

---

---

**Engrais — Dosage des condensats  
d'urée par chromatographie liquide  
haute performance (HPLC) —  
Isobutylidène diurée et crotonylidène  
diurée (méthode A) et oligomères de  
méthylène-urée (méthode B)**

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)  
*Fertilizers — Determination of urea condensates using high-  
performance liquid chromatography (HPLC) — Isobutylidenediurea  
and crotonylidenediurea (method A) and methylen-urea oligomers  
(method B)*

ISO 25705:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/907da3e4-9412-4047-9453-9f48b2aedbd1/iso-25705-2016>



**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 25705:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/907da3e4-9412-4047-9453-9f48b2aedbd1/iso-25705-2016>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2016

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  
Fax: +41 22 749 09 47  
E-mail: [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
<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>Échantillonnage et préparation de l'échantillon</b> .....	<b>1</b>
<b>5</b> <b>Méthode A: Dosage de la CDU et de l'IBDU</b> .....	<b>1</b>
5.1   Principe.....	1
5.2   Réactifs.....	2
5.3   Appareillage.....	2
5.4   Mode opératoire.....	2
5.4.1   Paramètres du système HPLC.....	2
5.4.2   Calibration.....	2
5.4.3   Préparation de la prise d'essai.....	3
5.4.4   Mesurage.....	3
5.4.5   Annotations importantes.....	3
5.5   Calculs.....	3
<b>6</b> <b>Méthode B: Dosage des oligomères de méthylène-urée (MU)</b> .....	<b>4</b>
6.1   Principe.....	4
6.2   Réactifs.....	4
6.3   Appareillage.....	5
6.4   Mode opératoire.....	5
6.4.1   Paramètres du système HPLC.....	5
6.4.2   Calibration.....	5
6.4.3   Préparation de la solution d'essai.....	7
6.4.4   Mesurage.....	7
6.4.5   Annotations importantes.....	7
6.5   Calculs.....	7
<b>7</b> <b>Méthodes de fidélité A et B</b> .....	<b>9</b>
7.1   Essai interlaboratoires.....	9
7.2   Répétabilité.....	9
7.3   Reproductibilité.....	9
<b>8</b> <b>Rapport d'essai</b> .....	<b>10</b>
<b>Annexe A (informative) Résultats des essais interlaboratoires</b> .....	<b>11</b>
<b>Annexe B (informative) Chromatogramme et courbes de calibration, méthode A</b> .....	<b>13</b>
<b>Annexe C (informative) Chromatogramme et courbes de calibration, méthode B</b> .....	<b>15</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>18</b>

## 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 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.html](http://www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html)

L'ISO 25705 a été élaborée par le CEN/TC 260 (en tant qu'EN 15705:2010) et a été adoptée par le comité technique ISO/TC 134, *Engrais et amendements*. Les modifications suivantes ont été apportées:

- les références à l'EN 1482-1 et l'EN 1482-2 ont été remplacées par des références à l'ISO 14820-1 et l'ISO 14820-2;
- en 5.2.1 et 6.2.1, le texte général (ne portant pas sur l'eau) a été déplacé directement en 5.2 et en 6.2, respectivement;
- dans le Tableau 1, le mot «approximative» a été ajouté dans les en-têtes de colonne pour IBDU et CDU;
- en 6.4.3, les «billes de verre» et les «billes» ont été remplacées par des «pierres d'ébullition»;
- en 6.4.2.1, 6.4.2.2, 6.4.2.3 et 6.4.2.4, «en plaçant la fiole dans» a été ajouté avant «un bain à ultrasons»;
- en 6.4.2.1, 6.4.2.2, 6.4.2.3, 6.4.2.4, 6.4.2.5 et 6.4.3, «homogénéiser» a été remplacé par «bien mélanger»;
- dans les légendes des Figures B.2, B.3, B.4, C.2, C.3, C.4 et C.5, les unités des surfaces ont été ajoutées.

## Introduction

Les engrais contenant les condensats d'urée et les aldéhydes spécifiés (avec le crotonaldéhyde, appelés crotonylidène diurée ou CDU; avec l'isobutyraldéhyde, appelés isobutylidène diurée ou IBDU; avec le formaldéhyde, appelés urée formaldéhyde ou méthylène-urée ou MU) sont couverts par l'Annexe I du Règlement (CE) n° 2003/2003<sup>[4]</sup> en tant qu'engrais azotés. Les méthodes décrites dans la présente Norme internationale permettent d'effectuer un dosage quantitatif de ces condensats et de déterminer la solubilité des oligomères de MU conformément au Règlement.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 25705:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/907da3e4-9412-4047-9453-9f48b2aedbd1/iso-25705-2016>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 25705:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/907da3e4-9412-4047-9453-9f48b2aedbd1/iso-25705-2016>

# Engrais — Dosage des condensats d'urée par chromatographie liquide haute performance (HPLC) — Isobutylidène diurée et crotonylidène diurée (méthode A) et oligomères de méthylène-urée (méthode B)

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie les méthodes de dosage de l'isobutylidène diurée (IBDU), de la crotonylidène diurée (CDU) (méthode A) et des oligomères de méthylène-urée (MU) (méthode B) dans les engrais par chromatographie liquide haute performance (HPLC).

La méthode est applicable à tous les engrais qui ne contiennent pas de composés organiques interférents.

## 2 Références normatives

Les documents suivants, en tout ou partie, sont référencés de façon normative dans le présent document et sont indispensables pour son application. 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, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 14820-2, *Engrais et amendements minéraux basiques — Échantillonnage et préparation de l'échantillon — Partie 2: Préparation des échantillons*

EN 12944-1, *Engrais et amendements calciques et/ou magnésiens — Vocabulaire — Partie 1: Termes généraux*

EN 12944-2, *Engrais et amendements calciques et/ou magnésiens — Vocabulaire — Partie 2: Termes relatifs aux engrais*

## 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'EN 12944-1 et l'EN 12944-2 s'appliquent.

## 4 Échantillonnage et préparation de l'échantillon

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 14820-1.

La préparation de l'échantillon doit être effectuée conformément à l'ISO 14820-2.

## 5 Méthode A: Dosage de la CDU et de l'IBDU

### 5.1 Principe

L'échantillon est extrait à l'eau et, après dilution adéquate, analysé à l'aide d'un système HPLC approprié.

## 5.2 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, sauf spécification contraire.

**5.2.1 Eau**, distillée ou déminéralisée (qualité 3 conformément à l'ISO 3696).

**5.2.2 Acétonitrile**, de qualité HPLC.

**5.2.3 Isobutylidène diurée et crotonylidène diurée**, sous leur forme pure.

## 5.3 Appareillage

**5.3.1 Matériel et verrerie de laboratoire**, pour la préparation des solutions et dilutions.

**5.3.2 Balance analytique**, précise à  $\pm 0,1$  mg.

**5.3.3 Système HPLC**, avec détecteur UV.

**5.3.4 Bain à ultrasons**.

**5.3.5 Agitateur magnétique**.

**5.3.6 Filtre jetable**, 0,45  $\mu\text{m}$ .

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

## 5.4 Mode opératoire

**5.4.1 Paramètres du système HPLC**

ISO 25705:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/907da3e4-9412-4047-9453-9f48b2aedbd1/iso-25705-2016>

Colonne analytique de séparation: colonne de silice en phase inverse C18<sup>1)</sup>

Longueur d'onde de détection: 200 nm

Éluant: acétonitrile/eau: 10/90 (fraction volumique)

Débit: 1 ml/min

Température: température ambiante

Volume d'injection: 20  $\mu\text{l}$

### 5.4.2 Calibration

#### 5.4.2.1 Solution mère d'IBDU, $\rho(\text{IBDU}) = 100$ mg/l

Peser 100/R mg d'IBDU (5.2.3), où R est la pureté de l'IBDU, verser dans une fiole de 1 000 ml et ajouter environ 900 ml d'eau (5.2.1). Dissoudre dans un bain à ultrasons (5.3.4) pendant environ 10 min, puis agiter à l'aide d'un agitateur magnétique (5.3.5) pendant environ 1 h. Compléter au volume. Il n'est pas nécessaire de filtrer.

1) LiChrosorb RP-18 7  $\mu\text{m}$  250/4 mm est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

#### 5.4.2.2 Solution mère de CDU, $\rho(\text{CDU}) = 100 \text{ mg/l}$

Peser  $100/R$  mg de CDU (5.2.3), où  $R$  est la pureté du CDU, verser dans une fiole de 1 000 ml et ajouter environ 900 ml d'eau (5.2.1). Dissoudre dans un bain à ultrasons (5.3.4) pendant environ 10 min, puis agiter à l'aide d'un agitateur magnétique (5.3.5) pendant environ 1 h. Compléter au volume. Il n'est pas nécessaire de filtrer.

#### 5.4.2.3 Solution de calibration

Pour la calibration, préparer trois solutions conformément au [Tableau 1](#) à l'aide de pipettes jaugées à un trait et compléter jusqu'au trait avec de l'eau (5.2.1).

Pour la détermination du temps de rétention, diluer 10 ml de la solution mère (5.4.2.1) ou (5.4.2.2) dans deux fioles de 100 ml et compléter au volume avec de l'eau (5.2.1).

L'évaluation de la calibration est effectuée manuellement ou selon une méthode de calcul assistée par ordinateur (informatisée).

**Tableau 1 — Préparation des solutions de calibration**

Paramètre	Quantité de solution mère d'IBDU/de CDU ml (à ajouter dans la fiole de 100 ml)	Teneur en IBDU mg/l (approximative)	Teneur en CDU mg/l (approximative)
Solution de calibration 1	10	10,0	10,0
Solution de calibration 2	25	25,0	25,0
Solution de calibration 3	50	50,0	50,0

#### 5.4.3 Préparation de la prise d'essai

Peser 1 g de l'échantillon broyé à  $<0,2$  mm, à 0,1 mg près, et le transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 1 000 ml avec de l'eau (5.2.1). Remplir la fiole jusqu'à environ 900 ml et agiter 10 min dans le bain à ultrasons (5.3.4). Ensuite, compléter jusqu'au trait et agiter pendant 1 h, à température ambiante, à l'aide d'un agitateur magnétique (5.3.5). Diluer 10 ml de la solution dans une fiole jaugée de 100 ml et filtrer dans le flacon d'injection pour HPLC à travers un filtre jetable (5.3.6).

#### 5.4.4 Mesurage

Le mesurage est effectué manuellement ou à l'aide d'un système automatique de prélèvement d'échantillons (échantillonneur automatique).

#### 5.4.5 Annotations importantes

L'IBDU est susceptible de former de l'urée dans une solution aqueuse. Le mesurage des solutions de calibration et d'échantillonnage doit donc être effectué le même jour.

Pour garantir une reproductibilité suffisante, les concentrations en CDU et IBDU des solutions d'échantillonnage doivent se situer dans les limites de calibration (5.4.2).

### 5.5 Calculs

Les calculs peuvent être effectués manuellement ou par ordinateur, en utilisant les paramètres de calibration, en fonction de la quantité utilisée.

Si les calculs sont assistés par ordinateur (informatisés) et si le [Tableau 1](#) est utilisé pour les quantités de solution mère, la teneur en IBDU/CDU, en milligrammes par litre, sera calculée par le système. Les valeurs calculées sont égales au pourcentage de concentration en masse d'IBDU/de CDU dans l'échantillon d'engrais analysé.

Suivant la réglementation générale régissant la déclaration de teneur des composés en pourcentage de la fraction massique d'azote, calculer les teneurs,  $w_{N(\text{IBDU})}/w_{N(\text{CDU})}$  en pourcentage (g/100 g), selon les [Formules \(1\)](#) et [\(2\)](#):

$$w_{N(\text{IBDU})} = w_{\text{IBDU}} \times 0,322 \quad (1)$$

$$w_{N(\text{CDU})} = w_{\text{CDU}} \times 0,326 \quad (2)$$

où

0,322 est le facteur de conversion de la teneur en IBDU de l'engrais en teneur en azote;

0,326 est le facteur de conversion de la teneur en CDU de l'engrais en teneur en azote.

## 6 Méthode B: Dosage des oligomères de méthylène-urée (MU)

NOTE La condensation d'urée et de formaldéhyde produit des oligomères comme la méthylène-diurée (MDU), la diméthylène-triurée (DMTU), la triméthylène-tétraurée (TMTU) et des oligomères supérieurs. Ces trois molécules sont les plus solubles dans l'eau; les composés supérieurs sont insolubles dans l'eau chaude, mais leur azote est assimilable par les plantes par décomposition microbiologique. Par ailleurs, l'urée est toujours associée aux oligomères de MU.

### 6.1 Principe

L'échantillon est extrait à l'eau bouillante et analysé à l'aide d'un système HPLC approprié.

Les oligomères de méthylène-urée solubles sont mesurés et détectés par la méthode HPLC.

Sur le chromatogramme HPLC, les oligomères de méthylène-urée sont représentés par différents pics: l'urée, la méthylène-diurée, la diméthylène-triurée et la triméthylène-tétraurée sont les plus solubles et les plus importantes.

### 6.2 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, sauf spécification contraire.

**6.2.1 Eau**, distillée ou déminéralisée (qualité 3 conformément à l'ISO 3696).

**6.2.2 Acétonitrile**, de qualité HPLC p.a. Il convient de ne pas en utiliser ici, ce n'est pas courant.

**6.2.3 Urée**, de qualité pour réactif (ou de qualité analytique), 46,6 % d'azote total.

**6.2.4 Méthylène-diurée (MDU)**, synthétisée et purifiée par un laboratoire spécialisé, 42,4 % d'azote total<sup>2)</sup>.

**6.2.5 Diméthylène-triurée (DMTU)**, synthétisée et purifiée par un laboratoire spécialisé, 41,2 % d'azote total<sup>2)</sup>.

2) Les solutions de calibration MDU et DMTU peuvent être préparées conformément à la méthode donnée dans Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC Official Method 983.01, JAOAC 66, 769 (1983).

**6.2.6 Triméthylène-tétraurée (TMTU)**, synthétisée et purifiée par un laboratoire spécialisé, 40,6 % d'azote total.

### 6.3 Appareillage

**6.3.1 Matériel et verrerie de laboratoire**, pour la préparation des solutions et dilutions.

**6.3.2 Balance analytique**, précise à  $\pm 0,1$  mg.

**6.3.3 Balance technique**, précise à  $\pm 0,01$  g.

**6.3.4 Système HPLC**, équipé d'un détecteur UV.

**6.3.5 Bain à ultrasons**.

**6.3.6 Agitateur magnétique**.

**6.3.7 Filtre jetable**,  $0,45 \mu\text{m}$ .

### 6.4 Mode opératoire

**6.4.1 Paramètres du système HPLC**

Colonne analytique de séparation (colonne NH<sub>2</sub>,  $5 \mu\text{m}$ ,  $250 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}^3$ )

L'utilisation d'une pré-colonne est recommandée.

Longueur d'onde de détection  $195 \text{ nm}$  (détecteur à barrette de diodes)

Éluant acétonitrile/eau 85/15 (fraction volumique)

Débit  $1 \text{ ml/min}$

Température  $60 \text{ }^\circ\text{C}$

Durée d'élution  $30 \text{ min}$

Volume d'injection  $20 \mu\text{l}$

#### 6.4.2 Calibration

**6.4.2.1 Solution mère d'urée**,  $\rho \approx 1\,000 \text{ mg/kg}$

Peser (6.3.2)  $100/R$  mg d'urée (6.2.3), où  $R$  est la pureté de l'urée, à  $0,1 \text{ mg}$  près, et verser dans une fiole jaugée propre et sèche de  $100 \text{ ml}$ , préalablement pesée (6.3.3) à  $0,01 \text{ g}$  près. Ajouter  $50 \text{ ml}$  d'eau (6.2.1) et dissoudre l'urée en plaçant la fiole dans un bain à ultrasons (6.3.5) pendant environ  $10 \text{ min}$ . Compléter approximativement jusqu'au trait avec de l'eau (6.2.1) et bien mélanger. Peser (6.3.3) la fiole pleine à  $0,01 \text{ g}$  près et enregistrer le poids net. Conserver la fiole bien bouchée à température ambiante. Cette solution mère reste stable pendant une semaine.

3) Supelcosil LC-NH<sub>2</sub> est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.