้ำอยู่เหนือขีดบอกปริมาตร 20 มิลลิเมตร
- ค่อย ๆ ปรับระดับน้ำให้ตรงกับขีดบอกปริมาตรโดยปรับระดับ meniscus ให้ถูกต้อง



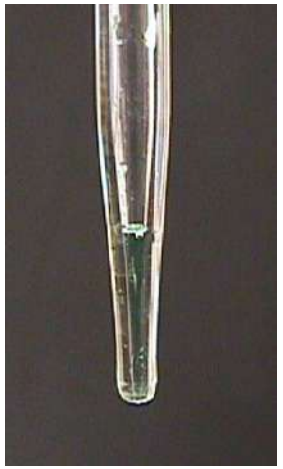
ดูดของเหลวเข้าปิเปต

จนระ งเหลวอยู่เหนือขีดปริมาตร



วิธีการสอบเทียบ volumetric pipette

- บันทึกอุณหภูมิน้ำในบีกเกอร์
- ปล่อยน้ำออกจากปิเปตโดยให้ปลายปิเปตสัมผัสกับผิวด้านในของขวดชั่งสาร เมื่อน้ำไหลออกจาก ปิเปตหมดแล้วรออีก 2 วินาที จึงเอาปิเปตออก
- ปิดฝาขวดชั่งสาร ชั่งน้ำหนัก จดบันทึก
- คำนวณปริมาตรปิเปตที่ 20 ◦C
- ทำซ้ำตั้งแต่ต้นจนจบอีก 9 ครั้ง



การคำนวณ

- $V_{20} = (I_L - I_E)Z$
- V_{20} = ปริมาตรของน้ำที่ 20°C
- = ปริมาตรจริงของภาชนะที่ 20°C
- I_L = น้ำหนักของขวดชั่งที่บรรจุน้ำที่อุณหภูมิห้อง(กรัม)
- I_E = น้ำหนักของขวดชั่งเปล่าที่อุณหภูมิห้อง(กรัม)
- Z = factor ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ และ ความดัน

Z = factor ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ และ ความดัน ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50%

- เปิดตารางค่า Z ตามความเหมาะสม :
- class of glassware (A,B)
- type of glassware (borosilicate , sodalime)
- temperature ;with correction factor of calibrated thermometer / ice point recalibration
- pressure

- $Z = (Q)[1/(\rho_W - \rho_A)](1 - \rho_A / \rho_B)[1 - \alpha(T-20)]$
- ρ_A คือ ความหนาแน่นของอากาศ
- ρ_W คือความหนาแน่นของน้ำ
- ρ_B คือความหนาแน่นของตุ้มน้ำหนัก
- α = สัมประสิทธิ์การขยายตัวของวัสดุ
- Q = mass conversion factor = 1.000013

การคำนวณ

- การคำนวณปริมาตรของเครื่องแก้วที่อุณหภูมิห้อง
- $V_T = V_{20}[1+ \alpha(T-20)]$
- V_T = ปริมาตรจริงของเครื่องแก้วที่อุณหภูมิห้อง
- α = สัมประสิทธิ์การขยายตัวของแก้ว($cm^3/^\circ C$)
- = 0.00001 $cm^3/^\circ C$ สำหรับ borosilicate glassware
- = 0.000025 $cm^3/^\circ C$ สำหรับ soda-lime glassware

ประเมินผลการสอบเทียบ

การทวนสอบ (Verification)

- การทวนสอบ หมายถึง การยืนยันโดยการตรวจสอบและมีหลักฐานแสดงว่าเป็นไปตามข้อกำหนด ที่ระบุ
- การทวนสอบจะเป็นเครื่องช่วยตรวจความเบี่ยงเบนระหว่างค่าที่ชี้บอกโดยเครื่องวัดกับค่าสมนัยที่รู้ของปริมาณที่วัดว่าน้อยกว่าค่าผิดพลาดที่ยอมให้สูงสุด (maximum allowable error) ตามที่ระบุในมาตรฐาน

ตัวอย่าง

ผลการสอบเทียบ ปิเปต 10 ml +0.02 ml.

- Norminal value = 10 ml ผลการสอบเทียบ 9.9986 ml
- ค่าความไม่แน่นอนของการสอบเทียบ $\pm$0.0016 ml.

ความคลาดเคลื่อน =9.9986 -10 = - 0.0014 ml.

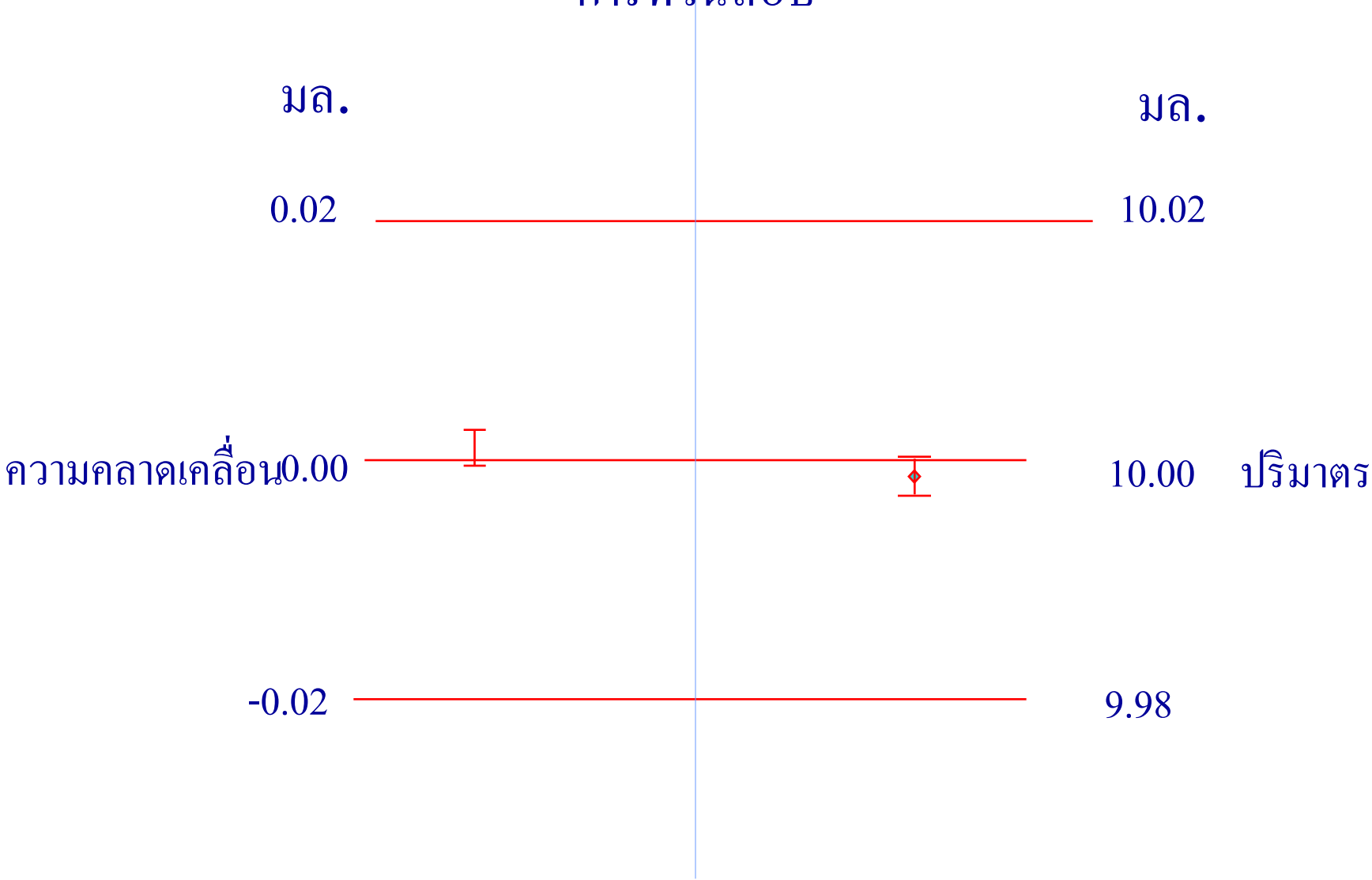
- ปริมาตรของขวดวัดปริมาตร = 9.9986$\pm$0.0016 ml.

= 9.9970-10.0002 ml.

ตัวอย่าง(ต่อ)

- <u>ผลการทวนสอบ</u>
- ความคลาดเคลื่อน_ + ค่าความไม่แน่นอน : ไม่คิดเครื่องหมาย
- 0.0014+0.0016 =0.0030 ml.
- เปรียบเทียบผลการวัดกับค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับ
- 0.0030 < _0.02 ml.
- ผลการทวนสอบ ขวดวัดปริมาตรมีความคลาดเคลื่อนอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

การทวนสอบ



วิธีสอบเทียบ Piston pipette

เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์



Piston pipette



Tip



นาฬิกาจับเวลา



ภาชนะทรงสูง



น้ำกลั่นหรือน้ำ Deionized

Evaporation trap ชนิดต่างๆ











เครื่องมือมาตรฐาน

- เครื่องชั่งที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว และมีความละเอียดตามหลักเกณฑ์ของ ISO 8655
- เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิน้ าที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว และมีค่า Uncertainty 0.2°C
- เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิห้องที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว และมีค่า Uncertainty 0.2°C
- เครื่องวัดความชื้นที่ผ่านการสอบเทียบแล้ว และมีค่า Uncertainty ≤10%

เงื่อนไขในการสอบเทียบ

- 1. เลือกใช้เครื่องชั่งให้เหมาะสมกับปริมาตรที่สอบเทียบ
- 2. การจัดสภาวะแวดล้อมของสถานที่สอบเทียบ
- - อุณหภูมิคงที่ และอยู่ในช่วง 15-30 °C (± 0.5 °C)
- - ความชื้นสัมพัทธ์(Relative humidity) 50% ขึ้นไป
- 3.สภาวะระหว่างสอบเทียบ -อุณหภูมิน้ำที่ใช้ชั่งน้ำหนักระหว่างการสอบเทียบตั้งแต่ครั้งที่1-10 ควรต่างกันไม่เกิน 0.2°C
- 4.ความชื้นสัมพัทธ์ระหว่างการชั่งน้ำหนักน้ำตั้งแต่ครั้งที่ 1-10 ควรต่างกันไม่เกิน 10%

- 5.ปริมาตรที่สอบเทียบ
  - ปิเปตแบบFixed-volume สอบเทียบที่ปริมาตรที่ไปเปตนั้นก าหนด
  - ปิเปตแบบVariable-volume สอบเทียบที่ 3 ปริมาตร ดังนี้
    - ⊙ 10% ⊙ 50% ⊙ 100% ของ Nominal volume
    - หมายเหตุ : ปริมาตรที่สอบเทียบขึ้นกับสเปคของผู้ผลิตสอบเทียบ เช่นที่ 25% ของ Nominal volume

6.ความลึกในการจุ่ม Tip ลงในของเหลว

ช่วงปริมาตร	ความลึก
0.1 – 10 µl	1 – 2 มิลลิเมตร
10 – 200 µl	2 – 3 มิลลิเมตร
200 – 2000 µl	3 – 6 มิลลิเมตร
2000 µl ขึ้นไป	6 - 10 มิลลิเมตร

วิธีการสอบเทียบ

- บันทึกอุณหภูมิห้อง อุณหภูมิของน้ำและความชื้นสัมพัทธ์
- นำภาชนะวางบนจานเครื่องชั่ง
- เติมน้ำให้มีระดับความลึกอย่างน้อย 3 ม.ม.
- เตรียม Piston pipette ปรับปริมาตรที่ต้องการสอบเทียบ
- ใส่ Tip ที่พอดีกับไปเปต ดูดน้ำกลั่นขึ้นลง 2-3 ครั้งเพื่อปรับสภาพ Dead air volume
- เริ่มจับเวลาในการสอบเทียบ (ในกรณีที่สอบเทียบที่ปริมาตรน้อยกว่า 50 µl)

- นำ piston pipette ดูดน้ำกลั่นตามปริมาตรที่กำหนดและปล่อยลงในภาชนะที่วางในเครื่องชั่ง
- บันทึกน้ำหนัก และทำซ้ำจนครบ 10 ครั้ง บันทึกค่าต่างๆ ดังนี้
  - น้ำหนักของน้ำจำนวน 10 ค่า
  - อุณหภูมิห้องหลังจากสอบเทียบ
  - ความชื้นสัมพัทธ์หลังจากสอบเทียบ
  - อุณหภูมิน้ำหลังจากสอบเทียบ

- กรณีที่สอบเทียบที่ปริมาตรน้อยกว่า 50 µl
  - ให้วัดน้ำหนักน้ำที่ระเหยไปในระหว่างสอบเทียบ โดย หลังจากชั่ง น้ำหนักน้ำ ครั้งที่ 10 ปล่อยให้ภาชนะวางบนจานเครื่องชั่งนานเท่ากับเวลาที่ใช้ในการช น้ำหนักครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 10 จึงอ่าน น้ำหนักน้ำอีกครั้งหนึ่ง (หลังจาก ระเหยไปบางส่วน) และบันทึกน้ำหนักที่อ่านได้เป็นค่าที่ 11
  - หมายเหตุ น้ำหนักน้ำที่บันทึกจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามปริมาณน้ำที่ใส่เพิ่ม จากนั้ นำน้ำหนักที่ชั่งได้มาหัก ลบกับน้ำหนักที่ชั่งก่อนหน้า ผลต่างที่ได้เป็นน้ำหนัก น้ำที่ชั่งแต่ละครั้ง
  - หากเป็นไปเปตแบบปรับปริมาตรได้ ให้สอบเทียบที่ปริมาตรต่อไป จนครบ ปริมาตร

คำนวณค่าต่างๆ ดังนี้

- น้ำหนักน้ำที่ระเหยระหว่างการสอบเทียบ (กรณีสอบเทียบที่ปริมาตรน้อยกว่า 50 µl)
- ปริมาตรของน้ำที่ชั่ง ซึ่งแปลงจากน้ำหนักโดยใช้ค่า Z-factor
- Systematic error, Random error, Combined uncertainty และ Expanded uncertainty

- วิธีการคำนวณ
- 1. น้ำหนักน้ำที่ระเหยระหว่างการสอบเทียบ (กรณีสอบเทียบที่ปริมาตรน้อยกว่า 50 µl)
- mE = (m10 – m11)/ n โดยที่
- mE =น้ำหนักน้ำที่ระเหยไป
- m10 = น้ำหนักน้ำที่วัดครั้งที่ 10
- m11= น้ำหนักน้ำที่วัดครั้งที่ 11
- n = จำนวนครั้งที่วัด

V = W x Z โดยที่

V = ปริมาตรของน้ำ

W = น้ำหนักของน้ำ

Z = ค่าแก้น้ำหนักของน้ำตามอุณหภูมิและความดันบรรยากาศ (101.3 kPa)

ตัวอย่าง W = 2.0175 g

Z = 1.0028 (ที่อุณหภูมิน้ำ 19.5°C และความดันบรรยากาศ 101.3 kPa)

ดังนั้น V = 2.0175 x 1.0028 = 2.0231 µl

Z-factor ที่ใช้สำหรับแปลงน้ำหนักเป็นปริมาตร

Temp. (°C)	Barometric pressure (kPa)						
	80	85	90	95	100	101.3	105
15.0	1.0017	1.0018	1.0019	1.0019	1.0020	1.0020	1.0020
15.5	1.0018	1.0019	1.0019	1.0020	1.0020	1.0020	1.0021
16.0	1.0019	1.0020	1.0020	1.0021	1.0021	1.0021	1.0022
16.5	1.0020	1.0020	1.0021	1.0021	1.0022	1.0022	1.0022
17.0	1.0021	1.0021	1.0022	1.0022	1.0023	1.0023	1.0023
17.0	1.0021	1.0021	1.0022	1.0022	1.0023	1.0023	1.0023
17.0	1.0021	1.0021	1.0022	1.0022	1.0023	1.0023	1.0023
17.0	1.0021	1.0021	1.0022	1.0022	1.0023	1.0023	1.0023
17.5	1.0022	1.0022	1.0023	1.0023	1.0024	1.0024	1.0024
18.0	1.0022	1.0023	1.0023	1.0024	1.0025	1.0025	1.0025
18.5	1.0023	1.0024	1.0024	1.0025	1.0025	1.0026	1.0026
19.0	1.0024	1.0025	1.0025	1.0026	1.0026	1.0027	1.0027
19.5	1.0025	1.0026	1.0026	1.0027	1.0027	1.0028	1.0028
20.0	1.0026	1.0027	1.0027	1.0028	1.0028	1.0029	1.0029
20.5	1.0027	1.0028	1.0028	1.0029	1.0029	1.0030	1.0030
21.0	1.0028	1.0029	1.0029	1.0030	1.0031	1.0031	1.0031
21.5	1.0030	1.0030	1.0031	1.0031	1.0032	1.0032	1.0032
22.0	1.0031	1.0031	1.0032	1.0032	1.0033	1.0033	1.0033
22.5	1.0032	1.0032	1.0033	1.0033	1.0034	1.0034	1.0034
23.0	1.0033	1.0033	1.0034	1.0034	1.0035	1.0035	1.0036
23.5	1.0034	1.0035	1.0035	1.0036	1.0036	1.0036	1.0037
24.0	1.0035	1.0036	1.0036	1.0037	1.0037	1.0038	1.0038
24.5	1.0037	1.0037	1.0038	1.0038	1.0039	1.0039	1.0039
25.0	1.0038	1.0038	1.0039	1.0039	1.0040	1.0040	1.0040
25.5	1.0039	1.0040	1.0040	1.0041	1.0041	1.0041	1.0042
26.0	1.0040	1.0041	1.0041	1.0042	1.0042	1.0043	1.0043
26.5	1.0042	1.0042	1.0043	1.0043	1.0044	1.0044	1.0044
27.0	1.0043	1.0044	1.0044	1.0045	1.0045	1.0045	1.0046
27.5	1.0045	1.0045	1.0046	1.0046	1.0047	1.0047	1.0047
28.0	1.0046	1.0046	1.0047	1.0047	1.0048	1.0048	1.0048
28.5	1.0047	1.0048	1.0048	1.0049	1.0049	1.0050	1.0050
29.0	1.0049	1.0049	1.0050	1.0050	1.0051	1.0051	1.0051
29.5	1.0050	1.0051	1.0051	1.0052	1.0052	1.0052	1.0053
30.0	1.0052	1.0052	1.0053	1.0053	1.0054	1.0054	1.0054

การหาค่าความผิดพลาดเชิงระบบ (Systematic error)

$$e_s = \bar{V} - Vs$$

โดย e_s = Systematic error ในตัวไปเปต ซึ่งในใบรับรองคือ Accuracy

$\bar{V}$ = ปริมาตรเฉลี่ย

Vs = ปริมาตรที่สอบเทียบ

<u>ตัวอย่าง</u> $\bar{V}$ = 1.9332 µl

Vs = 2 µl

ดังนั้น e_s = 1.9332 – 2 = -0.0668 µl

การหาค่าความผิดพลาดแบบสุ่ม (Random error)

โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of variation; CV)

$$SD. = \sqrt{\frac{\sum (V_i - \overline{V})^2}{n - 1}}$$

$$\% CV = \frac{100 \times SD.}{\overline{V}}$$

โดย V_i = ปริมาตรแต่ละค่า (ค่าที่ 1-10)

$\overline{V}$ = ปริมาตรเฉลี่ย

n = จำนวนครั้งที่วัด

ตัวอย่าง SD. = 0.0372 µl

$\overline{V}$ = 1.9332 µl

n = 10 ครั้ง

% CV = (100 x 0.0372)/ 1.9332= 1.9243

การประเมินผลการสอบเทียบ

- กำหนดเกณฑ์การยอมรับ
- พิจารณาผลสอบเทียบที่ได้
- เปรียบเทียบผลสอบเทียบที่ได้กับเกณฑ์การยอมรับ
- สรุปการประเมินผลการสอบเทียบ
- การพิจารณาเครื่องมือหากผลการประเมินไม่ผ่านเกณฑ์ยอมรับ

- ก าหนดเกณฑ์การยอมรับ
- : เลือกพิจารณาได้ 3 เกณฑ์ ดังนี้
- ตาม ISO 8655 พิจารณาค่า Maximum permissible errors ของ Piston pipette
- ตามคุณลักษณะ (Specification) ของผู้ผลิต Piston pipette ที่ระบุในคู่มือ ซึ่งผู้ผลิตนิยมบอกค่า Systematic error ในรูปของ Accuracy ส่วน Random error อยู่ในรูปของ Precision
- ผู้ใช้งานกำหนดขึ้นเองตามความเหมาะสมของงาน

ตารางที่ 1 Maximum permissible errors for piston pipette type A and D1

Nominal volume (µl)	Maximum permissible systematic errors		Maximum permissible random errors	
	± %	± µl	± %	± µl
1	5	0.05	5	0.05
2	4	0.08	2	0.04
5	2.5	0.125	1.5	0.075
10	1.2	0.12	0.8	0.08
20	1	0.2	0.5	0.1
50	1	0.5	0.4	0.2
100	0.8	0.8	0.3	0.3
200	0.8	1.6	0.3	0.6
500	0.8	4	0.3	1.5
1,000	0.8	8	0.3	3
2,000	0.8	16	0.3	6
5,000	0.8	40	0.3	15
10,000	0.6	60	0.3	30

สรุปการประเมินผลการสอบเทียบ

Systematic errors :

- ค่า U+ | e_s | อยู่ในช่วง Maximum permissible systematic errors (± µl) : **ผ่าน**
- ค่า U+ | e_s | ไม่อยู่ในช่วง Maximum permissible systematic errors (± µl) : **ไม่ผ่าน**

Random errors :

- % CV อยู่ในช่วง Maximum permissible random errors (±%) : **ผ่าน**
- % CV ไม่อยู่ในช่วง Maximum permissible random errors (±%) : **ไม่ผ่าน**

ตัวอย่างการประเมินผลการสอบเทียบ

Description	Volume (µl)		
	50	100	200
Mean volume	50.05	100.12	200.51
Systematic error (e_s)	-0.05	0.12	0.51
% CV	0.25	0.07	0.06
Uncertainty *	± 0.13	± 0.13	± 0.15
Coverage factor (k)	2	2	2

*Uncertainty = ค่าความไม่แน่นอนขยาย (Expanded uncertainty: U)

1. Systematic error (e_s) หรือ Accuracy

ปริมาตรที่สอบเทียบ (µl)	$\lvert e_s \rvert$ จากการสอบเทียบ (µl)	U (±µl)	$\lvert e_s \rvert$ + U (µl)	Systematic error ที่ใช้ประเมิน (± µl) ☑ ตามเกณฑ์ ISO 8655* ☐ ตาม spec เครื่องมือ ☐ ตามความเหมาะสมของงาน	สรุปผลผ่าน/ไม่ผ่าน
50	0.05	0.13	0.18	1.6	ผ่าน
100	0.12	0.13	0.25	1.6	ผ่าน
200	0.51	0.15	0.66	1.6	ผ่าน

2. Random error (% CV) หรือ Precision

ปริมาตร, µl	%CV	Random error ที่ใช้ประเมิน (± µl) ตามเกณฑ์ ISO 8655*	สรุปผล
50	0.25	0.6	ผ่าน
100	0.07	0.6	ผ่าน
200	0.06	0.6	ผ่าน

Reference

- ISO 8655: 2022
- เอกสารการสอบเทียบไปเปต (Piston pipette) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข
- เครื่องมือและเทคนิคพื้นฐานสำหรับห้องปฏิบัติการชีวเคมี
ดร.นพ. ชยานนท์ พีระพิทยมงคล