

DIN EN ISO 8655-8

ICS 17.060; 71.040.20

Einsprüche bis 2020-10-07

Entwurf

**Volumenmessgeräte mit Hubkolben –
Teil 8: Photometrisches Referenzprüfverfahren zur Bestimmung des
Volumens (ISO/DIS 8655-8:2020);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 8655-8:2020**

Piston-operated volumetric apparatus –
Part 8: Photometric reference measurement procedure for the determination of volume
(ISO/DIS 8655-8:2020);
German and English version prEN ISO 8655-8:2020

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2020-08-07 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an fnla@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Laborgeräte und Laboreinrichtungen (FNLa), 10772 Berlin oder Saatwinkler Damm 42/43, 13627 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 55 Seiten

DIN-Normenausschuss Laborgeräte und Laboreinrichtungen (FNLa)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 8655-8:2020) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 48 „Laboratory equipment“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 332 „Laborausrüstungen“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 055-01-08 AA „Volumenmessgeräte“ im DIN-Normenausschuss Laborgeräte und Laboreinrichtungen (FNLa).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO/DIS 8655-1:2020	siehe	E DIN EN ISO 8655-1:2020-09
ISO/DIS 8655-2:2020	siehe	E DIN EN ISO 8655-2:2020-09
ISO/DIS 8655-3:2020	siehe	E DIN EN ISO 8655-3:2020-09
ISO/DIS 8655-5:2020	siehe	E DIN EN ISO 8655-5:2020-09
ISO/DIS 8655-9:2020	siehe	E DIN EN ISO 8655-9:2020-09
ISO/IEC Guide 2	siehe	DIN EN 45020

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN 45020, *Normung und damit zusammenhängende Tätigkeiten — Allgemeine Begriffe*

DIN ISO 3696:1988-12, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen; Identisch mit ISO 3696:1987*

E DIN EN ISO 8655-1:2020-09, *Volumenmessgeräte mit Hubkolben — Teil 1: Begriffe, allgemeine Anforderungen und Gebrauchsempfehlungen (ISO/DIS 8655-1:2020); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 8655-1:2020*

E DIN EN ISO 8655-2:2020-09, *Volumenmessgeräte mit Hubkolben — Teil 2: Pipetten (ISO/DIS 8655-2:2020); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 8655-2:2020*

E DIN EN ISO 8655-3:2020-09, *Volumenmessgeräte mit Hubkolben — Teil 3: Büretten (ISO/DIS 8655-3:2020); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 8655-3:2020*

E DIN EN ISO 8655-5:2020-09, *Volumenmessgeräte mit Hubkolben — Teil 5: Dispenser (ISO/DIS 8655-5:2020); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 8655-5:2020*

E DIN EN ISO 8655-9:2020-09, *Volumenmessgeräte mit Hubkolben — Teil 9: Manuell betätigte Präzisionslaborspritzen (ISO/DIS 8655-9:2020); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 8655-9:2020*

— Leerseite —

<i>Titel de:</i>	Volumenmessgeräte mit Hubkolben — Teil 8: Photometrisches Referenzprüfverfahren zur Bestimmung des Volumens (ISO/DIS 8655-8:2020)
<i>Titel en:</i>	Piston-operated volumetric apparatus — Part 8: Photometric reference measurement procedure for the determination of volume (ISO/DIS 8655-8:2020)
<i>Titel fr:</i>	

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	8
4 Allgemeine Anforderungen	8
5 Prüfgeräte	8
5.1 Allgemeines	8
5.2 Spektralphotometer	8
5.3 Küvette und Mischer	9
5.4 Thermometer, Hygrometer und Barometer	9
5.5 Volumenmessgeräte aus Glas	10
5.6 Waagen	10
5.7 Dichtemessgerät	11
5.8 pH-Messgerät	11
6 Prüfflüssigkeiten	11
6.1 Wasser	11
6.2 Kaliumhydrogenphthalat/EDTA-Puffer	11
6.3 Kupfer(II)-chloridlösung	11
6.4 Ponceau-S-Vorratslösungen	11
6.5 Kalibrierlösungen	12
6.6 Haltbarkeit der Lösungen	13
6.6.1 Konservierungsmittel	13
6.6.2 Lichtempfindlichkeit	13
6.6.3 Lagertemperatur	13
7 Prüfbedingungen	14
7.1 Allgemeines	14
7.2 Prüfraum	14
7.3 Verdunstung	14
8 Durchführung	14
8.1 Allgemeines	14
8.1.1 Prüfvolumen	15
8.1.2 Anzahl der Messungen je Prüfvolumen	15
8.2 Systemkalibrierung	15
8.2.1 Durchführung der Systemkalibrierung	15
8.2.2 Vorherige Kalibrierung	15
8.3 Photometrisches Verfahren	16
8.3.1 Vorbereitung der Küvetten	16
8.3.2 Nulleinstellung des Spektralphotometers	16
8.3.3 Beginn der Absorptionen	16
8.3.4 Dosierung der Proben	16
8.3.5 Absorption der Farbstoffmischung	16

8.3.6	Berechnung des abgegebenen Prüfvolumens.....	16
8.4	Vorbereitung.....	17
8.5	Einkanalpipetten mit Luftpolster(nach ISO 8655-2)	17
8.5.1	Allgemeines	17
8.5.2	Prüfzyklus	17
8.6	Mehrkanalpipetten (nach ISO 8655-2).....	19
8.7	Direktverdrängerpipetten (nach ISO 8655-2).....	19
8.8	Büretten (nach ISO 8655-3).....	19
8.9	Dispenser (nach ISO 8655-5)	20
8.10	Spritzen (nach ISO 8655-9).....	20
8.10.1	Allgemeines	20
8.10.2	Prüfzyklus	20
9	Auswertung.....	21
9.1	Berechnung des Volumens.....	21
9.1.1	Kalibrierkonstante	21
9.1.2	Volumen der Prüfflüssigkeit	21
9.1.3	Temperaturkorrektur	22
9.1.4	Durchschnittliches Volumen	22
9.2	Systematische Messabweichung.....	22
9.3	Zufällige Messabweichung	23
9.4	Messunsicherheit	23
10	Angabe der Ergebnisse im Bericht.....	23
Anhang A (normativ)	Berechnung von Volumina aus Wägewerten	25
A.1	Berechnung des Volumens anhand des Flüssigkeitsgewichts.....	25
Literaturhinweise.....		27

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 8655-8:2020) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 48 „Laboratory equipment“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 332 „Laborausrüstungen“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 8655-8:2020 wurde von CEN als prEN ISO 8655-8:2020 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 48 *Laboratory Equipment*, Arbeitsgruppe WG 4 *Piston-operated instruments*, erarbeitet.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 8655 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

ISO 8655 richtet sich an:

- Hersteller als Grundlage für die Qualitätssicherung, einschließlich gegebenenfalls der Ausgabe von Herstellererklärungen;
- Kalibrierlaboratorien, Prüfhäuser, Benutzer von Geräten und andere Stellen als Grundlage für unabhängige Kalibrierung, Zertifizierung und routinemäßige Prüfung.

Die in diesem Teil von ISO 8655 festgelegten Prüfverfahren sind für geschultes Personal gedacht.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 8655 legt das photometrische Referenzmessverfahren zur Bestimmung des Volumens von Volumenmessgeräten mit Hubkolben^{N1)} fest. Das Verfahren gilt für vollständige Gerätesysteme, bestehend aus dem Grundgerät mit einem Nennvolumen von höchstens 5 ml und allen für die Verwendung ausgewählten Zubehörteilen, die mehrfach verwendbar oder für den einmaligen Gebrauch bestimmt und an der Messung auf Ablauf (Ex) beteiligt sind.

ANMERKUNG Allgemeine Anforderungen und Begriffsdefinitionen für Kolbenhubgeräte sind in ISO 8655-1 festgelegt. Hinsichtlich der messtechnischen Anforderungen, der Fehlergrenzen sowie der Anforderungen an Kennzeichnung und Nutzerinformation siehe ISO 8655-2 für Pipetten, ISO 8655-3 für Büretten, ISO 8655-4 für Dilutoren, ISO 8655-5 für Dispenser und ISO 8655-9 für manuell betätigte Präzisionslaborspritzen. Das gravimetrische Referenzverfahren für die Volumenbestimmung von Kolbenhubgeräten ist in ISO 8655-6 angegeben. Alternative Messverfahren für die Volumenbestimmung werden in ISO 8655-7 aufgeführt.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 3696, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*

ISO/DIS 8655-1:2020, *Piston operated volumetric apparatus — Part 1: Terminology, general requirements and user recommendations*

ISO/DIS 8655-2:2020, *Piston-operated volumetric apparatus — Part 2: Pipettes*

ISO/DIS 8655-3:2020, *Piston-operated volumetric apparatus — Part 3: Burettes*

ISO/DIS 8655-5:2020, *Piston-operated volumetric apparatus — Part 5: Dispensers*

ISO/DIS 8655-9:2020, *Piston-operated volumetric apparatus — Part 9: Manually operated precision laboratory syringes*

ISO/TR 16153, *Piston-operated volumetric instruments — Determination of uncertainty for volume measurements made using the photometric method*

ISO/IEC Guide 2, *Standardization and related activities — General vocabulary*

ISO/IEC Guide 98-3, *Uncertainty of measurement — Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995)*

ISO/IEC Guide 98-4, *Uncertainty of measurement — Part 4: Role of measurement uncertainty in conformity assessment*

ISO/IEC Guide 99, *International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM)*

N1) Nationale Fußnote: Im folgenden Text Kolbenhubgeräte genannt.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach ISO/DIS 8655-1:2020, ISO/IEC Guide 2 und ISO/IEC Guide 99.

Anmerkung 1 zum Begriff: Weitere Definitionen und Erläuterungen chemischer Begriffe können dem IUPAC Compendium of Chemical Terminology entnommen werden. [1]

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

4 Allgemeine Anforderungen

Bei der Ausführung von Kalibrierungen nach dem in dieser Norm beschriebenen Referenzmessverfahren müssen alle Festlegungen und Anforderungen dieser Norm erfüllt werden. Sind eine oder mehrere Anforderungen nicht erfüllt, darf die Übereinstimmung mit ISO 8655-8 nicht beansprucht werden.

5 Prüfgeräte

5.1 Allgemeines

Messgeräte für Spektralphotometrie, Wägen, Temperatur, Dichte, pH-Wert, Luftfeuchte und Luftdruck müssen auf das Internationale Einheitensystem (SI) rückführbar sein und die Anforderungen dieser Norm an die Messunsicherheit erfüllen.

ANMERKUNG Ein Beispiel für die Berechnung der erweiterten Unsicherheit für das photometrische Referenzverfahren ist in ISO/TR 16153 angegeben.

5.2 Spektralphotometer

Der sichtbare Bereich des Spektralphotometers muss die Leistungsanforderungen nach Tabelle 1 bei 520 nm und 730 nm erfüllen.

Tabelle 1 — Leistungsanforderungen an das spektralphotometrische System

Parameter	Anforderung
Wiederholpräzision des Photometers bei $A = 0,0$ AU ^a	0,000 05 AU
Wiederholpräzision des Photometers bei $A = 0,5$ AU ^a	0,000 05 AU
Wiederholpräzision des Photometers bei $A = 1,0$ AU ^a	0,000 10 AU
Wiederholpräzision des Photometers bei $A = 1,5$ AU ^a	0,000 15 AU
Reproduzierbarkeit der Zentralwellenlänge ^b	0,025 nm
Reproduzierbarkeit der Bandbreite ^b	0,050 nm
Vergleichpräzision der Küvettenbegrenzung ^c	0,000 10 AU

Parameter	Anforderung
ND-Glas-Kalibrierstandards ^d	0,001 5
— Unsicherheit bei A = 0,5 AU	0,002 5
— Unsicherheit bei A = 1,0 AU	0,003 0
— Unsicherheit bei A = 1,5 AU	
<p>^a Als Standardabweichung zu messende Wiederholpräzision, unter Verwendung derselben Ableseverfahren, Einstellungen und Bedingungen wie während der photometrischen Volumenbestimmung. Zur Verbesserung der Wiederholpräzision des Spektralphotometers ist es zulässig, die Integrationszeit (Probenmitteldauer), den Bandpass (Schlitzbreite) und die Anzahl der Wiederholungsablesungen anzupassen.</p> <p>^b Die Wellenlängen- und Bandbreitenreproduzierbarkeit gilt für Geräte, deren Wellenlänge und Bandbreite einstellbar sind. Sie gilt nicht für Interferenzfiltergeräte mit fester Wellenlänge.</p> <p>^c Die Vergleichpräzision der Küvettenbegrenzung gilt für das Spektralphotometer und die damit geprüfte Küvette. Ein Beispiel ist in ISO/TR 16153 angegeben.</p> <p>^d Gilt, wenn der Hersteller die Verwendung eines Nd-Glas-Standards vorgibt.</p>	

5.3 Küvette und Mischer

Die Küvette muss aus einem Werkstoff bestehen, der bei 520 nm und 730 nm eine interne optische Transmission von mindestens 99 % aufweist. Die Küvette muss eine optische Weglänge von $20 \text{ mm} \pm 2 \text{ mm}$ haben. Falls mehrere Küvetten verwendet werden, darf die Weglänge jeder Küvette nicht mehr als $\pm 0,2 \text{ mm}$ vom gewählten Nennwert abweichen.

Am Küvettenhalter des Spektralphotometers ist eine Mischvorrichtung anzubringen, mit der der Inhalt der Küvette gemischt werden kann, während die Küvette im Spektralphotometer verbleibt. Durch das Mischen muss sichergestellt werden, dass der flüssige Inhalt auf 0,010 % vollständig gemischt wird. Die Mischgeschwindigkeit muss ausreichen, um die an der Innenwandung der Küvette abgelagerte Farbstofflösung abzuspielen.

Es dürfen Mischvorrichtungen wie ein Orbitalschüttler oder ein Magnetrührstab mit Glas- oder PTFE-Abdeckung verwendet werden und es muss geprüft werden, dass sie diese Anforderung erfüllen.

ANMERKUNG Vollständiges Mischen ist erreicht, wenn bei erneutem Mischen und Messen die Absorption eine systematische Änderung ergibt, die den erforderlichen Wert nicht überschreitet.

5.4 Thermometer, Hygrometer und Barometer

Die Mindestanforderungen an jedes entsprechende Messgerät sind in Tabelle 2 angegeben.

Tabelle 2 — Mindestanforderungen an die Messgeräte

Gerät	Ablesbarkeit	Erweiterte Verwendungsmessunsicherheit ($k = 2$)
Thermometer für Flüssigkeiten ^a	0,02 °C	0,2 °C
Thermometer für Raumluft	0,1 °C	0,2 °C
Hygrometer	1 % rel. Luftfeuchte	5 % rel. Luftfeuchte
Barometer	0,1 kPa	1 kPa
Zeitmessgerät	1 s	nicht zutreffend
^a Thermometer für Flüssigkeiten müssen eine Wiederholpräzision von 0,05 °C oder weniger aufweisen.		

ANMERKUNG Zulässige Möglichkeiten, um die Temperatur einer Flüssigkeit in einer Küvette zu messen, sind eine Thermistor-Bead-Probe, die in die Lösung in der Küvette getaucht wird, ein geeignetes Kontaktthermometer auf der Außenseite der Küvette oder ein geeignetes Infrarotthermometer.

5.5 Volumenmessgeräte aus Glas

Lösungen müssen mit volumetrischen oder gravimetrischen Mitteln hergestellt werden. Für die volumetrische Herstellung sind Messkolben der Genauigkeitsklasse A zu verwenden, in denen die Lösungen auf das Endvolumen gebracht werden.

Alternativ dürfen die flüssigen Bestandteile der Lösungen eingewogen werden, wofür keine Volumenmessgeräte aus Glas erforderlich sind.

5.6 Waagen

Die Waagen, die für das genaue Einwiegen der trockenen Reagenzien, die Herstellung der Kalibrierlösungen und das Befüllen der Küvetten verwendet werden, müssen die Anforderungen nach Tabelle 3 erfüllen.

Tabelle 3 — Mindestanforderungen an Waagen

Mindestwägemenge	Ablesbarkeit (d)	Wiederholpräzision (s)	Erweiterte Verwendungsunsicherheit ($k = 2$) ^a
g	mg	mg	mg
1,0	0,01	0,02	0,04
10	0,1	0,2	0,4
100	1	2	4
1 000	10	20	40
^a Die Verwendungsmessunsicherheit wird nach EURAMET cg-18 bei dem in Tabelle [2] aufgeführten Mindestgewicht bestimmt.			

Bei der Volumenbestimmung müssen die Wägewerte für Flüssigkeiten bezüglich Dichte, Temperatur und Luftauftrieb korrigiert werden (siehe Anhang A).

5.7 Dichtemessgerät

Die Dichten der Farbstofflösungen müssen für jedes Los der Lösungen mithilfe eines temperaturgeregelten Dichtemessgeräts mit einer Unsicherheit von $0,000\,05\text{ g/ml}$ ($k = 2$) oder besser gemessen werden.

5.8 pH-Messgerät

Das pH-Messgerät wird für die Herstellung der Lösungen in 6.2, 6.3 und 6.4 verwendet. Es muss mit einer Referenzpufferlösung über einen pH-Wertebereich von 4 bis 7, einschließlich dem pH-Wert 6,00, nach den Anweisungen des Herstellers kalibriert werden. Zum Abgleich ist ein Referenzmaterial mit einem zertifizierten Wert im pH-Wertebereich von $6,00 \pm 0,05$ und einer Unsicherheit ($k = 2$) von $0,02\text{ pH-Einheiten}$ oder besser erforderlich.

6 Prüflüssigkeiten

Alle Inhaltsstoffe für die Herstellung von Reagenzlösungen müssen, sofern nicht anders angegeben, eine analytische Reinheit von 99 % aufweisen.

Lösungen mit NaOH (CAS-Nr. 1310-73-2) und HCl (CAS-Nr. 7647-01-0) dürfen zur Einstellung des pH-Werts verwendet werden. Der gemessene pH-Wert der Reagenzlösungen in 6.2, 6.3 und 6.4 muss mit dem für einen pH-Wert von 6 zertifizierten Referenzmaterial aus 5.8 abgeglichen werden.

6.1 Wasser

Das Wasser (CAS-Nr. 7732-18-5) für die Herstellung von Farbstofflösungen muss der Qualität 1 nach ISO 3696 entsprechen.

6.2 Kaliumhydrogenphthalat/EDTA-Puffer

Auf 1 Liter Wasser werden 4,08 g Kaliumhydrogenphthalat (CAS-Nr. 877-24-7) und 3,81 g Ethylendiamintetraessigsäure Tetranatriumsalz Dihydrat (EDTA, CAS-Nr. 10378-23-1) gelöst, der pH-Wert wird auf $6,0 \pm 0,1$ eingestellt und die Lösung wird durch ein $0,2\text{-}\mu\text{m}$ -Filter filtriert.

6.3 Kupfer(II)-chloridlösung

$1,12\text{ g/l}$ Kupfer(II)-chlorid-Dihydrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (CAS-Nr. 10125-13-0) werden im Phthalat-/EDTA-Puffer aufgelöst und der pH-Wert wird auf $6,0 \pm 0,1$ eingestellt. Die sich ergebende Lösung wird durch ein $0,2\text{-}\mu\text{m}$ -Filter filtriert.

6.4 Ponceau-S-Vorratslösungen

Ponceau S (CAS-Nr. 6226-79-5) wird in Wasser aufgelöst, der pH-Wert wird auf $6,0 \pm 0,1$ eingestellt und die Farbstofflösung wird durch ein $0,2\text{-}\mu\text{m}$ -Filter filtriert. Tabelle 4 gibt die Menge des Farbstoffs Ponceau S (der bis zu 15 % Wasser enthalten kann) je Liter der Vorratslösung an.

ANMERKUNG 1 Ponceau-S-Vorratslösungen, die nach Tabelle 4 hergestellt wurden, eignen sich für die Messung von in Küvetten enthaltenen Prüfvolumina zwischen $0,1\text{ }\mu\text{l}$ und $5\,000\text{ }\mu\text{l}$, wie in 5.3 festgelegt.

ANMERKUNG 2 Wenn die Vorratslösungen nach diesem Abschnitt hergestellt werden, erfüllen sie hinsichtlich Dichte und Viskosität die Anforderungen in Tabelle 4.

Tabelle 4 — Ponceau-S-Vorratslösungen

Vorrats- lösung Nr.	Prüfvolumen V_T μl	Farbstoff Ponceau S ^a g/1 000 ml	Relative Dichte (vs. H ₂ O)	Viskosität bei 20 °C mPa · s
1	$200 \leq V \leq 5\,000$	0,024	1,000 bis 1,004	0,9 bis 1,1
2	$50 \leq V < 200$	0,052	1,000 bis 1,004	0,9 bis 1,1
3	$10 \leq V < 50$	0,165	1,000 bis 1,004	0,9 bis 1,1
4	$2 \leq V < 10$	0,745	1,000 bis 1,004	0,9 bis 1,1
5	$0,5 \leq V < 2$	3,72	1,000 bis 1,004	0,9 bis 1,1
6	$0,1 \leq V < 0,5$	14,9	1,000 bis 1,016	0,9 bis 1,1

^a Die in dieser Tabelle aufgeführten Mengen sind Zielwerte. Die tatsächlichen Mengen dürfen bis zu $\pm 5\%$ vom Zielwert abweichen, vorausgesetzt es wird dieselbe Charge der Lösungen für die Herstellung der Kalibrierlösungen (6.5) und als Prüflösungen (8.3) verwendet.

6.5 Kalibrierlösungen

Für jedes zu prüfende Volumen V_S wird eine Kalibrierlösung hergestellt. Ein abgemessenes Volumen der Ponceau-S-Vorratslösung wird mit einem abgemessenen Volumen der Kupfer(II)-chloridlösung gemischt. Die Volumina jeder Lösung werden wie folgt ermittelt:

Ponceau-S-Lösung: Eine zehnfache Menge des gewünschten Prüfvolumens V_S (für $n = 10$ Wiederholungen) wird verwendet und mit dem in Tabelle 5 dargestellten Herstellungsfaktor multipliziert.

Kupfer(II)-Lösung: Das Volumen V_0 der Kupfer(II)-chloridlösung in der Küvette wird mit dem in Tabelle 5 dargestellten Herstellungsfaktor multipliziert.

ANMERKUNG V_0 wird in 8.3.1 definiert.

Tabelle 5 — Beispiele für Kalibrierlösungen

Prüfvolumen V_S μl	Vorratslösung Nr.	Herstellungs- faktor	Zu messende Ponceau-S-Vorratslösung V_{Vorrat} ml	Zu messende CuCl ₂ -Lösung ^a 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
10	3	100	10	500
20	3	100	20	500

Prüfvolumen V_S	Vorratslösung Nr.	Herstellungsfaktor	Zu messende Ponceau-S-Vorratslösung V_{Vorrat}	Zu messende CuCl ₂ -Lösung ^a V_C
50	2	100	50	500
100	2	20	20	100
200	1	20	40	100
500	1	20	100	100
^a Bei den Beispielen in dieser Tabelle ist $V_0 = 5$ ml zugrunde gelegt.				

Das Verdünnungsverhältnis R wird nach Gleichung (1) berechnet:

$$R = \frac{V_{Vorrat}}{V_{Vorrat} + V_C} \quad (1)$$

Dabei ist

R das Verdünnungsverhältnis;

V_{Vorrat} das tatsächlich gemessene Volumen der Vorratslösung;

V_C das tatsächlich gemessene Volumen der Kupfer(II)-chloridlösung.

6.6 Haltbarkeit der Lösungen

Um mikrobielles Wachstum zu vermeiden, dürfen Farbstofflösungen konserviert werden. Die Haltbarkeit konservierter Lösungen muss (nach 6.5) bestimmt werden und angemessene Zeitabstände für die Neukalibrierung müssen festgelegt werden. Nicht konservierte Lösungen müssen bei Gebrauch täglich neukalibriert werden.

6.6.1 Konservierungsmittel

Antimikrobielle Konservierungsmittel dürfen nicht die Absorptionseigenschaften und die Dichte der Lösungen über die Grenzwerte in Tabelle 4 hinaus verändern.

ANMERKUNG Zwei Mischungen, die diese Anforderung erfüllen, sind 5-Chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on (CAS-Nr. 26172-55-4) und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (CAS-Nr. 2682-20-4) bei Konzentrationen zwischen 0,000 6 % und 0,001 5 % (w/w).

6.6.2 Lichtempfindlichkeit

Die Farbstofflösungen dürfen nicht in direktem Sonnenlicht verwendet oder gelagert werden. Bei Nichtgebrauch müssen die Lösungen im Dunkeln gelagert werden.

ANMERKUNG Die festgelegten Farbstofflösungen sind während des üblichen Gebrauchs bei Innenbeleuchtung stabil.

6.6.3 Lagertemperatur

Konservierte Lösungen dürfen unter den in 7.2 festgelegten Prüfbedingungen gelagert werden.