Генеральный директор ООО
«МедЭкоТест»

профессор, д.х.н. Моросанова Е.И.

_____ 2018 г

Методика
измерений массовой доли нитрат-ионов (нитратного азота) в почвах спектрофотометрическим методом с использованием тест-системы МЭТ-Азот нитратный-РС

Москва - 2015

gost.e-ecolog.ru

Разработчик: ООО "МедЭкоТест"
Адрес: 119991, г. Москва, Ленинские Горы, владение 1, Научный Парк МГУ, стр. 75Г
Телефон: 8(495) 646-10-56

Методика измерений аттестована Федеральным Государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы» (ФГУП «ВНИИМС»), Свидетельство об аттестации **№ 01.00225/205-25-15** порядковый номер регистрации в Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений **ФР.1.31.2015.20957**

1 НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящий документ устанавливает методику измерений массовой доли нитрат-ионов (нитратного азота) в почвах, гумусе и торфе в диапазонах измерений, приведенных в таблице 1, спектрофотометрическим методом с использованием тест-системы МЭТ-Азот нитратный-РС. Определение может быть проведено во внелабораторных условиях.

2 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в полном соответствии с данной методикой значение погрешности измерений (и ее составляющих) не превышает значений, представленных в таблице 1. Значения пределов повторяемости и воспроизводимости приведены в таблице 2.

Таблица 1 - Диапазоны измерений, значения показателей точности, повторяемости, воспроизводимости и правильности

Диапазон измерений массовой доли нитрат-ионов в почве, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Диапазон измерений массовой доли нитратного азота в почве, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Показатель точности (границы относительной погрешности) $\pm\delta$, %, при P=0,95	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), y_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), y_R, %	Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при P=0,95), $\pm\delta_c$, %
От 13 до 100 включ. (От 26 до 200 включ.)*	От 3 до 23 включ. (От 6 до 46 включ.)*	55	14	25	26
Св. 100 до 500 включ. (Св. 200 до 1000 включ.)*	Св. 23 до 113 включ. (Св. 46 до 226 включ.)*	42	10	18	24
Примечание – *Диапазон измерений массовой доли компонента в гумусе и торфе.					

Таблица 2 - Диапазоны измерений, значения пределов повторяемости и воспроизводимости при доверительной вероятности 0,95.

Диапазон измерений массовой доли нитрат-ионов в почве, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Диапазон измерений массовой доли нитратного азота в почве, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %, n=2	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, %, m=2
От 13 до 100 включ. (От 26 до 200 включ.)*	От 3 до 23 включ. (От 6 до 46 включ.)*	39	70
Св. 100 до 500 включ. (Св. 200 до 1000 включ.)*	Св. 23 до 113 включ. (Св. 46 до 226 включ.)*	28	50
Примечание – *Диапазон измерений массовой доли компонента в гумусе и торфе.			

3 ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ИЗМЕРЕНИЙ, ВСПОМОГАТЕЛЬНЫМ УСТРОЙСТВАМ, МАТЕРИАЛАМ И РЕАКТИВАМ

3.1 Средства измерений

3.1.1 Фотоколориметр «ЭКОТЕСТ-2020-4» (2020-1, или 2020 РС, номер в Государственном реестре СИ 31761-06). Диапазон измерения пропускания, Т, %: 1-100. Диапазон измерения оптической плотности, D, ед.: 0 - 2. Длина оптического пути 10 мм. Абсолютная погрешность при измерении коэффициента пропускания ±2%.

3.1.2 Пипетки 2-2-2-1, 2-2-2-5, 2-2-2-10 ГОСТ 29227-91

3.1.3 Колбы мерные 2-25-2, 2-50-2, 2-250-2 ГОСТ 1770-74.

3.1.4 ГСО состава раствора нитрат-ионов № 7793-2000 с массовой концентрацией 1,0 мг/см^3 (ЭАА «Экоаналитика») и относительной погрешностью, не превышающей ±1 % при Р=0,95.

3.1.5 Дозаторы с приведенной погрешностью дозирования не более ±2 % или цилиндры мерные по ГОСТ 1770-74.

3.1.6 Весы электронные аналитические по ГОСТ OIML R 76-1–2011 с наибольшим пределом взвешивания 220 г.

Примечание - Допускается использование иных средств измерений с техническими и метрологическими характеристиками, не хуже указанных.

3.2 Реактивы и материалы

3.2.1 Тест-система МЭТ-Азот нитратный-РС (изготовитель ООО «МедЭкоТест», 119992, г. Москва, Ленинские горы, вл. 1, Научный Парк МГУ, стр. 75Г), включающая экстрагирующий раствор (ГОСТ 26483-85), фильтры синяя лента (ТУ 6-09-1678), герметичный флакон для экстракции нитрат-ионов, сухой реагент, воронку для фильтрования, колориметрическую пробирку и инструкцию по применению.

3.2.2 Вода для лабораторного анализа по ГОСТ Р 52501-2005.

4 МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

Метод основан на экстракции нитрат-ионов из почвы, гумуса или торфа и их последующей хромогенной реакции с сухим реагентом тест системы МЭТ-Азот нитратный-РС с образованием окрашенного вещества, поглощающего излучение в видимой области электромагнитного спектра. Оптическая плотность полученных растворов при длине волны 525 нм пропорциональна массовой концентрации нитрат-ионов (азота нитратного) в экстракте. Количественное определение проводят с помощью градуировочной характеристики, установленной по растворам, приготовленным из ГСО состава раствора нитрат-ионов.

5 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ, ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

При выполнении анализов необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

6 УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

При подготовке к выполнению измерений и при выполнении измерений соблюдают следующие условия:

температура окружающего воздуха, °С	5 - 40
атмосферное давление, мм рт. ст.	630 - 800
относительная влажность воздуха при 25°С, %	не более 90

7 ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

Перед выполнением измерений должны быть проведены следующие работы: приготовление градуировочных растворов, содержащих нитраты; построение градуировочной характеристики.

7. 1 Приготовление градуировочных растворов

7.1.1 *Приготовление исходного раствора (А) с массовой концентрацией нитрат-ионов 50 мг/дм^3*

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 приливают около 30 см^3 экстрагирующего раствора и переносят количественно 2,5 см^3 ГСО состава раствора нитрат-ионов, доводят до метки экстрагирующим раствором, перемешивают. Полученный раствор устойчив в течение 1 месяца.

7.1.2 *Приготовление градуировочных растворов*

Градуировочные растворы готовят из исходного раствора (А) с массовой концентрацией нитрат-ионов 50 мг/дм^3, разбавляя его экстрагирующим раствором в мерных колбах вместимостью 25 см^3 в соответствии с таблицей 3.

Таблица 3 - Растворы для установления градуировочной характеристики

Номер раствора	1	2	3	4	5	6	7
Объем исходного раствора А, $см^3$	0,0	0,5	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5
Массовая концентрация нитрат-ионов ($С_И$, $мг/дм^3$)	0,0	1,0	5,0	10,0	15,0	20,0	25,0

7.2 Установление градуировочной характеристики

По 10 $см^3$ каждого градуировочного раствора помещают в колориметрическую пробирку, добавляют сухой порошкообразный реагент, перемешивают и выдерживают в течение 20 мин (*Внимание! Сухой реагент растворяется не полностью*). Измеряют оптическую плотность градуировочных растворов в порядке возрастания массовой концентрации нитрат-ионов при длине волны 525 нм.

Градуировочный график строят методом наименьших квадратов в координатах: оптическая плотность - массовая концентрация нитрат-ионов ($С_И$, $мг/дм^3$). Градуировочную зависимость выражают уравнением вида:

$$Y = a + bC_И \qquad (1)$$

7.3 Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят не реже 1 раза в квартал и при смене партии реагентов. Средствами контроля являются не менее 3-х, вновь приготовленных образцов для градуировки (таблица 3), в начале, середине и конце диапазона измерений. Градуировочную характеристику считают стабильной при выполнении условия (2) для каждого градуировочного раствора

$$\frac{|X_И - C_И|}{C_И} \cdot 100 \le 0{,}7 \cdot \delta \qquad (2)$$

где $X_И$ - результат контрольного измерения массовой концентрации нитрат-ионов в градуировочном растворе, $мг/дм^3$;

± д – границы относительной погрешности измерений, % (таблица 1).

Если условие стабильности градуировочной характеристики не выполняется только для одного образца для градуировки, необходимо выполнить повторное измерение этого образца с целью исключения результата, содержащего грубую погрешность.

Если градуировочная характеристика нестабильна, выясняют причины и повторяют контроль с использованием других образцов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики прибор градуируют заново.

8 ВЫПОЛНЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1 Отбор проб

Отбор проб почвы производят в соответствии с требованиями к отбору проб почв при общих и локальных загрязнениях, изложенными в ГОСТ 17.4.3.01-83, ГОСТ 17.4.4.02-84, ГОСТ 28168-89.

8.2 Подготовка проб к анализу

Образцы почв, поступающие на анализ, доводят до воздушно-сухого состояния, отделяют корни и посторонние включения, измельчают до размеров 1 - 2 мм и хранят в пакетах. Перед проведением анализа почву из пакета высыпают на ровную поверхность,

хорошо перемешивают, распределяют слоем толщиной не более 1 см, отбирают пробу не менее чем из 5 мест. Экстракцию нитратов из почвы проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 26483-85.

8.3 Анализ проб

Навеску почвы массой 1,0 г (гумуса или торфа массой 0,5 г) помещают в герметичный флакон для экстракции из комплекта тест-системы, приливают 20 $см^3$ экстрагирующего раствора, закрывают флакон и энергично встряхивают в течение 20 мин. Затем экстракт фильтруют через фильтр "синяя лента" в колориметрическую пробирку, отбирая 10,0 $см^3$ фильтрата*, добавляют сухой порошкообразный реагент и перемешивают. Через 20 мин измеряют оптическую плотность раствора при λ=525 нм.

П р и м е ч а н и е - *Если фильтрат мутный или окрашенный, перед добавлением сухого порошкообразного реагента измеряют его оптическую плотность при λ=525 нм.

9 Обработка и оформление результатов измерений

9.1 По измеренным значениям оптической плотности раствора и градуировочной характеристике определяют массовую концентрацию нитрат-ионов ($C_И$, $мг/дм^3$) или нитратного азота ($C_а$, $мг/дм^3$). В случае если фильтрат окрашен или мутный, то для расчетов используют разницу значений оптической плотности после и до добавления реагентов

9.2 Массовую долю нитрат-ионов в почве, торфе, гумусе ($X_{Ип}$, $млн^{-1}$) вычисляют по формуле

$$X_{Ип} = K \cdot C_И \qquad (3)$$

где К – коэффициент пересчета,

$$K = \frac{V}{m} \qquad (4)$$

V - объем экстрагирующего раствора, $V = 20$ $см^3$,

m величина навески, г

К = 20 $дм^3/кг$ – для почвы; К= 200 $дм^3/кг$ – для гумуса и торфа.

9.3 Массовую долю нитратного азота в почве, гумусе, торфе ($X_{Ап}$, $млн^{-1}$), вычисляют по формуле

$$X_{Ап} = 0{,}226\, X_{Ип}, \qquad (5)$$

где 0,226 – коэффициент пересчета массовой доли нитрат-ионов на нитратный азот.

9.4 За результат измерений принимают результат единичного определения.

9.5 Результат измерений в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$X_{Ип} \pm 0{,}01 \cdot д \cdot X_{Ип}, \text{ при } P = 0{,}95, \qquad (6)$$

$$X_{Ап} \pm 0{,}01 \cdot д \cdot X_{Ап}, \text{ при } P = 0{,}95, \qquad (7)$$

где ± д – границы относительной погрешности измерений, % (таблица 1).

9.6 В случае, если содержание нитрат-ионов в пробе ниже нижней (выше верхней) границы диапазона измерений, то производят следующую запись в журнале: для почвы - «массовая доля нитрат-ионов менее 13 $млн^{-1}$, (более 500 $млн^{-1}$)»; для гумуса и торфа - «массовая доля нитрат-ионов менее 26 $млн^{-1}$, (более 1000 $млн^{-1}$)». Для нитратного азота делают аналогичную запись.

10 ОЦЕНКА ПРИЕМЛЕМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

10.1 При возникновении сомнений в корректности полученного результата измерений (X_1, млн$^{-1}$) должен быть получен второй результат в условиях повторяемости (X_2, млн$^{-1}$). Оба результата измерений считают приемлемыми, если выполняется условие

$$\frac{2\cdot|X_1-X_2|\cdot 100}{(X_1+X_2)} \le r \qquad (8)$$

где $X_1 = X_{1Ин}, X_{1An}$; $X_2 = X_{2Ин}, X_{2An}$

r – значение предела повторяемости, % (таблица 2).

За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений.

Если условие (8) не выполняется, получают еще два результата измерений в полном соответствии с методикой измерений. За результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов четырех параллельных определений, если выполняется условие

$$|X_{max} - X_{min}| \le CR_{0.95} \qquad (9)$$

где X_{max}, X_{min} – максимальное и минимальное, значение из полученных четырех результатов параллельных определений, млн$^{-1}$ (мг/кг);

$CR_{0,95}$ – значение критического диапазона для уровня доверительной вероятности P = 0,95 и n результатов определений, рассчитанное по формуле

$$CR_{0,95} = f(n)\cdot y_r\, 0{,}01\cdot X_{ср} \qquad (10)$$

где $f(n)$ – коэффициент критического диапазона, для $n = 4$, $f(n) = 3{,}6$;

y_r – показатель повторяемости, % (таблица 1).

Если условие (9) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют выполнение измерений, в соответствии с требованиями настоящей методики измерений.

10.2 При получении результатов измерений в двух лабораториях результаты измерений считают приемлемыми при выполнении условия

$$\frac{2\cdot|X_{1L}-X_{2L}|\cdot 100}{(X_{1L}+X_{2L})} \le R \qquad (11)$$

где: X_{1L}, X_{2L} - результаты измерения массовой доли нитрат-ионов или нитратного азота в первой и второй лабораториях, соответственно, млн$^{-1}$;

R – значение предела воспроизводимости, % (таблица 2).

За результат измерений принимают среднее арифметическое значение этих результатов измерений.

Если условие (11) не выполняется, каждая лаборатория выполняет процедуры по 10.1 настоящей методики, проверку приемлемости результатов измерений проводят по 5.3 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

11 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ МЕТОДИКИ В ЛАБОРАТОРИИ

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики проводят, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения промежуточной прецизионности рутинного анализа с изменяющимися факторами «время» и «оператор» по 6.2.3 ГОСТ Р ИСО 5725-6 и показателя правильности по 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6. Проверку стабильности выполняют с применением контрольных карт Шухарта.

Периодичность контроля стабильности результатов измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(обязательное)

ОЦЕНКА ПОГРЕШНОСТИ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ ОТДЕЛЬНО ВЗЯТОЙ КОНТРОЛЬНОЙ ПРОЦЕДУРЫ

Контрольную процедуру для оценки погрешности результатов измерений выполняют методом добавок.

Для контроля используют рабочие пробы. Пробу делят на две части. Одну порцию почвы анализируют в точном соответствии с методикой и определяют массовую долю нитрат-ионов в почве ($X_{Ип}$, млн$^{-1}$), получая результат по формуле 3.

Ко второй порции пробы делают добавку нитрат-ионов, используя для этой цели ГСО состава раствора нитрат-ионов. Добавка (C, млн$^{-1}$) должна составлять не менее 200 % найденного содержания нитрат-ионов для диапазона измерений от 13 до 100 млн$^{-1}$ и не менее 110, но не более 150 % для диапазона измерений свыше 100 до 500 млн$^{-1}$ включительно (диапазоны измерений указаны для почвы). Далее почву анализируют в точном соответствии с методикой и определяют массовую долю нитрат-ионов в почве с добавкой ($X_{Ип}'$, млн$^{-1}$).

Результат контрольной процедуры ($Кк$, млн$^{-1}$) рассчитывают по формуле

$$Кк = /X_{Ип}' - X_{Ип} - C /, \qquad (А.1)$$

Норматив оперативного контроля ($Кд$, млн$^{-1}$) рассчитывают (при проведении внешнего контроля) по формуле (А.2) при Р = 0,95

$$Кд = \sqrt{(\Delta x')^2 + (\Delta x)^2}, \qquad (А.2)$$

где: Δx и $\Delta x'$ абсолютные значения характеристики погрешности результатов измерений, соответствующие содержанию нитрат-ионов в пробе почвы и пробе почвы с добавкой соответственно.

$\Delta x = 0{,}01 \cdot \delta \cdot X_{Ип}$);

$\Delta x' = 0{,}01 \cdot \delta \cdot X_{Ип}'$

Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию

$$Кк \leq Кд, \qquad (А.3)$$

погрешность результата измерений признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (А.3) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (А.3) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля и устраняют их.

При смене партий реактивов проведение оперативного контроля процедуры выполнения измерений обязательно.

Периодичность оперативного контроля процедуры выполнения измерений, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируют во внутренних документах лаборатории.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ
РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
ВНИИМС ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО–ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ

119361 Москва, Озёрная ул., д. 46 E-mail gost.e-ecolog.ru Тел. (495) 437 9419
Факс: (495) 437 5666

СВИДЕТЕЛЬСТВО № 01.00225/205-25-15

ОБ АТТЕСТАЦИИ МЕТОДИКИ ИЗМЕРЕНИЙ

МЕТОДИКА ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ ДОЛИ НИТРАТ-ИОНОВ (НИТРАТНОГО АЗОТА) В ПОЧВАХ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-СИСТЕМЫ МЭТ-АЗОТ НИТРАТНЫЙ-РС

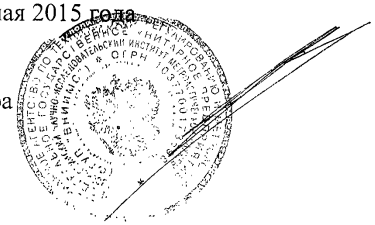
Методика измерений массовой доли нитрат-ионов (нитратного азота) в почвах спектрофотометрическим методом с использованием тест-системы МЭТ-Азот нитратный-РС (количество страниц – 10, 2015 г.), разработанная Обществом с ограниченной ответственностью «МедЭкоТест» (ООО «МедЭкоТест») (119991, г. Москва, Ленинские горы, влад.1, Научный Парк МГУ, стр.75Г), аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563–2009, ГОСТ Р ИСО 5725-2002.

Аттестация осуществлена по результатам теоретических и экспериментальных исследований методики измерений.

В результате аттестации установлено, что методика измерений соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает основными метрологическими характеристиками, приведенными на обороте настоящего свидетельства.

При реализации методики в лаборатории обеспечивают контроль стабильности результатов анализа на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения промежуточной прецизионности и показателя правильности.

Дата выдачи 15 мая 2015 года



Заместитель директора В.Н. Яншин

РЕЗУЛЬТАТЫ МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ АТТЕСТАЦИИ

Таблица 1 - Диапазоны измерений, значения показателей точности, повторяемости, воспроизводимости и правильности

Диапазон измерений массовой доли нитрат-ионов в почве, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Диапазон измерений массовой доли нитратного азота в почве, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Показатель точности (границы относительной погрешности) ±δ, %, при P=0,95	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при P=0,95) ±δ_c, %
От 13 до 100 включ. (От 26 до 200 включ.)*	От 3 до 23 включ. (От 6 до 46 включ.)*	55	14	25	26
Св. 100 до 500 включ. (Св. 200 до 1000 включ.)*	Св. 23 до 113 включ. (Св. 46 до 226 включ.)*	42	10	18	24
Примечание – *Диапазон измерений массовой доли компонента в гумусе и торфе.					

Таблица 2 - Диапазоны измерений, значения пределов повторяемости и воспроизводимости при доверительной вероятности 0,95.

Диапазон измерений массовой доли нитрат-ионов в почве, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Диапазон измерений массовой доли нитратного азота в почве, млн$^{-1}$ (мг/кг)	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r, %, n=2	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, %, m=2
От 13 до 100 включ. (От 26 до 200 включ.)*	От 3 до 23 включ. (От 6 до 46 включ.)*	39	70
Св. 100 до 500 включ. (Св. 200 до 1000 включ.)*	Св. 23 до 113 включ. (Св. 46 до 226 включ.)*	28	50
Примечание – *Диапазон измерений массовой доли компонента в гумусе и торфе.			

Начальник отдела, к.х.н. Ш.Р. Фаткудинова

ичный сотрудник, к.х.н. И.А. Питерских

gost.e-ecolog.ru