

Auswertung

Länderübergreifender Ringversuch B 9 „Biotests im Abwasser“

- Anlagen:
- Parameterangaben (Toleranzgrenzen und Sollwerte)
 - Zusammenfassung der Labormittelwerte
 - Grafische Darstellung der Ergebnisse (Einzeldarstellungen je Parameter und Niveau)
 - Grafiken der Z-Scores aller Teilnehmer
 - Histogramme der Biotest-Ergebnisse (je Parameter und Niveau)

Der Ringversuch wurde vom LAWA-Arbeitskreis als länderübergreifender Ringversuch konzipiert und bundesweit durch Sachsen ausgerichtet. Die Bedingungen zur Probenherstellung, Auswertung und Bewertung wurden auf Grundlage des LAWA-AQS-Merkblattes A3 [1] erarbeitet und zwischen den Bundesländern abgestimmt. Die Verfahren Leuchtbakterien-Hemmtest und Statischer Daphnientest sind Bestandteile des Fachmoduls Wasser Teilbereiche 9.1 und 9.2 [2].

Methodik

Bei der Untersuchung waren folgende Verfahren zugelassen:

Tabelle 1: zugelassene Verfahren

Leuchtbakterien Hemmtest	DIN EN ISO 11348-1:2009-05 (L 51) DIN EN ISO 11348-2:2009-05 (L 52)
Daphnientest	DIN 38412-L 30: 1989-03

Bei Anwendung anderer Verfahren (z.B. Verwendung gefriergetrockneter Bakterien) gingen diese nicht in die statistische Berechnung ein, wurden aber auf der Basis der ermittelten Toleranzgrenzen bewertet. Eine erfolgreiche Teilnahme im Sinne der LAWA Kriterien ist in diesem Fall nicht möglich.

Analog LÜR V B7 sollte der pH-Wert entsprechend den DIN-Normen selbst auf den Sollbereich eingestellt werden.

Zur Durchführung wurden folgende Vorgaben gemacht:

- Durchführung der Biotests innerhalb von 24 Stunden (bis 06.06.2018), sonst sofortiges Einfrieren bei -18°C
- Sollten die Proben eingefroren worden sein, war Folgendes zu beachten:
 - Auftauen bei max. 30 °C im Wasserbad
 - Homogenisieren nach Auftauen durch vorsichtiges Schütteln oder mit Magnetrührer
 - Sofortige Durchführung der Tests nach Auftauen
- Ansatz der Verdünnungsstufen entsprechend Tabelle B.1 der DIN EN ISO 11348-1:2009-05 bzw. DIN EN ISO 11348-2:2009-05 und DIN 38412-L30:1989-03 (G2, G3, G4, G6, G8, G12, G16, G24, G32, G48, G64, G96, G128).
- Sollbereich für den pH-Wert des Leuchtbakterientests 6,0-8,5
- keine Belüftung der Proben für den Leuchtbakterien-Hemmtest (nach Punkt 7.2 der Normen)

Als Probenmatrix wurde kommunales Abwasser eines Kläranlagenablaufs eingesetzt. Nach Filtration über eine 5 µm-Filterkerze wurde das Wasser mit 3,5-Dichlorphenol-Standardlösung so aufgestockt, dass die G-Werte zwischen 8 und 64 liegen.

Um Absprachen zwischen den teilnehmenden Laboren zu vermeiden, wurden für den Leuchtbakterientest vier Konzentrationsniveaus hergestellt. Für den Daphnientest wurden aufgrund der geringeren Teilnehmerzahl nur drei Konzentrationsniveaus hergestellt.

Statistische Auswertung

Jede Probe sollte von den Teilnehmern doppelt analysiert und beide Einzelwerte angegeben werden. Dadurch sind bei der Auswertung G-Stufen mit Nachkommastellen als Labormittelwert möglich. Diese Verfahrensweise ist für die Labore besonders dann von Vorteil, wenn das Ergebnis zwischen zwei G-Stufen liegt. In den grafischen Einzeldarstellungen der Laborwerte sind sowohl die Labormittelwerte (Quadrate) als auch die Einzelwerte (Striche) dargestellt.

Um zu gewährleisten, dass mindestens drei G-Stufen innerhalb des Toleranzbereichs liegen, wurde eine Untergrenze für die relativen Vergleichsstandardabweichung festgelegt und die Konzentrationsniveaus so hoch gewählt, dass die Berechnung einer unteren Toleranzgrenze für alle Proben möglich ist. Für die Berechnung der Ringversuchskenndaten wurden nur die Ergebnisse berücksichtigt, die unter Einhaltung der Rahmenbedingungen ermittelt worden waren.

Die Berechnung des robusten Mittelwertes und der Vergleichsstandardabweichung ist nur möglich, wenn ein linearer Zusammenhang zwischen der Konzentration und G-Stufe besteht. Deshalb wurden die Daten vor der Auswertung logarithmiert und nach der Berechnung der Ringversuchskenndaten wieder entlogarithmiert.

Mittels Q-Methode wurden die Vergleichsstandardabweichungen (Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung σ_{pt}) berechnet. Der Hampel-Schätzer dient zur Berechnung der robusten Mittelwerte (zugewiesener Wert x_{pt} , G-Stufe mit Nachkommastelle).

Die z-Scores wurden berechnet nach:
$$z - \text{Score} = \frac{(x - x_{pt})}{\sigma_{pt}}$$

und daraus die Toleranzgrenzen mit z-Score $|z|=2$.

Limitierung der relativen Vergleichsstandardabweichung:

Obergrenze der relativen Vergleichsstandardabweichung: 34,66%
entspricht Sollwert +/- 2 Stufen

→ der Toleranzbereich umfasst maximal 4 Stufen

Untergrenze der relativen Vergleichsstandardabweichung: 27,45%
entspricht Sollwert +/- 1,5 Stufen

→ der Toleranzbereich umfasst mindestens 3 Stufen

Zwischen den berechneten Vergleichsstandardabweichungen der Konzentrationsniveaus treten immer zufällige Unterschiede auf. Um zu vermeiden, dass diese Unterschiede zu einer unterschiedlich strengen Bewertung der Labore führen, kann ab einer Anzahl von vier Konzentrationsniveaus das Verfahren mit Varianzfunktion nach DIN 38402-45 Abschnitt 10.3. genutzt werden (Zusammenhang zwischen Konzentration und Vergleichsstandardabweichung aller Konzentrationsniveaus). Deshalb wurde dieses Verfahren nur für den Leuchtbakterientest angewendet. Die mittels Varianzfunktion berechnete relative Vergleichsstandardabweichung ist konzentrationsunabhängig und beträgt für alle Proben 20,9%. Da sie unterhalb der festgelegten Untergrenze liegt, wurde sie für alle vier Proben auf 27,45% angehoben.

Beim Daphnientest liegt die berechnete Vergleichsstandardabweichung für eine Probe innerhalb der festgelegten Grenzen und wurde zur Ermittlung der Toleranzgrenzen verwendet. Die berechneten Vergleichsstandardabweichungen der beiden anderen Proben liegen unterhalb der festgelegten Untergrenze und wurden angehoben.

Tabelle 2: Verdünnungsstufen innerhalb (grün) und außerhalb (rot) der Toleranzbereiche

Parameter	Probe	Toleranzbereich								
		Grenze unten		Sollwert		Grenze oben				
Daphnientest	A	12	12,8	16	22,2	24	32	38,5	48	
	B	24	26,5	32	45,9	48	64	79,6	96	
	C	6	6,7	8	11,8	12	16	21,0	24	
Leuchtbakterien- test	A	16	21,8	24	32	37,8	48	64	65,4	96
	B	24	28,4	32	48	49,1	64	85,0	96	
	C	6	7,4	8	12	12,8	16	22,2	24	
	D	12	14,3	16	24	24,8	32	43,0	48	

In der Anlage „Parameterangaben“ werden folgende Daten tabellarisch dargestellt:

- die festgelegten Ober- und Untergrenzen der Vergleichsstandardabweichung (rel. STDMin, rel. STDMax)
- die mittels Q-Methode berechnete Vergleichsstandardabweichung (rel. STD robust)
- die mittels Varianzfunktion berechnete Vergleichsstandardabweichung (rel. STD Varianzftk.)
- die zur Auswertung verwendete Vergleichsstandardabweichung (Rel. Soll-STD).

Bewertung:

Die aus dem Ringversuch berechneten relativen Vergleichsstandardabweichungen liegen für den Daphnientest zwischen 24,3 und 28,7% (LÜRv B7 2014: 16,6 und 28,7%).

Für den Leuchtbakterientest liegen die robust berechneten relativen Vergleichsstandardabweichungen zwischen 16,5 und 31% (LÜRv B7 2014: 19,2 und 39,3%).

Der Einsatz gefriergetrockneter Bakterien bzw. der Einsatz nicht zugelassener Analysemethoden (sonstige) führte unter den Bedingungen dieses Ringversuchs wie beim LÜRv B7 zu Ergebnissen innerhalb der Toleranzgrenzen.

Beim Daphnientest analysierten 14 Labore alle Proben sofort, 16 Teilnehmer froren alle Proben ein und 5 Teilnehmer nutzten beide Möglichkeiten für ihre Proben.

Beim Leuchtbakterientest führten 33 Labore den Test sofort und 30 Labore nach Einfrieren aller Proben durch. 8 Teilnehmer nutzten beide Möglichkeiten für ihre Proben.

Die erfolgreiche Teilnahme wird für einen Parameter bestätigt, wenn zwei von drei Werten innerhalb der Toleranzgrenzen liegen und die Vorgaben der Rahmenbedingungen zu den Analyseverfahren eingehalten worden sind.

Bei beiden Tests waren 97 % der Teilnehmer erfolgreich.

Folgende Ergebnisse wurden als falsch bewertet:

- Werte mit $z > |2|$,
 - Werte, bei denen die Rahmenbedingungen nicht eingehalten worden sind (z.B. vier Teilnehmer mit nicht zugelassenen Analyseverfahren).
- Diese Ergebnisse gingen nicht in die Berechnung der Sollwerte und Toleranzgrenzen ein.

Unabhängig von der Einhaltung der LÜRv-Rahmenbedingungen wurden für alle Werte die z-Scores auf Grundlage der berechneten Ringversuchskenndaten ermittelt. Mit Hilfe der Einzeldarstellungen aller z-Scores kann in der Anlage zum Zertifikat der Leistungsumfang für die analysierten Parameter nachgewiesen werden.

A. Simon

A. Simon
SGL QM

Literatur

[1] AQS-Merkblätter für die Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung, Merkblatt A 3

Herausg.: Länderarbeitsgemeinschaft Wasser, Erich Schmidt Verlag, Berlin, 19. Lieferung, 2013

[2] FACHMODUL Wasser „Kompetenznachweis und Notifizierung von Prüflaboratorien und Messstellen (Untersuchungsstellen) im wasserrechtlich geregelten Umweltbereich“ (Stand 13.11.2015) Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA)

Parameterangaben

Probe	Parameter	Einheit	Sollwert	Toleranz unten	Toleranz oben	Rel. STD Min [%]	Rel. STD Max [%]	Rel. STD robust [%]	Rel. STD Varianzfkt [%]	Rel. Soll-STD [%]
A	Giftigkeit gegenüber Daphnien		22,2	12,8	38,5	27,45	34,66	27,11	0,00	27,45
B	Giftigkeit gegenüber Daphnien		45,9	26,5	79,6	27,45	34,66	24,32	0,00	27,45
C	Giftigkeit gegenüber Daphnien		11,8	6,7	21,0	27,45	34,66	28,65	0,00	28,65
A	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		37,8	21,8	65,4	27,45	34,66	30,97	20,93	27,45
B	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		49,1	28,4	85,0	27,45	34,66	19,16	20,93	27,45
C	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		12,8	7,4	22,2	27,45	34,66	19,97	20,93	27,45
D	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		24,8	14,3	43,0	27,45	34,66	16,52	20,93	27,45

Zusammenfassung Labormittelwerte

(gültige Werte entsprechend Rahmenbedingungen)

Labor	Probe A	Probe B	Probe C
002	27,7	48	13,9
003	16	48	13,9
007	16	32	8
008	13,9	32	9,8
012	24	48	12
014	24	55,4	12
017	24	48	12
018	19,6	48	9,8
020	24	48	12
021	16	39,2	8
024	24	48	12
025	24	48	13,9
028	24	48	12
029	24	48	12
033	24	48	12
034	24	48	12
036	24	48	16
040	24	48	12
044	24	32	48 E
046	24	39,2	9,8
047	48 E	64	12
049	24	48	12
050	24	32	12
054	24	48	12
056	24	48	16
057	32	55,4	19,6
058	24	48	12
060	19,6	48	12
063	24	48	12
064	12 E	24 E	6 E
065	16	48	24 E
066	24	64	12
070	16	39,2	8
073	24	64	12
-	--	--	--
Bewertung	$ Z \leq 2,0$	$ Z \leq 2,0$	$ Z \leq 2,0$
Anzahl der Labore, deren Ergebnisse zur statistischen Berechnung genutzt wurden	34	34	34
Sollwert	22,2	45,9	11,8
Rel.Soll-Stdabw.	27,45 %	27,45 %	28,65 %
unt. Toleranzgr.	12,8	26,5	6,7
ob. Toleranzgr.	38,5	79,6	21
Anzahl Einzelwerte außerhalb der Toleranzgrenzen	5	2	7

Erläuterung der Ausreißertypen

E: Mittelwert außerhalb Tol.-Bereich

Zusammenfassung Labormittelwerte

(gültige Werte entsprechend Rahmenbedingungen)

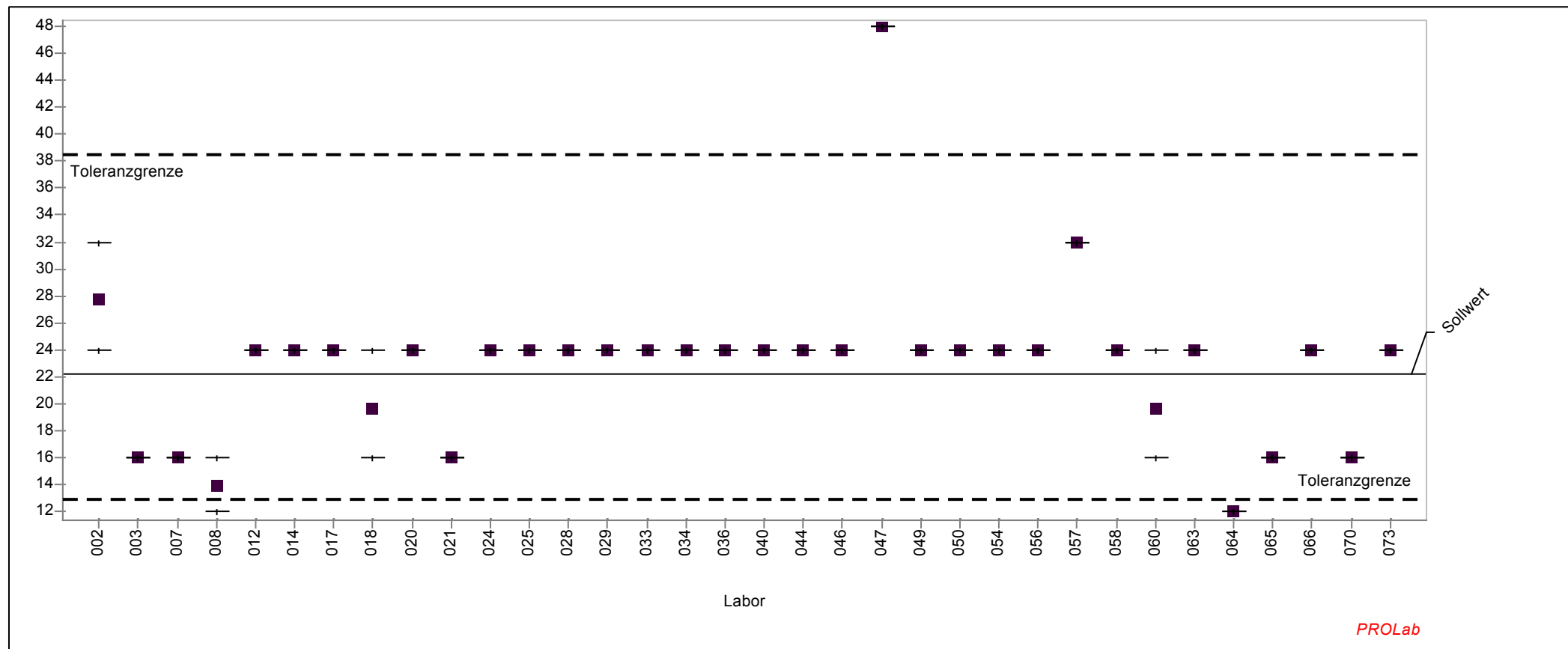
Labor	Probe A	Probe B	Probe C	Probe D
001	27,7	48	12	
002		48	12	24
003	48	55,4	16	
004		39,2	12	24
005	39,2		16	24
006	48	48		24
007	48	48	12	
008	32	39,2		24
009	64	64		32
010		48	12	24
011	32	48	12	
012		48	8	19,6
013		55,4	16	32
014	48		12	24
015	48		16	24
017	32	48		24
018		48	12	24
019		27,7 E	12	24
020		32	12	24
021	39,2	48	12	
024	32	48		24
025	32		12	24
026		48	12	24
027	32	48		24
028	32	48		24
029	32	48	12	
030	32		12	24
031	32		12	24
032	48		12	24
033	32	48	13,9	
034	32	48	12	
035	32	48	13,9	
036	48	48		24
037	48		12	24
039	19,6 E	24 E	8	
040		48	12	24
041		48	12	24
042	48		12	24
043	39,2	55,4	13,9	
044		48	12	24
045	48	48		27,7
046	48	78,4		32
047	32		16	24
048	48	48	12	
050		64	16	27,7
051	39,2		16	27,7
052	32		12	24
053A	32	48		24
054	32	48		24
056	48	64	13,9	
057	27,7	48		24

Labor	Probe A	Probe B	Probe C	Probe D
058		64	16	32
059		64	16	9,8 E
060	39,2		12	24
061	32	48		32
062	32		12	24
063	32		12	24
065		48	16	24
066	90,5 E		24 E	9,8 E
067	48	48	12	
068A		48	12	24
069	32	48		24
070	32	48		24
071		48	12	24
073	48	48	12	
--	--	--	--	--
Bewertung	$ Z \leq 2,0$	$ Z \leq 2,0$	$ Z \leq 2,0$	$ Z \leq 2,0$
Anzahl der Labore, deren Ergebnisse zur statistischen Berechnung genutzt wurden	47	49	49	50
Sollwert	37,8	49,1	12,8	24,8
Rel.Soll-Stdabw.	27,45 %	27,45 %	27,45 %	27,45 %
unt. Toleranzgr.	21,8	28,4	7,4	14,3
ob. Toleranzgr.	65,4	85	22,2	43
Anzahl Einzelwerte außerhalb der Toleranzgrenzen	2	4	2	4
Erläuterung der Ausreißertypen				
E: Mittelwert außerhalb Tol.-Bereich				

Einzeldarstellung

Probe: Probe A
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien
Anzahl Labore: 34
Minimalwert: 12

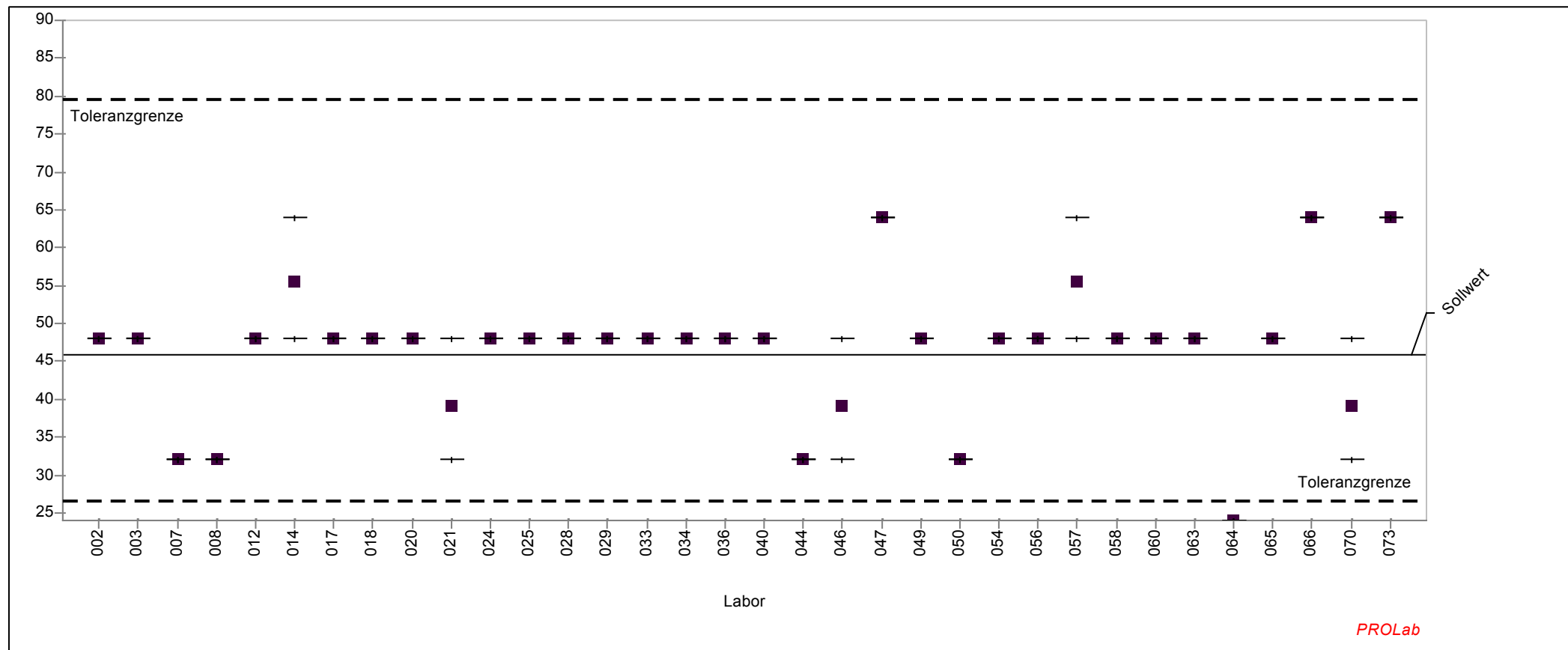
Sollwert: 22,2 (empirischer Wert)
Rel. Soll-Stdabw.: 27,45% (Limited)
Toleranzbereich: 12,8 - 38,5 ($|Z\text{-Score}| \leq 2,0$)
Maximalwert: 48



Einzeldarstellung

Probe: Probe B
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien
Anzahl Labore: 34
Minimalwert: 24

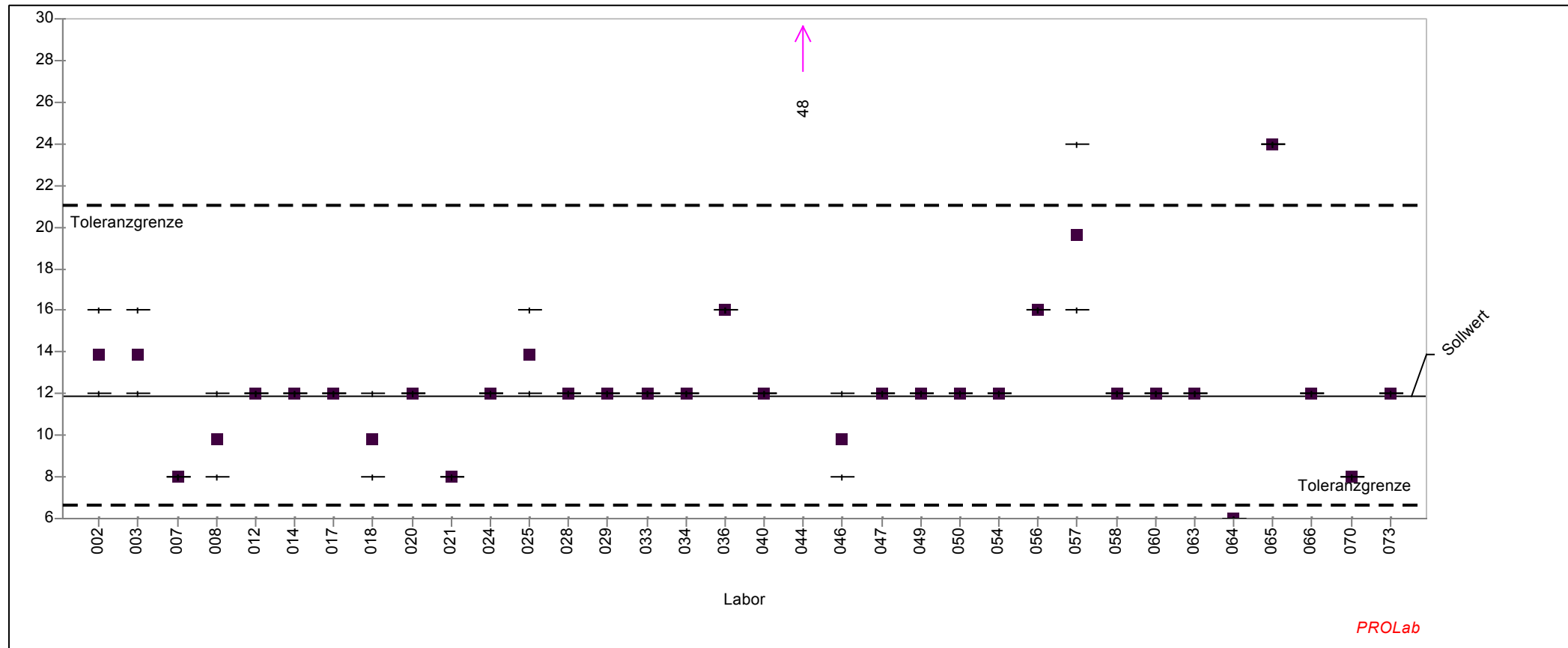
Sollwert: 45,9 (empirischer Wert)
Rel. Soll-Stdabw.: 27,45% (Limited)
Toleranzbereich: 26,5 - 79,6 (|Z-Score| <= 2,0)
Maximalwert: 64



Einzeldarstellung

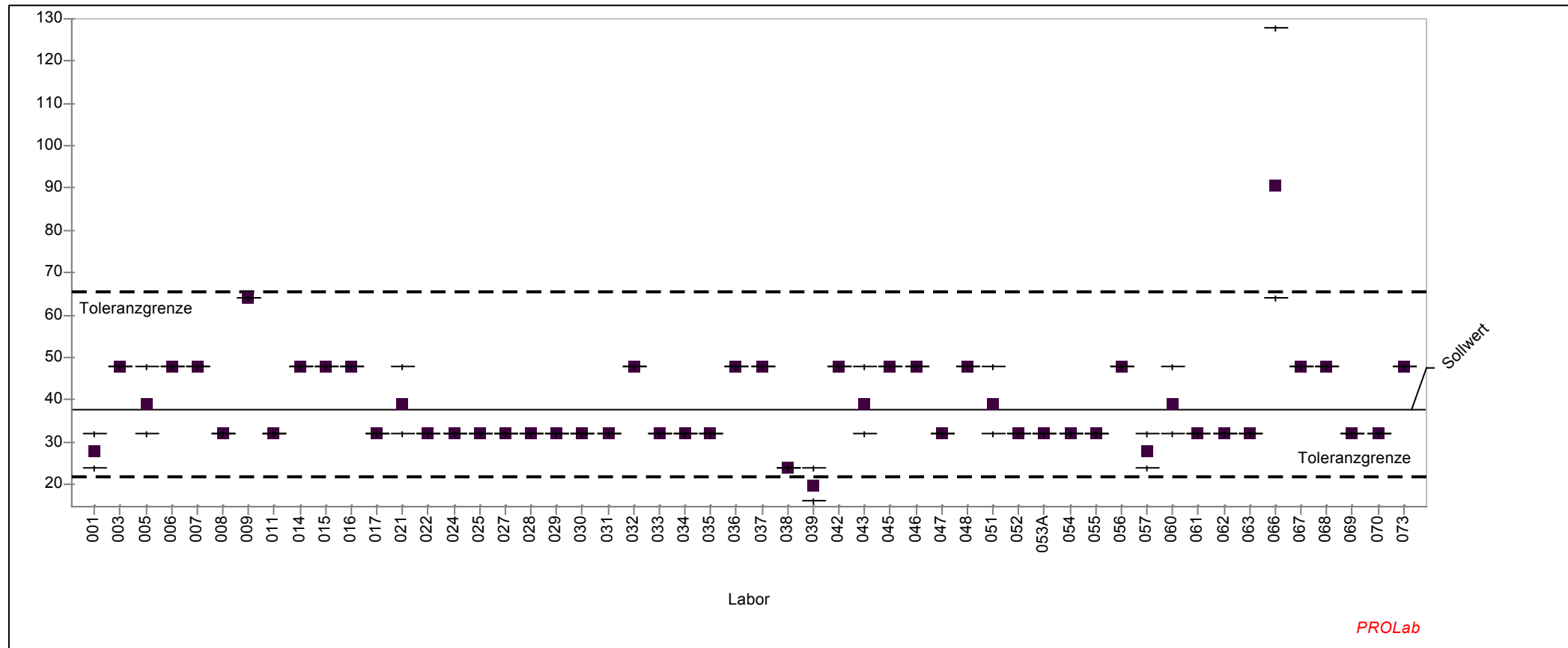
Probe: Probe C
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien
Anzahl Labore: 34
Minimalwert: 6

Sollwert: 11,8 (empirischer Wert)
Rel. Soll-Stdabw.: 28,65% (Limited)
Toleranzbereich: 6,7 - 21 (|Z-Score| <= 2,0)
Maximalwert: 48



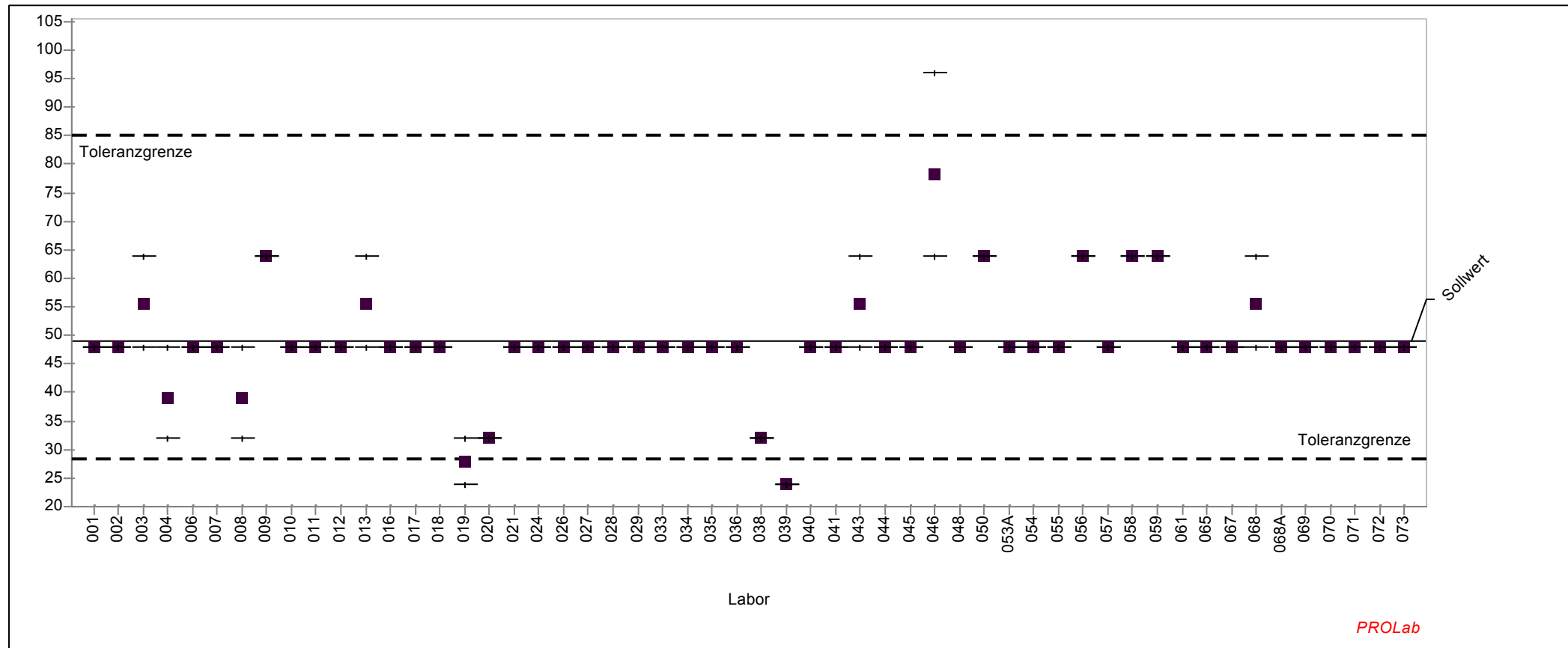
Einzeldarstellung

Probe: Probe A **Sollwert:** 37,8 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,45%
Anzahl Labore: 47 **Toleranzbereich:** 21,8 - 65,4 ($|Z\text{-Score}| \leq 2,0$)
Minimalwert: 16 **Maximalwert:** 128



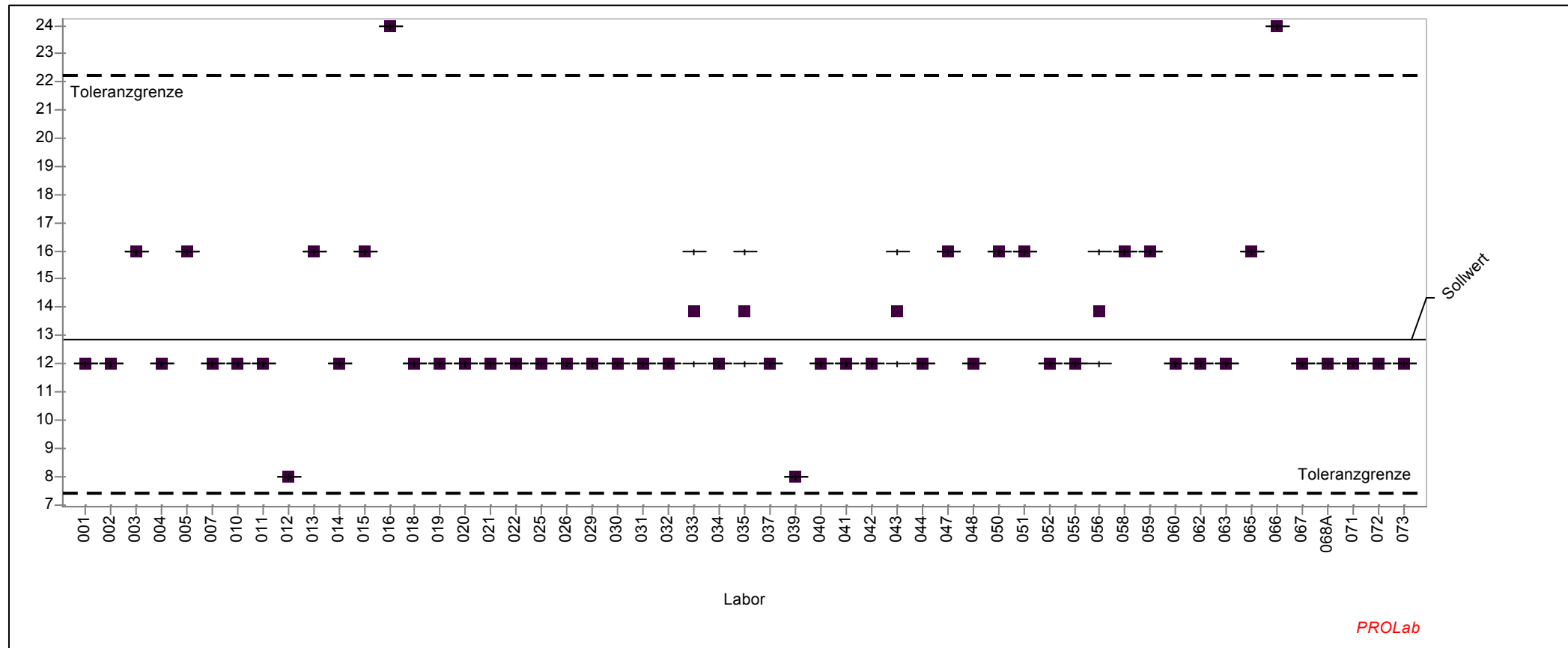
Einzeldarstellung

Probe: Probe B
Sollwert: 49,1 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien
Rel. Soll-Stdabw.: 27,45%
Anzahl Labore: 49
Toleranzbereich: 28,4 - 85 (|Z-Score| <= 2,0)
Minimalwert: 24
Maximalwert: 96



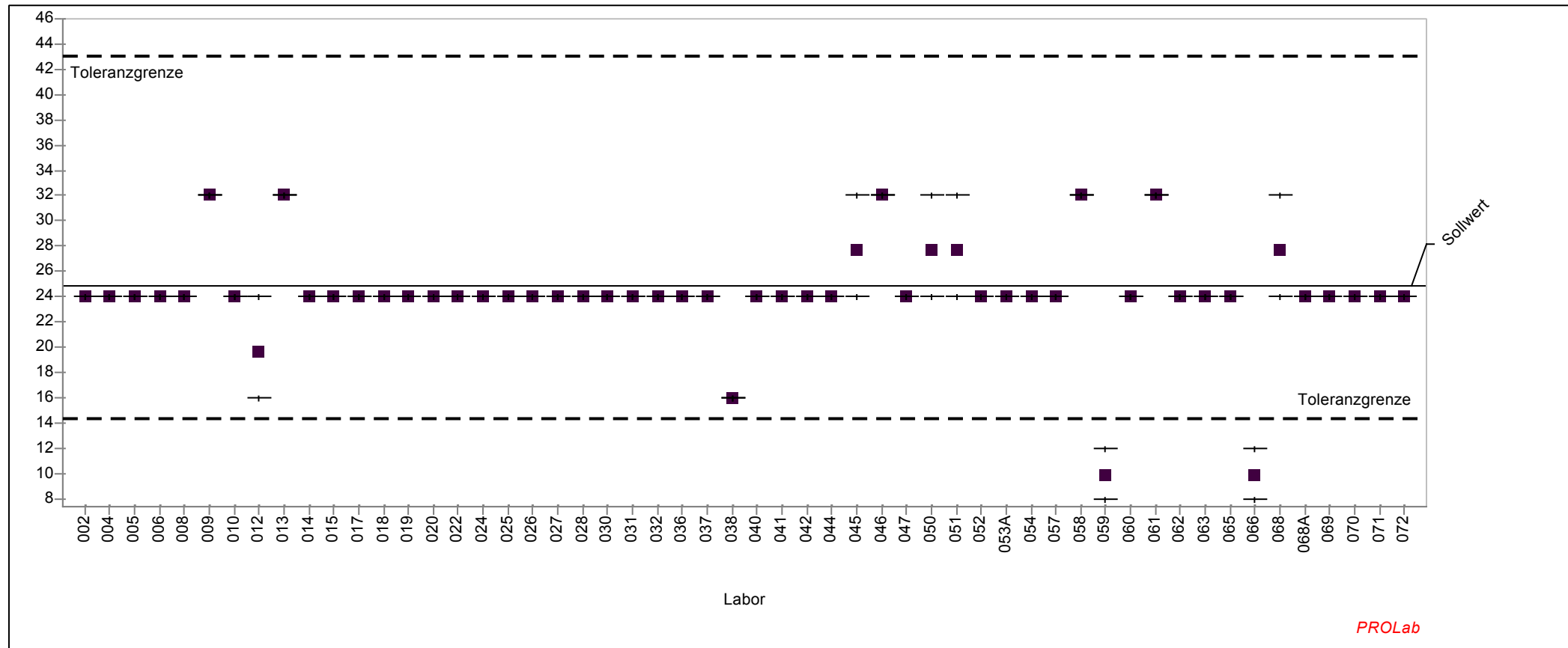
Einzeldarstellung

Probe: Probe C **Sollwert:** 12,8 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,45%
Anzahl Labore: 49 **Toleranzbereich:** 7,4 - 22,2 (|Z-Score| <= 2,0)
Minimalwert: 8 **Maximalwert:** 24



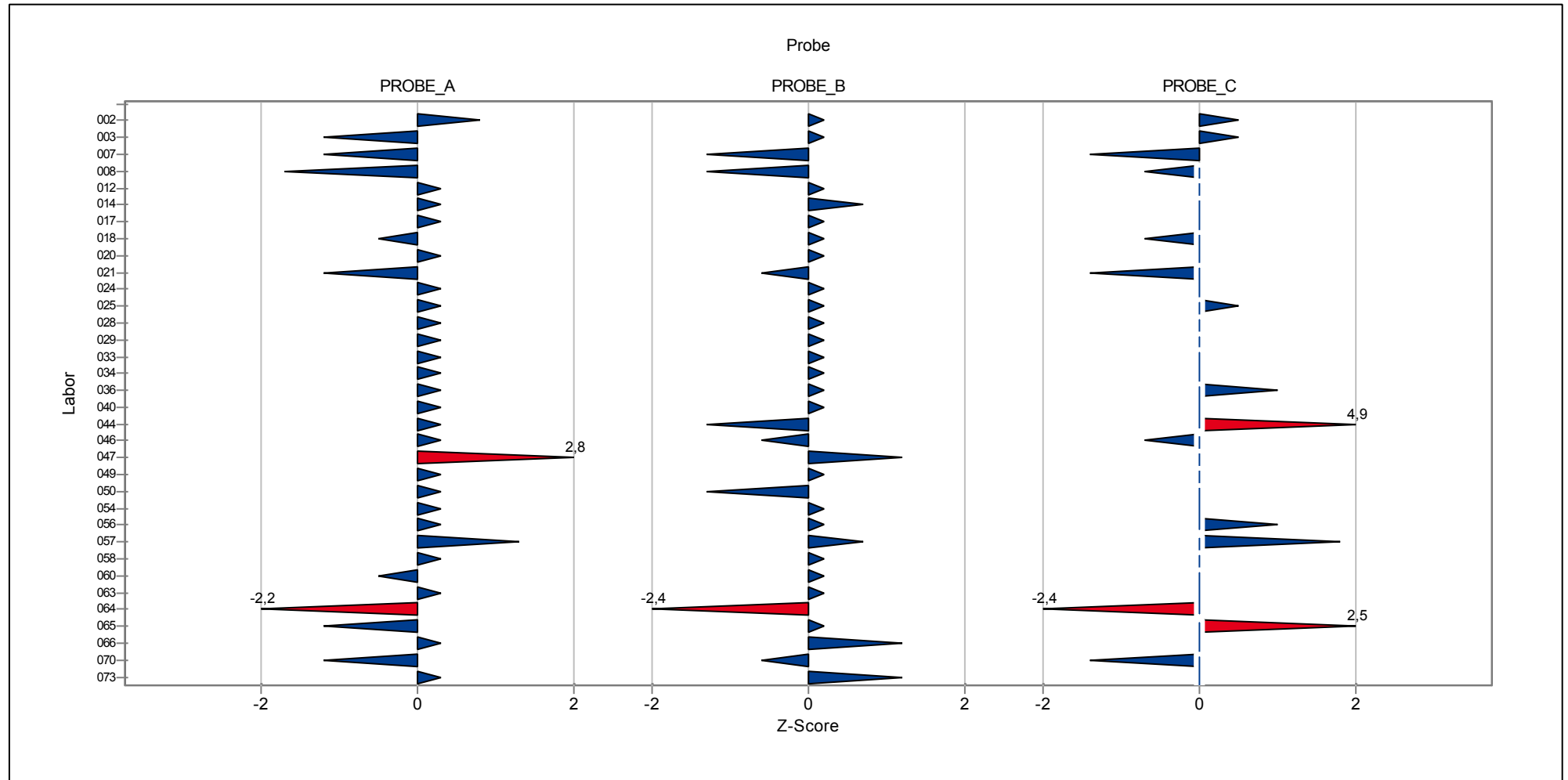
Einzeldarstellung

Probe: Probe D **Sollwert:** 24,8 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,45%
Anzahl Labore: 50 **Toleranzbereich:** 14,3 - 43 (|Z-Score| <= 2,0)
Minimalwert: 8 **Maximalwert:** 32



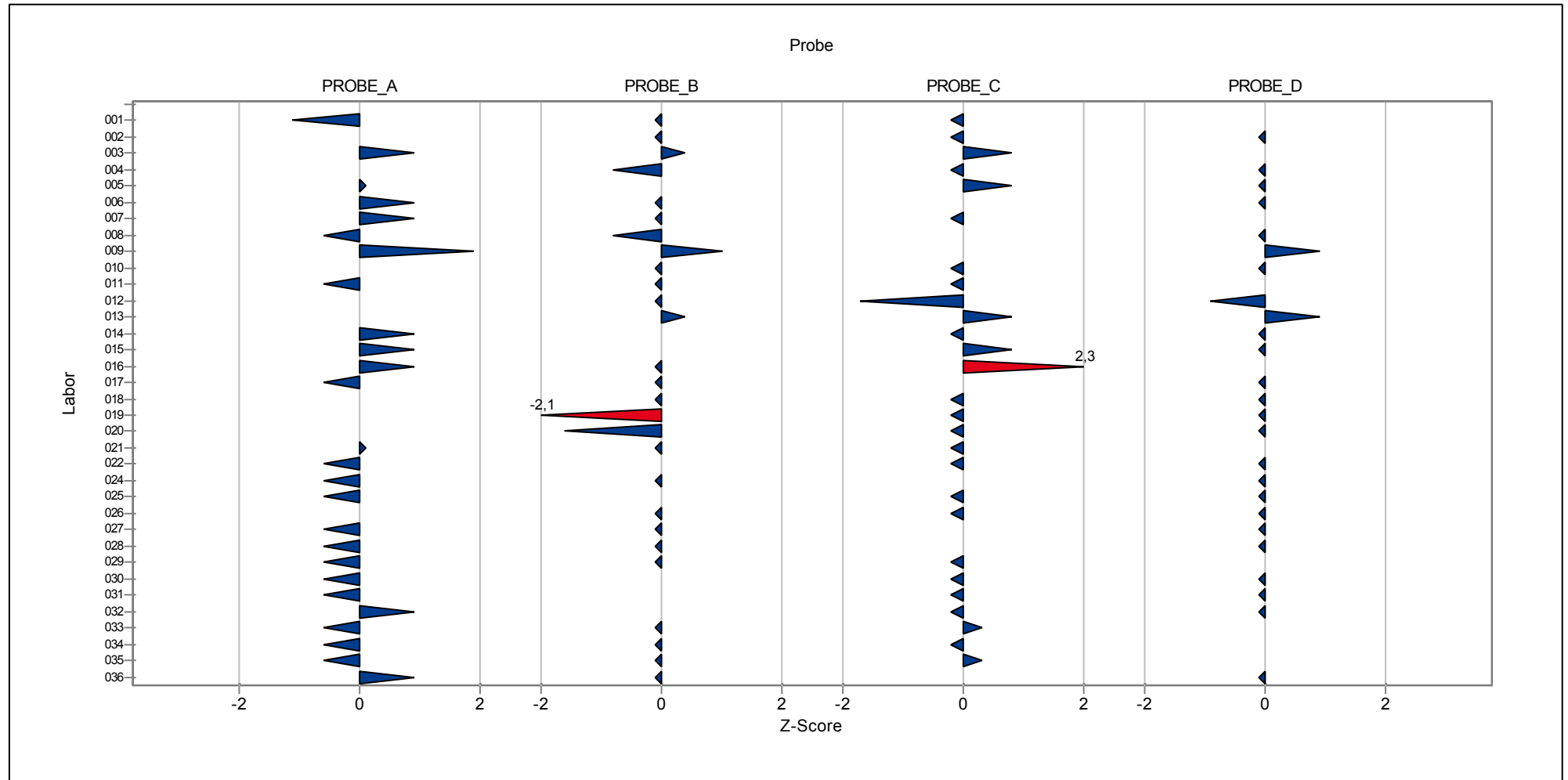
Übersicht Z-Scores

Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien



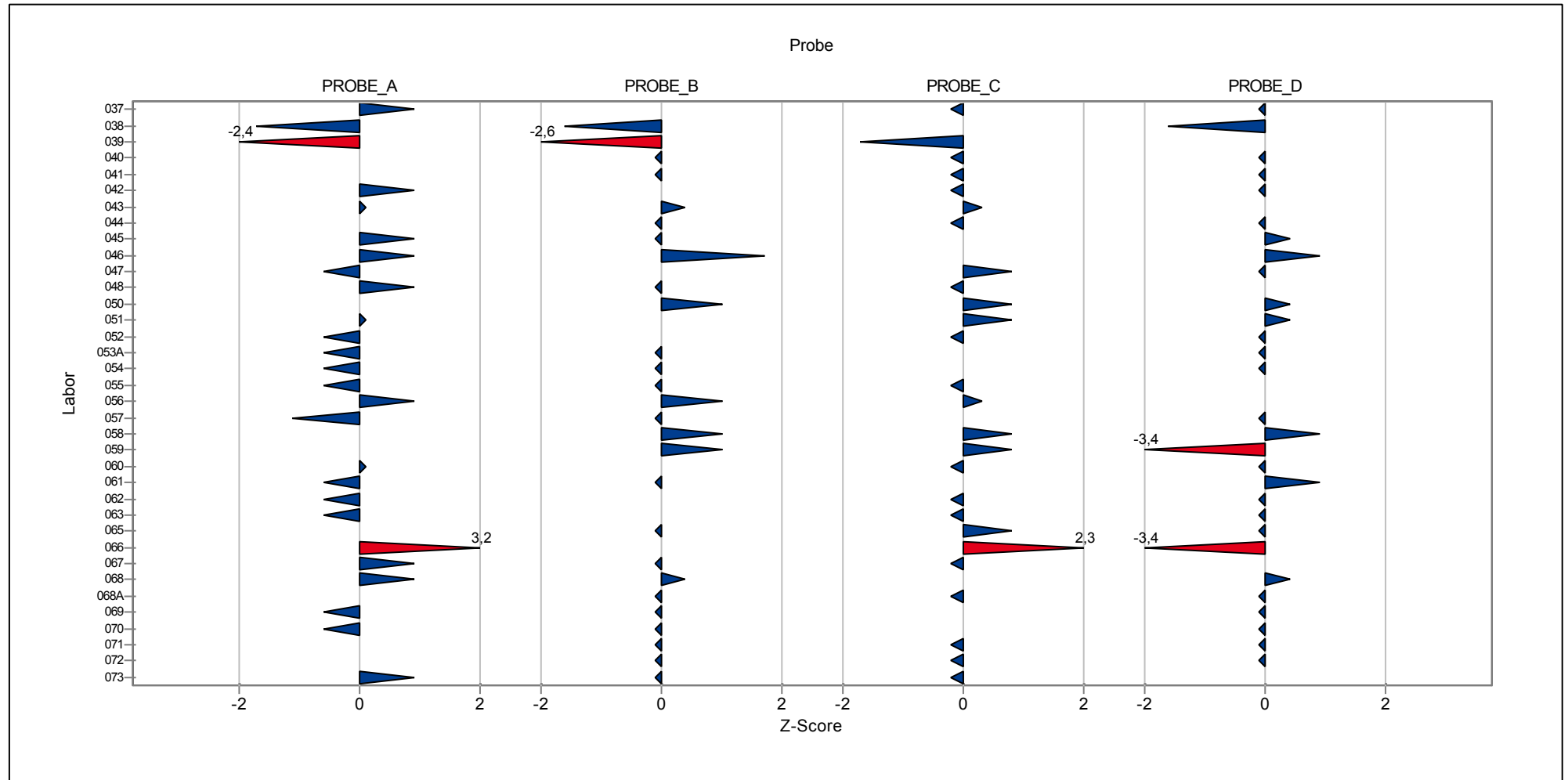
Übersicht Z-Scores

Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien



Übersicht Z-Scores

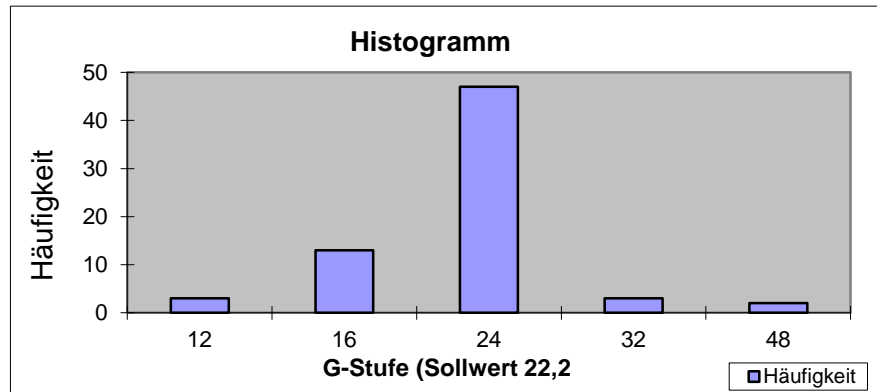
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien



Histogramme Daphnientest

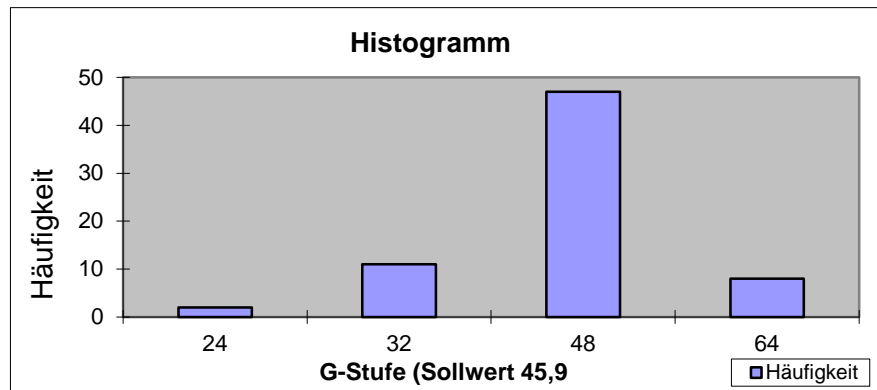
Probe A

Klasse	Häufigkeit
12	3
16	13
24	47
32	3
48	2



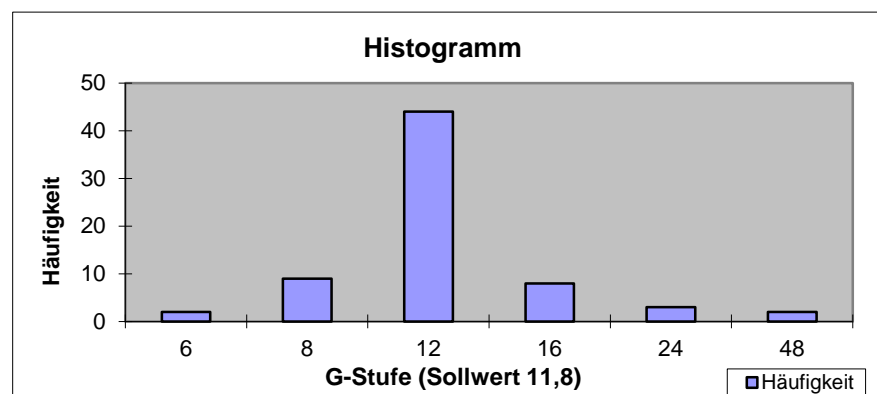
Probe B

Klasse	Häufigkeit
24	2
32	11
48	47
64	8



Probe C

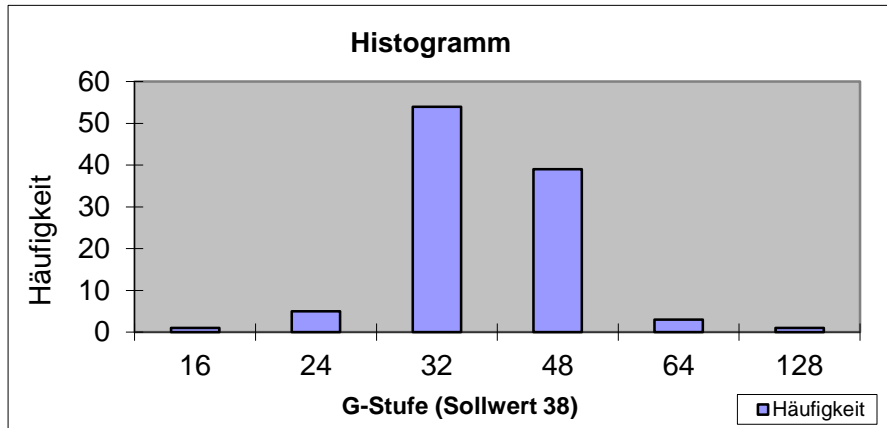
Klasse	Häufigkeit
6	2
8	9
12	44
16	8
24	3
48	2



Histogramme Leuchtbakterientest

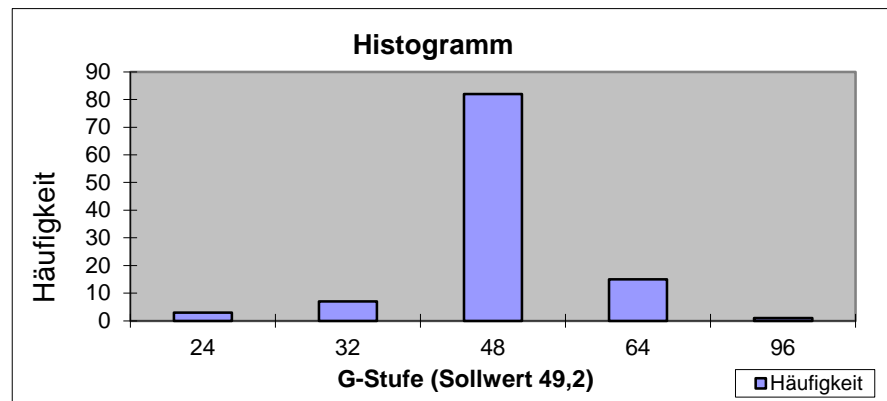
Probe A

G-Stufe	Häufigkeit
16	1
24	5
32	54
48	39
64	3
128	1



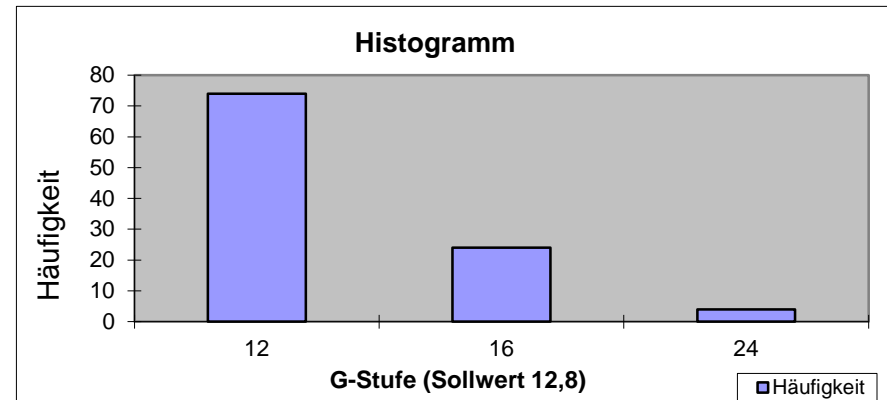
Probe B

G-Stufe	Häufigkeit
24	3
32	7
48	82
64	15
96	1



Probe C

G-Stufe	Häufigkeit
12	74
16	24
24	4



Probe D

G-Stufe	Häufigkeit
8	2
12	2
16	3
24	87
32	14

