



UPM
UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA
BERILMU BERBAKTI



**Universiti
Putra
Malaysia**

#WeLoveUPM

KALIBRASI DAN VERIFIKASI ISIPADU (MICROPIPETTE)

VERIFIKASI MICROPIPETTES

❖ Material yang diperlukan

1. *Analytical balance*
2. Air suling (dalam silinder penyukat)
3. *Glass Thermometer*, accuracy to 0.1°C
4. *Weighing vessel* (nisbah diameter: tinggi sekurang-kurangnya 1:3)
5. *Thermohygrometer*
6. *Micropipette* (UUT)
7. Air suling (dalam bikar)



Persediaan sebelum menjalankan verifikasi

1. Gunakan analytical balance yang mempunyai *accuracy* 0.0001g dan telah dihantar untuk penentukuran luaran
2. Pastikan *analytical balance* tersebut diletakkan di tempat yang mempunyai getaran ('vibration') yang minimum
3. Jika perlu, pastikan gelembung air pada *analytical balance* tersebut berada di tengah-tengah
4. *Switch on* peralatan *analytical balance* tersebut sekurang-kurangnya 30 minit sebelum verifikasi
5. Jalankan proses verifikasi micropipette di dalam bilik yang mempunyai keadaan persekitaran terkawal iaitu
 - * kelembapan relatif melebihi 50% untuk mengurangkan kesan evaporasi
 - * suhu yang stabil (0.5°C) di antara 15°C hingga 30°C



Persediaan sebelum menjalankan verifikasi



Video 1 Persediaan sebelum verifikasi micropipettes



Persediaan sebelum menjalankan verifikasi

6. Pastikan micropipettes (UUT) yang hendak diuji berada dalam keadaan yang baik, bersih dan kering
7. Pastikan tangan operator berada dalam keadaan bersih
8. Pastikan air suling di dalam silinder penyukat dibiarkan berada dalam persekitaran terkawal sekurang-kurangnya 2 jam untuk mencapai keseimbangan dengan keadaan persekitaran bilik tersebut
9. Rujuk *The Density of Water* (BIGG)
Density of water is temperature dependent.
Cool water below 20°C is the most accurate

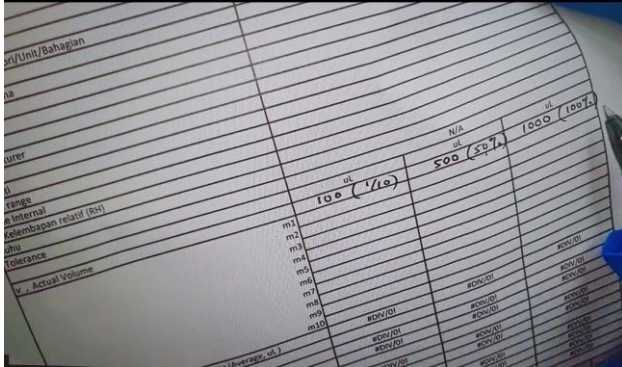


TATACARA

1. Bagi micropipettes yang boleh menyukat banyak isipadu (*variable-volume*), sekurang-kurangnya 3 isipadu perlu diuji. Contohnya, micropipettes P200. Maka, isipadu yang perlu diuji adalah:
 - 10% of nominal volume= 20 μL ,
 - 50% of nominal volume= 100 μL
 - nominal volume= 200 μL
2. Bagi micropipette yang akan diuji, gunakan tips bersesuaian atau yang dicadangkan oleh pembekal (jika perlu). Contohnya, micropipettes eppendorf menggunakan tips yang dibekalkan oleh eppendorf.
3. 'Resuspend/ pre-wet' tips tersebut lebih kurang 5 kali dengan air suling untuk mencapai keseimbangan kelembapan



TATACARA



Video 2 Weighing Vessel

Video 3 Internal Scale P200

Video 4 Internal Scale P1000

Video 5 multichannel pipettes and internal scale eppendorf pipette

Youtube 8 Sartorius Pre-wet the tips (Resuspend)

Video 7 correction from certificate of calibration Analytical balance and 3 types of volumes



TATACARA

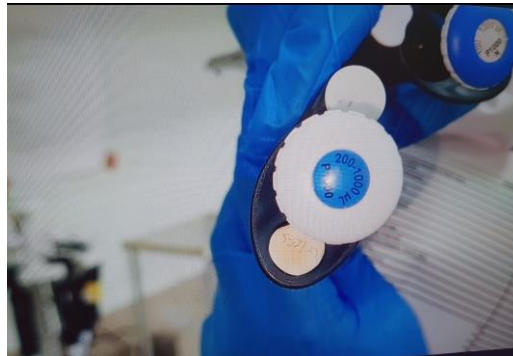
4. Tambahkan sedikit air suling di dalam weighing vessel dan letakkan weighing vessel tersebut di atas balance pan dan tekan 'tare'. Gunakan plasticin untuk menstabilkan kedudukan weighing vessel tersebut (jika perlu)
5. Tekan sepenuhnya UUT (2 stops), isikan tip dengan air suling (dalam bikar) dengan cara memasukkan tip tersebut lebih kurang 2 mm ke 3 mm ke dalam air suling. Lepaskan button UUT secara perlahan. Dengan berhati-hati, keluarkan UUT secara vertical daripada permukaan air suling
6. Pindahkan UUT tersebut ke dalam weighing vessel di atas *balance pan*. Masukkan tip 2mm ke 3 mm di dalam air suling (dalam weighing vessel) dan tekan UUT (1 stop), dan catatkan bacaannya dan tekan 'tare'
7. Ulang langkah 5 dan 6 sehingga 10 bacaan. Tekan 'tare' setiap kali selepas mencatat bacaan



TATACARA

Video 6 *Reverse Pipetting*

Video 9 *Pipetting the volume and fill in the Verification of Micropipettes Form*





Volume	Delivered volume by the handpipette (Average, μL)	Correction of weight	True reading	Water Density at T	Conversion to dose volumes, X	Volume delivered, $(x \mu\text{L})$	Relative error, $(x - V) / (V) (\%)$	Standard Deviation, $(s) (\mu\text{L})$	Coefficient of variation, $(s / \bar{x}) \times 100 (\%)$
m1	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m2	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m3	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m4	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m5	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m6	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m7	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m8	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m9	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m10	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02

Note: Calibrated by Mohd Sahali Bahrom

Volume	Delivered volume by the handpipette (Average, μL)	Correction of weight	True reading	Water Density at T	Conversion to dose volumes, X	Volume delivered, $(x \mu\text{L})$	Relative error, $(x - V) / (V) (\%)$	Standard Deviation, $(s) (\mu\text{L})$	Coefficient of variation, $(s / \bar{x}) \times 100 (\%)$
m1	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m2	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m3	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m4	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m5	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m6	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m7	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m8	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m9	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02
m10	100	0.0000	0.0000	0.9998	0.9998	99.98	-0.02	0.0001	0.02



Jadual *The Density of Water*(BIGG)

Appendix 1 The Density of Water (BIGG)
(kg/m³)

°C	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	
0	999	8396	8453	8528	8591	8653	8713	8771	8827	8882	8934
1	999	8985	9034	9082	9127	9171	9214	9254	9293	9330	9365
2	999	9399	9430	9459	9489	9516	9541	9564	9586	9606	9625
3	999	9642	9657	9674	9683	9692	9701	9708	9713	9717	9720
4	999	9719	9713	9718	9711	9706	9698	9689	9679	9668	9653
5	999	9637	9621	9602	9582	9561	9538	9513	9487	9460	9431
6	999	9400	9368	9335	9300	9263	9225	9186	9145	9102	9058
7	999	9013	8966	8913	8868	8817	8754	8710	8654	8597	8539
8	999	8472	8418	8355	8291	8226	8155	8091	8021	7950	7878
9	999	7804	7729	7652	7574	7495	7414	7332	7249	7164	7078
10	999	6991	6901	6812	6721	6628	6534	6438	6342	6244	6144
11	999	6044	5942	5839	5734	5628	5521	5413	5303	5192	5080
12	999	4966	4852	4736	4618	4500	4380	4259	4136	4013	3888
13	999	3782	3655	3526	3397	3266	3133	2998	2863	2729	2592
14	999	2434	2295	2154	2012	1869	1725	1579	1433	1285	1136
15	999	0985	0834	0682	0528	0373	0217	0060	*9902	9742	9581
16	998	9420	9257	9093	8927	8761	8593	8425	8255	8084	7912
17	998	7739	7563	7389	7214	7035	6856	6676	6495	6313	6130
18	998	5946	5760	5574	5388	5198	5008	4817	4625	4432	4238
19	998	4043	3847	3650	3453	3255	3051	2850	2649	2446	2239
20	998	2033	1826	1619	1410	1200	0989	0777	0564	0350	0134
21	997	9918	9701	9483	9264	9043	8822	8600	8376	8152	7927
22	997	7700	7473	7245	7015	6785	6554	6321	6088	5854	5618
23	997	5382	5144	4906	4667	4427	4185	3943	3700	3456	3210
24	997	2964	2717	2469	2220	1970	1719	1467	1214	960	0706
25	997	0450	0193	*9935	9677	9417	9157	8895	8633	8369	8105
26	996	7840	7574	7307	7039	6770	6500	6229	5957	5685	5411
27	996	5137	4861	4585	4308	4029	3750	3470	3190	2908	2625
28	996	2341	2057	1771	1485	1198	0910	0621	0331	0040	*9748
29	995	9456	9162	8868	8573	8277	7980	7682	7381	7081	6783
30	995	6482	6179	5876	5572	5267	4962	4655	4348	4039	3730
31	995	3420	3109	2797	2485	2171	1857	1542	1225	0909	0591
32	995	0273	*9930	9613	9312	8990	8667	8343	8019	7694	7368
33	994	7041	6731	6384	6035	5725	5396	5062	4729	4395	4061
34	994	3726	3390	3053	2716	2377	2038	1698	1357	1015	0673
35	994	0330	*9986	9641	9295	8949	8601	8253	7904	7555	7204
36	993	6853	6501	6148	5795	5440	5085	4729	4373	4015	3657
37	993	3393	3038	2678	2316	1954	1491	1128	0763	0398	0032
38	992	9666	9298	8930	8561	8191	7821	7450	7078	6705	6331
39	992	5957	5582	5207	4830	4452	4075	3697	3317	2937	2556
40	992	2175	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* The units figure here decreases to the next smaller digit.



Jadual *The Density of Water*(BIGG)

Contoh: Density of water pada suhu 21.3°C

997.9264 kg/m³






997926.4 mg/L



0.997926 mg/μL

Sijil penentukuran *Analytical balance*

CERTIFICATE OF CALIBRATION

DATE OF ISSUE : 26 January 2015 CERTIFICATE NUMBER : SST/SAR/2015A/792

PAGE 2 OF 2 PAGES

Instrumnet : Analytical Balance Serial No.: D307021405

CALIBRATION RESULTS

Manufacturer : Shimadzu Capacity : 220 g x 0.0001 g

Model No. : ATX224 Cal. Range : 100 g x 0.0001 g

A) INSTRUMENTAL ERROR TEST (Linearity Test)

Nominal Value g	Error Before Adjust g	Error After Adjust g
0.001	0.0000	N/A
0.005	0.0000	N/A
0.010	0.0000	N/A
0.020	0.0000	N/A
0.030	0.0000	N/A
0.050	0.0000	N/A
0.100	0.0000	N/A
0.200	0.0000	N/A
0.500	0.0000	N/A
100.000	0.0000	N/A

B) REAPEATABILITY TEST

Test Point g	Standard Deviation(±) g
25	0.00003
50	0.00000
75	0.00000
100	0.00005

C) OFF CENTRE TEST

Position	Error
Centre	Reference
Front	0.0000 g
Back	0.0000 g
Left	0.0000 g
Right	0.0000 g

*Note : Calibrated value = Nominal value - Error
Linearity Spec : Not Available (N/A)
Calibration range requested by customer*

Calibrated by: Mohd Suhaili Bahrom
Mohd Suhaili Bahrom

The uncertainties are for a confidence probability of approximately 95%.
This certificate is issued in accordance with the conditions of accreditation granted by the SAMM which has assessed the measurement capability of the laboratory and its traceability to recognised national standards and to the units of measurement realised at the corresponding national standards laboratory. Copyright of this certificate is owned by the issuing laboratory and may not be reproduced or used in full except with the prior written approval of the Head of the issuing laboratory.



Penentuan / verifikasi *Multichannel Pipette*

Multichannel pipette 8-channel or 12-channel

Contoh:

Multichannel pipette 12-channel (30-30 μL)

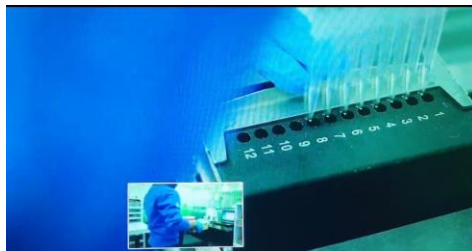
10% = 30 μL (0.0300 gram)

50% = 150 μL (0.1500 gram)

100% = 300 μL (0.3000 gram)

→ setiap channel

Maka, total readings bagi 12-channel pipette = 30 readings x 12 channel



Sumber gambar: youtube Metler Toledo, Sartorius



Low volume micropipettes (P2,P10,P20)

Micropipette (P20)

10% = 2 μ L (0.0020 gram)

50% = 10 μ L (0.0100 gram)

100% = 20 μ L (0.0200 gram)

Micropipette (P10)

10% = 1 μ L (0.0010 gram)

50% = 5 μ L (0.0050 gram)

100% = 10 μ L (0.0100 gram)

Micropipette (P2)

10% = 0.2 μ L (0.0002 gram)

50% = 1 μ L (0.0010 gram)

100% = 2 μ L (0.0020 gram)

1 gram = 1 mL

1 mL = 1000 μ L

1 gram = 1000 μ L



Pipette Volume Range	Liquid Size	Balance Display	Type of Balance Required
1ml, 5ml, 10ml	1 gram – 10 gram	1.000 – 10.000	Analytical
300 μ l, 200 μ l, 100 μ l	100 milligrams – 300 milligrams	0.100 – 0.300	Analytical
50 μ l, 20 μ l, 10 μ l, 2 μ l	2 milligrams – 50 milligrams	0.000200 – 0.005000	Ultra-Microbalance – 7 Place preferred

Sumber gambar: google, youtube sartorius dan metler toledo



Borang Laporan Verifikasi

PTJ : _____
Jabatan/Laboratori/Unit/Bahagian : _____
Makmal/Bilik : _____
Nama Pelaksana : _____ Tarikh Verifikasi : _____
Tarikh Verifikasi Semula : _____
Nama Alat : _____ No. Siri / No ID : _____
Jenama : _____ Model : _____
Prosedur Verifikasi : _____ Standard Rujukan : _____
Kelembapan Relatif (RH) : _____% Suhu : _____ °C

Bil	Nilai petunjuk	Bacaan Alat			Purata Bacaan (T)	Nilai Standard (S)	Error Alat (T-S)
		I	II	III			

* Sila lampirkan maklumat atau data berkaitan sekiranya borang ini tidak bersesuaian

Ulasan Verifikasi (Nyatakan sama ada alatan memenuhi julat yang diterima (*Acceptable Range*) :

Pengesahan Verifikasi Oleh JKT /
Pegawai Penyelaras Makmal

(Tandatangan dan cap rasmi)



Contoh data verifikasi micropipette

BORANG LAPORAN VERIFIKASI MICROPIPETTES						
PTJ	IBS					
Jabatan/Laboratori/Unit/Bahagian	Laboratori Vaksin dan Biomolekul					
Makmal/Bilik	VacBio 1					
Nama Pelaksana	Haszalina					
Tarikh	Thursday, September 2, 2021					
Nama Alat	Micropipette					
No. Siri	JD 24623					
Manufacturer	Gilson					
Model	Pipetman					
Kapasiti	1000 uL					
Scale range	100-1000 uL					
Scale Internal	2 uL					
% Kelembapan relatif (RH)	73.0%					
Suhu	21.3°C					
Tolerance	N/A					
		uL		uL		uL
v , Actual Volume		100.0000		500.0000		1000.0000
	m1	0.1076		0.5037		1.0025
	m2	0.1068		0.5035		1.0021
	m3	0.1048		0.5032		1.0019
	m4	0.1032		0.5029		1.0017
	m5	0.1025		0.5026		1.0029
	m6	0.1022		0.5025		1.0033
	m7	0.1018		0.5015		1.0015
	m8	0.1009		0.5011		1.0011
	m9	0.1007		0.5008		1.0012
	m10	0.1002		0.5004		1.0009
a) Delivered volume by the handpipette (Average, uL)		0.1031		0.5022		1.0019
Correction of weight		0.0000		0.0000		0.0000
True reading (average - correction of weight)		0.1031		0.5022		1.0019
c) Delivered volume by the handpipette (x 1000)		103.0700		502.2200		1001.9100
d) Distilled water Density at 22.0 °C		0.9978		0.9978		0.9978
Conversion to dose volumes , (x uL)		103.3004		503.3273		1004.1191
Mean volume delivered		103.0700		502.2200		1001.9100
(v, uL)		100.0000		500.0000		1000.0000
(systematic error, (x-v) (uL))		3.3004		3.3273		4.1191
relative error, ((x-v)/v x 100) (%)		3.3004		0.6655		0.4119
Standard Deviation, s (uL)		0.0026		0.0012		0.0008
Coefficient of variation, Cv = 100s/x (%)		0.0025		0.0002		0.0001
Accuracy	Error	Test Limit	Error	Test Limit	Error	Test Limit
systematic error (uL)	3.3004	8.00	3.3273	8.00	4.1191	8.00
Relative error (%)	3.3004	8.00	0.6655	1.60	0.4119	0.80
Results	pass		pass		pass	
Repeatability	Error	Test Limit	Error	Test Limit	Error	Test Limit
Random error / Standard Deviation (uL)	0.0026	3.00	0.0012	3.00	0.0008	3.00
Coefficient of variation (%)	0.0025	3.00	0.0002	0.60	0.0001	0.30
Results	pass		pass		pass	
Disediakan oleh:						
Disahkan oleh:						



Contoh data verifikasi micropipette

Accuracy	Error	Test Limit	Error	Test Limit	Error	Test Limit
systematic error (uL)	3.3004	8.00	3.3273	8.00	4.1191	8.00
Relative error (%)	3.3004	8.00	0.6655	1.60	0.4119	0.80
Results	pass		pass		pass	
Repeatability	Error	Test Limit	Error	Test Limit	Error	Test Limit
Random error / Standard Deviation (uL)	0.0026	3.00	0.0012	3.00	0.0008	3.00
Coefficient of variation (%)	0.0025	3.00	0.0002	0.60	0.0001	0.30
Results	pass		pass		pass	



Appendix 1: Error limit for single channel pipette

Appendix 1

ISO 8655 error limits for single channel pipettes

Range	Volume (µl)	Maximum permissible systematic error (ACC)		Maximum permissible random error (CV)	
		±µl	±%	µl	%
0.2-2µl	2	0.080	4.00	0.040	2.00
	1	0.080	8.00	0.040	4.00
	0.2	0.080	40.00	0.040	20.00
0.3-3µl	3	0.125	4.17	0.075	2.50
	1.5	0.125	8.33	0.075	5.00
	0.3	0.125	41.67	0.075	25.00
0.5-5µl	5	0.125	2.50	0.075	1.50
	2.5	0.125	5.00	0.075	3.00
	0.5	0.125	25.00	0.075	15.00
0.5-10µl	10	0.120	1.20	0.080	0.80
	5	0.120	2.40	0.080	1.60
	1	0.120	12.00	0.080	8.00
2-20µl	20	0.20	1.00	0.10	0.50
	10	0.20	2.00	0.10	1.00
	2	0.20	10.00	0.10	5.00
3-30µl	30	0.50	1.67	0.20	0.67
	15	0.50	3.33	0.20	1.33
	3	0.50	16.67	0.20	6.67
5-40µl	40	0.50	1.25	0.20	0.50
	20	0.50	2.50	0.20	1.00
	5	0.50	10.00	0.20	4.00
5-50µl	50	0.50	1.00	0.20	0.40
	25	0.50	2.00	0.20	0.80
	5	0.50	10.00	0.20	4.00
10-100µl	100	0.80	0.80	0.30	0.30
	50	0.80	1.60	0.30	0.60
	10	0.80	8.00	0.30	3.00
40-200µl	200	1.60	0.80	0.60	0.30
	100	1.60	1.60	0.60	0.60
	40	1.60	4.00	0.60	1.50
20-200µl	200	1.60	0.80	0.60	0.30
	100	1.60	1.60	0.60	0.60
	20	1.60	8.00	0.60	3.00
30-300µl	300	4.00	1.33	1.50	0.50
	150	4.00	2.67	1.50	1.00
	30	4.00	13.33	1.50	5.00
200-1000µl	1000	8.00	0.80	3.00	0.30
	500	8.00	1.60	3.00	0.60
	200	8.00	4.00	3.00	1.50
100-1000µl	1000	8.00	0.80	3.00	0.30
	500	8.00	1.60	3.00	0.60
	100	8.00	8.00	3.00	3.00
0.5-5ml	5000	40.00	0.80	15.00	0.30
	2500	40.00	1.60	15.00	0.60
	500	40.00	8.00	15.00	3.00
1-5 ml	5000	40.00	0.80	15.00	0.30
	2500	40.00	1.60	15.00	0.60
	1000	40.00	4.00	15.00	1.50
1-10 ml	10000	60.00	0.60	30.00	0.30
	5000	60.00	1.20	30.00	0.60
	1000	60.00	6.00	30.00	3.00
2-10 ml	10000	60.00	0.60	30.00	0.30
	5000	60.00	1.20	30.00	0.60
	2000	60.00	3.00	30.00	1.50



Link from YouTube:

<https://youtu.be/nLvICEEnLBnE>

<https://youtu.be/fyOV9iyZMNY>

<https://youtu.be/oOh5k4fw0LQ>

<https://youtu.be/-LyFgtYx1u4>

<https://youtu.be/MBq55FtOzN4>

Soalan kuiz:

1. *Measurement of Uncertainty* yang terlibat dalam kalibrasi micropipette?
2. Prinsip dalam kalibrasi/verifikasi micropipettes?
3. Sebutkan persediaan yang diperlukan sebelum kalibrasi/ verifikasi micropipettes.








UPM
UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA
BERILMU BERBAKTI



Terima Kasih

 UniPutraMalaysia

 @uputramalaysia

 uniputramalaysia

 universitiputramalaysia

PERTANIAN • INOVASI • KEHIDUPAN

BERILMU BERBAKTI
WITH KNOWLEDGE WE SERVE