

การพัฒนาวิธีการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียว

ระวีวรรณ วิเชียรทอง* มาลี อีรานุสนธิ์

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

* ผู้รับผิดชอบ โทรศัพท์: 02-5798908 -14 โทรสาร: 02-5798918 E-mail : qm_niah@yahoo.com

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียว โดยการดัดแปลงวิธี gravimetric method ตามมาตรฐาน ISO 8655-6 และประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดตามมาตรฐาน ISO/TR 20461 เพื่อทำการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียวด้วยตนเอง พบว่าผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ ได้ค่า error normalize ratio (En ratio) น้อยกว่า 1 ซึ่งผ่านเกณฑ์ตามมาตรฐาน ISO/IEC Guide 43-1 แสดงว่าวิธีการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียว และการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด มีความแม่นยำ และเชื่อถือได้ สามารถใช้สอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียวด้วยตนเองได้ เป็นการแก้ปัญหา การสอบเทียบไม่ตรงตามแผนที่กำหนด และช่วยประหยัดงบประมาณในการส่งสอบเทียบที่หน่วยบริการ สอบเทียบ

คำสำคัญ : การสอบเทียบ ไมโครปิเปตช่องทางเดียว

บทนำ

ตามที่ห้องปฏิบัติการสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ได้จัดทำระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 นั้น เครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบต้องได้รับการสอบเทียบก่อนนำมาใช้งาน เพื่อเป็นการตรวจสอบความแม่นยำ เทียบตรง ว่ามีความเหมาะสม เป็นไปตามเกณฑ์ที่ห้องปฏิบัติต้องการ และเป็นไปตามมาตรฐานที่เกี่ยวข้อง (ISO/IEC 17025, 2005) ซึ่งการสอบเทียบเครื่องมือสามารถให้บริการหน่วยบริการสอบเทียบที่ผ่านการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ในรายการและช่วงที่ต้องการสอบเทียบ หรือสอบเทียบด้วยตนเองแต่ต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งเป็นหน่วยรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ คือ ใช้วิธีสอบเทียบที่เป็นมาตรฐานสากล ใช้วัสดุอ้างอิงและมาตรฐานอ้างอิงที่ผ่านการสอบเทียบที่สามารถสอบกลับไปยัง SI units ได้ ในการสอบเทียบผู้สอบเทียบต้องได้รับการอบรมวิธีการสอบเทียบ และต้องประมาณค่าความไม่แน่นอนของผลการสอบเทียบ (ชมไนไล และอมร, 2551)

ไมโครปิเปตช่องทางเดียวเป็นเครื่องมือที่ห้องปฏิบัติสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาตินำมาใช้ในการดูด-จ่ายตัวอย่างและสารเคมีในขั้นตอนต่างๆของการตรวจชันสูตรโรคสัตว์ จึงจำเป็นต้องได้รับการสอบเทียบด้วย แต่ปัจจุบันพบว่าหน่วยบริการสอบเทียบที่ให้บริการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียวที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 มีจำนวนน้อย ทำให้เกิดปัญหาการสอบเทียบไม่เป็นไปตามแผนที่กำหนดไว้ และปัญหาการไม่มีไมโครปิเปตใช้ระหว่างส่งสอบเทียบ รวมทั้งจำนวนไมโครปิเปตมีจำนวนมากและบางห้องปฏิบัติการต้องการสอบเทียบสองครั้งต่อปี ต้องเสียค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมาก จึงต้องการแก้ปัญหาดังกล่าวโดยการสอบเทียบด้วยตนเอง ประกอบกับการที่ห้องปฏิบัติการมีเครื่องชั่งความละเอียด 5 ตำแหน่ง ที่มีอุปกรณ์เป็นภาชนะรองรับน้ำ และซอฟต์แวร์ช่วยในการสอบเทียบ ซึ่งซอฟต์แวร์นี้จะคำนวณค่าปริมาตรน้ำ ค่าความผิดพลาดเชิงระบบ (systematic error) และค่าผิดพลาดเชิงสุ่ม (random error) แต่ไม่ได้ประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (uncertainty of measurement) ซึ่งค่าความไม่แน่นอนของการวัด นั้นเป็น พารามิเตอร์ที่รวมมากับผลของการวัด ที่บอกการกระจายของการวัด บอกถึงคุณภาพของผลการวัดว่ามีความน่าเชื่อถือได้ดีเพียงใด การรายงานผลการวัดจึงต้องมีค่าความไม่แน่นอนของการวัดเสมอ เพื่อที่จะเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการวัดกับข้อกำหนดจำเพาะหรือมาตรฐาน หรือเกณฑ์ยอมรับสำหรับสิ่งที่ถูกวัด (อัจฉรา, 2548) และจากข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 กำหนดให้ห้องปฏิบัติการทดสอบที่ต้องสอบเทียบด้วยตนเองต้องจัดทำขั้นตอนการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (ISO/IEC 17025, 2005) จะเห็นได้ว่าค่าความไม่แน่นอนของการวัดนั้นเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องทำการประมาณค่าเมื่อทำการสอบเทียบเครื่องมืออื่นๆ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการพัฒนาวิธีการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียว ให้มีความสมบูรณ์โดยการดัดแปลงวิธี gravimetric method (ISO 8655-6, 2002) ใช้กับภาชนะรองรับน้ำที่เป็นอุปกรณ์ประกอบ

ของเครื่องชั่ง และมีขั้นตอนการประมาณค่าความไม่แน่นอนของวัด (ISO/TR 20461, 2000) เพื่อนำมาใช้เป็นวิธีการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียวด้วยตนเองของห้องปฏิบัติการสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เป็นการแก้ปัญหาการสอบเทียบไม่ตรงตามแผนที่กำหนด ลดปัญหาการไม่มีไมโครปิเปตใช้ระหว่างส่งไปสอบเทียบที่หน่วยบริการสอบเทียบ และช่วยประหยัดงบประมาณค่าใช้จ่ายในการส่งสอบเทียบ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

เครื่องชั่ง ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น AX205 ความละเอียด 5 ตำแหน่ง ภาชนะรองรับน้ำ พร้อม PC-volume software และคอมพิวเตอร์ เทอร์โมมิเตอร์สำหรับวัดอุณหภูมิห้อง เทอร์โมมิเตอร์สำหรับวัดอุณหภูมิห้อง บารอมิเตอร์สำหรับวัดความดันบรรยากาศ ไฮโกรมิเตอร์สำหรับวัดความชื้น ไมโครปิเปตช่องทางเดียว ชนิดปรับปริมาตรขนาด 10-100 μl จำนวน 1 อัน ปิเปตทิป และน้ำกลั่น 3 ครั้ง ซึ่งเครื่องชั่ง เทอร์โมมิเตอร์ บารอมิเตอร์ และไฮโกรมิเตอร์ ได้รับการสอบเทียบและผ่านตามมาตรฐานที่ระบุใน ISO 8655-6 (ISO 8655-6, 2002)

วิธีการ

การสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียว

ทำการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียว ชนิดปรับปริมาตรขนาด 10-100 μl ที่ปริมาตร 30 μl , 50 μl และ 100 μl โดยการดัดแปลงวิธี gravimetric method (ISO 8655-6, 2002) มาใช้กับภาชนะรองรับน้ำที่เป็นอุปกรณ์ประกอบของเครื่องชั่ง ซึ่งควบคุมการทำงานด้วย PC-volume software โดยนำไมโครปิเปตช่องทางเดียวที่ต้องการสอบเทียบ น้ำกลั่น วางไว้ในห้องสอบเทียบ ควบคุมสภาวะแวดล้อมในการสอบเทียบให้มีอุณหภูมิห้องอยู่ในช่วง $25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ อย่างน้อย 2 ชั่วโมง ก่อนการสอบเทียบ อุณหภูมิห้องเท่ากับอุณหภูมิห้อง $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ $50 \pm 10\%$ Rh และความดันบรรยากาศ $1010 \pm 5\text{ hPa}$ เปิดเครื่องชั่ง ติดตั้งภาชนะรองรับน้ำบนเครื่องชั่ง จากนั้นประกอบปิเปตทิปเข้ากับไมโครปิเปตช่องทางเดียว ปรับปริมาตรที่ต้องการสอบเทียบ ดูดน้ำกลั่นแล้วปล่อยทิ้ง 5 ครั้ง เพื่อไล่ความชื้นในส่วน dead air volume ปลดปิเปตทิปทิ้ง แล้วประกอบปิเปตทิปอันใหม่เข้ากับไมโครปิเปตช่องทางเดียว ดูดน้ำกลั่นแล้วปล่อยทิ้ง 1 ครั้ง จดบันทึกความชื้นสัมพัทธ์ ความดันบรรยากาศ อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้อง แล้วจึงดูดน้ำกลั่นแล้วปล่อยลงในภาชนะรองรับน้ำที่ติดตั้งบนเครื่องชั่ง ซึ่ง PC-volume software จะบันทึกน้ำหนักที่ชั่งได้ จากนั้น ดูดน้ำกลั่นแล้วปล่อยลงในภาชนะรองรับน้ำซ้ำอีก 9 ครั้ง จดบันทึกความชื้นสัมพัทธ์ ความดันบรรยากาศ อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิห้อง

การคำนวณปริมาตรน้ำและค่าความผิดพลาด

นำน้ำหนักน้ำที่ได้มาคำนวณหาปริมาตรน้ำที่ทำการส่งถ่ายที่ 20 °C ค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำที่ทำการส่งถ่ายที่ 20 °C โดยใช้สมการที่ (1) และ (2) ตามลำดับ คำนวณค่าความผิดพลาดเชิงระบบ (systematic error) ใช้สมการที่ (3) และ (4) และค่าความผิดพลาดเชิงระบบสุ่ม (random error) ใช้สมการที่ (5) และ (6)

$$V_i = m_i \cdot Z \cdot [1 - \alpha_c (t_d - t_{d20})] \quad \dots\dots\dots(1)$$

$$\bar{V} = \frac{1}{n} \times \sum_{i=1}^n V_i \quad \dots\dots\dots(2)$$

$$e_s = \bar{V} - V_s \quad \dots\dots\dots(3)$$

$$e_s(\%) = 100 (\bar{V} - V_s) / V_o \quad \dots\dots\dots(4)$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2}{n-1}} \quad \dots\dots\dots(5)$$

$$CV = 100 \frac{S}{\bar{V}} \times \frac{V_s}{V_o} \quad \dots\dots\dots(6)$$

โดยที่ V_i คือ ปริมาตรน้ำที่ทำการส่งถ่ายที่ 20 °C

m_i คือ น้ำหนักน้ำที่ทำการส่งถ่าย

Z คือ ค่าประกอบการปรับแก้สำหรับเปลี่ยนน้ำหนักน้ำเป็นปริมาตรขึ้นอยู่
กับอุณหภูมิและความดันบรรยากาศ

α_c คือ สัมประสิทธิ์การขยายตัว (cubic expansion coefficient) ของวัสดุ
ที่ทำทึบ ($\alpha_c = 10^{-5} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$)

t_d คือ อุณหภูมิที่ทำการทดสอบ (°C)

t_{d20} คือ อุณหภูมิอ้างอิงเท่ากับ 20 °C

$\bar{V}$ คือ ค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำที่ทำการส่งถ่ายที่ 20 °C

n คือ จำนวนครั้งที่ทำการทดสอบ ($n=10$)

e_s คือ ค่าความผิดพลาดเชิงระบบ

$e_s(\%)$ คือ ค่าความผิดพลาดเชิงระบบ (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์)

V_s คือ ปริมาตรที่เลือกทดสอบ

V_o คือ ปริมาตรสูงสุดของไมโครปิเปต

S คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่าความผิดพลาดเชิงระบบสุ่ม)

CV คือ ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (ค่าความผิดพลาดเชิงระบบสุ่ม
คิดเป็นเปอร์เซ็นต์)

การประมาณค่าความไม่แน่นอน

การประมาณค่าความไม่แน่นอนในการสอบเทียบไมโครปีเปิดช่องทางเดียว โดยประมาณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน type A (standard uncertainty of type A, u_a) และประมาณค่าความไม่แน่นอน type B (standard uncertainty of type B, u_b) แล้วคำนวณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม (combined standard uncertainty, u_c) และคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยาย (expanded uncertainty, U) (ISO/TR 20461, 2000)

การประมาณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน type A (u_a)

ประมาณค่าจากปริมาตรน้ำที่สอบเทียบซ้ำ นำมาคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่ากลาง

$$u_a = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

โดยที่ u_a คือ ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน type A

S คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

n คือ จำนวนครั้งที่ทำการทดสอบ ($n=10$)

การประมาณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน type B (u_b)

ประมาณค่าจากเครื่องมือ และสภาวะการสอบเทียบ ดังนี้

ความไม่แน่นอนมาตรฐานที่มาจากเครื่องชั่ง (u_{b1} , u_{b2} , u_{b3} , u_{b4} , u_{b5} , u_{b6})

u_{b1} = ค่าความไม่แน่นอนของเครื่องชั่ง (uncertainty) / coverage factor (k)

u_{b2} = ค่าความเที่ยงตรงของเครื่องชั่ง(repeatability) / $\sqrt{3}$

u_{b3} = ค่าความเที่ยงตรงของเครื่องชั่ง(repeatability) / $\sqrt{3}$

u_{b4} = ค่าความละเอียดของเครื่องชั่ง(resolution) / $2\sqrt{3}$

u_{b5} = ค่าความละเอียดของเครื่องชั่ง(resolution) / $2\sqrt{3}$

u_{b6} = ค่าความเป็นเส้นตรงของเครื่องชั่ง(linearity) / $\sqrt{3}$

ความไม่แน่นอนมาตรฐานที่มาจากน้ำ (u_{b7})

u_{b7} = ความแปรปรวนของอุณหภูมิน้ำ / $\sqrt{3}$

ความไม่แน่นอนมาตรฐานที่มาจากอากาศ (u_{b8} , u_{b9} , u_{b10})

u_{b8} = ความแปรปรวนของอุณหภูมิห้อง / $\sqrt{3}$

u_{b9} = ความแปรปรวนของความดันบรรยากาศ / $\sqrt{3}$

u_{b10} = ความแปรปรวนของความชื้นสัมพัทธ์ / $\sqrt{3}$

ความไม่แน่นอนมาตรฐานที่มาจากการส่งถ่ายของไมโครปีเปิด (u_{b11} , u_{b12})

u_{b11} = สัมประสิทธิ์การขยายตัวของวัสดุที่ทำทาบ / $\sqrt{3}$

u_{b12} = อุณหภูมิสอบเทียบที่ต่างจากอุณหภูมิอ้างอิง / $\sqrt{3}$

ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม (u_c)

คำนวณจากค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน type A และ ค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน type B รวมกันโดยการถอดรากที่สองของความไม่แน่นอนมาตรฐานกำลังสอง (root sum square)

$$u_c = \sqrt{[(C_a \cdot u_a)^2 + (C_w \cdot u_{b1})^2 + (C_w \cdot u_{b2})^2 + (C_w \cdot u_{b3})^2 + (C_w \cdot u_{b4})^2 + (C_w \cdot u_{b5})^2 + (C_w \cdot u_{b6})^2 + (C_{tw} \cdot u_{b7})^2 + (C_{ta} \cdot u_{b8})^2 + (C_{\rho a} \cdot u_{b9})^2 + (C_{\varphi} \cdot u_{b10})^2 + (C_{\alpha_c} \cdot u_{b11})^2 + (C_{td} \cdot u_{b12})^2]}$$

โดยที่ $C_a = 1$

$$C_w = 10^{-3} \frac{m^3}{kg} = 1 \frac{nl}{\mu g}$$

$$C_{tw} = 2.1 \times 10^{-7} \left(\frac{kg}{m^3} K \right)^{-1} \times m$$

$$C_{ta} = -4.5 \times 10^{-9} \left(\frac{kg}{m^3} K \right)^{-1} \times m$$

$$C_{\rho a} = 1.2 \times 10^{-9} \left(\frac{kg}{m^3} K \right)^{-1} \times m$$

$$C_{\varphi} = -1 \times 10^{-10} \left(\frac{kg}{m^3} \% \right)^{-1} \times m$$

$$C_{\alpha_c} = -10^{-3} \left(\frac{kg}{m^3} K \right)^{-1} \times m \times (t_d - 20^\circ C)$$

$$C_{td} = 10^{-8} \left(\frac{kg}{m^3} K \right)^{-1} \times m$$

ค่าความไม่แน่นอนขยาย (U)

คำนวณจากค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานรวมคูณด้วยค่า coverage factor (k)

$$U = k \cdot u_c$$

โดยที่ $k = 2$ at a level of confidence of approximately 95%

เกณฑ์การประเมินผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ โดยการนำไมโครปิเปตช่องทางเดียวที่สอบเทียบด้วยตนเองตามวิธีดังกล่าวข้างต้น แล้วส่งสอบเทียบที่หน่วยบริการสอบเทียบที่ผ่านการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 สอบเทียบที่ปริมาตร 30 μ l, 50 μ l และ 100 μ l ผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการจะตัดสินโดยใช้ error normalize ratio (En ratio) (พิชัย, 2551) ซึ่งเกณฑ์การประเมินผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ คือ $|En| \leq 1$ (ISO/IEC Guide 43-1, 1997) ค่า En ratio คำนวณได้จากสมการนี้

$$En = \frac{x - X}{\sqrt{U_{lab}^2 + U_{ref}^2}}$$

โดยที่ x = ผลการสอบเทียบด้วยตนเอง

X = ผลการสอบเทียบของหน่วยบริการสอบเทียบ

U_{lab} = ค่าความไม่แน่นอนของผลการสอบเทียบด้วยตนเอง

U_{ref} = ค่าความไม่แน่นอนของผลการสอบเทียบของหน่วยบริการสอบเทียบ

ผล

จากการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียวชนิดปรับปริมาตรขนาด 10 – 100 μl ที่ปริมาตร 30 μl , 50 μl และ 100 μl ด้วยตนเอง พบว่าค่าปริมาตรน้ำที่ 20 $^{\circ}\text{C}$ (Reading) ค่าความผิดพลาดเชิงระบบ (Error) ค่าความความผิดพลาดเชิงสุ่ม (CV) และค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ที่ 30 μl เท่ากับ 29.95 μl , -0.05 %, 0.15 % และ 0.10 μl ที่ 50 μl เท่ากับ 49.94 μl , -0.06 %, 0.20 % และ 0.13 μl ที่ 100 μl เท่ากับ 100.36 μl , 0.36 %, 0.18 % และ 0.12 μl ตามลำดับ โดยค่า $|En|$ จากการประเมินผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ ที่ 30 μl , 50 μl และ 100 μl เท่ากับ 0.1, 0.2 และ 0.8 ตามลำดับ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการสอบเทียบด้วยตนเองและหน่วยบริการสอบเทียบ

รายการตรวจสอบ	ผลการสอบเทียบที่ 30 μl		ผลการสอบเทียบที่ 50 μl		ผลการสอบเทียบที่ 100 μl	
	สอบเทียบด้วยตนเอง	หน่วยบริการสอบเทียบ*	สอบเทียบด้วยตนเอง	หน่วยบริการสอบเทียบ*	สอบเทียบด้วยตนเอง	หน่วยบริการสอบเทียบ*
Reading (μl)	29.95	29.96	49.94	49.98	100.36	100.21
Error (%)	-0.05	-0.04	-0.06	-0.02	0.36	0.21
CV (%)	0.15	0.12	0.20	0.13	0.18	0.16
Uncertainty $\pm$ (μl)	0.10	0.13	0.13	0.13	0.12	0.14
$ En $	0.1		0.2		0.8	

* = หน่วยบริการสอบเทียบสมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น)

วิจารณ์

การสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียว ชนิดปรับปริมาตรขนาด 10-100 μl ที่ปริมาตร 30 μl , 50 μl และ 100 μl ด้วยตนเองเปรียบเทียบกับผลการสอบเทียบโดยหน่วยสอบเทียบที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 พบว่าผลการสอบเทียบด้วยตนเองที่ปริมาตร 30 μl ได้ค่า Reading น้อยกว่าปริมาตรที่สอบเทียบและน้อยกว่าค่า Reading ของหน่วยบริการสอบเทียบ 0.01 μl (29.96 μl - 29.95 μl) ทำให้ค่า Error (%) มีค่าเป็นลบมากกว่าค่า Error (%) ของหน่วยบริการสอบเทียบ ส่วนค่า Uncertainty มีค่าน้อยกว่าค่า Uncertainty ของหน่วยบริการสอบเทียบ แสดงว่าผลการสอบเทียบด้วยตนเองมีการกระจายน้อยกว่า เมื่อนำมาประเมินค่า En ratio ได้ค่า $|En|$ เท่ากับ 0.1 ซึ่งผ่านเกณฑ์การประเมินผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ คือ $|En| \leq 1$ (ISO/IEC Guide 43-1, 1997) สำหรับผลการสอบเทียบด้วยตนเองที่ปริมาตร 50 μl ได้ค่า Reading น้อยกว่าปริมาตรที่สอบเทียบและน้อยกว่าค่า Reading ของหน่วยบริการสอบเทียบ 0.04 μl (49.98 μl - 49.94 μl) ทำให้ค่า Error (%) มีค่าเป็นลบมากกว่าค่า Error

(%) ของหน่วยสอบเทียบ ส่วนค่า Uncertainty มีค่าเท่ากับกับค่า Uncertainty ของหน่วยบริการสอบเทียบ เมื่อนำมาประเมินค่า En ratio ได้ค่า $|En|$ เท่ากับ 0.2 ซึ่งผ่านเกณฑ์การประเมินผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ ($|En| \leq 1$) และผลการสอบเทียบด้วยตนเองที่ปริมาตร 100 μl ได้ค่า Reading มากกว่าปริมาตรที่สอบเทียบและมากกว่าค่า Reading ของหน่วยบริการสอบเทียบ 0.15 μl (100.36 μl - 100.21 μl) ทำให้ค่า Error (%) มีค่าเป็นบวกมากกว่าค่า Error (%) ของหน่วยบริการสอบเทียบ ส่วนค่า Uncertainty มีค่าน้อยกว่าค่า Uncertainty ของหน่วยสอบเทียบ แสดงว่าผลการสอบเทียบด้วยตนเองมีการกระจายน้อยกว่า เมื่อนำมาประเมินค่า En ratio ได้ค่า $|En|$ เท่ากับ 0.8 ซึ่งผ่านเกณฑ์การประเมินผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ ($|En| \leq 1$) ดังแสดงในตารางที่ 1

ส่วนค่าความความผิดพลาดเชิงสัม (CV,%) ที่ได้จากการสอบเทียบ ไม่ได้นำมาตัดสินผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ แต่เป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงความเที่ยงตรง (Precision) ของไมโครปิเปตเพื่อนำมาใช้ในการประเมินความใช้ได้ของไมโครปิเปตช่องทางเดียวตามเกณฑ์มาตรฐาน ISO 8655-2 (ISO 8655-2, 2002)

สรุป

จากผลการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียว ชนิดปรับปริมาตรขนาด 10 – 100 μl ที่ปริมาตร 30 μl , 50 μl และ 100 μl ด้วยตนเองเปรียบเทียบกับผลการสอบเทียบโดยหน่วยบริการสอบเทียบที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ให้ค่า En ratio $|En|$ น้อยกว่า 1 ผ่านตามมาตรฐาน ISO/IEC guide 43-1 (ISO/IEC Guide 43-1, 1997) โดยแสดงว่าวิธีการสอบเทียบไมโครปิเปตที่ดัดแปลงจากวิธี gravimetric method ตามมาตรฐาน ISO 8655-6 (ISO 8655-6, 2002) มาใช้กับภาชนะรองรับน้ำที่เป็นอุปกรณ์ประกอบของเครื่องชั่ง และขั้นตอนการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดตามมาตรฐาน ISO/TR 20461 (ISO/TR 20461, 2000) มีความถูกต้อง เชื่อถือได้ สามารถนำไปสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียว ที่มีขั้นตอนการประมาณค่าความไม่แน่นอน ใช้ในการสอบเทียบไมโครปิเปตช่องทางเดียวด้วยตนเอง สามารถแก้ปัญหาการสอบเทียบไม่ตรงตามแผน ลดปัญหาการไม่มีเครื่องมือใช้ระหว่างส่งไปสอบเทียบที่หน่วยบริการสอบเทียบ ช่วยประหยัดงบประมาณ และเป็นแนวทางในการสอบเทียบไมโครปิเปตหลายช่องทางต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายอนุชิต เนื่อเย็น ที่เตรียมความพร้อมห้องสอบเทียบ สพ.ญ. रेखा คณิตพันธ์ และ น.สพ. เจษฎา รัตนโณภาส ที่ให้คำปรึกษา และขอขอบคุณทุกท่านที่ช่วยแนะนำทำให้ผลงานชิ้นนี้สำเร็จ ลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- ชมโฉไล สีนุสาร และอมร วงศ์รักษพานิช. 2551. คู่มือการตรวจประเมินเพื่อรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 และ ข้อกำหนดเงื่อนไขการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. บริษัท พี.เอ. ลีฟวิ่ง จำกัด. นนทบุรี. 87 หน้า.
- พิชัย มะคาทอง. 2551. ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการสอบเทียบมาตรฐานเครื่องมือวัด. การสอบเทียบเครื่องมือวัด. สุรพล วัฒนวงศ์ (บก.) สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น). กรุงเทพฯ. หน้า 86 - 96.
- อัฉรญา เจริญสุข. 2548. มาตรฐานเบื้องต้น. สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 34 หน้า.
- ISO/IEC Guide 43-1. 1997. Proficiency testing by interlaboratory comparisons – Part 1 : Development and operation of proficiency testing schemes. Geneva, Switzerland. 19 p.
- ISO/IEC 17025. 2005. General requirement for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva, Switzerland. 28 p.
- ISO/TR 20461. 2000. Determination of uncertainty for volume measurements made using the gravimetric method. Geneva, Switzerland. 10 p.
- ISO 8655-2. 2002 . Piston operated volumetric apparatus – Part 2 : Piston pipette. Geneva, Switzerland. 10 p.
- ISO 8655-6. 2002 . Piston operated volumetric apparatus – Part 6 : Gravimetric methods for the determination of measurement error. Geneva, Switzerland. 14 p.

Development of a calibration method for single channel micropipette

Rawiwan Wicheintong* Malee Teeranusonti

National Institute of Animal Health, Kasetklang, Chatuchak, Bangkok 10900

*Corresponding author Tel. 02-5798908 -14 Fax 02-5798918 E-mail : qm_niah@yahoo.com

Abstract

A calibration method for single channel micropipette was developed using modified gravimetric and estimation of measurement uncertainty by following instructions provided by ISO8655-6 and ISO/TR20461. The results from interlaboratory comparisons showed that error normalized ration (En ratio) was less than 1, thereby meeting ISO/IEC guide 43-1's requirements. The calibration method for single channel micropipette was accurate and reliable. This calibration method can also help save budget and is easy for laboratory workers to perform the test by themselves.

Key words: calibration single channel micropipette