



SECRETARIA DE COMERCIO

Y

FOMENTO INDUSTRIAL

NORMA MEXICANA

NMX-Y-037-1981

**UREA - DETERMINACION DE BIURET - METODO
COLORIMETRICO**

UREA - BIURET DETERMINATION - COLORIMETRIC METHOD

DIRECCION GENERAL DE NORMAS

PREFACIO

En la elaboración de esta norma participaron los siguientes organismos:

- UNION DE PRODUCTORES DE ALGODON.
- LABORATORIO BANCO DE CREDITO RURAL.
- SECRETARIA DE AGRICULTURA Y RECURSOS HIDRAULICOS.
DIRECCION GENERAL DE EXTENSION AGRICOLA.
DEPARTAMENTO DE SUELOS Y LABORATORIOS.
- SERVICIOS AGRICOLAS BANRURAL.
- FERTILIZANTES MEXICANOS, S.A.

UREA - DETERMINACION DE BIURET - METODO COLORIMETRICO

UREA - BIURET DETERMINATION - COLORIMETRIC METHOD

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

Esta norma establece un método colorimétrico para la determinación de biuret en urea, en un ámbito de concentración de 0.1 a 3.0%.

2 REFERENCIAS

Esta norma se complementa con la siguiente Norma Mexicana vigente:

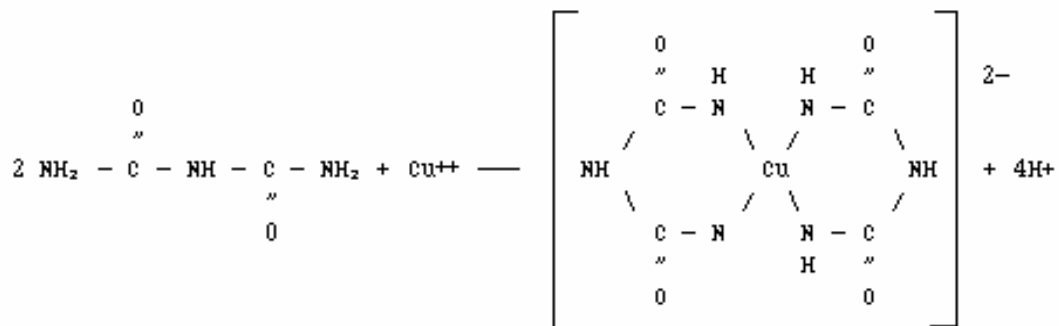
NOM-Y-035 FERTILIZANTES - Procedimiento de muestreo de Líquidos, Polvos y Gránulos.

3 PRINCIPIO

Este método se basa en la formación de un complejo color rojo - púrpura al reaccionar el biuret con el cobre divalente en un medio alcalino. El cobre añadido en exceso, se mantiene en disolución por la presencia del tartrato de sodio y potasio. La intensidad de dicha coloración es proporcional a la cantidad de biuret presente y se cuantifica colorimétricamente.

4 REACCIONES

El biuret reacciona con el ión cuproso de acuerdo a la ecuación :



5 REACTIVOS Y MATERIALES

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser grado analítico a menos que se indique otra cosa. Cuando se hable de agua, debe entenderse agua destilada o desmineralizada.

5.1 Alcohol etílico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), 99.5%

5.2 Alcohol metílico (CH_3OH), 99.5 - 99.8 %

5.3 Disolución de sulfato de cobre.

Tomar al 0.01 g, 15 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), transferir a un matraz volumétrico de 1000 cm^3 , agregar agua libre de dióxido de carbono (CO_2) hasta disolución total, llevar a la marca con agua libre de CO_2 y homogeneizar.

NOTA 1: El sulfato de cobre no es estable en disoluciones que contengan dióxido de carbono, formándose un precipitado de carbonato de cobre básico ($\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$) después de algún tiempo de su preparación, por eso debe emplearse agua libre de CO_2 .

NOTA 2: Para comprobar la condición en que se encuentra la disolución de sulfato de cobre, se recomienda medir la absorbancia de la misma a una longitud de onda de 555 nm contra un testigo de agua cada que se vaya a realizar esta determinación. La absorbancia debe permanecer constante; de no ser así, se recomienda desechar la disolución. Cuando se observe la formación de un precipitado, se debe desechar también esta disolución.

5.4 Disolución alcalina de tartrato de sodio y potasio

5.4.1 Tomar al 0.01 g, 40 g de hidróxido de sodio (NaOH), transferir a un matraz volumétrico de 1000 cm^3 , agregar 500 cm^3 de agua, agitar hasta disolución total y enfriar.

5.4.2 Tomar al 0.01 g, 50 g de tartrato de sodio y potasio ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), transferir a un matraz volumétrico de 1000 cm^3 conteniendo la disolución obtenida en 5.4.1, agitar hasta disolución total, llevar a la marca con agua y homogeneizar. Esta disolución debe dejarse reposar 24 horas antes de usarse.

NOTA: Como una alternativa de este procedimiento, puede utilizarse en lugar de las disoluciones obtenidas en 5.3 y 5.4, una disolución única que se prepara mezclando partes iguales de las dos disoluciones anteriores (5.3 y 5.4).

5.5 Disolución de ácido sulfúrico (H_2SO_4), 0.1 N

5.6 Biuret purificado

Tomar 10 g de biuret ($\text{NH}_2\text{CONHCONH}_2$), transferir a un vaso de precipitados de 2000 cm^3 , agregar 1000 cm^3 de alcohol etílico (5.1), disolver y calentar a ebullición incipiente

hasta tener un volumen aproximado de 250 cm³. Enfriar hasta una temperatura de 278 K (5°C) y mantener así durante 8 horas. Filtrar a través de un crisol gooch, lavar con tres porciones de 20 cm³ de alcohol etílico (5.1). El producto aquí obtenido corresponde aproximadamente a un 60% de recuperación de la masa inicial. Repetir la cristalización y secar el producto final a una temperatura de 383 ± 1 K (110 ± 1°C) durante 2 horas ± 10 minutos. El punto de fusión del biuret puro es de 463 K (190°C) con un contenido de 40.76 % de nitrógeno total.

5.7 Disolución patrón de biuret, 1 mg biuret/cm³

Tomar exactamente 1.0000 g de biuret purificado (5.6), transferir a un matraz volumétrico de 1000 cm³, agregar agua libre de dióxido de carbono hasta disolución total, llevar a la marca con agua libre de dióxido de carbono y homogeneizar.

5.8 1.0 g de rojo de metilo (ácido p-dimetilaminoazobencencarboxílico) [4-(CH₃)₂NC₆H₄ - 2 -COOH], transferir a un matraz volumétrico de 1000 cm³, agregar alcohol etílico (5.1) hasta disolución total, llevar a la marca con alcohol etílico (5.1) y homogeneizar.

5.9 Papel filtro Whatman No. 5 o equivalente

6 APARATOS

Aparatos usuales de laboratorio y:

6.1 Placa de calentamiento con regulador de temperatura

6.2 Baño de agua capaz de mantener 303 ± 5 K (30 ± 5°C)

6.3 Espectrofotómetro o fotocolorímetro con filtro para 555 nm y celdas de absorción de 20-40 mm de paso de luz.

NOTA: Cuando se utiliza un fotocolorímetro del tipo Klett-Summerson, el filtro requerido es el No. 54 (verde).

7 MUESTREO Y MUESTRAS

7.1 Obtener la muestra de análisis de acuerdo a la norma NOM-Y-035 vigente.

7.2 Debe procurarse mantener la muestra de análisis en recipientes perfectamente cerrados y en lugar seco y fresco, ya que la urea tiende a absorber humedad y a descomponerse durante su almacenamiento, dando lugar a la formación de amoníaco.

8 PROCEDIMIENTO

8.1 Porción de análisis

Tomar al 0.0001 g una porción de análisis de la muestra de acuerdo a la Tabla 1.

TABLA 1.- Porciones de análisis y disoluciones adecuadas para la determinación, según el contenido esperado de biuret.

Contenido - esperado de biuret, en %	Masa de la porción de análisis, en g	Dilución de la porción de análisis, en cm ³	Alicuota para la determinación, en cm ³
0.1 - 0.2	50.0	200	50
0.2 - 0.3	25.0	200	50
0.3 - 0.5	25.0	200	50
0.5 - 1.0	20.0	200	50
1.0 - 1.5	12.5	250	50
1.5 - 2.0	10.0	250	50
2.0 - 2.5	12.5	250	25
2.5 - 3.0	10.0	250	25

8.2 Prueba testigo

Correr una prueba testigo, usando 50 cm³ de agua y proceder como se indica en 8.4.5.

8.3 Curva de calibración

8.3.1 De la disolución patrón de biuret (5.6) medir con bureta 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50 cm³ (conteniendo 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50 mg de biuret respectivamente), transferir a sendos matraces volumétricos de 100 cm³ y continuar como en 8.4.5.

8.3.2 Elaborar una gráfica, colocando como abscisas los mg de biuret y como ordenadas las lecturas.

8.4 Determinación

8.4.1 Transferir la porción de análisis a un vaso de precipitados de 250 cm³.

8.4.2 Agregar 100 cm³ de agua y disolver la porción de análisis.

8.4.3 Calentar suavemente en placa de calentamiento (6.1) hasta una temperatura de 323 K (50°C) y agitar durante 30 minutos manteniendo esta temperatura.

8.4.4 Filtrar la disolución a través de papel filtro (5.9), lavar tres veces con porciones de aproximadamente 25 cm³ de agua, procurando hacer cada adición una vez que haya pasado en su totalidad la porción anterior. Recibir filtrado y lavados en un matraz volumétrico correspondiente al volumen de la porción de análisis (Tabla 1). Enfriar, llevar hasta la marca con agua y homogeneizar.

8.4.5 Transferir la alícuota para la determinación a un matraz volumétrico de 100 cm³. Adicionar una gota de la disolución indicadora de rojo metilo (5.8) y neutralizar con la disolución de ácido sulfúrico (5.5) hasta la aparición de un color ligeramente rosa.

8.4.6 Agregar con bureta y agitando el matraz volumétrico, 20 cm³ de la disolución alcalina de tartrato de sodio y potasio (5.4) y después agregar con bureta 20 cm³ de la disolución de sulfato de cobre (5.3). Llevar a la marca con agua y homogeneizar agitando durante 10 segundos.

NOTA: En vez de la adición de las disoluciones anteriores (5.4 y 5.3) puede agregarse 40 cm³ de la disolución única (ver nota en 5.4.2).

8.4.7 Transferir el matraz volumétrico a un baño de agua (6.2) durante 5 minutos, ajustando previamente la temperatura del baño a 303 ± 5 K (30 ± 5°C).

8.4.8 Ajustar el espectrofotómetro o el fotocolorímetro (6.3) a cero de la lectura con el testigo (8.2), empleando las celdas de 20 mm de paso de luz y a una longitud de onda de 555 nm.

8.4.9 Efectuar la lectura después de los 5 minutos de reposo.

9 EXPRESION DE RESULTADOS

9.1 Método de cálculo y fórmula

El contenido de biuret expresado como porcentaje en masa es calculado por la siguiente expresión:

$$\% \text{ Biuret} = \frac{m_1 \times V_1}{m_0 \times V_2} \times 100$$

en donde:

m₁, es la masa de biuret leída en la curva de calibración, en miligramos.

m₀, es la masa de la porción de análisis, en miligramos.

V₁ es el volumen de la disolución de la porción de análisis, en centímetros cúbicos.

V₂, es el volumen de la alícuota para la determinación, en centímetros cúbicos.

9.2 Repetibilidad

La diferencia entre los valores de dos determinaciones efectuadas en una misma muestra por un analista, no debe ser mayor de 3 % del valor promedio de ambas determinaciones.

9.3 Reproducibilidad

La diferencia entre el valor obtenido por un analista y el promedio de una serie de determinaciones efectuadas por diferentes analistas en diferentes laboratorios, para una misma muestra, no debe exceder de 10% del valor promedio.

10 NOTAS AL PROCEDIMIENTO

10.1 El amoníaco en forma de hidróxido, carbonato, carbonato ácido, o carbamato interfiere en la determinación cuando se encuentra en una concentración mayor al 0.5% como NH_3 , obteniéndose valores más altos del biuret presente.

10.2 En el método colorimétrica oficial de la AOAC, se recomienda el uso de 15 minutos de tiempo de reposo y una temperatura para desarrollo de color de $303 \pm 5 \text{ K}$ ($30 \pm 5^\circ\text{C}$), sin embargo, estas condiciones son equivalentes a las mencionadas en esta norma (5 minutos de tiempo de reposo y temperatura de $303 \pm 5 \text{ K}$ ($30 \pm 5^\circ\text{C}$) para desarrollo de color respectivamente).

11 INFORME DE RESULTADOS

El informe correspondiente a los resultados obtenidos para una muestra de laboratorio, debe incluir las siguientes indicaciones:

- a) Datos relacionados con la muestra como:
 - Identificación y descripción
 - Datos sobre la toma de la misma
 - Fecha de recepción
 - Fecha de terminación del análisis
- b) Referencia del método empleado
- c) Resultados y forma de expresión
- d) Aspectos irregulares observados durante la determinación
- e) Cualquier modificación hecha al presente método y que pudiera afectar los resultados, así como la causa de la misma.

12 BIBLIOGRAFIA

- 12.1 Analytical Methods. Lab. Centr. DSM, method 135-E (1971)
- 12.2 Corominas, L. F. Collaborative Study of the Official AOAC Method for the Determination of Biuret in Fertilizers. Journal of the AOAC. Vo. 57, No. 6 (Nov. 1974) 1360-1362.
- 12.3 Corominas, L. F. Collaborative Study of the modifications of the Official AOAC Method for the Determination of Biuret in Fertilizers. Journal of the AOAC, Vol. 59, No. 4 (1976) 923-926.
- 12.4 Corominas, L. F. Comparison of Official AOAC Method and Indirect Atomic Absorption Spectroscopic Method for Determining Biuret in Fertilizers: Collaborative Study. Journal of the AOAC. Vol. 60 No. 5 (1977) 1214-1219.
- 12.5 Ellis, G.C. y Formaini. R. L. Colorimetric Determination of Biuret. J. Agr. Food Chem., 3 (1955) 615-618.
- 12.6 Geurts, J.J., Van Stelle, E. J. y Brinkman, G. E. Determination of Biuret in Urea and Mixed Fertilizers. Anal. Chim. Acta, 41 (1968) 113-120.
- 12.7 Horwitz, W., Editor. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12th edition, AOAC. Washington, D.C. (1975) 18-19 Sec. 2.072-2.074.
- 12.8 Toyo Koatsu Industries, Inc. (Actualmente, Mitsui Toatsu Chemicals, Inc.) Analytical Methods.
- 12.9 Guijosa, F. M., Informe A521/78/215, Departamento de Experimentación, 1978. Fertimex, S.A.

México, D.F., Marzo 24, 1981

EL DIRECTOR GENERAL DE NORMAS



DR ROMAN SERRA CASTAÑOS
 Fecha de aprobación y publicación: Abril 9, 1981