

DIN EN ISO 25705



ICS 65.080

Entwurf

Einsprüche bis 2019-07-17
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 15705:2010-07

**Düngemittel –
Bestimmung von Harnstoffkondensaten mit
Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) –
Isobutylidendiarnstoff und Crotonylidendiarnstoff (Verfahren A) und
Methylenharnstoff-Oligomere (Verfahren B) (ISO 25705:2016);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 25705:2019**

Fertilizers –

Determination of urea condensates using high-performance liquid chromatography (HPLC) –
Isobutylidenediurea and crotonylidenediurea (method A) and methylene-urea oligomers
(method B) (ISO 25705:2016);
German and English version prEN ISO 25705:2019

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) (ISO 25705:2016);
Version allemande et anglaise prEN ISO 25705:2019

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2019-05-17 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 nal@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 Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL),
10772 Berlin, 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 49 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 25705:2019) enthält unverändert die Internationale Norm ISO 25705:2016, die vom Technischen Komitee ISO/TC 134 „Fertilizers and soil conditioners“ (Sekretariat: ISIRI, Iran, Islamic Republic of) erarbeitet und aufgrund des Beschlusses des CEN/TC 260 „Düngemittel und Kalkdünger“ (Sekretariat: DIN, Deutschland) zur Übernahme als Europäische Norm EN ISO 25705 vorgeschlagen wird.

ISO 25705:2016 wurde als EN 15705:2010 von CEN/TC 260 im Rahmen des Mandats M/335 erarbeitet und ohne Änderungen außer den im Vorwort genannten vom Technischen Komitee ISO/TC 134 „Fertilizers and soil conditioners“ angenommen.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-03-02 AA „Düngemittel“ des DIN-Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

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 internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 5725-1	siehe	DIN ISO 5725-1
ISO 5725-2	siehe	DIN ISO 5725-2
ISO 14820-1	siehe	E DIN EN ISO 14820-1
ISO 14820-2	siehe	E DIN EN ISO 14820-2

Änderungen

Gegenüber DIN EN 15705:2010-07 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Verweisungen auf EN 1482-1 und EN 1482-2 sind in ISO 14820-1 und ISO 14820-2 geändert worden;
- b) in 5.2.1 und 6.2.1 wurde der allgemeine Text (nicht Wasser betreffend) direkt unter 5.2 bzw. 6.2 verschoben;
- c) in Tabelle 1 wurde das Wort „etwa“ zu den Kopfzeilen der Spalten IBDU und CDU hinzugefügt;
- d) in 5.4.3 und 6.4.3 in deutscher Fassung: keine Änderung, da sich für die deutsche Übersetzung aus dem geänderten englischen Text keine Änderung ergibt;
- e) in 6.4.3 wurde „Glasstücke“ durch „Siedesteine“ ersetzt;
- f) in 6.4.2.1, 6.4.2.2, 6.4.2.3 und 6.4.2.4 wurde jeweils eingefügt: „durch Eingeben des Kolbens“ vor „in das Ultraschallbad“;
- g) in 6.4.2.1, 6.4.2.2, 6.4.2.3, 6.4.2.4, 6.4.2.5 und 6.4.3 wurde „homogenisiert“ durch „sorgfältig gemischt“ ersetzt.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen (ISO 3696:1987)*

DIN ISO 5725-1, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 1: Allgemeine Grundlagen und Begriffe*

DIN ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichspräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

E DIN EN ISO 14820-1, *Düngemittel und Kalkdünger — Probenahme und Probenvorbereitung — Teil 1: Probenahme*

E DIN EN ISO 14820-2, *Düngemittel und Kalkdünger — Probenahme und Probenvorbereitung — Teil 2: Probenvorbereitung*

— Leerseite —

Düngemittel — Bestimmung von Harnstoffkondensaten mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) — Isobutylidendiarnstoff und Crotonylidendiarnstoff (Verfahren A) und Methylenharnstoff-Oligomere (Verfahren B) (ISO 25705:2016)

Engrais — Dosage des condensats d'urée par chromatographie liquide haute performance (CLHP) — Isobutylidène diurée et crotonylidène diurée (méthode A) et oligomères de méthylène-urée (méthode B) (ISO 25705:2016)

Fertilizers — Determination of urea condensates using high-performance liquid chromatography (HPLC) — Isobutylidenediurea and crotonylidenediurea (method A) and methylene-urea oligomers (method B) (ISO 25705:2016)

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokument-Stage: CEN-Umfrage

Dokument-Sprache: D

STD Version 2.9p

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Probenahme und Probenvorbereitung	7
5 Verfahren A: Bestimmung von CDU und IBDU	7
5.1 Kurzbeschreibung	7
5.2 Reagenzien	7
5.3 Geräte	8
5.4 Durchführung	8
5.4.1 HPLC Systemparameter	8
5.4.2 Kalibrierung	8
5.4.3 Vorbereitung der Prüfmenge	9
5.4.4 Messung	9
5.4.5 Wichtige Hinweise	9
5.5 Berechnung	9
6 Verfahren B: Bestimmung von Methylenharnstoff-Oligomeren (MU)	10
6.1 Kurzbeschreibung	10
6.2 Reagenzien	10
6.3 Geräte	11
6.4 Durchführung	11
6.4.1 HPLC-Systemparameter	11
6.4.2 Kalibrierung	11
6.4.3 Herstellung der Prüflösung	13
6.4.4 Messung	13
6.4.5 Wichtige Hinweise	13
6.5 Berechnungen	14
7 Präzision des Verfahrens A und des Verfahrens B	15
7.1 Ringversuch	15
7.2 Wiederholpräzision	15
7.3 Vergleichpräzision	15
8 Prüfbericht	16
Anhang A (informativ) Ergebnisse der Ringversuche	17
Anhang B (informativ) Chromatogramm und Kalibrierkurven für Verfahren A	19
B.1 Chromatogramm	19
B.2 Kalibrierkurven	20
Anhang C (informativ) Chromatogramm und Kalibrierkurven für Verfahren B	21
C.1 Chromatogramm	21
C.2 Kalibrierkurven	22
Literaturhinweise	24

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 25705:2016 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 134 „Fertilizers, soil conditioners and beneficial substances“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als prEN ISO 25705:2019 durch das Technische Komitee CEN/TC 260 „Düngemittel und Kalkdünger“ übernommen, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN 15705:2010 ersetzen.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 25705:2016 wurde von CEN als prEN ISO 25705:2019 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees 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 Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen 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. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien 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 empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

ISO 25705 wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 260, *Düngemittel und Kalkdünger* (als EN 15705:2010) erarbeitet und vom Technischen Komitee ISO/TC 134, *Fertilizers, soil conditioners and beneficial substances* angenommen. Die folgenden Änderungen wurden durchgeführt.

- a) Die Verweisungen auf EN 1482-1 und EN 1482-2 sind in ISO 14820-1 und ISO 14820-2 geändert worden.
- b) In 5.2.1 und 6.2.1 wurde der allgemeine Text (nicht Wasser betreffend) direkt unter 5.2 bzw. 6.2 verschoben.
- c) In Tabelle 1 wurde das Wort „etwa“ zu den Kopfzeilen der Spalten IBDU und CDU hinzugefügt.
- d) In 5.4.3 und 6.4.3 in deutscher Fassung: keine Änderung, da sich für die deutsche Übersetzung aus dem geänderten englischen Text keine Änderung ergibt.
- e) In 6.4.3 wurde „Glasstücke“ durch „Siedesteine“ ersetzt.
- f) In 6.4.2.1, 6.4.2.2, 6.4.2.3 und 6.4.2.4 wurde jeweils eingefügt: „durch Eingeben des Kolbens“ vor „in das Ultraschallbad“.
- g) In 6.4.2.1, 6.4.2.2, 6.4.2.3, 6.4.2.4, 6.4.2.5 und 6.4.3 wurde „homogenisiert“ durch „sorgfältig gemischt“ ersetzt.

- h) In 6.4.2.5 in deutscher Fassung: keine Änderung, da sich für die deutsche Übersetzung aus dem geänderten englischen Text keine Änderung ergibt.
- i) In den Legenden zu den Bildern B.2, B.3, B.4, C.2, C.3, C.4, und C.5 wurden die Einheiten für die Flächen ergänzt.

Einleitung

Düngemittel, die Kondensate aus Harnstoff und spezifizierten Aldehyden (mit Crotonaldehyd bezeichnet als Crotonylidendiarnstoff oder CDU, mit Isobutyraldehyd bezeichnet als Isobutylidendiarnstoff oder IBDU, mit Formaldehyd bezeichnet als Harnstoffformaldehyd oder Methylenharnstoff oder MU) enthalten, entsprechen dem Anhang I der Verordnung (EG) 2003/2003 [1] als Stickstoffdünger. Die in dieser Europäischen Norm beschriebenen Verfahren erlauben die quantitative Bestimmung dieser Kondensate und die Bestimmung der Löslichkeit der MU-Oligomere in Übereinstimmung mit dieser Verordnung.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt Verfahren für die Bestimmung von Isobutylidendiharnstoff (IBDU), Crotonylidendiharnstoff (CDU) (Verfahren A) und Methylenharnstoff-Oligomere (MU) (Verfahren B) in Düngemitteln mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) fest.

Das Verfahren gilt für alle Düngemittel, die keine störenden organischen Verbindungen enthalten.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. 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 14820-2, *Fertilizers and liming materials — Sampling and sample preparation — Part 2: Sample preparation*

EN 12944-1, *Düngemittel und Kalkdünger — Vokabular — Teil 1: Allgemeine Begriffe*

EN 12944-2, *Düngemittel und Kalkdünger — Vokabular — Teil 2: Begriffe für Düngemittel*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach EN 12944-1 und EN 12944-2.

4 Probenahme und Probenvorbereitung

Die Probenahme ist nicht Bestandteil des in dieser Internationalen Norm festgelegten Verfahrens. Ein zu empfehlendes Probenahmeverfahren ist in ISO 14820-1 angegeben.

Die Probenvorbereitung muss nach ISO 14820-2 durchgeführt werden.

5 Verfahren A: Bestimmung von CDU und IBDU

5.1 Kurzbeschreibung

Die Probe wird mit Wasser extrahiert und nach entsprechender Verdünnung mit einem geeigneten HPLC-System analysiert.

5.2 Reagenzien

Es werden nur Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit verwendet, sofern nicht anders festgelegt.

5.2.1 Wasser, destilliertes oder demineralisiertes Wasser (Qualität 3 nach ISO 3696).

5.2.2 Acetonitril, HPLC-Qualität.

5.2.3 Isobutylidendiharnstoff und Crotonylidendiharnstoff, in ihrer reinen Form.

5.3 Geräte

5.3.1 Laborausrüstung und Glasgeräte zur Herstellung von Lösungen und Verdünnungen.

5.3.2 Analysenwaage, mit einer Fehlergrenze von $\pm 0,1$ mg.

5.3.3 HPLC-System mit UV-Detektor.

5.3.4 Ultraschallbad.

5.3.5 Magnetrührer.

5.3.6 EinmalgebrauchsfILTER, $0,45\ \mu\text{m}$.

5.4 Durchführung

5.4.1 HPLC Systemparameter

Analysen-/Trennsäule: Kieselgel[kapillar]säule mit C18-Umkehrphase¹⁾

Nachweiswellenlänge: 200 nm

Elutionsmittel: Acetonitril-Wasser-Gemisch: 10/90 (Volumenanteil)

Durchfluss: 1 ml/min

Temperatur: Umgebungstemperatur

Injektionsvolumen: 20 μl

5.4.2 Kalibrierung

5.4.2.1 IBDU-Stammlösung $\rho(\text{IBDU}) = 100\ \text{mg/l}$

In einen 1 000-ml-Kolben werden $100/R$ mg IBDU (5.2.3) eingewogen, wobei R die Reinheit des IBDU ist, und etwa 900 ml Wasser (5.2.1) hinzugefügt. Nach dem Lösen im Ultraschallbad (5.3.4) für etwa 10 min wird auf einem Magnetrührgerät (5.3.5) für etwa 1 h gerührt. Das Volumen wird bis zur Marke aufgefüllt. Eine Filtration ist nicht erforderlich.

5.4.2.2 CDU-Stammlösung $\rho(\text{CDU}) = 100\ \text{mg/l}$

In einen 1 000-ml-Kolben werden $100/R$ mg CDU (5.2.3) eingewogen, wobei R die Reinheit des CDU ist, und etwa 900 ml Wasser (5.2.1) hinzugefügt. Nach dem Lösen im Ultraschallbad (5.3.4) für etwa 10 min wird auf einem Magnetrührgerät (5.3.5) für etwa 1 h gerührt. Das Volumen wird bis zur Marke aufgefüllt. Eine Filtration ist nicht erforderlich.

1) LiChrosorb RP-18 $7\ \mu\text{m}$ 250/4 mm ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Internationalen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch ISO.

5.4.2.3 Kalibrierlösung

Für die Kalibrierung werden mit Vollpipetten drei Lösungen nach Tabelle 1 hergestellt und mit Wasser (5.2.1) auf das Maßvolumen verdünnt.

Für die Bestimmung der Retentionszeit werden jeweils 10 ml der Stammlösungen nach 5.4.2.1 oder 5.4.2.2 in zwei 100-ml-Kolben gegeben und mit Wasser (5.2.1) auf das Maßvolumen verdünnt.

Die Bewertung der Kalibrierung wird manuell oder mittels eines geeigneten rechnergestützten Berechnungsverfahrens durchgeführt.

Tabelle 1 — Herstellung der Kalibrierlösungen

Parameter	Menge der Stammlösung	Gehalt an IBDU	Gehalt an CDU
	IBDU/CDU ml (Zugabe zu 100-ml-Kolben)	mg/l (etwa)	mg/l (etwa)
Standard 1	10	10,0	10,0
Standard 2	25	25,0	25,0
Standard 3	50	50,0	50,0

5.4.3 Vorbereitung der Prüfmenge

Von der auf < 0,2 mm gemahlene Probe wird 1 g auf 0,1 mg eingewogen und mit Wasser (5.2.1) in einen 1 000-ml-Messkolben gespült. Der Kolben wird auf eine Menge von etwa 900 ml gefüllt und für 10 min im Ultraschallbad (5.4.3) behandelt. Anschließend wird bis zur Marke aufgefüllt und auf dem Magnetrührgerät (5.3.5) 1 h bei Raumtemperatur gerührt. In einem 100-ml-Messkolben werden 10 ml der Lösung verdünnt und durch ein EinmalgebrauchsfILTER (5.3.6) in das HPLC-Injektionsgefäß (Vial) filtriert.

5.4.4 Messung

Die Messung wird manuell oder mit Hilfe eines automatischen Probenaufgabesystems (Autosamplers) durchgeführt.

5.4.5 Wichtige Hinweise

IBDU kann in wässriger Lösung Harnstoff bilden. Aus diesem Grund muss die Messung der Kalibrier- und der Probenlösungen innerhalb eines Arbeitstages abgeschlossen werden.

Die Konzentrationen von CDU und IBDU in den Probenlösungen müssen innerhalb der Kalibriergrenzen (5.4.2) gehalten werden, um eine ausreichende Vergleichspräzision sicherzustellen.

5.5 Berechnung

Die Berechnung kann manuell oder mit Hilfe eines PC unter Verwendung der Kalibrierparameter in Bezug zur verwendeten Menge durchgeführt werden.

Im Fall der computergestützten Berechnung und Anwendung der Tabelle 1 hinsichtlich der Mengen der Stammlösung wird der Gehalt an IBDU/CDU in Milligramm je Liter vom System berechnet. Die berechneten Werte sind gleich der prozentualen Massenkonzentration von IBDU/CDU in der analysierten Düngemittelprobe.

Unter Befolgung der allgemeinen Deklarationsregeln in Vorschriften zur Angabe des Gehalts von Verbindungen als prozentualer Stickstoff-Massenanteil sind die Gehalte $w_{N(\text{IBDU})}$ und $w_{N(\text{CDU})}$ in Prozent (g/100 g) nach Gleichung (1) und Gleichung (2) zu berechnen:

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

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

Dabei ist

0,322 der Umrechnungsfaktor für die Umrechnung des Gehalts an IBDU im Düngemittel in den Stickstoffgehalt;

0,326 der Umrechnungsfaktor für die Umrechnung des Gehalts an CDU im Düngemittel in den Stickstoffgehalt.

6 Verfahren B: Bestimmung von Methylenharnstoff-Oligomeren (MU)

ANMERKUNG Durch die Kondensation von Harnstoff und Formaldehyd entstehen einzelne Oligomere wie Methylen-diharnstoff (MDU), Dimethylentriharnstoff (DMTU), Trimethylentetraharnstoff (TMTU) und höhere Oligomere. Die drei genannten Moleküle sind die wasserlöslichsten, während die höherkondensierten (längerkettigen) Verbindungen in heißem Wasser unlöslich sind, ihr Stickstoff für die Pflanzen auf Grund von mikrobiologischer Zersetzung jedoch verfügbar ist. Ebenfalls ist Harnstoff immer ein Begleiter von MU-Oligomeren.

6.1 Kurzbeschreibung

Die Probe wird mit siedendem Wasser extrahiert und mit einem geeigneten HPLC-System analysiert.

Die löslichen Methylenharnstoff-Oligomere werden mittels HPLC gemessen und nachgewiesen.

Im HPLC-Diagramm sind die Methylenharnstoff-Oligomere durch verschiedene Peaks dargestellt: Harnstoff, Methylen-diharnstoff, Dimethylentriharnstoff und Trimethylentetraharnstoff sind inzwischen die löslichsten und wichtigsten.

6.2 Reagenzien

Es werden nur Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit verwendet, sofern nicht anders festgelegt.

6.2.1 Wasser, destilliertes oder demineralisiertes Wasser (Qualität 3 nach ISO 3696).

6.2.2 Acetonitril, HPLC-Qualität p. a. sollte hier nicht verwendet werden, da es nicht üblich ist.

6.2.3 Harnstoff, analysenrein, 46,6 % Gesamtstickstoff.

6.2.4 Methylen-diharnstoff (MDU), synthetisiert und gereinigt in einem Speziallaboratorium, 42,4 % Gesamtstickstoff.²⁾

6.2.5 Dimethylentriharnstoff (DMTU), synthetisiert und gereinigt in einem Speziallaboratorium, 41,2 % Gesamtstickstoff.²⁾

2) Die Standardsubstanzen MDU und DMTU können nach der in den Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC Official Method 983.01, JAOAC 66, 769 (1983) festgelegten Methode hergestellt werden.

6.2.6 Trimethylentetraharnstoff (TMTU), synthetisiert und gereinigt in einem Speziallaboratorium, 40,6 % Gesamtstickstoff.

6.3 Geräte

6.3.1 Laborausrüstung und Laborglasgeräte, zur Herstellung von Lösungen und Verdünnungen.

6.3.2 Analysenwaage, mit einer Fehlergrenze von $\pm 0,1$ mg.

6.3.3 Technische Waage, mit einer Fehlergrenze von $\pm 0,01$ g.

6.3.4 HPLC-System, ausgestattet mit UV-Detektor.

6.3.5 Ultraschallbad.

6.3.6 Magnetrührer.

6.3.7 EinmalgebrauchsfILTER, 0,45 μm .

6.4 Durchführung

6.4.1 HPLC-Systemparameter

Analysen-/Trennsäule: NH_2 -Säule, 5 μm , 250 mm $\times$ 4,6 mm³⁾

Eine Vorsäule wird empfohlen.

Nachweiswellenlänge: 195 nm (Photodiodenarraydetektor)

Elutionsmittel: Acetonitril-Wasser-Gemisch: 85/15 (Volumenanteil)

Durchfluss: 1 ml/min

Temperatur: 60 °C

Laufzeit: 30 min

Injektionsvolumen: 20 μl

6.4.2 Kalibrierung

6.4.2.1 Harnstoff-Stammlösung $\rho \approx 1\,000$ mg/kg

100/ R mg Harnstoff (6.2.3) werden auf 0,1 mg eingewogen (6.3.2), wobei R die Reinheit des Harnstoffs ist, und in einen leeren, trockenen, zuvor auf 0,01 g gewogenen (6.3.3) 100-ml-Messkolben gegeben. Nach Zugabe von 50 ml Wasser (6.2.1) wird der Messkolben für etwa 10 min im Ultraschallbad (6.3.5) platziert, um den Harnstoff zu lösen. Das Volumen wird mit Wasser (6.2.1) bis etwa zur Marke aufgefüllt und die Lösung sorgfältig gemischt. Der volle Kolben wird auf 0,01 g gewogen (6.3.3) und die Nettomasse aufgezeichnet. Die Aufbewahrung muss bei Raumtemperatur im dicht verschlossenen Gefäß erfolgen. Diese Stammlösung ist eine Woche haltbar.

3) Supelcosil LC-NH₂ ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unter-
richtung der Anwender dieser Internationalen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts
durch ISO.