

# DIN EN ISO 23783-2:2024-04 (D)

Automatisierte Flüssigkeitsdosiersysteme - Teil 2: Messverfahren zur Bestimmung der volumetrischen Leistung (ISO 23783-2:2022); Deutsche Fassung EN ISO 23783-2:2023

---

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	11
Vorwort.....	12
Einleitung.....	13
1 Anwendungsbereich.....	14
2 Normative Verweisungen.....	14
3 Begriffe.....	14
4 Abkürzungen.....	14
5 Messverfahren.....	14
5.1 Überblick über geeignete Verfahren zur Messung der ALHS-Leistung.....	14
5.2 Photometrische Verfahren.....	23
5.2.1 Ratiometrisch-photometrisches Verfahren mit zwei Chromophoren.....	23
5.2.2 Photometrisches Verfahren mit einem Chromophor.....	23
5.2.3 Fluoreszenzverfahren.....	23
5.3 Gravimetrische Verfahren.....	24
5.3.1 Einkanal-Verfahren.....	24
5.3.2 Regressionsanalyse.....	24
5.4 Photometrisch-gravimetrisches Hybridverfahren.....	24
5.5 Maßverfahren.....	25
5.5.1 Optische Bildanalyse von Tröpfchen.....	25
5.5.2 Optische Bildanalyse von Kapillaren.....	25
6 Geräte und Vorbereitung.....	26
6.1 Prüfgerät.....	26
6.2 Handbetätigte Ein- und Mehrkanalpipetten.....	27
6.3 Vorbereitung der Prüfung.....	27
7 Wärmeausdehnung.....	28
8 Rückverfolgbarkeit und Messsystemunsicherheit.....	28
8.1 Rückverfolgbarkeit.....	28
8.2 Schätzung der Messsystemunsicherheit.....	28
8.2.1 Ansatz für das gesamte System.....	28
8.2.2 Messmodell-Ansatz.....	29
9 Dokumentation.....	29
Anhang A (normativ) Berechnung von Flüssigkeitsvolumina anhand von Wägewerten.....	30
A.1 Berechnung des Flüssigkeitsvolumens anhand des Wägewerts.....	30
A.1.1 Allgemeine Gleichung für das Volumen.....	30
A.1.2 Berechnung der Luftdichte.....	30
A.1.3 Berechnung der Wasserdichte.....	31
A.1.4 Prüfung von anderen Flüssigkeiten als Wasser.....	31
A.2 Korrekturfaktoren für die Überführung der Wägewerte in Volumen.....	32
Anhang B (normativ) Ratiometrisch-photometrisches Verfahren mit zwei Chromophoren.....	34
B.1 Allgemeines.....	34

B.2	Prüfgerät .....	34
B.2.1	Allgemeines .....	34
B.2.2	Mikroplatten-Absorptionslesegerät .....	34
B.2.3	Spektralphotometer .....	34
B.2.4	Mikroplatten .....	35
B.2.5	Kalibrierplatte .....	35
B.2.6	Mikroplattenschüttler .....	35
B.2.7	Waage .....	35
B.2.8	Andere Prüfgeräte .....	35
B.2.9	Volumenmessgeräte aus Glas, Genauigkeitsklasse A .....	36
B.3	Reagenzien .....	36
B.3.1	Allgemeine Anforderungen .....	36
B.3.2	Wasser .....	36
B.3.3	Haltbarkeit der Lösungen .....	36
B.3.4	Herstellung von Reagenzlösungen .....	37
B.4	Prüfbedingungen .....	37
B.5	Verfahren .....	38
B.5.1	Herstellung .....	38
B.5.2	Prüfverfahren für die Trockenabgabe .....	38
B.5.3	Prüfverfahren für die Nassabgabe .....	39
B.6	Volumenberechnungen .....	39
B.7	Rückverfolgbarkeit .....	40
<b>Anhang C (normativ) Photometrisches Verfahren mit einem Chromophor .....</b>		<b>41</b>
C.1	Allgemeines .....	41
C.2	Anwendbare Volumenbereiche .....	41
C.3	Prüfgerät .....	41
C.3.1	Allgemeines .....	41
C.3.2	Handbetätigte Pipetten .....	41
C.3.3	Waagen .....	41
C.3.4	Mikroplattenlesegerät .....	42
C.3.5	Mikroplatten .....	42
C.3.6	Volumenmessgeräte aus Glas .....	42
C.4	Reagenzien .....	42
C.4.1	Verwendete Chemikalien .....	42
C.4.2	Puffer 0,1 M .....	42
C.4.3	Orange-G-Prüfflüssigkeiten 8,0 g/l .....	43
C.4.4	Orange-G-Prüfflüssigkeit 2,0 g/l .....	43
C.4.5	Orange-G-Prüfflüssigkeit 1,6 g/l .....	43
C.4.6	Orange-G-Prüfflüssigkeit 0,2 g/l .....	43
C.5	Prüfbedingungen .....	43
C.6	Prüfverfahren .....	43
C.6.1	Kalibrierkurven .....	43
C.6.2	Prüfverfahren .....	45
C.7	Berechnung des Volumens .....	46
C.8	Rückverfolgbarkeit .....	46
<b>Anhang D (normativ) Gravimetrisches Verfahren, Einkanalmessung .....</b>		<b>47</b>
D.1	Allgemeines .....	47
D.2	Prüfgerät .....	47
D.2.1	Waage .....	47
D.2.2	Flüssigkeitsbehälter .....	47
D.2.3	Wägegefäß .....	47
D.2.4	Umgebungsbedingungen für die Prüfgeräte .....	47
D.3	Prüfflüssigkeit .....	47
D.4	Prüfbedingungen .....	48
D.5	Verfahren .....	48
D.5.1	Vorbereitung .....	48
D.5.2	Verdunstung .....	48

D.5.3	Volumenmessung.....	49
D.6	Volumenberechnungen.....	50
D.6.1	Korrektur bezüglich der Verdunstung.....	50
D.6.2	Überführung der korrigierten Massen in Volumina.....	50
D.7	Rückverfolgbarkeit.....	50
<b>Anhang E (normativ) Gravimetrisches Regressionsverfahren.....</b>		<b>51</b>
E.1	Allgemeines.....	51
E.2	Prüfgerät.....	51
E.2.1	Allgemeine Anforderungen.....	51
E.2.2	Prüfflüssigkeiten.....	51
E.3	Umgebungsbedingungen.....	52
E.4	Messaufbau.....	52
E.5	Verfahren.....	52
E.5.1	Massenmessungen.....	52
E.5.2	Volumenbestimmung.....	52
E.6	Berechnung des Abgabevolumens.....	54
E.6.1	Abgabevolumen.....	54
E.6.2	Systematische Messabweichung.....	54
E.6.3	Zufällige Messabweichung.....	55
E.7	Rückverfolgbarkeit.....	57
<b>Anhang F (normativ) Photometrisch-gravimetrisches Hybridverfahren.....</b>		<b>58</b>
F.1	Allgemeines.....	58
F.2	Prüfgerät.....	58
F.2.1	Allgemeines.....	58
F.2.2	Laborgeräte.....	58
F.2.3	Mikroplattenlesegerät.....	58
F.2.4	Mikroplattenschüttler.....	59
F.2.5	Waage, Thermometer, Hygrometer, Barometer und Zeitgeber.....	59
F.3	Reagenzien.....	59
F.3.1	Allgemeine Anforderungen.....	59
F.3.2	Verwendete Chemikalien.....	60
F.3.3	Prüfflüssigkeiten.....	60
F.4	Prüfumgebung.....	62
F.5	Verdunstung.....	63
F.6	Linearität des Systems.....	63
F.7	Verfahren.....	63
F.7.1	Schritt der gravimetrischen Messung.....	63
F.7.2	Schritt der photometrischen Messung.....	66
F.8	Berechnung des Abgabevolumens.....	68
F.9	Rückverfolgbarkeit.....	68
<b>Anhang G (normativ) Optische Bildanalyse von Tröpfchen.....</b>		<b>69</b>
G.1	Allgemeines.....	69
G.2	Prüfgerät.....	69
G.2.1	Anforderungen.....	69
G.2.2	Bildkontrast.....	70
G.2.3	Bildunschärfe.....	70
G.3	Messaufbau.....	73
G.4	Prüfflüssigkeiten.....	73
G.5	Umgebungsbedingungen.....	73
G.6	Verfahren.....	73
G.6.1	Installation des DUT.....	73
G.6.2	Kalibrierung der Kamera und des optischen Systems.....	74
G.6.3	Bilderfassung.....	75
G.6.4	Bildverarbeitung.....	76
G.7	Berechnung des Abgabevolumens.....	77
G.7.1	Allgemeines.....	77

G.7.2	Abgabevolumen .....	77
G.7.3	Systematische Messabweichung .....	78
G.7.4	Zufällige Messabweichung .....	78
G.8	Rückverfolgbarkeit.....	78
<b>Anhang H (normativ) Fluoreszenzverfahren.....</b>		<b>79</b>
H.1	Allgemeines.....	79
H.2	Prüfgerät.....	79
H.2.1	Fluoreszenz-Plattenlesegerät .....	79
H.2.2	Fluoreszenz-Referenzplatte.....	79
H.2.3	Flüssigkeitsdosierer .....	79
H.2.4	Mikroplatten.....	79
H.2.5	Plattenschüttler .....	80
H.2.6	Plattenzentrifuge.....	80
H.2.7	Andere Prüfgeräte .....	80
H.2.8	Geräte aus Glas.....	80
H.2.9	Pipetten .....	80
H.2.10	Weitere Materialien .....	80
H.3	Prüfflüssigkeiten .....	80
H.3.1	Allgemeines.....	80
H.3.2	Vorbereitung von Prüfflüssigkeiten.....	81
H.4	Umgebungsbedingungen .....	83
H.5	Verfahren.....	83
H.5.1	Allgemeines.....	83
H.5.2	Drift- und Linearitätsprüfung eines Fluoreszenz-Mikroplattenlesegeräts.....	83
H.5.3	Fluoresceinkonzentrationsprüfung.....	84
H.5.4	ALHS-Prüfverfahren für einen einzelnen DMSO-Hydratationsgrad .....	87
H.5.5	ALHS-Prüfverfahren für mehrere DMSO-Hydratationsgrade.....	88
H.5.6	ALHS-Prüfverfahren für Volumina innerhalb des angegebenen Volumenbereichs.....	89
H.6	Berechnungen .....	90
H.6.1	Allgemeines.....	90
H.6.2	Fluoresceinkonzentrationsprüfung.....	90
H.6.3	Standardkurve .....	90
H.6.4	Fünf-nl-Volumenprüfung (Prüfflüssigkeit mit einem DMSO-Hydratationsgrad).....	92
H.6.5	Fünf-nl-Volumenprüfung (Prüfflüssigkeiten mit verschiedenen DMSO-Hydratationsgraden) .....	92
H.6.6	Umwandlung von Signalen in Konzentrationswerte .....	92
H.6.7	Berechnung des Volumens der Prüfflüssigkeit je Vertiefung.....	93
H.7	Rückverfolgbarkeit.....	93
<b>Anhang I (normativ) Optische Bildanalyse von Kapillaren.....</b>		<b>94</b>
I.1	Allgemeines.....	94
I.2	Prüfgerät.....	94
I.2.1	Platte mit Kapillaren .....	94
I.2.2	Prüfflüssigkeit.....	95
I.2.3	Bilderfassungsgerät .....	95
I.2.4	Anforderungen an die Bildqualität.....	96
I.2.5	Software .....	97
I.3	Prüfbedingungen.....	97
I.4	Prüfverfahren.....	97
I.4.1	Prüfflüssigkeitsabgabe.....	97
I.4.2	Bilderfassung.....	98
I.4.3	Volumenbestimmung.....	98
I.5	Volumenberechnung.....	99
I.6	Rückverfolgbarkeit.....	100
<b>Literaturhinweise.....</b>		<b>101</b>

## Bilder

Bild C.1 — Beispiel einer Kalibrierkurve für Prüfvolumina von 0,5 µl bis 2,0 µl in Mikroplatten mit 96 Vertiefungen .....	45
Bild E.1 — Diagramm einer typischen Messung —lineare Regressionen der erfassten Masse vor und nach der Abgabe der Prüflüssigkeit in Abhängigkeit von der Zeit .....	53
Bild G.1 — Unterschiedliche Bildqualität bei Tröpfchenbildern.....	70
Bild G.2 — Qualität der Tröpfchenbilder .....	71
Bild H.1 — Aufbau einer Mikroplatte zur Prüfung der Einheitlichkeit der Fluoresceinkonzentrationen (DMSO-Gehalt der Prüflüssigkeiten in 10 <sup>-5</sup> %).....	85
Bild H.2 — Aufbau der Fluorescein-Konzentrationsprüfung bei einem einzigen Hydratationsgrad.....	86
Bild H.3 — Anordnung der Mikroplatte mit 384 Vertiefungen für die Erstellung von Standardkurven (Fluoresceinkonzentration in nM angegeben).....	87
Bild H.4 — Plattenanordnung für ALHS-Prüfungen bei einer Stufe der DMSO-Hydratation (70 % DMSO, 30 % Wasser) — Konzentration von Fluorescein (in nM) in 10 mM NaOH.....	88
Bild H.5 — Plattenanordnung für ALHS, das sich automatisch an Änderungen des DMSO-Hydratationsgrads anpasst — die DMSO-Konzentration (in %) der ursprünglich abgegebenen Prüflüssigkeit wird in den Vertiefungen angezeigt.....	89
Bild I.1 — Veranschaulichung der Position zur Bestimmung der Weglänge für Kapillaren mit unterschiedlichen Querschnitten.....	99

## Tabellen

Tabelle 1 — Prüfverfahren für ALHS .....	16
Tabelle 2 — Mindestanforderungen für Waagen zum Wägen von Trockenmaterial .....	26
Tabelle 3 — Mindestanforderungen für Waagen zum Wägen von Flüssigkeiten .....	26
Tabelle 4 — Mindestanforderungen an die Leistungsfähigkeit von Absorptionslesegeräten für Mikroplatten .....	27
Tabelle 5 — Mindestanforderungen an die Leistungsfähigkeit anderer Prüfgeräte .....	27
Tabelle A.1 — Korrekturfaktoren Z für destilliertes Wasser (luftgesättigt) in Einheiten von µl je mg.....	32
Tabelle B.1 — Mindestanforderungen an die Leistungsfähigkeit des Spektralphotometers .....	34
Tabelle B.2 — Mindestanforderungen an Mikroplattenschüttler für Standard-ANSI/SLAS-Mikroplatten .....	35
Tabelle B.3 — Bei dem ratiometrisch-photometrischen Verfahren mit zwei Chromophoren verwendete Chemikalien .....	36

<b>Tabelle B.4 — Ponceau S-Prüfflüssigkeiten .....</b>	<b>37</b>
<b>Tabelle B.5 — Absorptionslinie.....</b>	<b>38</b>
<b>Tabelle C.1 — Orange-G-Prüfflüssigkeiten .....</b>	<b>41</b>
<b>Tabelle C.2 — Verwendete Chemikalien .....</b>	<b>42</b>
<b>Tabelle C.3 — Kalibrierpunkte für alle Volumina in Mikroplatten mit 96 Vertiefungen und 384 Vertiefungen.....</b>	<b>44</b>
<b>Tabelle D.1 — Prüfbedingungen .....</b>	<b>48</b>
<b>Tabelle E.1 — Mindestanforderungen für Dichtemessungen.....</b>	<b>51</b>
<b>Tabelle F.1 — Chromophore für Absorptionsmessungen .....</b>	<b>58</b>
<b>Tabelle F.2 — Mindestanforderungen an die Leistungsfähigkeit des Mikroplatten- Absorptionslesegeräts .....</b>	<b>59</b>
<b>Tabelle F.3 — Leistungsmerkmale des Mikroplattenschüttlers mit Orbitalbewegungen .....</b>	<b>59</b>
<b>Tabelle F.4 — Bei dem photometrisch-gravimetrischen Hybridverfahren verwendete Chemikalien.....</b>	<b>60</b>
<b>Tabelle F.5 — Prüfvolumina mit Tartrazin als Prüfflüssigkeit .....</b>	<b>61</b>
<b>Tabelle F.6 — Prüfvolumina mit 4-Nitrophenol als Prüfflüssigkeit .....</b>	<b>61</b>
<b>Tabelle F.7 — Prüfvolumina mit Orange-G-Prüfflüssigkeiten.....</b>	<b>62</b>
<b>Tabelle G.1 — Mindestanforderungen an das optische Abbildungssystem.....</b>	<b>69</b>
<b>Tabelle H.1 — Chemikalien für das Fluoreszenzverfahren.....</b>	<b>81</b>
<b>Tabelle H.2 — Herstellung von 0,15-mM-Fluorescein-Prüfflüssigkeiten.....</b>	<b>82</b>
<b>Tabelle I.1 — Maße der Kapillare.....</b>	<b>94</b>