
**Engrais et amendements —
Détermination de la teneur en biuret
des engrais à base d'urée — Méthode
HPLC**

*Fertilizers and soil conditioners — Determination of biuret content of
urea-based fertilizers — HPLC method*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 18643:2016](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f33-46c1-8cbb-beedf97b73f6/iso-18643-2016)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f33-46c1-8cbb-
beedf97b73f6/iso-18643-2016](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f33-46c1-8cbb-beedf97b73f6/iso-18643-2016)



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 18643:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f33-46c1-8cbb-beed97b73f6/iso-18643-2016>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2016, Publié en Suisse

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland
Tel. +41 22 749 01 11
Fax +41 22 749 09 47
copyright@iso.org
www.iso.org

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Principe	1
4 Réactifs	1
5 Appareillage	2
6 Mode opératoire	2
6.1 Préparation de l'échantillon d'essai.....	2
6.2 Préparation de la solution d'essai.....	2
6.3 Préparation de la solution de calibration de biuret.....	2
6.4 Conditions HPLC.....	3
6.5 Préparation de la courbe de calibration.....	3
6.6 Détermination de la teneur en biuret dans la solution d'essai.....	3
6.7 Calcul et expression des résultats.....	3
6.8 Fidélité.....	4
6.8.1 Essai interlaboratoires.....	4
6.8.2 Répétabilité, r	4
6.8.3 Reproductibilité, R	4
7 Rapport d'essai	4
Annexe A (informative) Rapport de l'essai interlaboratoires international	5
Annexe B (informative) Méthode alternative pour le dosage du biuret dans les engrais	12
Bibliographie	13

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).

L'attention est appelée 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).

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 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'OMC concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: [Avant-propos — Informations supplémentaires](http://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f53-46c1-8cbb-beed197b73f6/iso-18643-2016).

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 134, *Engrais et amendements*.

Introduction

Le biuret, également connu sous le nom de diamide 2-imidodicarbonique ($\text{NH}_2\text{CONHCONH}_2$), est l'un des produits dérivés qui se forment lorsque de l'urée fondue est chauffée à une température proche de son point de fusion (132 °C) ou supérieure, lors de la fabrication de l'urée.[1][2] Le mécanisme exact de dégradation de différentes plantes par le biuret n'a pas encore été déterminé, mais les effets nocifs de fortes concentrations ont été bien documentés et de nombreuses réglementations/normes concernant les concentrations maximales tolérées et/ou les méthodes d'analyse ont été publiées dans le monde entier.[1][3][4][5][6][7][8] Il existe actuellement au moins trois types de méthodes analytiques pour le dosage du biuret dans les engrais, notamment les méthodes spectrophotométriques traditionnelles,[5][7] la méthode spectrophotométrique d'absorption atomique[8] et les méthodes HPLC.[2][5][10][11] La supériorité des méthodes HPLC par rapport aux autres types de méthodes a été démontrée récemment. En effet, elles permettent de déterminer de manière quantitative la teneur en biuret en séparant complètement le biuret des nombreux condensats d'urée. L'ISO/TC 134 est bien conscient des efforts importants déployés par les analystes/scientifiques du monde entier pour mettre au point une méthode uniforme, rapide et précise pour le dosage du biuret dans les engrais, et il a tenté d'unifier au maximum la méthode HPLC dans le présent document, en fonction des recherches préliminaires menées par les experts chinois, américains et européens.[2][5][10][11]

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 18643:2016](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f33-46c1-8cbb-beedf97b73f6/iso-18643-2016>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 18643:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f33-46c1-8cbb-beedf97b73f6/iso-18643-2016>

Engrais et amendements — Détermination de la teneur en biuret des engrais à base d'urée — Méthode HPLC

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie le mode opératoire de détermination de la teneur en biuret dans les engrais liquides et solides à base d'urée par une méthode HPLC.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application 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 3696:1995, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

3 Principe

Le biuret contenu dans un engrais est extrait par une phase mobile eau-acétonitrile, puis séparé des autres éléments par chromatographie liquide en phase inverse sur une colonne amino/aminopropyle. Le pic est ensuite détecté par un détecteur UV combiné au chromatographe.

4 Réactifs

ISO 18643:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f33-46c1-8cbb->

AVERTISSEMENT — L'acétonitrile est inflammable et toxique. Se reporter à la fiche de données de sécurité (FDS) applicable. Les opérations correspondantes doivent être effectuées sous une hotte aspirante. La présente norme ne signale pas tous les problèmes de sécurité possibles, et il incombe à l'utilisateur de mettre en place des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité des opérations aux conditions stipulées par les lois et réglementations nationales associées.

Utiliser uniquement de l'eau de qualité 3 selon l'ISO 3696.

4.1 Acétonitrile, de qualité HPLC.

4.2 Phase mobile, 150 ml d'eau + 850 ml d'acétonitrile, filtrée préalablement sur une membrane de 0,22 µm et dégazée sous ultrasons pendant 10 min avant utilisation.

NOTE Une méthode alternative utilisant une phase mobile exempte d'acétonitrile est décrite dans l'[Annexe B](#), avec certaines limitations du domaine d'application.

4.3 Solution mère de biuret (0,5 mg/ml = 500 ppm), peser 0,5000 g de biuret de haute pureté, le dissoudre dans la phase mobile ([4.2](#)), puis transvaser le tout dans une fiole jaugée de 1 l, diluer au volume avec la phase mobile ([4.2](#)) et mélanger.

La pureté du biuret doit être au moins de 97 % et la pureté en biuret revendiqué sur l'étiquette du produit doit être basée sur la teneur en biuret et non pas sur le N-contenu. Il existe des méthodes pour la procédure de purification du biuret tels que celles décrites dans AOAC 960.04A(c) ou l'ISO 17322.

5 Appareillage

5.1 Matériel courant de laboratoire.

5.2 Bain à ultrasons.

5.3 Instrument de chromatographie en phase liquide haute performance, avec détecteur UV.

5.4 Micro-seringue, de 5 µl à 50 µl.

5.5 Filtre à seringue, avec membrane filtrante organique d'une porosité de 0,22 µm.

5.6 Boucle d'injection, d'un volume de 10 µl.

5.7 Tamis, d'une ouverture de maille de 0,50 mm.

6 Mode opératoire

6.1 Préparation de l'échantillon d'essai

Pour les engrais à base d'urée, prélever simplement 500 g d'échantillon divisé en tant que prise d'essai; pour les engrais composés, prélever un échantillon réduit pour laboratoire de 100 g, et le broyer jusqu'à ce qu'il passe à travers un tamis de 0,5 mm d'ouverture de maille. Bien mélanger pour homogénéiser l'échantillon. Le placer dans un flacon propre et sec muni d'un couvercle.

6.2 Préparation de la solution d'essai ISO 18643:2016

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f33-46c1-8cbb-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f33-46c1-8cbb-497177364e48/iso-18643-2016)

Des doubles réplicats doivent être préparés pour la détermination finale du résultat.

Peser entre 0,1 g et 0,5 g d'échantillon d'essai (à 0,000 2 g près, pour une teneur en biuret comprise entre 1 mg et 2 mg environ) dans un bécher de 25 ml. Ajouter 10 ml de phase mobile (4.2) et dissoudre en utilisant un bain à ultrasons pendant 10 min. Transvaser dans une fiole jaugée de 25 ml et diluer au volume avec la phase mobile (4.2). Bien mélanger et laisser reposer. Filtrer avec le filtre à seringue afin d'obtenir la solution d'essai.

6.3 Préparation de la solution de calibration de biuret

Conformément au [Tableau 1](#), ajouter à l'aide d'une pipette respectivement 0,00 ml, 0,50 ml, 1,00 ml, 3,00 ml, 5,00 ml et 10,00 ml de la solution mère de biuret (4.3) dans six fioles jaugées de 25 ml. Diluer avec la phase mobile (4.2) et compléter au volume, puis bien mélanger. Filtrer sur la membrane filtrante organique d'une porosité de 0,22 µm.

Tableau 1 — Solution de calibration de biuret

Volume de solution mère de biuret ml	Masse de biuret mg
0,00 ^a	0,00
0,50	0,25
1,00	0,50
3,00	1,50
5,00	2,50
10,00	5,00

^a Solution d'essai à blanc.

6.4 Conditions HPLC

Les conditions d'utilisation HPLC recommandées sont indiquées dans le [Tableau 2](#). D'autres conditions HPLC peuvent être utilisées si elles permettent d'obtenir les mêmes effets de séparation.

Tableau 2 — Conditions d'utilisation HPLC recommandées

Colonne chromatographique	Colonne amino ou colonne aminopropyle, ^a 4,6 mm × 250 mm, avec garniture de 5 µm
Débit	1,0 ml/min ~ 1,3 ml/min
Volume d'injection	10 µl
Température de colonne	35 °C
Longueur d'onde du détecteur	195 nm
<p>^a Si la colonne est neuve ou qu'elle n'a pas été utilisée depuis plus d'une semaine, la conditionner pendant 4 h à température ambiante avec de l'isopropanol de qualité HPLC à un débit qui maintiendra une contre-pression d'au moins 200 bar dans la colonne. Un débit de 1 ml/min convient généralement. Laver à nouveau la colonne pendant 4 h avec de l'acétonitrile à 100 % de qualité HPLC à un débit de 1 ml/min, puis laver avec la phase mobile à un débit de 1 ml/min jusqu'à ce que la ligne de base soit stable.</p>	

NOTE 1 De meilleures conditions de séparation peuvent être déterminées suivant les différents équipements et situations.

NOTE 2 Selon le type d'engrais à base d'urée, d'autres conditions peuvent s'appliquer.

NOTE 3 Une méthode alternative utilisant une phase mobile exempte d'acétonitrile est décrite en l'[Annexe B](#).

6.5 Préparation de la courbe de calibration

S'assurer que les conditions d'utilisation de l'appareil HPLC sont optimisées. Injecter successivement 10 µl des différentes solutions de calibration (6.3) et analyser la série de solutions de calibration de biuret. Chaque solution de calibration doit être analysée deux fois. Tracer la courbe de calibration ou déterminer l'équation de régression linéaire en calculant les moyennes des aires de pics du biuret et la masse correspondante.

6.6 Détermination de la teneur en biuret dans la solution d'essai

Doser la solution d'essai (6.2) de la même manière que les solutions de calibration, mesurer l'aire de pic et calculer la masse de biuret dans chaque solution d'essai en utilisant la courbe de calibration ou l'équation de régression linéaire. Après ce dosage, laver tout d'abord le système avec la phase mobile (4.2) pendant 30 min, puis avec de l'acétonitrile absolu (4.1) pendant 30 min, et enfin arrêter l'appareillage suivant les procédures de fonctionnement.

6.7 Calcul et expression des résultats

La fraction massique de biuret (%), w , est calculée comme indiqué dans le Formule (1).

$$w = \frac{m_1 \times 10^{-3}}{m} \times 100 \quad (1)$$

où

m_1 est la masse de biuret, en mg, dans la solution d'essai, calculée en utilisant la courbe de calibration ou l'équation de régression linéaire correspondant aux aires de pics;

m est la masse, en g, de la prise d'essai.

Le résultat de la détermination est la moyenne arithmétique des résultats des déterminations parallèles.

6.8 Fidélité

6.8.1 Essai interlaboratoires

Les détails concernant l'essai interlaboratoires relatif à la fidélité de la méthode sont récapitulés dans l'[Annexe A](#).

6.8.2 Répétabilité, r

Pour tous les niveaux, la limite de répétabilité r est de 0,022, en unité de fraction massique (%).

6.8.3 Reproductibilité, R

Pour tous les niveaux, la limite de reproductibilité R est de 0,102, en unité de fraction massique (%).

7 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit au moins contenir les informations suivantes:

- a) toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- b) la méthode d'essai utilisée en référence à la présente norme internationale, l'ISO 18643:2016;
- c) les résultats d'essai obtenus;
- d) la date d'échantillonnage et le mode opératoire d'échantillonnage (si ces informations sont connues);
- e) la date de fin de l'analyse;
- f) si l'exigence de limite de répétabilité est remplie, [ISO 18643:2016](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/17bb1760-9f33-46c1-8cbb-beed97b73f6/iso-18643-2016)
- g) tous les détails opératoires non spécifiés dans la présente norme internationale ou considérés comme facultatifs, ainsi que les détails concernant tout incident survenu lors de la mise en œuvre de la méthode, qui peuvent avoir influé sur les résultats d'essai.

Annexe A (informative)

Rapport de l'essai interlaboratoires international

A.1 Général

- a) L'essai interlaboratoires international décrit dans l'ISO/CD 18643 a été réalisé de janvier 2014 à mars 2014. Treize laboratoires ont participé à deux essais en parallèle sur sept échantillons d'essai.
- b) La méthode d'essai décrite dans l'ISO/CD 18643 a été adoptée ici pour la détermination de la teneur en biuret des échantillons d'engrais.
- c) Sept types d'échantillons d'engrais différents ont été utilisés pour cet essai interlaboratoires, chacun avec plusieurs niveaux moyens. Les échantillons d'essai étaient les suivants: échantillon A-engrais composé NPK, échantillon B-engrais complexe à base d'urée formaldéhyde, échantillon C-urée, échantillon D-engrais complexe NPK, échantillon E-solution fertilisante à base d'urée et de nitrate d'ammonium (UAN), échantillon F-urée enrobée de soufre et de polymère (PSCU), et échantillon G-engrais liquide à libération progressive à base d'urée formaldéhyde (Trisert®¹). La teneur en biuret des sept échantillons d'engrais était de l'ordre de 0,09 % ~ 1,01 % (fraction massique).
- d) La fidélité des résultats d'essai est évaluée selon l'ISO 5725-2.

A.2 Analyse statistique des résultats d'essai pour la teneur en biuret

A.2.1 Résultats d'essai d'origine

Treize laboratoires ont participé à la détermination de la teneur en biuret des échantillons d'essai d'engrais. Les résultats sont indiqués dans le [Tableau A.1](#), en unité de fraction massique (%).

Tableau A.1 — Résultats d'essai d'origine pour la détermination de la teneur en biuret

Résultats en fraction massique (%)

Laboratoire <i>i</i>	Niveau <i>j</i>													
	A		B		C		D		E		F		G	
1	0,615	0,602	0,505	0,509	1,006	0,995	0,300	0,310	0,231	0,225	0,946	0,945	0,093	0,091
2	0,580	0,610	0,580	0,580	0,960	1,050	0,340	0,350	0,290	0,280	0,980	0,970	0,130	0,120
3	0,653	0,619	0,485	0,516	0,970	0,938	0,276	0,271	0,211	0,185	0,788	0,784	0,067	0,070
4	0,651	0,654	0,552	0,547	1,047	1,057	0,326	0,336	0,250	0,249	1,061	1,015	0,104	0,106
5	0,625	0,614	0,509	0,510	1,013	1,015	0,277	0,279	0,219	0,212	0,975	0,985	0,070	0,068
6	0,635	0,622	0,523	0,532	1,035	1,038	0,319	0,314	0,248	0,249	0,982	0,985	0,106	0,106
7	0,644	0,644	0,547	0,548	1,053	1,050	0,323	0,325	0,244	0,238	0,961	0,965	0,094	0,093
8	0,610	0,620	0,500	0,500	0,980	0,980	0,310	0,310	0,220	0,220	0,950	0,940	0,100	0,100
9	0,600	0,590	0,500	0,490	0,890	0,900	0,290	0,300	0,210	0,210	0,870	0,870	0,090	0,090
10	0,590	0,590	0,600	0,610	1,110	1,090	0,350	0,350	0,300	0,300	0,940	0,980	0,150	0,150

1) Trisert® est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée à la convenance des utilisateurs de ce document et ne constitue pas une approbation de ce produit par l'ISO.