

15. การตรวจสอบปริมาตรของ AUTOMATIC PIPETTE

เกรียงศักดิ์ อิ่มใจ วท.ม. (ชีวเคมี)*

อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ ปร.ด. (ชีวเคมี)*

ปัจจุบัน Automatic pipette (mechanical hand pipette) ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ โดยเฉพาะห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก เนื่องจากมีความสะดวก รวดเร็ว ถูกต้อง และแม่นยำดีกว่า pipette แก้ว ซึ่งใช้กันมานานแล้ว แต่อย่างไรก็ตาม Automatic pipette เหล่านี้ก็มีราคาแพง ผู้ที่ซื้อมาใช้อาจสงสัยเกี่ยวกับปริมาตรของ pipette ว่าทางบริษัทได้ทำการตรวจสอบมาอย่างถูกต้องหรือไม่ หรืออยากจะตรวจสอบปริมาตรด้วยตัวเอง ในกรณีที่สงสัยต่าง ๆ ผู้เขียนจึงขอเสนอวิธีการตรวจสอบอย่างง่าย ๆ โดยใช้เครื่องมือไม่กี่อย่าง ตลอดจนรวบรวมตัวอย่างของการตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ชนิดต่าง ๆ และวิธีแก้ไข ซึ่งอาจจะ เป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจได้บ้าง

ชนิดของ Automatic pipette

1. ชนิด Air-interface ซึ่งแบ่งเป็น
 - 1.1 Two-positions
 - 1.2 Three-positions
 - 1.2.1 Two spring pressure
 - 1.2.2 Mechanically interlocked
2. ชนิด Positive displacement หรือ Solid interface

วิธีใช้ Automatic Pipette

Automatic pipette ชนิดต่าง ๆ มีวิธีใช้สัมพันธ์กับ pipette แก้ว โดยแบ่งออกเป็น 3 วิธีคือ

1. Washing out ตรงกับวิธีใช้ pipette แก้วแบบ "To contain" หรือ "IN" ใช้ได้กับ Mechanical hand pipette ทุกแบบ
2. Reverse technique ตรงกับวิธีใช้ pipette แก้วแบบ "To deliver" หรือ "EX" ใช้ได้กับ pipette ชนิด Three-position air-interface
3. Blowing out ตรงกับวิธีใช้ pipette แก้วแบบ Blows-out ใช้ได้กับ Mechanical hand pipette แบบ Three-positions air-interface และเป็นวิธีที่ทางบริษัท

*

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 252

ผู้ผลิตส่วนมากแนะนำให้ใช้

ทำการตรวจสอบเมื่อ

1. ซ้อมมาใหม่ต้องการตรวจสอบปริมาตร
2. ใช้ไปนาน ๆ สมควรได้รับการตรวจสอบ
3. ทำตกจากที่สูงหรือส่งไปซ่อม
4. เปลี่ยนเครื่องอาหลัย หรือทำความสะอาดภายใน เมื่อผลออกสารละลายใด ๆ เข้าไปในกระบอก
5. วางไว้ใกล้สิ่งร้อน ๆ เช่น เตาไฟฟ้า, ตู้อบ

เครื่องมือเครื่องใช้ในการตรวจสอบปริมาตรของ Automatic pipette

1. เครื่องชั่ง (Analytical balance) ที่ละเอียดได้ ชนิดอ่านทศนิยมได้ 4 ตำแหน่ง
2. น้ำกลั่น ใช้เป็นสารละลายในการตรวจสอบปริมาตรของ Automatic pipette อาจเป็นข้อเสียที่ว่า pipette นี้มักใช้ชุดซีรัมและน้ำยาต่าง ๆ แต่เราก็ไม่ทราบความหนาแน่นของซีรัม ซึ่งในโรคต่าง ๆ ก็แตกต่างกันอยู่แล้ว และน้ำยาต่าง ๆ เราก็ไม่ทราบความหนาแน่น จึงใช้น้ำเป็นตัวแทน
3. ภาชนะใส่น้ำกลั่น ขนาดพอเหมาะ เช่น ปิคเกอร์
4. เทอร์โมมิเตอร์ สำหรับวัดอุณหภูมิของน้ำกลั่นที่ใช้ตรวจสอบปริมาตร
5. ตารางแสดงความหนาแน่นของน้ำที่อุณหภูมิต่าง ๆ (ตารางที่ 1)
6. ภาชนะสำหรับใส่น้ำที่จะตรวจสอบปริมาตรของ pipette รูปทรงกระบอก เวลาใส่น้ำแล้วให้ไปอยู่ตรงกลางภาชนะ มีขนาดที่ใส่น้ำปริมาตรตาม pipette ที่จะตรวจสอบลงไป แล้ว 10 ครั้ง ยังปริมาตรของภาชนะเหลืออีกประมาณครึ่งหนึ่ง
7. กระดาษหิซุ
8. แบบฟอร์มเขียนผลการตรวจสอบ (ตารางที่ 2)
9. Automatic pipette ที่จะตรวจสอบปริมาตร พร้อม tip ที่ใหม่

วิธีตรวจสอบปริมาตร

การตรวจสอบปริมาตรของ Automatic pipette ความวุ่นตั้งแต่ 50 ไมโครลิตร ขึ้นไป ถ้าต่ำกว่านี้จะผิดพลาดมาก และดำเนินการตรวจสอบ ดังต่อไปนี้

1. เอน้ำกลั่นใส่ปิคเกอร์ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที เพื่อให้อุณหภูมิของน้ำกลั่นเท่ากับอุณหภูมิของห้องจริง ๆ
2. เขียนแบบฟอร์มว่าเป็น Automatic pipette ชนิดไหน, ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ, ชื่อผู้ตรวจสอบ, วัน, เดือน, ปี ฯลฯ
3. ดูเครื่องชั่งว่าอยู่ในระดับที่สมดุลหรือไม่ โดยดูจากฟองน้ำของเครื่องชั่ง แล้วปรับเครื่องชั่งให้เป็น "0"
4. ใส่ น้ำกลั่นลงในภาชนะที่จะตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette สักเล็กน้อยเสียก่อน เพื่อที่เมื่อใส่น้ำปริมาตรน้อย ๆ จาก pipette หยคน้ำนั้นจะได้ไม่ติดอยู่ข้างภาชนะ เมื่อชั่งน้ำหนักจะได้อยู่ตรงกลางเครื่องชั่งพอดี จากนั้นเอาภาชนะนี้ไปชั่ง จดน้ำหนักไว้ถือว่าเป็นน้ำหนักของภาชนะ
5. ใช้ Automatic pipette ที่จะตรวจสอบปริมาตรตูดน้ำกลั่นจากปิคเกอร์ที่เตรียมไว้ เช็ดภายนอก tip ด้วยกระดาษทิชชูแล้วปล่อยลงในภาชนะที่ใส่น้ำ ตรวจสอบให้ถูกต้องตามเทคนิค หยอดแล้วลาก tip กับข้าง ๆ ภาชนะเพื่อให้ครบปริมาตร
6. ชั่งน้ำหนักภาชนะ + น้ำหนักที่ตรวจสอบ แล้วจดน้ำหนักเป็นกรัมในแบบฟอร์มเป็นน้ำหนักรวมครั้งที่ 1
7. เอาภาชนะออกจากเครื่องชั่ง ใช้ Automatic pipette ตูดน้ำครั้งที่ 2 ใส่ลงไปแล้วชั่ง จดลงในแบบฟอร์มเป็นน้ำหนักรวมครั้งที่ 2
8. ทำเช่นนี้เรื่อย ๆ ไป จนชั่งน้ำหนักรวมได้ครบ 10 ครั้ง
9. เอาเทอร์โมมิเตอร์จุ่มลงในน้ำที่ใช้ตรวจสอบว่ามีอุณหภูมิเท่าใด อ่านค่าความหนาแน่นของน้ำที่อุณหภูมิขณะนั้น
10. เอน้ำหนักของภาชนะไปลบออกจากน้ำหนักรวมครั้งที่ 1 เป็นน้ำหนักน้ำที่ตรวจสอบปริมาตรครั้งที่ 1
หาน้ำหนักของน้ำที่ตรวจสอบปริมาตรครั้งที่ 2 โดยเอน้ำหนักรวมครั้งที่ 1 ไปลบออกจากน้ำหนักรวมครั้งที่ 2
หาน้ำหนักของน้ำที่ตรวจสอบปริมาตรครั้งที่ 3 โดยเอน้ำหนักรวมครั้งที่ 2 ไปลบออกจากน้ำหนักรวมครั้งที่ 3
ทำเช่นนี้เรื่อย ๆ ไปจนหาน้ำหนักน้ำที่ตรวจสอบได้ครบ 10 ครั้ง
11. เปลี่ยนน้ำหนักของน้ำที่ตรวจสอบแต่ละครั้งจากกรัมเป็นมิลลิกรัม
เปลี่ยนน้ำหนักของน้ำ (มิลลิกรัม) เป็นปริมาตร (ไมโครลิตร) โดยหารด้วยความหนาแน่นของน้ำ

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

13. คำนวณหา Mean ($\bar{x}$) ของปริมาณน้ำที่ทำการตรวจสอบทั้ง 10 ครั้ง

14. คำนวณหา Standard deviation (S.D.) จากสูตร
$$\frac{(x-\bar{x})^2}{n-1}$$

เมื่อ x = ปริมาณน้ำที่ตรวจสอบแต่ละครั้ง

$\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ย (Mean) ของปริมาณน้ำที่ทำการตรวจสอบทั้ง 10 ครั้ง

N = จำนวนครั้งที่ทำการตรวจสอบ

คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (Coefficient of variation , C.V.) จากสูตร

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D.}}{\bar{x}} \%$$

การแปลผล

1. ดู Mean ($\bar{x}$) สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (C.V.) และปริมาณของน้ำแต่ละค่าทั้ง 10 ค่า ไปพร้อม ๆ กัน

2. หากการ pipette ทั้ง 10 ค่ากระทำอย่างถูกต้องไม่มี random error ใดๆ เกิดขึ้น เช่น ไม่เผลอ overshoot, คุดนํ้าขึ้นมาน้อยเกินไป หรืออ่านตัวเลขจากเครื่องซึ่งผิด ค่า Mean จะบ่งบอกถึงความถูกต้องของ pipette นั้น ๆ โดย pipette ที่ยังยอมรับว่าใช้ได้ ค่า Mean จะต้องแตกต่างจากค่าที่กำหนดโดยบริษัทผู้ผลิตไม่เกิน 2%

3. Automatic pipette ตั้งแต่ tip ไม่สะอาด, ตรวจสอบผิดหรือ การใช้ pipette ไม่ถูกต้อง มักจะสะท้อนให้เห็นโดยมี C.V. สูงเกิน 2% เช่น

3.1 ปปล่อยสารละลายมากเกินไปเนื่องจากเผลอ overshoot เมื่อใช้ reverse technique

3.2 ปปล่อยสารละลายน้อยเกินไป เนื่องจากยก tip ขึ้นทันสารละลายก่อนจะดูดปริมาณได้ครบ

3.3 เทคนิคในการใช้ pipette ไม่ถูกต้อง เช่น ไม่ลาก tip เมื่อปล่อยสารละลายใส่ภาชนะ หรือดูดสารละลายและปล่อยสารละลายไวเกินไป

3.4 สัมผัส tip ในกรณีที่มีหยดสารละลายเกาะอยู่ภายนอก tip

3.5 tip ไม่พอดีกับหัว pipette ทำให้อากาศรั่วออกได้จากระบบดูด

3.6 ชั่งน้ำหนักผิด เช่น อ่านตัวเลขผิด

3.7 tip ไม่สะอาด

3.8 คำนวณผิด

4. C.V. ไม่ควรเกิน 2%

วิธีแก้ไข

ในกรณีที่ความผิดพลาดเกิดกับตัว Automatic pipette หรือ tip

1. แก้ไขโดยการปรับด้วย screw เพื่อเลื่อนลูกสูบขึ้นหรือลงให้เหมาะสม เช่นแบบ Solid interface ยี่ห้อต่าง ๆ โดยใช้ Calibration guage
2. ถ้าลูกสูบผิดก็อาจเปลี่ยนแหวนยาง ทาจาระบีเล็กน้อยให้ลื่นหรือเปลี่ยนสปริง หรือ ส่วนที่ชำรุด
3. เปลี่ยน tip ชุดใหม่
4. ส่งบริษัทตรวจสอบ
5. เมื่อทำการแก้ไขแล้วให้ตรวจสอบปริมาตรซ้ำอีกครั้งหนึ่ง

ในกรณีที่ C.V. สูง เนื่องจากเทคนิคไม่ดีพอ

1. หากมีการผิดพลาดแบบ random error ให้ calibrate ซ้ำใหม่โดยเพิ่มความระมัดระวังให้มากขึ้น
2. หากเทคนิคที่ใช้ไม่ดีหรือไม่ถูกต้องให้ศึกษาริธีใช้ให้เข้าใจอย่างถ่องแท้เสียก่อน แล้วทำให้ถูกต้อง

ตารางที่ 1 ตารางเทียบความหนาแน่นของน้ำที่อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ °ซ.	ความหนาแน่น	อุณหภูมิ °ซ.	ความหนาแน่น
20	0.9982	28	0.9963
21	0.9980	29	0.9960
22	0.9978	30	0.9957
23	0.9976	31	0.9954
24	0.9973	32	0.9951
25	0.9971	33	0.9947
26	0.9968	34	0.9944
27	0.9965		

ตัวอย่างการตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้เขียนได้รวบรวมผลการตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ที่นักศึกษา
เทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ได้เคยทำไว้ โดยแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม (ตารางที่ 2-8)
เพื่อที่จะได้เป็นตัวอย่างสำหรับตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

การแปลผล

กลุ่มที่ 1 ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ MLA
ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ได้ผลคือ
ก. Mean = 100.5 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท + 0.5 %)
ข. C.V. = 0.32 %
ค. ปริมาตรน้ำทั้ง 10 ครั้งสม่ำเสมอ และใกล้เคียงกับปริมาตรของ pipette ที่
กำหนดมาให้

การแปลผล pipette นี้มี accuracy และ precision ดี ใช้การได้ดี

กลุ่มที่ 2 ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ VOLAC RTM 880 D
ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ได้ผลคือ
ก. Mean = 202 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท + 1 %)
ข. C.V. = 2.15 %
ค. ปริมาตรน้ำครั้งที่ 1, 4 และ 5 มากกว่า 200 ไมโครลิตร ไปมากเกินไปจน
ส่วนอีก 7 ครั้งปริมาตรน้ำค่อนข้างสม่ำเสมอ

การแปลผล pipette นี้ มี accuracy ดี เพราะปริมาตรน้ำมีทั้งที่มากกว่าและน้อยกว่า 200
ไมโครลิตร เฉลี่ยแล้วค่า Mean ก็ยังไม่เกิน 2 % แต่ precision ไม่ดี (เกิน 2 %) เพราะ
ปริมาตรน้ำไม่สม่ำเสมอทั้งหมด อาจมีสาเหตุจาก

- 1) pipette ผิด ชูดได้ไม่สม่ำเสมอ
- 2) เทคนิคการตรวจสอบไม่ดีอาจลืมเช็ด tip เป็นบางครั้ง เช่น ครั้งที่ 1, 4
และ 5 ปลอ่ยให้หยดน้ำเกาะติดภายนอก เวลาปลอ่ยน้ำใส่ภาชนะก็เพิ่มปริมาตรไปด้วย

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

ทำการตรวจสอบใหม่ให้ถูกเทคนิค หากเดิมผิดพลาดเนื่องจากสาเหตุนี้ การตรวจสอบ
ใหม่โดยระมัดระวังจะทำให้ C.V. ต่ำลง และ Mean จะเข้าใกล้ค่าที่กำหนดมากขึ้นได้ นอกจาก

ตารางที่ 2 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ กลุ่มที่ 1

วันที่ 4 เดือน มกราคม พ.ศ. 2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette MLA

ชนิด ☒ Air-interface☐ Three-positions☐ Two spring pressures☐ Mechanically interlocked☒ Two-positions☐ Positive displacement

ปริมาตรที่แบ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 100 ไมโครลิตร/100 ไมโครลิตร

เครื่องชั่งที่ใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ 1.2743 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ 23°ซ., ความหนาแน่นของน้ำ (D) 0.9976

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($X = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	1.3751	0.1008	100.8	101.0	0.5	0.25
2	1.4753	0.1002	100.2	100.4	-0.1	0.01
3	1.5754	0.1001	100.1	100.3	-0.2	0.04
4	1.6756	0.1002	100.2	100.4	-0.1	0.01
5	1.7762	0.1006	100.6	100.8	0.3	0.09
6	1.8763	0.1001	100.1	100.3	-0.2	0.04
7	1.9763	0.1000	100.0	100.2	-0.3	0.09
8	2.0771	0.1008	100.8	101.0	0.5	0.25
9	2.1771	0.1000	100.0	100.2	-0.3	0.09
10	2.2776	0.1005	100.5	100.7	0.2	0.04
Mean ($\bar{X}$) =				100.5	$\Sigma(X - \bar{X})^2 =$	0.91

$$S.D. = \sqrt{\frac{\Sigma(X - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0.91}{10-1}} = 0.32$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D.}}{\bar{X}} \% = \frac{100 \times 0.32}{100.5} \% = 0.32 \%$$

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ตารางที่ 3 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ

กลุ่มที่ ๔

วันที่

4

เดือน

มกราคม

พ.ศ.

2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

VOLAC RTM 880 D

ชนิด



Air-interface



Three-positions



Two spring pressures



Mechanically interlocked



Two-positions



Positive displacement

ปริมาตรที่บ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 50-500 ไมโครลิตร/100 ไมโครลิตร

เครื่องซึ่งใช้ในการตรวจสอบ

Chyo Jupiter GP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ

5.6808 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ

20°ซ., ความหนาแน่นของน้ำ (D)

0.9982

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ (X=W) (ไมโครลิตร) D	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	5.8902	0.2094	209.4	209.8	7.8	60.84
2	6.0900	0.1998	199.8	200.2	-1.8	3.24
3	6.2884	0.1984	198.4	198.8	-3.2	10.24
4	6.4964	0.2080	208.0	208.4	6.4	40.96
5	6.7019	0.2055	205.5	205.9	3.9	15.21
6	6.9004	0.1985	198.5	198.9	-3.1	9.61
7	7.1004	0.2000	200.0	200.4	-1.6	2.56
8	7.2990	0.1986	198.6	199.0	-3.0	9.00
9	7.4967	0.1977	197.7	198.1	-3.9	15.21
10	7.6967	0.2000	200.0	200.4	-1.6	2.56
Mean ($\bar{x}$) =				202.0	$\Sigma (x - \bar{x}) =$	169.43

$$S.D. = \sqrt{\frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{169.43}{10-1}} = 4.34$$

$$C.V. = \frac{100 S.D.}{\bar{x}} \% = \frac{100 \times 4.34}{202} \% = 2.15$$

ตารางที่ 4 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ

กลุ่มที่ 3

วันที่

4

เดือน

มกราคม

พ.ศ.

2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

VOLAC RTM 880 D

ชนิด

☒ Air-interface☒ Three-positions☐ Two spring pressures☐ Mechanically interlocked☐ Two-positions☐ Positive displacement

ปริมาตรที่แบ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 50-500 ไมโครลิตร/100 ไมโครลิตร

เครื่องซึ่งใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ

12.8847 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ

20°ซ.,

ความหนาแน่นของน้ำ(D)

0.9982

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ(W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($x = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	13.3702	0.4855	485.5	486.4	-2.1	4.41
2	13.8584	0.4882	488.2	489.1	0.6	0.36
3	14.3459	0.4875	487.5	488.4	-0.1	0.01
4	14.8291	0.4832	483.2	484.1	-4.4	19.36
5	15.3233	0.4942	494.2	495.1	6.6	43.56
6	15.8086	0.4853	485.3	486.2	-2.3	5.29
7	16.2958	0.4872	487.2	488.1	-0.4	0.16
8	16.7840	0.4882	488.2	489.1	0.6	0.36
9	17.2727	0.4887	488.7	489.6	1.1	1.21
10	17.7608	0.4881	488.1	489.0	0.5	0.25
Mean ($\bar{x}$) =				488.5	$\Sigma(x - \bar{x})^2 =$	74.97

$$S.D. = \sqrt{\frac{\Sigma(x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{74.97}{10-1}} = 2.89$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D. } \%}{\bar{x}} = \frac{100 \times 2.89 \%}{488.5} = 0.59 \%$$

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ตารางที่ 5 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ

กลุ่มที่ 4

วันที่

4

เดือน

มกราคม

พ.ศ.

2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

Oxford

ชนิด



Air interface



Three positions



Two spring pressure



Mechanically interlocked



Two-positions



Positive displacement

ปริมาตรที่บ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 100 ไมโครลิตร/100 ไมโครลิตร

เครื่องชั่งที่ใช้ในการตรวจสอบ Cnryo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ 1.2443 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ 23°ซ., ความหนาแน่นของน้ำ (D) 0.9976

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($X = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	1.3446	0.1003	100.3	100.5	6.2	38.44
2	1.4447	0.1001	100.1	100.3	6.0	36.00
3	1.5445	0.0998	99.8	100.0	5.7	32.49
4	1.6447	0.1002	100.2	100.4	6.1	37.21
5	1.7448	0.1001	100.1	100.3	6.0	36.00
6	1.8435	0.0987	98.7	98.9	4.6	21.16
7	1.9369	0.0934	93.4	93.6	-0.7	0.49
8	2.0255	0.0886	88.6	88.8	-5.5	30.25
9	2.1076	0.0821	82.1	82.3	-12.0	144.00
10	2.1851	0.0775	77.5	77.7	-16.6	275.56
Mean ($\bar{X}$) =				94.3	$\Sigma (x - \bar{x})^2 =$	651.60

$$S.D. = \sqrt{\frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{651.60}{10-1}} = 8.51$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D. } \%}{\bar{x}} = \frac{100 \times 8.51 \%}{94.3} = 9.02 \%$$

ตารางที่ 6 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ กลุ่มที่ 5

วันที่ 4 เดือน มกราคม พ.ศ. 2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

EPPENDORF

ชนิด ☒ Air-interface☒ Three-position☒ Two spring pressure☐ Mechanically interlocked☐ Two positions☐ Positive displacement

ปริมาตรที่แบ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 500 ไมโครลิตร/500 ไมโครลิตร

เครื่องชั่งที่ใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักภาชนะ 12.8693 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ 23° ซ., ความหนาแน่นของน้ำ(D) 0.9976

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($X = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	13.3648	0.4955	495.5	496.7	4.3	18.49
2	13.8574	0.4926	492.6	493.8	1.4	1.96
3	14.3534	0.4960	496.0	497.2	4.8	23.04
4	14.8459	0.4925	492.5	493.7	1.3	1.69
5	15.3391	0.4932	493.2	494.4	2.0	4.00
6	15.8275	0.4884	488.4	489.6	-2.8	7.84
7	16.3191	0.4916	491.6	492.8	0.4	0.16
8	16.6872	0.3681	368.1	369.0	-123.4	15227.56
9	17.2953	0.6081	608.1	609.6	117.2	13735.84
10	17.7818	0.4865	486.5	487.7	-4.7	22.09

$$\text{Mean } (\bar{X}) = 492.4 \quad (x - \bar{x})^2 = 29042.67$$

$$\text{S.D.} = \sqrt{\frac{(x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{29042.67}{10-1}} = 56.81$$

$$\text{C.V.} = \frac{100 \text{ S.D. } \%}{\bar{x}} = \frac{100 \times 56.81 \%}{492.4} = 11.54 \%$$

ตารางที่ 7 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ

กลุ่มที่ 6

วันที่

4

เดือน

มกราคม

พ.ศ.

2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

Oxford P-7000

ชนิด

☒ Air-interface☒ Three positions☒ Two spring pressure☐ Mechanically interlocked☐ Two positions☐ Positive displacement

ปริมาตรที่แบ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 500 ไมโครลิตร/500 ไมโครลิตร

เครื่องชั่งที่ใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ

12.8434 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ

22°ซ., ความหนาแน่นของน้ำ (D)

0.9978

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($X = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	13.3678	0.5244	524.4	525.6	12.6	158.76
2	13.8681	0.5003	500.3	501.4	-11.6	134.56
3	14.3922	0.5241	524.1	525.3	12.3	151.29
4	14.8941	0.5019	501.9	503.0	-10.0	100.00
5	15.4000	0.5059	505.9	507.0	-6.0	36.00
6	15.9072	0.5072	507.2	508.3	-4.7	22.09
7	16.4072	0.5000	500.0	501.1	-11.9	141.61
8	16.9443	0.5371	537.1	538.3	25.3	640.09
9	17.4528	0.5085	508.5	509.6	-3.4	11.56
10	17.9617	0.5089	508.9	510.0	-3.0	9.00
Mean ($\bar{X}$) =				513.0	$\Sigma (X - \bar{X})^2 = 1405$	

$$S.D. = \sqrt{\frac{\Sigma (X - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1405}{10-1}} = 12.49$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D. } \%}{\bar{X}} = \frac{100 \times 12.49 \%}{513} = 2.43 \%$$

ตารางที่ 8 การตรวจสอบปริมาณ Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ

กลุ่มที่ 7

วันที่ 4 เดือน มกราคม พ.ศ. 2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

MLA

ชนิด

☒ Air interface☐ Three-positions☐ Two spring pressures☐ Mechanically interlocked☒ Two-positions☐ Positive displacement

ปริมาตรที่แบ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 100 ไมโครลิตร/100 ไมโครลิตร

เครื่องชั่งที่ใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ 1.2370 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ 20°ซ., ความหนาแน่นของน้ำ(D) 0.9982

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($X = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	1.3345	0.0975	97.5	97.7	3.1	9.61
2	1.4317	0.0972	97.2	97.4	2.8	7.84
3	1.5301	0.0984	98.4	98.6	4.0	16.00
4	1.6231	0.0930	93.0	93.2	-1.4	1.96
5	1.7168	0.0937	93.7	93.9	-0.7	0.49
6	1.8158	0.0990	99.0	99.2	4.6	21.16
7	1.9093	0.0935	93.5	93.7	-0.9	0.81
8	2.0090	0.0997	99.7	99.9	5.3	28.09
9	2.0830	0.0740	74.0	74.1	-20.5	420.25
10	2.1814	0.0984	98.4	98.6	4.0	16.00
Mean ($\bar{X}$) =				94.6	$\sum (x - \bar{x})^2 =$	522.21

$$S.D. = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{522.21}{10.1}} = 7.62$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D.}}{\bar{X}} \% = \frac{100 \times 7.62}{94.6} = 8.05 \%$$

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

นั้นให้ดูว่า pipette ผิดจริงหรือไม่ ถ้ายังได้ผลแบบเดิม และ pipette ผิด ก็เปลี่ยนแทนอย่าง
อาจารย์ ลองดูว่าหายผิดแล้วก็ทำการตรวจสอบใหม่ให้แน่ใจ

กลุ่มที่ 3 ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ VOLAC RTM 880 D
ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ได้ผลคือ

ก. Mean = 488.5 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท - 2.3 %)

ข. C.V. = 0.59 %

ค. ปริมาตรน้ำทั้ง 10 ครั้ง ต่ำกว่า 500 ไมโครลิตรทั้งหมด (ต่ำกว่า 2%) แต่
ครั้งที่ 5 ปริมาตรน้ำค่อนข้างสูงกว่า 9 ครั้ง และใกล้เคียงกับปริมาตรของ pi-
pette ที่กำหนดมาให้

การแปลผล pipette นี้ มี accuracy ไม่ดี แต่ precision ดี อาจเกิดจาก

- 1) tip อาจมีรูเล็กกว่าปกติ เนื่องจากมีสารอื่นไปเคลือบ ทำให้ดูดน้ำได้น้อย
- 2) ชุด pipette วกกว่าปกติ ทำให้ดูดน้ำได้น้อย
- 3) ไม่ลาก tip กับขอบภาชนะเวลาปล่อยน้ำหยดสุดท้าย ทำให้น้ำลงไปในภาชนะ

ไม่หมด

- 4) สปริงของ pipette อาจจะอ่อน ทำให้ดูดน้ำได้ไม่เต็มที่

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

ตรวจดูว่าผิดตรงไหน เช่น เทคนิคผิดก็ทำให้ถูกเทคนิค ถ้าเป็น tip ก็เปลี่ยน tip
ใหม่ ถ้าสปริงอ่อนไปก็เปลี่ยนสปริง เสร็จแล้วก็ทำการตรวจสอบปริมาตรตามวิธีนี้ใหม่

กลุ่มที่ 4 ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ Oxford
ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ได้ผลคือ

ก. Mean = 94.3 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท - 5.7 %)

ข. C.V. = 9.02 %

ค. ปริมาตรน้ำครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 5 ค่อนข้างสม่ำเสมอ สูงไม่เกิน 0.5 % ของ
ปริมาตรที่บริษัทกำหนดไว้ แต่ครั้งที่ 6 ถึงครั้งที่ 10 ปรากฏว่าปริมาตรน้ำลดลง
ไปเรื่อย ๆ

การแปลผล จากการตรวจสอบปริมาตรน้ำทั้ง 5 ค่าแรกจะเห็นว่าค่า accuracy และ precision
ของ pipette นี้ น่าจะดีพอสมควร แต่เมื่อทำการคำนวณจากค่าทั้ง 10 แล้วปรากฏว่าค่า accu-
racy และ precision ที่ตรวจหาใช้ไม่ได้เลย สาเหตุน่าจะเกิดจากการตรวจสอบไม่ดี คือใส่

tip กับตัว pipette ไม่แน่น เมื่อปล่อยน้ำแล้วลาก tip ไปกับข้างภาชนะบ่อย ๆ ทำให้ tip คลอนมากขึ้น มีผลทำให้ปริมาตรน้ำลดลงไปเรื่อย ๆ จึงทำให้ C.V. สูงมาก และ Mean ลดต่ำไปมากเช่นกัน

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

ลองใส่ tip ใหม่ให้แน่น ทำการตรวจสอบใหม่ ถ้าตัว pipette ปกติ ค่า Mean และ C.V. ควรจะดีขึ้น

กลุ่มที่ 5

ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ EPPENDORF

ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ได้ผลคือ

ก. Mean = 492.4 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท - 1.52 %)

ข. C.V. = 11.54 %

ค. ปริมาตรน้ำครั้งที่ 8 และ 9 แตกต่างไปจากครั้งอื่น ๆ มาก ปริมาตรของน้ำครั้งที่ 9 เป็นเกือบสองเท่าของปริมาตรน้ำครั้งที่ 8 แต่ปริมาตรน้ำทั้ง 10 ครั้ง ยกเว้นครั้งที่ 9 ก็ยังต่ำกว่า 500 ไมโครลิตร

การแปลผล pipette นี้ มี accuracy ที่ยอมรับได้ แต่ precision ไม่ดีเลยอาจเกิดจากการอ่านตัวเลขจากเครื่องซึ่งครั้งที่ 8 ผิด (เพียงครั้งเดียว) คือแทนที่จะอ่านได้ 16.7872 กรัม กลับอ่านเป็น 16.6872 กรัม มีผลทำให้ปริมาตรน้ำครั้งที่ 8 ต่ำ และครั้งที่ 9 สูงมาก เพราะปริมาตรครั้งที่ 9 ได้จากน้ำหนักรวมครั้งที่ 9 น้ำหนักรวมครั้งที่ 8

การอ่านตัวเลขจากเครื่องซึ่งผิดในลักษณะนี้ไม่มีผลต่อ Mean เพราะเฉลี่ยกันได้พอดี แต่จะมีผลต่อ C.V. ทำให้ได้ค่าสูงมาก

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

ลองทำการตรวจสอบปริมาตร pipette ใหม่ โดยระมัดระวัง จะทำให้ C.V. ดี

ขึ้น

กลุ่มที่ 6

ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ Oxford P-7000

ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ได้ผลคือ

ก. Mean = 513 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท + 2.6 %)

ข. C.V. = 2.43 %

ค. ปริมาตรน้ำครั้งที่ 1, 3 และ 8 สูงกว่าครั้งอื่น ๆ ทั้ง 7 ครั้ง

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

การแปลผล ดูจากข้อมูลจะเห็นว่า pipette นี้มี accuracy และ precision ไม่ดี แต่สาเหตุอาจมาจากปริมาตรน้ำครั้งที่ 1, 3 และ 8 ที่สูงกว่าครั้งอื่น ๆ มาก ซึ่งอาจเกิดจากการ overshoot เมื่อใช้ reverse technique เนื่องจากเฟลลวเวอร์ หรือเนื่องจากสปริงทั้งสองภายในตัว pipette แตกต่างกันไปชัดเจน

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

- 1) ลองตรวจสอบปริมาตรซ้ำใหม่โดยเพิ่มความระมัดระวังไม่ให้ overshoot
- 2) ถ้าแรงดันสปริงทั้งสองแตกต่างกันไม่ชัดเจนจริงก็เปลี่ยนสปริงใหม่

กลุ่มที่ 7

ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ MLA

ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ได้ผลคือ

ก. Mean = 94.6 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท - 5.4%)

ข. C.V. = 8.05 %

ค. ปริมาตรน้ำทั้ง 10 ครั้งต่ำกว่า 100 ไมโครลิตร อย่างมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งครั้งที่ 9 ต่ำมากกว่าครั้งอื่น ๆ ทั้ง 9 ครั้ง

การแปลผล pipette นี้ มี accuracy และ precision ไม่ดี ค่า Mean ที่ต่ำ เกิดจาก pipette ดูดน้ำได้น้อยกว่าที่กำหนด อาจเกิดจาก

1) tip สกปรก รูเล็ก เนื่องจากมีสารไปเคลือบภายใน หรือดูด pipette ไวเกินไป

2) สปริงของ pipette อ่อน ดูดน้ำได้ไม่เต็มที่

3) pipette ผิด ดูดน้ำได้ไม่สม่ำเสมอ

ส่วนครั้งที่ 9 ดูดน้ำได้ปริมาณต่ำมาก อาจเกิดจากตอนดูดน้ำยก tip ไวกว่าปกติ ทำให้ดูดอากาศเข้าไป ได้น้ำน้อย

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

ทำการตรวจสอบใหม่ โดยใช้ tip ใหม่ และใช้ pipette ให้ถูกต้อง ถ้า Mean ยังต่ำอยู่ก็แสดงว่า pipette ดูดได้ปริมาณน้อยกว่าปกติ ก็อาจเปลี่ยนสปริง, แทวนยาง, ทากริส แล้วตรวจสอบตามวิธีนี้ใหม่

สรุป

หลักการแปลผลการตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

- 1) ค่า Mean จะสะท้อนถึง accuracy ค่า Mean ที่ไม่ดีอาจเกิดจากตัว pi-

2) ค่า C.V. จะสะท้อนถึง precision ค่า C.V. ที่ไม่ดี อาจเกิดจากเทคนิคในการตรวจสอบไม่ถูกต้อง, tip ไม่สะอาด รวมทั้งความผิดปกติที่เกิดภายในตัว pipette เอาด้วย

หนังสืออ้างอิง

1. จดหมายข่าวห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ปีที่ 1 ฉบับที่ 2 ประจำเดือน ธันวาคม 2523
หน้า 8 - 16