

---

---

**Appareils volumétriques à piston —  
Partie 8:  
Mode opératoire de mesure  
photométrique de référence pour la  
détermination de volumes**

*Piston-operated volumetric apparatus —*

*Part 8: Photometric reference measurement procedure for the  
determination of volume*

[ISO 8655-8:2022](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd0452ce-7f26-458b-b9ba-2319c782b885/iso-8655-8-2022)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd0452ce-7f26-458b-b9ba-2319c782b885/iso-8655-8-2022>



iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 8655-8:2022

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd0452ce-7f26-458b-b9ba-2319c782b885/iso-8655-8-2022>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2022

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8  
CH-1214 Vernier, Genève  
Tél.: +41 22 749 01 11  
E-mail: [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos .....	v
Introduction .....	vi
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Exigences générales</b> .....	<b>2</b>
<b>5</b> <b>Équipement d'essai</b> .....	<b>2</b>
5.1 Généralités .....	2
5.2 Spectrophotomètre .....	2
5.3 Cuve et agitateur .....	2
5.4 Dispositifs de mesure .....	3
5.5 Équipement utilisé pour la préparation des solutions .....	3
5.6 Balances .....	3
5.7 Densimètre .....	4
5.8 pH-mètre .....	4
<b>6</b> <b>Réactifs</b> .....	<b>4</b>
6.1 Exigences générales .....	4
6.2 Eau .....	4
6.3 Solution tampon .....	4
6.4 Solution de chlorure de cuivre (II) .....	4
6.5 Solutions de Ponceau S .....	5
6.6 Solutions d'étalonnage .....	5
6.7 Stabilité des solutions .....	6
6.7.1 Généralités .....	6
6.7.2 Conservateurs .....	6
6.7.3 Photosensibilité .....	6
6.7.4 Température de stockage .....	6
<b>7</b> <b>Conditions d'essai</b> .....	<b>7</b>
7.1 Généralités .....	7
7.2 Laboratoire d'essai .....	7
7.3 Évaporation .....	7
<b>8</b> <b>Mode opératoire</b> .....	<b>8</b>
8.1 Généralités .....	8
8.1.1 Résumé .....	8
8.1.2 Conditions d'essai .....	8
8.1.3 Volume d'essai .....	8
8.1.4 Nombre de mesurages par volume à soumettre à essai .....	8
8.2 Étalonnage du système .....	8
8.2.1 Généralités .....	8
8.2.2 Mode opératoire d'étalonnage du système .....	8
8.2.3 Étalonnage précédent .....	9
8.3 Mode opératoire photométrique .....	9
8.3.1 Préparation des cuves .....	9
8.3.2 Zéro du spectrophotomètre .....	9
8.3.3 Absorbances de départ .....	9
8.3.4 Distribution du liquide d'essai .....	9
8.3.5 Absorbance du mélange de chromophore .....	10
8.3.6 Calcul du volume d'essai distribué .....	10
8.4 Préparation .....	10
8.5 Pipettes monocanal à déplacement d'air (conformément à l'ISO 8655-2) .....	10
8.5.1 Généralités .....	10

8.5.2	Cycle d'essai .....	10
8.6	Pipettes multicanaux (conformément à l'ISO 8655-2) .....	12
8.7	Pipettes à déplacement positif (conformément à l'ISO 8655-2) .....	12
8.8	Burettes (conformément à l'ISO 8655-3) .....	12
8.9	Distributeurs (conformément à l'ISO 8655-5) .....	12
8.10	Seringues (conformément à l'ISO 8655-9) .....	13
8.10.1	Généralités .....	13
8.10.2	Cycle d'essai .....	13
<b>9</b>	<b>Évaluation .....</b>	<b>14</b>
9.1	Calcul du volume .....	14
9.1.1	Constante d'étalonnage .....	14
9.1.2	Volume du liquide d'essai .....	14
9.1.3	Correction de la température .....	15
9.1.4	Volume moyen .....	15
9.2	Erreur systématique de mesure .....	15
9.3	Erreur de mesurage aléatoire .....	16
9.4	Incertitude de mesure .....	16
<b>10</b>	<b>Consignation des résultats .....</b>	<b>16</b>
<b>Annexe A (normative) Calcul de volumes à partir des relevés de la balance .....</b>		<b>18</b>
<b>Bibliographie .....</b>		<b>20</b>

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

[ISO 8655-8:2022](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd0452ce-7f26-458b-b9ba-2319c782b885/iso-8655-8-2022)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd0452ce-7f26-458b-b9ba-2319c782b885/iso-8655-8-2022>

## Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

L'attention est attirée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir [www.iso.org/brevets](http://www.iso.org/brevets)).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: [www.iso.org/iso/fr/avant-propos](http://www.iso.org/iso/fr/avant-propos).

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 48, *Équipement de laboratoire*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 332, *Équipement de laboratoire*, du Comité européen de normalisation (CEN) conformément à l'accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Une liste de toutes les parties de la série ISO 8655 se trouve sur le site web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse [www.iso.org/fr/members.html](http://www.iso.org/fr/members.html).

## Introduction

La série de normes ISO 8655 répond aux besoins des personnes suivantes:

- fabricants, en servant de base pour le contrôle de la qualité y compris, le cas échéant, la publication des déclarations du fabricant;
- laboratoires d'étalonnage, laboratoires d'essai, utilisateurs de l'équipement et autres organismes, en servant de base pour les étalonnages indépendants, les essais, les vérifications et les essais de routine.

Les essais spécifiés dans la série de normes ISO 8655 sont destinés à être réalisés par du personnel qualifié.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

[ISO 8655-8:2022](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd0452ce-7f26-458b-b9ba-2319c782b885/iso-8655-8-2022)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fd0452ce-7f26-458b-b9ba-2319c782b885/iso-8655-8-2022>

# Appareils volumétriques à piston —

## Partie 8:

# Mode opératoire de mesure photométrique de référence pour la détermination de volumes

## 1 Domaine d'application

Le présent document spécifie un mode opératoire de mesure photométrique de référence pour la détermination du volume des appareils volumétriques à piston (AVAP). Le mode opératoire est applicable à des systèmes complets comprenant l'appareil de base présentant un volume nominal maximal de 5 000 µl et toutes les parties sélectionnées pour être utilisées avec l'appareil, à usage unique ou réutilisables, utilisés dans la mesure de la distribution (Ex).

## 2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 1042, *Verrerie de laboratoire — Fioles jaugées à un trait*

ISO 3696:1987, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 8655-1:2022, *Appareils volumétriques à piston — Partie 1: Définitions, exigences générales et recommandations pour l'utilisateur*

ISO 8655-2, *Appareils volumétriques à piston — Partie 2: Pipettes*

ISO 8655-3, *Appareils volumétriques à piston — Partie 3: Burettes*

ISO 8655-5, *Appareils volumétriques à piston — Partie 5: Distributeurs*

ISO 8655-9, *Appareils volumétriques à piston — Partie 9: Seringues de laboratoire haute précision pour utilisation manuelle*

Guide ISO/IEC 2, *Normalisation et activités connexes — Vocabulaire général*

Guide ISO/IEC 99:2007, *Vocabulaire international de métrologie — Concepts fondamentaux et généraux et termes associés (VIM)*

## 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'ISO 8655-1, le Guide ISO/IEC 2 et le Guide ISO/IEC 99 s'appliquent.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>;
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>.

## 4 Exigences générales

Lors de la réalisation d'étalonnages conformément au mode opératoire de mesure de référence décrit dans le présent document, toutes les dispositions et exigences du présent document doivent être respectées, voire dépassées (30 répliqués par volume au lieu des 10 imposés, par exemple). Si une ou plusieurs de ces exigences ne sont pas respectées, la conformité au présent document ne doit pas être revendiquée.

## 5 Équipement d'essai

### 5.1 Généralités

L'équipement de mesure pour la spectrophotométrie, le pesage, la température, la masse volumique, le pH, l'humidité et la pression barométrique doit être traçable par rapport au système international d'unités (SI) et doit satisfaire aux exigences d'incertitude du présent document.

NOTE Un exemple de calcul de l'incertitude élargie d'une méthode photométrique de référence est donné dans l'ISO/TR 16153<sup>[1]</sup>.

### 5.2 Spectrophotomètre

Le spectrophotomètre visible doit répondre aux exigences de performances conformément au [Tableau 1](#) à 520 nm et 730 nm.

**Tableau 1 — Exigences de performance du système spectrophotométrique**

Paramètre	Exigence
Répétabilité photométrique à A = 0,0 AU <sup>a</sup>	0,000 05 AU
Répétabilité photométrique à A = 0,5 AU <sup>a</sup>	0,000 05 AU
Répétabilité photométrique à A = 1,0 AU <sup>a</sup>	0,000 10 AU
Répétabilité photométrique à A = 1,5 AU <sup>a</sup>	0,000 15 AU
Reproductibilité de la longueur d'onde centrale <sup>b</sup>	0,025 nm
Reproductibilité de la bande passante <sup>b</sup>	0,050 nm
Reproductibilité de l'atténuation de la cuve <sup>c</sup>	0,000 10 AU
Étalons en verre à densité neutre <sup>d</sup>	
Incertitude à A = 0,5 AU	0,001 5 AU
Incertitude à A = 1,0 AU	0,002 5 AU
Incertitude à A = 1,5 AU	0,003 0 AU
<sup>a</sup> La répétabilité doit être mesurée comme un écart-type en utilisant les mêmes modes opératoires de lecture, paramètres et conditions que ceux utilisés lors de la détermination photométrique du volume. L'ajustement du temps d'intégration (temps de moyen de l'échantillon), du passage de bande (largeur de fente) et du nombre de relevés répétés est un moyen acceptable d'améliorer la répétabilité du spectrophotomètre.	
<sup>b</sup> La répétabilité de la longueur d'onde et de la bande passante s'applique aux instruments dont la longueur d'onde et la bande passante sont réglables. Elle ne s'applique pas aux instruments à filtre d'interférence à longueur d'onde fixe.	
<sup>c</sup> La reproductibilité de l'atténuation de la cuve s'applique au spectrophotomètre et à la cuve soumis ensemble à essai. Un exemple est donné dans l'ISO/TR 16153 <sup>[1]</sup> .	
<sup>d</sup> Applicable lorsque l'utilisation d'étalons en verre à densité neutre est spécifiée par le fabricant.	

### 5.3 Cuve et agitateur

La cuve doit être constituée d'un matériau dont la transmittance optique interne est d'au moins 99 % à 520 nm et 730 nm. La longueur du trajet optique de la cuve doit être de 20 mm ± 2 mm. En cas

d'utilisation de plusieurs cuves, chacune doit avoir une longueur de trajet de  $\pm 0,2$  mm par rapport à la valeur nominale choisie.

Un mécanisme d'agitation doit être installé sur le support de cuve du spectrophotomètre, de sorte que le contenu de la cuve puisse être agité pendant que la cuve reste dans le spectrophotomètre. L'agitation doit permettre au contenu liquide d'être mélangé à 0,010 % maximum de l'agitation complète. La vitesse d'agitation doit être suffisante pour laver la solution de colorant déposée sur la paroi latérale de la cuve.

Des mécanismes d'agitation, tels que l'agitation circulaire, une barre d'agitation aimantée recouverte de verre ou une barre d'agitation aimantée recouverte de PTFE (polytétrafluoroéthylène) peuvent être utilisés et leur conformité à cette exigence doit être vérifiée.

NOTE Une agitation complète est obtenue lorsqu'une nouvelle agitation et une nouvelle mesure de l'absorbance produisent une variation systématique ne dépassant pas la valeur requise.

## 5.4 Dispositifs de mesure

Les exigences minimales pour chaque dispositif de mesure pertinent sont spécifiées dans le [Tableau 2](#).

**Tableau 2 — Exigences minimales en matière de dispositifs de mesure**

Dispositif	Résolution	Incertitude de mesure élargie ( $k = 2$ )
Thermomètre pour liquides	0,01 °C	0,2 °C
Thermomètre pour air ambiant	0,1 °C	0,3 °C
Hygromètre	1 % d'humidité relative	5 % d'humidité relative
Baromètre	0,1 kPa	1 kPa
Chronomètre	1 s	non applicable

NOTE Les moyens tolérés de mesurer la température d'une solution dans une cuve incluent une sonde de thermistance à billes immergée dans la solution contenue dans la cuve, un thermomètre de contact approprié à l'extérieur de la cuve ou un thermomètre infrarouge adapté.

## 5.5 Équipement utilisé pour la préparation des solutions

Les solutions doivent être préparées par des moyens gravimétriques ou volumétriques.

Les composants liquides des solutions peuvent être pesés à l'aide de balances, qui doivent satisfaire aux exigences du [Tableau 3](#).

Pour les préparations volumétriques, de la verrerie de classe A respectant les erreurs maximales tolérées pour les fioles à col étroit de l'ISO 1042 doit être utilisée.

## 5.6 Balances

Les balances utilisées pour le pesage précis des réactifs secs, la préparation des solutions d'étalonnage et le remplissage des cuves doivent satisfaire aux exigences spécifiées dans le [Tableau 3](#).

**Tableau 3 — Exigences minimales pour les balances**

Masse minimale à peser	Résolution ( $d$ )	Répétabilité ( $s$ )	Incertitude élargie lors de l'utilisation ( $k = 2$ ) <sup>a</sup>
g	mg	mg	mg
1,0	0,01	0,02	0,04
10	0,1	0,2	0,4

<sup>a</sup> L'incertitude lors de l'utilisation est déterminée conformément à la Référence [2] à la masse minimale indiquée dans le tableau.

Tableau 3 (suite)

Masse minimale à peser	Résolution (d)	Répétabilité (s)	Incertitude élargie lors de l'utilisation ( $k = 2$ ) <sup>a</sup>
100	1	2	4
1 000	10	20	40

<sup>a</sup> L'incertitude lors de l'utilisation est déterminée conformément à la Référence [2] à la masse minimale indiquée dans le tableau.

Les résultats de pesage des liquides doivent être corrigés en fonction de la masse volumique, de la température et de la poussée d'Archimède lors de la détermination du volume, voir l'[Annexe A](#).

## 5.7 Densimètre

Les masses volumiques des solutions de chromophore doivent être mesurées pour chaque lot de solutions à l'aide d'un densimètre à température contrôlée avec une incertitude de 0,000 05 g/ml ( $k = 2$ ) ou mieux.

## 5.8 pH-mètre

Le pH-mètre est utilisé pour la préparation des solutions en [6.3](#), [6.4](#), [6.5](#) et [6.6](#). Il doit être étalonné avec des solutions tampons de référence sur une plage allant de pH 4 à pH 7, y compris pH 6,00, conformément aux instructions du fabricant. Un matériau de référence ayant une valeur certifiée dans la plage de pH  $6,00 \pm 0,05$  et une incertitude ( $k = 2$ ) de 0,02 unité de pH, ou mieux sont requis pour la comparaison.

## 6 Réactifs

### 6.1 Exigences générales

Sauf indication contraire, tous les composants utilisés dans la préparation des solutions réactives doivent présenter une pureté analytique de 99 %.

Des solutions de NaOH (n° CAS 1310-73-2) et de HCl (n° CAS 7647-01-0) peuvent être utilisées pour ajuster le pH. La valeur de pH mesurée des solutions réactives en [6.3](#), [6.4](#), [6.5](#) et [6.6](#) doit être comparée au matériau de référence certifié d'un pH 6 en [5.8](#).

### 6.2 Eau

L'eau (n° CAS 7732-18-5) utilisée pour la préparation de solutions de chromophore doit être conforme à la Classe 1 conformément à l'ISO 3696:1987.

### 6.3 Solution tampon

Dissoudre 4,08 g d'hydrogénophthalate de potassium (n° CAS 877-24-7) et 3,81 g d'acide tétrasodique éthylènediaminetétraacétique dihydraté (EDTA, n° CAS 10378-23-1) par litre d'eau, ajuster afin d'obtenir un pH  $6,0 \pm 0,1$  et filtrer à l'aide d'un filtre de 0,2  $\mu\text{m}$ .

### 6.4 Solution de chlorure de cuivre (II)

Dissoudre 1,12 g/l de chlorure de cuivre (II) dihydraté ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (n° CAS 10125-13-0) dans le tampon phthalate/EDTA et ajuster à pH  $6,0 \pm 0,1$ . Passer la solution à travers un filtre de 0,2  $\mu\text{m}$ .

## 6.5 Solutions de Ponceau S

Dissoudre le Ponceau S (n° CAS 6226-79-5) dans de l'eau, ajuster le pH jusqu'à une valeur de  $6,0 \pm 0,1$ , puis filtrer la solution de colorant à l'aide d'un filtre de  $0,2 \mu\text{m}$ . Le [Tableau 4](#) indique la quantité de colorant Ponceau S (qui peut contenir jusqu'à 15 % d'eau) par litre de solution. Ces solutions de Ponceau S sont utilisées dans la préparation des solutions d'étalonnage (voir [6.6](#)) et comme liquides d'essai.

NOTE 1 Les solutions de Ponceau S préparées conformément au [Tableau 4](#) sont adaptées pour mesurer des volumes d'essai de  $0,1 \mu\text{l}$  à  $5\,000 \mu\text{l}$  dans des cuves comme spécifié en [5.3](#).

NOTE 2 Lorsqu'elles sont préparées comme décrit dans ce paragraphe, les solutions satisfont aux exigences en matière de masse volumique et de viscosité indiquées dans le [Tableau 4](#).

**Tableau 4 — Solutions de Ponceau S**

Solution de Ponceau S N°	Volume d'essai $V_S$ $\mu\text{l}$	Colorant Ponceau S <sup>a</sup> g/1 000 ml	Masse volumique relative (vs $\text{H}_2\text{O}$ )	Viscosité à 20 °C mPa · s
1	$200 \leq V_S \leq 5\,000$	0,024	1,000 à 1,004	0,9 à 1,1
2	$50 \leq V_S < 200$	0,052	1,000 à 1,004	0,9 à 1,1
3	$10 \leq V_S < 50$	0,165	1,000 à 1,004	0,9 à 1,1
4	$2 \leq V_S < 10$	0,745	1,000 à 1,004	0,9 à 1,1
5	$0,5 \leq V_S < 2$	3,72	1,000 à 1,004	0,9 à 1,1
6	$0,1 \leq V_S < 0,5$	14,9	1,000 à 1,016	0,9 à 1,1

<sup>a</sup> Les quantités indiquées dans ce tableau sont des valeurs cibles. Les quantités réelles peuvent varier jusqu'à  $\pm 5\%$  par rapport à la valeur cible, à condition que le même lot de solutions soit utilisé pour la préparation des solutions d'étalonnage ([6.6](#)) et comme liquides d'essai ([8.3](#)).

## 6.6 Solutions d'étalonnage

Préparer une solution d'étalonnage pour chaque volume sélectionné  $V_S$  à soumettre à essai. Mélanger un volume mesuré de solution de Ponceau S (voir le [Tableau 4](#)) avec un volume mesuré de solution de chlorure de cuivre(II). Déterminer les volumes de chaque solution de la manière suivante:

Solution de Ponceau S: utiliser une quantité 10 fois supérieure au volume d'essai souhaité  $V_S$  (pour  $n = 10$  réplicats) et la multiplier par le facteur de préparation indiqué dans le [Tableau 5](#).

Solution de cuivre(II): multiplier le volume  $V_{C0}$  de la solution de chlorure de cuivre(II) dans la cuve par le facteur de préparation indiqué dans le [Tableau 5](#).

NOTE  $V_{C0}$  est défini en [8.3.1](#).

**Tableau 5 — Exemples de solutions d'étalonnage**

Volume d'essai $V_S$ $\mu\text{l}$	Solution de Ponceau S n°	Facteur de préparation	Solution de Ponceau S à mesurer $V_{PS}$ ml	Solution de $\text{CuCl}_2$ à mesurer <sup>a</sup> $V_C$ ml
0,1	6	1 000	1	5 000
0,2	6	1 000	2	5 000
0,5	5	1 000	5	5 000
1	5	1 000	10	5 000
2	4	400	8	2 000
5	4	200	10	1 000

<sup>a</sup> Les exemples de ce tableau sont fondés sur  $V_{C0} = 5 \text{ ml}$ .