

Auswertung

Länderübergreifender Ringversuch B 13 „Biotests im Abwasser“

- Anlagen:
- Parameterangaben (Toleranzgrenzen und Sollwerte)
 - Zusammenfassung der Labormittelwerte (nur gültige Werte entspr. Rahmenbedingungen)
 - Grafische Darstellung der Ergebnisse aller Teilnehmer (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

Für die 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.

Der pH-Wert war entsprechend den DIN-Normen selbst auf den Sollbereich einzustellen.

Zur Durchführung wurden folgende Vorgaben gemacht:

- Durchführung der Biotests innerhalb von 24 Stunden (bis 11.05.2022), sonst sofortiges Einfrieren bei -18°C (Analytik bis 27.05.2022).
- 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. Aufgrund der geringeren Teilnehmerzahl konnten beim Daphnientest nur drei Konzentrationsniveaus hergestellt werden.

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.

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. Bei dieser Berechnung wurden nur die Ergebnisse berücksichtigt, die unter Einhaltung der Rahmenbedingungen (u.a. Analysenmethode, Analysenzeitraum) ermittelt worden waren.

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 $|z|=2$.

Folgende Limitierungen der relativen Vergleichsstandardabweichung wurden festgelegt:

- 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

Außerdem wurden die Konzentrationsniveaus so hoch gewählt, dass die Berechnung einer unteren Toleranzgrenze für alle Proben möglich ist.

Die berechneten relativen Vergleichsstandardabweichungen liegen beim Leuchtbakterientest zwischen 20,7% und 24,5% und damit unter der festgelegten Untergrenze, sodass sie für alle vier Proben auf 27,45% angehoben wurde.

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 wurden auf 27,45% angehoben.

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

Parameter	Probe	Toleranzbereich								
		Grenze unten		Sollwert				Grenze oben		
Daphnientest	A	4	4,9	6	8	8,9	12	15,9	16	
	B	12	14,8	16	24	25,7	32	44,4	48	
	C	24	28,8	32	48	49,8	64	86,3	96	
Leuchtbakterien-test	A	4	4,7	6	8	8,1	12	14,0	96	
	B	12	13,0		16	22,5	24	32	39,0	48
	C	24	25,7	32		44,5	48	64	77,1	96
	D	32	32,1		48	55,5	64	96	96,1	128

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)
- die zur Auswertung verwendete Vergleichsstandardabweichung (Rel. Soll-STD).

Bewertung:

Beim Daphnientest analysierten 10 Labore alle Proben sofort, 19 Teilnehmer froren alle Proben ein und 2 Teilnehmer nutzten beide Möglichkeiten für ihre Proben.

Beim Leuchtbakterientest führten 26 Labore den Test sofort und 32 Labore nach Einfrieren aller Proben durch. 7 Teilnehmer nutzten beide Möglichkeiten für ihre Proben.

Zwei Teilnehmer gaben keine Ergebnisse ab und drei Teilnehmer verwendeten eine nicht zugelassene Analysenmethode.

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

Beim Daphnientest waren alle Teilnehmer erfolgreich. Beim Leuchtbakterientest waren 92 % der Teilnehmer erfolgreich.

Folgende Ergebnisse wurden als falsch bewertet:

- Werte mit $z > |2|$,

- Werte, bei denen die Rahmenbedingungen nicht eingehalten worden sind

(z.B. Überschreitung des Analysenzeitraums, nicht zugelassene Analysenverfahren).

Diese Ergebnisse gingen nicht in die Berechnung der Sollwerte und Toleranzgrenzen ein.

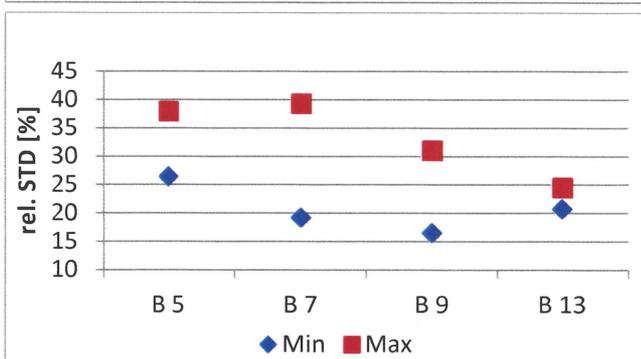
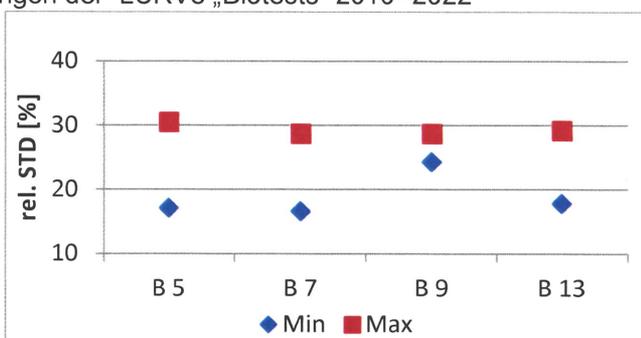
Unabhängig von der Einhaltung der LÜRv-Rahmenbedingungen wurden für alle angegebenen Mittelwerte die z-Scores auf Grundlage der berechneten Ringversuchskenndaten ermittelt. Mit Hilfe der Einzeldarstellungen aller z-Scores kann in der Anlage zum Zertifikat der Leistungsumfang für die analysierten Parameter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

Seit 2010 werden die Biotest-Ringversuche in dieser Form von der BfUL durchgeführt. Das ermöglicht die Darstellung von Veränderungen bei den Ringversuchskennwerten.

Tabelle 3 Relative Vergleichsstandardabweichungen der LÜRv „Biotests“ 2010 -2022

Daphnientest		
LÜRv	rel. STD Min [%]	rel. STD Max [%]
B 5	17,1	30,5
B 7	16,6	28,7
B 9	24,3	28,7
B 13	17,8	29,2

Leuchtbakterientest		
LÜRv	rel. STD Min [%]	rel. STD Max [%]
B 5	26,4	37,9
B 7	19,2	39,3
B 9	16,5	31,0
B 13	20,7	24,5



Beim Leuchtbakterientest nehmen die Maximalwerte der relativen Vergleichsstandardabweichungen von LÜRv B 5 zu B 13 ab. Beim Daphnientest sind keine Tendenzen erkennbar.

A. Simon

A. Simon
SGL QM

Literatur

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

Herausg.: Länderarbeitsgemeinschaft Wasser, <https://www.lawa.de/Publikationen-363-AQS-Merkblaetter.html>

[2] FACHMODUL Wasser „Kompetenznachweis und Notifizierung von Prüflaboratorien und Messstellen (Untersuchungsstellen) im wasserrechtlich geregelten Umweltbereich“ (Stand 18.10.2018) Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA)

Parameterangaben

Probe	Parameter	Einheit	Sollwert	Toleranz unten	Toleranz oben	RSTDMIN [%]	RSTDMAX [%]	rel. STD [%]	Rel. Soll-STD [%]
A	Giftigkeit gegenüber Daphnien		8,9	5	16	27,45	34,66	29,22	29,22
B	Giftigkeit gegenüber Daphnien		25,7	15	44	27,45	34,66	20,20	27,45
C	Giftigkeit gegenüber Daphnien		49,8	29	86	27,45	34,66	17,83	27,45
A	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		8,1	5	14	27,45	34,66	20,71	27,45
B	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		22,5	13	39	27,45	34,66	23,62	27,45
C	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		44,5	26	77	27,45	34,66	24,46	27,45
D	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		55,5	32	96	27,45	34,66	24,53	27,45

Zusammenfassung Labormittelwerte

(gültige Werte entsprechend Rahmenbedingungen)

	Probe A	Probe B	Probe C
003	8,0	24,0	48,0
004	6,0	24,0	48,0
006	12,0	24,0	48,0
007	8,0	24,0	48,0
008	8,0	24,0	48,0
009	8,0	24,0	48,0
013	12,0	32,0	48,0
014	6,9	32,0	64,0
016	12,0	32,0	64,0
020	6,9	24,0	48,0
021	8,0	24,0	48,0
023	8,0	24,0	48,0
024	8,0	24,0	48,0
025	12,0	32,0	48,0
028	9,8	19,6	39,2
032	8,0	24,0	48,0
034	12,0	32,0	55,4
036	12,0	24,0	48,0
038	24,0 E	16,0	40,0
039	8,0	24,0	48,0
046	8,0	24,0	48,0
048	6,9	24,0	48,0
051	8,0	27,7	48,0
052	12,0	24,0	64,0
055	8,0	24,0	48,0
059	8,0	32,0	64,0
060	12,0	32,0	64,0
062	8,0	33,9	48,0
064	8,0	24,0	24,0 E
065	8,0	24,0	48,0
066	8,0	24,0	48,0
--	--	--	--
Bewertung	Z <=2,0	Z <=2,0	Z <=2,0
Anzahl der Labore mit quantitativen Werten	31	31	31
Sollwert	8,9	25,7	49,8
Rel.Soll-Stdabw.	29,22 %	27,45 %	27,45 %
unt. Toleranzgr.	4,9	14,8	28,8
ob. Toleranzgr.	15,9	44,4	86,3

Erläuterung der Ausreißertypen

E: Mittelwert außerhalb Tol.-Bereich

Zusammenfassung Labormittelwerte

(gültige Werte entsprechend Rahmenbedingungen)

	Probe A	Probe B	Probe C	Probe D
001		24,0	39,2	48,0
002		16,0	48,0	48,0
003	8,0		48,0	64,0
004	8,0		39,2	48,0
005	12,0	21,9	48,0	
006		24,0	48,0	64,0
007		27,7	48,0	64,0
008	8,0	24,0	48,0	
009	8,0		48,0	48,0
010	8,0	24,0		64,0
011		24,0	32,0	48,0
013	8,0	24,0	48,0	
014	8,0	24,0		48,0
015	8,0	24,0		48,0
016	8,0		39,2	48,0
017		16,0	32,0	48,0
019	8,0		48,0	64,0
020	8,0	24,0	48,0	
021	8,0	24,0	48,0	
024		24,0	32,0	48,0
025	8,0	24,0		48,0
027	8,0		48,0	48,0
028	9,8	19,6	39,2	
029	8,0	24,0		48,0
030	6,0		62,0	48,0
031	12,0	24,0	48,0	
032		27,7	55,4	78,4
033		16,0	39,2	48,0
034	9,8	24,0		55,4
035	8,0		48,0	64,0
036	8,0	16,0		48,0
037	8,0		48,0	48,0
039	8,0		48,0	64,0
040	16,0 E	32,0		96,0
041	8,0		32,0	96,0
043	8,0	24,0		48,0
044	8,0	24,0	48,0	
045		32,0	64,0	128,0 E
046	8,0	24,0		48,0
048	8,0	24,0	48,0	
049	8,0	19,6	32,0	
050		16,0	32,0	48,0
051	8,0		48,0	55,4
052	6,0	16,0	48,0	
053		24,0	64,0	96,0
055	8,0	24,0		48,0
056	9,8	27,7		64,0
057	8,0	24,0		49,0
058	12,0	19,6		
059	6,9		32,0	78,4
060		24,0	48,0	64,0
061	9,8		48,0	64,0
062	6,0	19,6		48,0

	Probe A	Probe B	Probe C	Probe D
063	8,0		48,0	64,0
064	8,0		48,0	48,0
065		24,0	48,0	55,4
066	8,0	24,0	48,0	
067	8,0	24,0		55,4
068	6,0	16,0	48,0	
069	6,0		32,0	48,0
-	--	--	--	--
Bewertung	$ Z \leq 2,0$			
Anzahl der Labore mit quantitativen Werten	46	43	44	46
Sollwert	8,1	22,5	44,5	55,5
Rel.Soll-Stdabw.	27,45 %	27,45 %	27,45 %	27,45 %
unt. Toleranzgr.	4,7	13,0	25,7	32,1
ob. Toleranzgr.	14,0	39,0	77,1	96,1

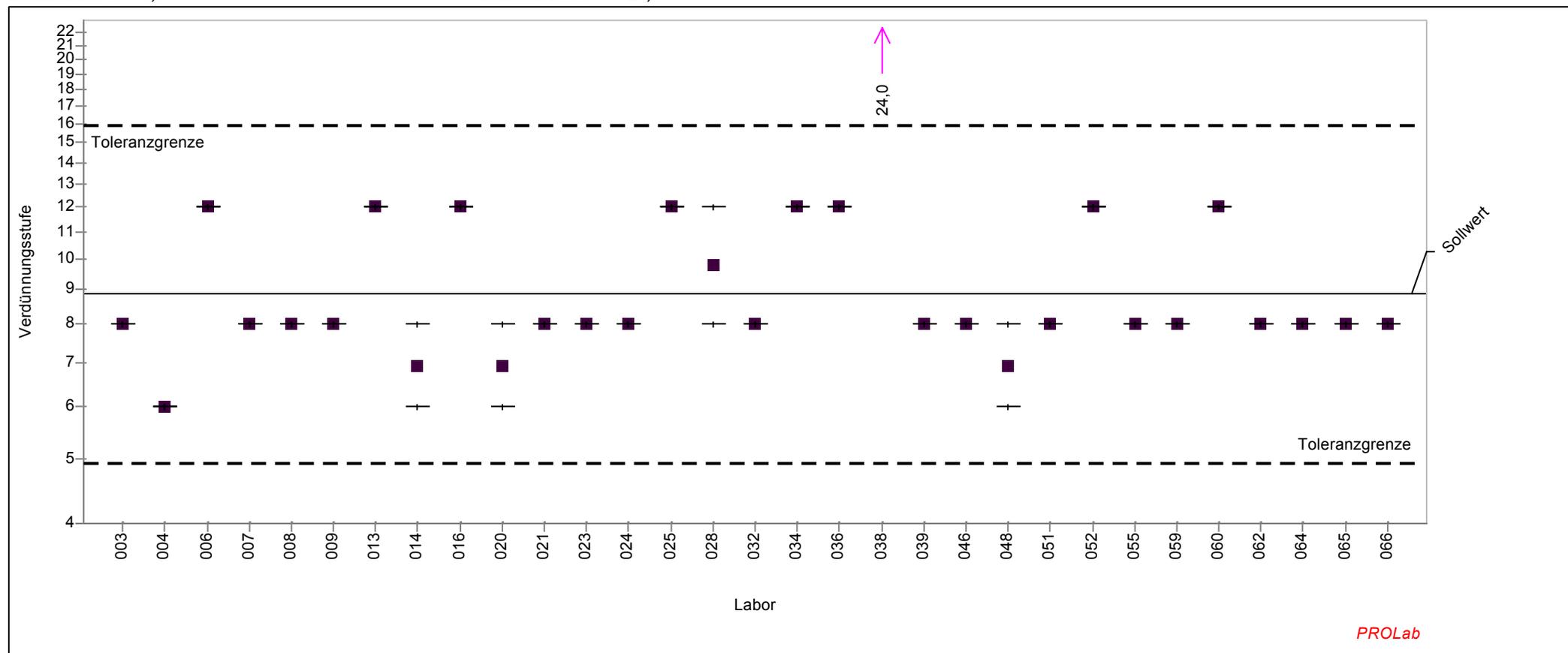
Erläuterung der Ausreißertypen

E: Mittelwert außerhalb Tol.-Bereich

Einzeldarstellung

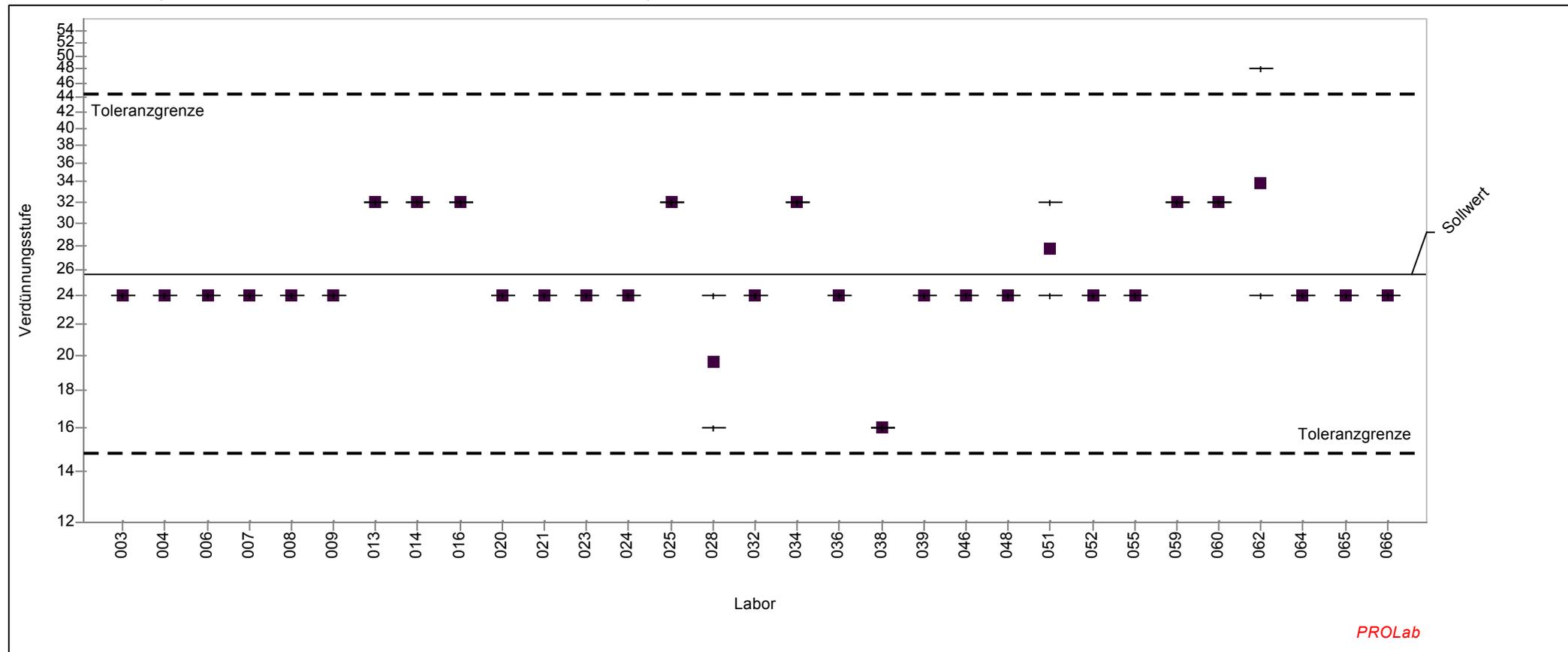
Probe: Probe A
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien
Anzahl Labore: 31
Minimalwert: 6,0

Sollwert: 8,9 (empirischer Wert)
Rel. Soll-Stdabw.: 29,22% (Limited)
Toleranzbereich: 4,9 - 15,9 (|Z-Score| <= 2,0)
Maximalwert: 24,0



Einzeldarstellung

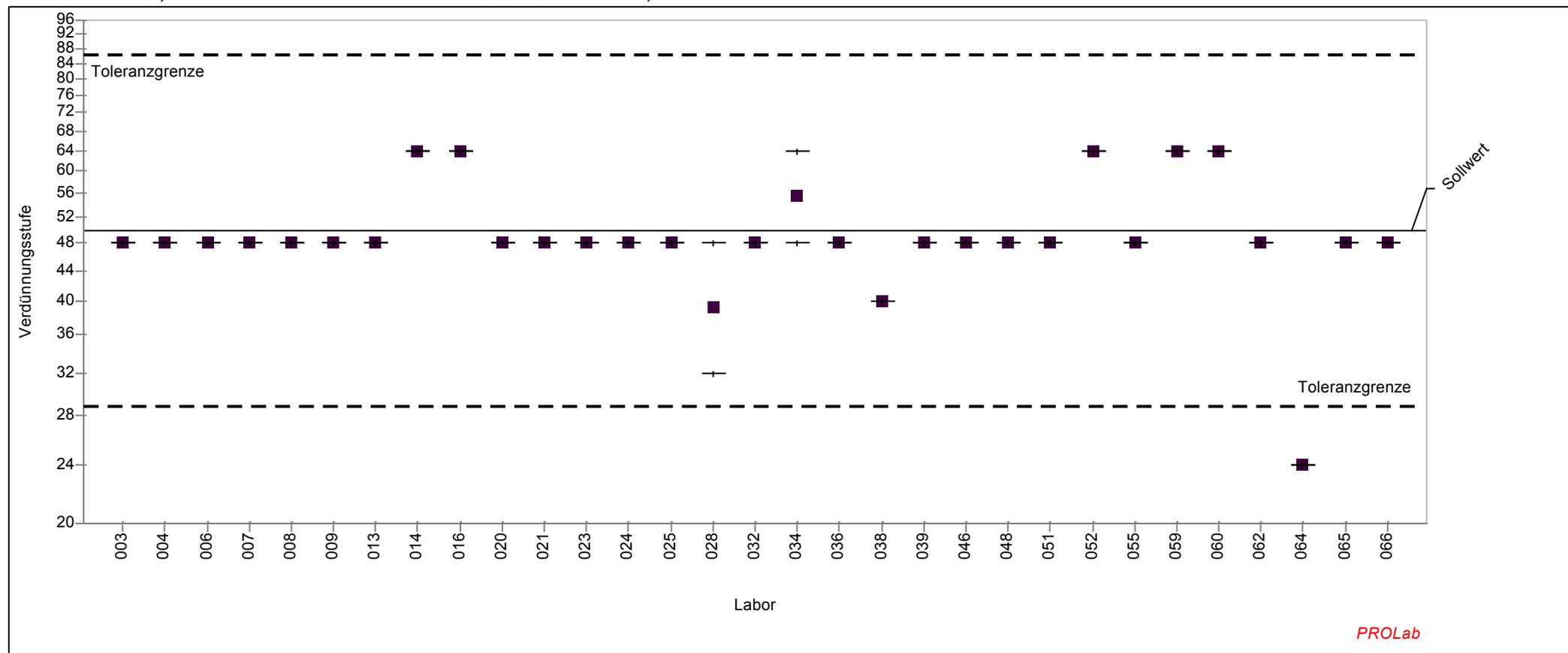
Probe: Probe B
Sollwert: 25,7 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien
Rel. Soll-Stdabw.: 27,45% (Limited)
Anzahl Labore: 31
Toleranzbereich: 14,8 - 44,4 (|Z-Score| <= 2,0)
Minimalwert: 16,0
Maximalwert: 48,0



Einzeldarstellung

Probe: Probe C
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien
Anzahl Labore: 31
Minimalwert: 24,0

Sollwert: 49,8 (empirischer Wert)
Rel. Soll-Stdabw.: 27,45% (Limited)
Toleranzbereich: 28,8 - 86,3 ($|Z\text{-Score}| \leq 2,0$)
Maximalwert: 64,0

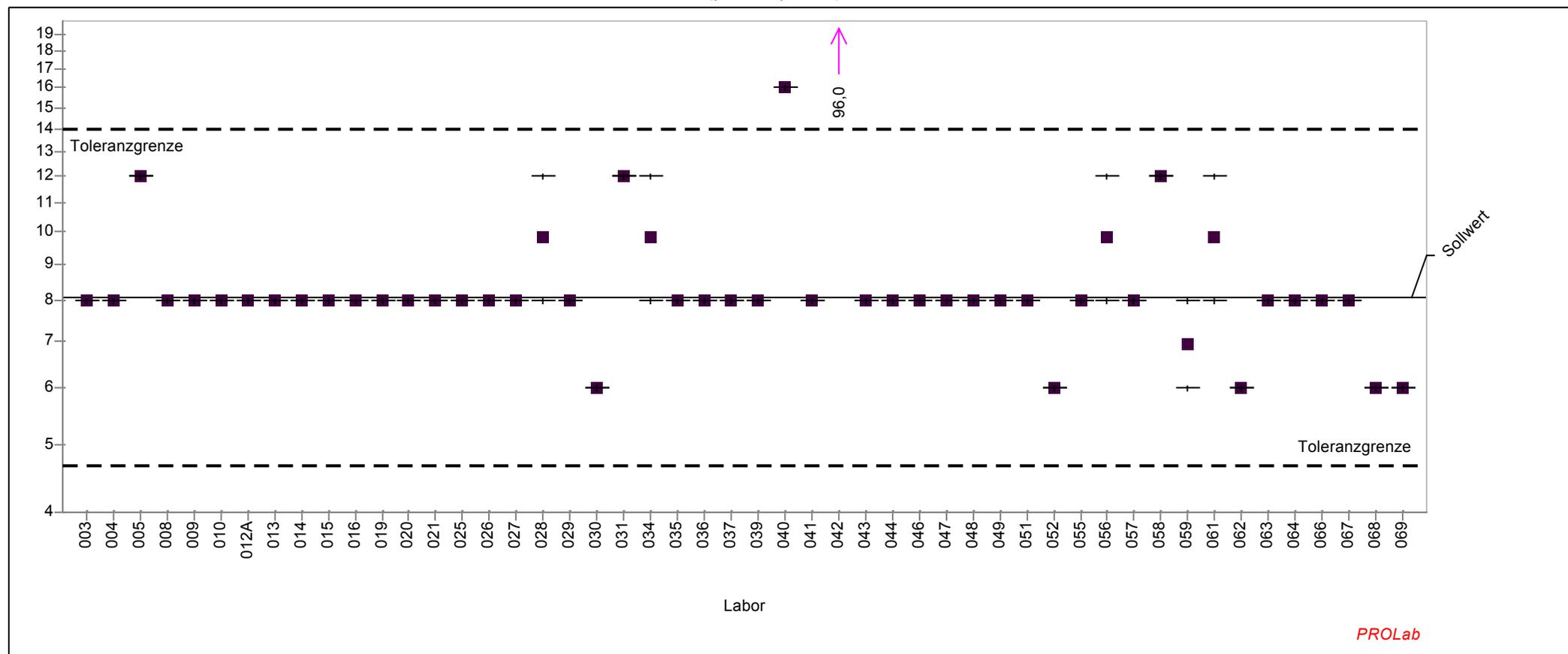


Einzeldarstellung

Probe: Probe A Sollwert: 8,1 (empirischer Wert)

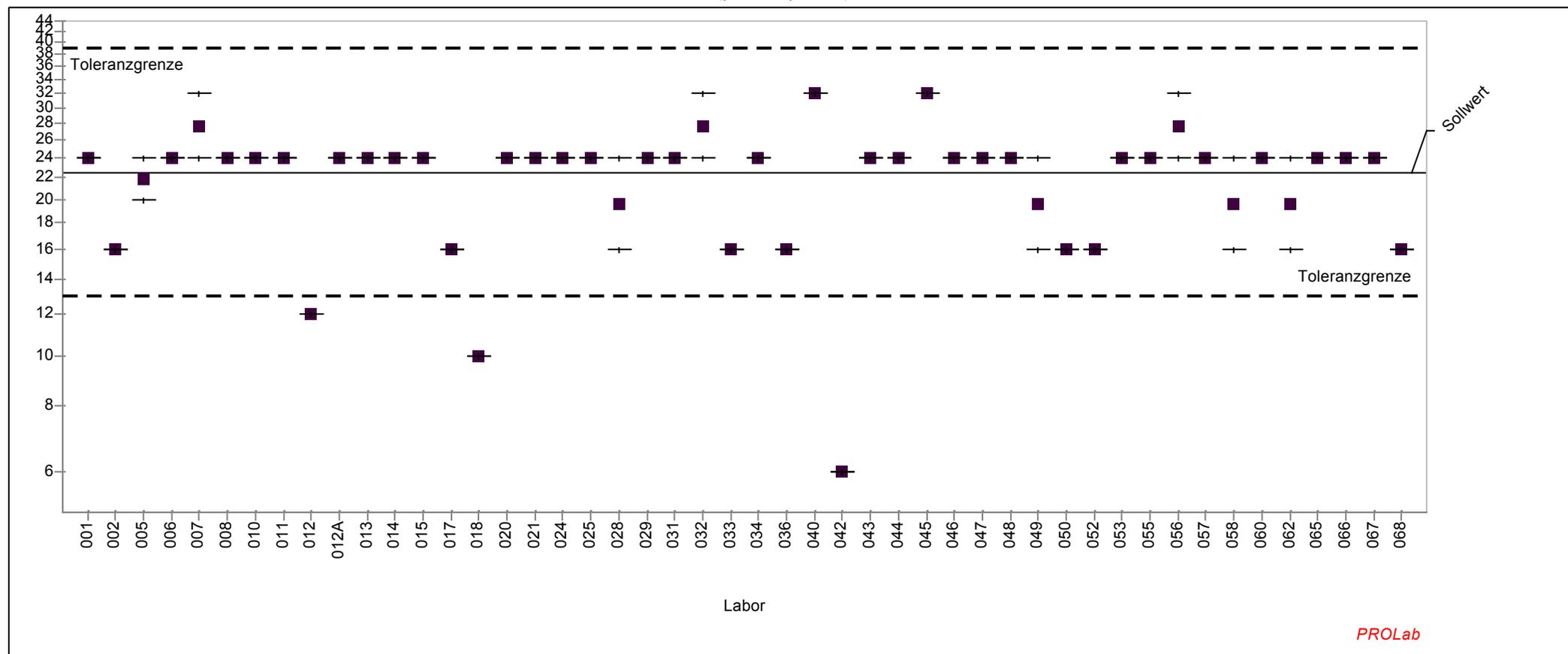
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien Rel. Soll-Stdabw.: 27,45% (Limited)

Anzahl Labore: 46 Toleranzbereich: 4,7 - 14,0 (|Z-Score| <= 2,0)



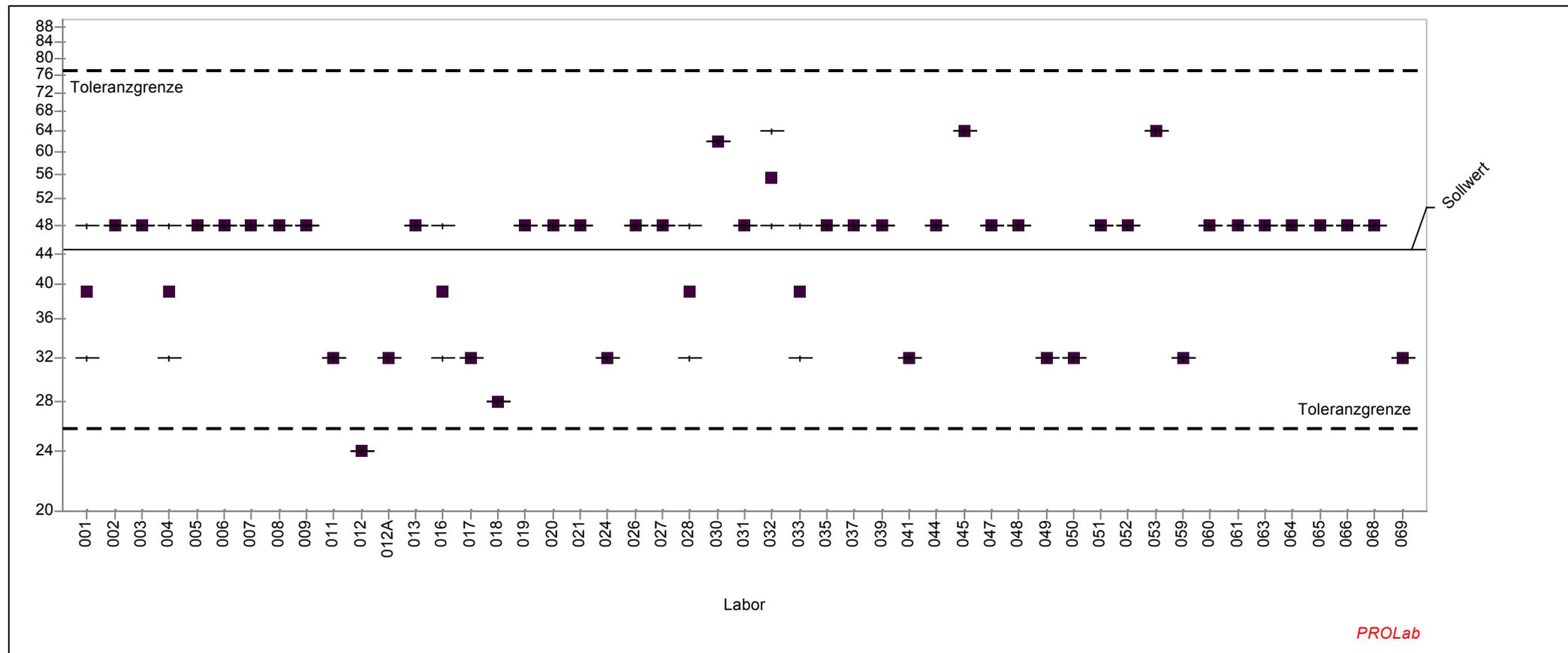
Einzeldarstellung

Probe: Probe B **Sollwert:** 22,5 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,45% (Limited)
Anzahl Labore: 43 **Toleranzbereich:** 13,0 - 39,0 ($|Z\text{-Score}| \leq 2,0$)



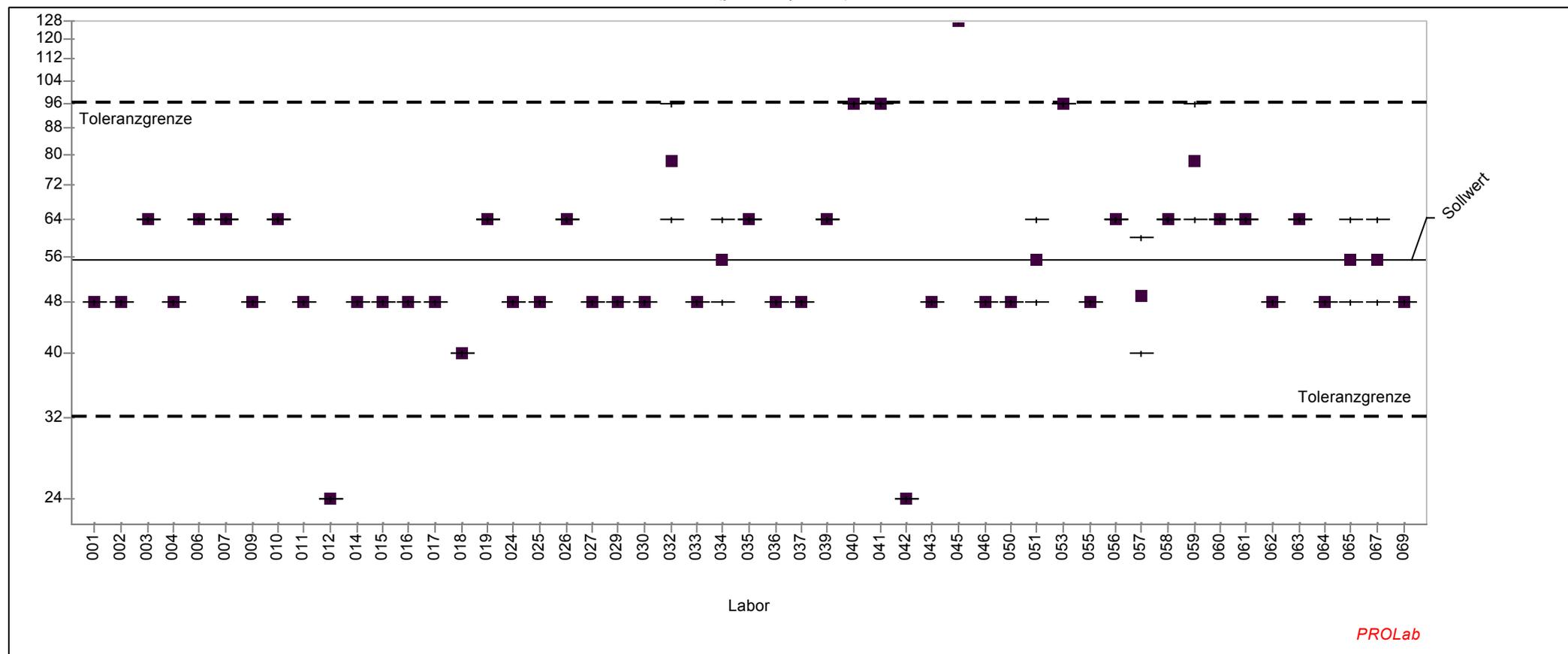
Einzeldarstellung

Probe: Probe C **Sollwert:** 44,5 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,45% (Limited)
Anzahl Labore: 44 **Toleranzbereich:** 25,7 - 77,1 (|Z-Score| <= 2,0)



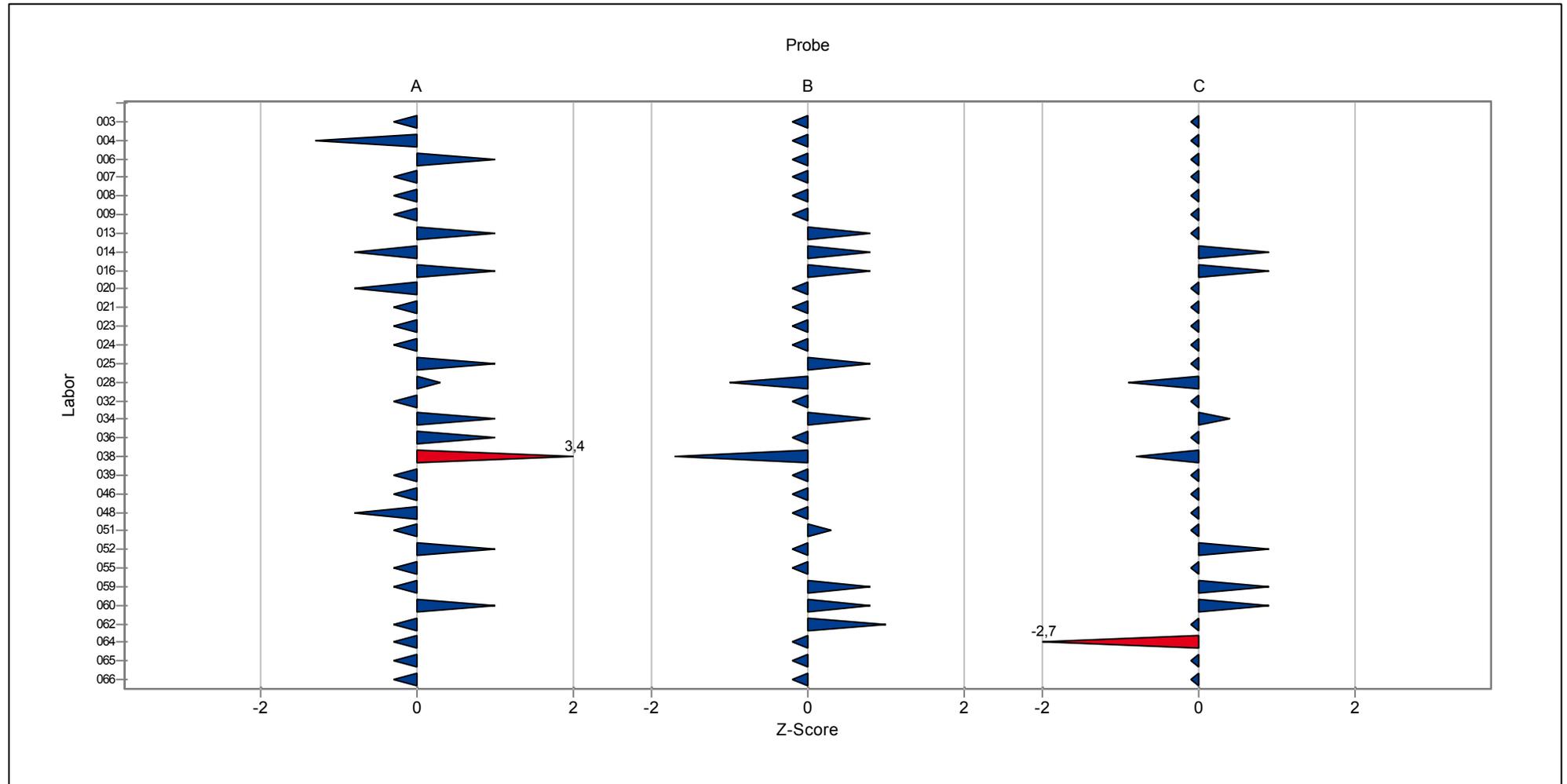
Einzeldarstellung

Probe: Probe D **Sollwert:** 55,5 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,45% (Limited)
Anzahl Labore: 46 **Toleranzbereich:** 32,1 - 96,1 ($|Z\text{-Score}| \leq 2,0$)



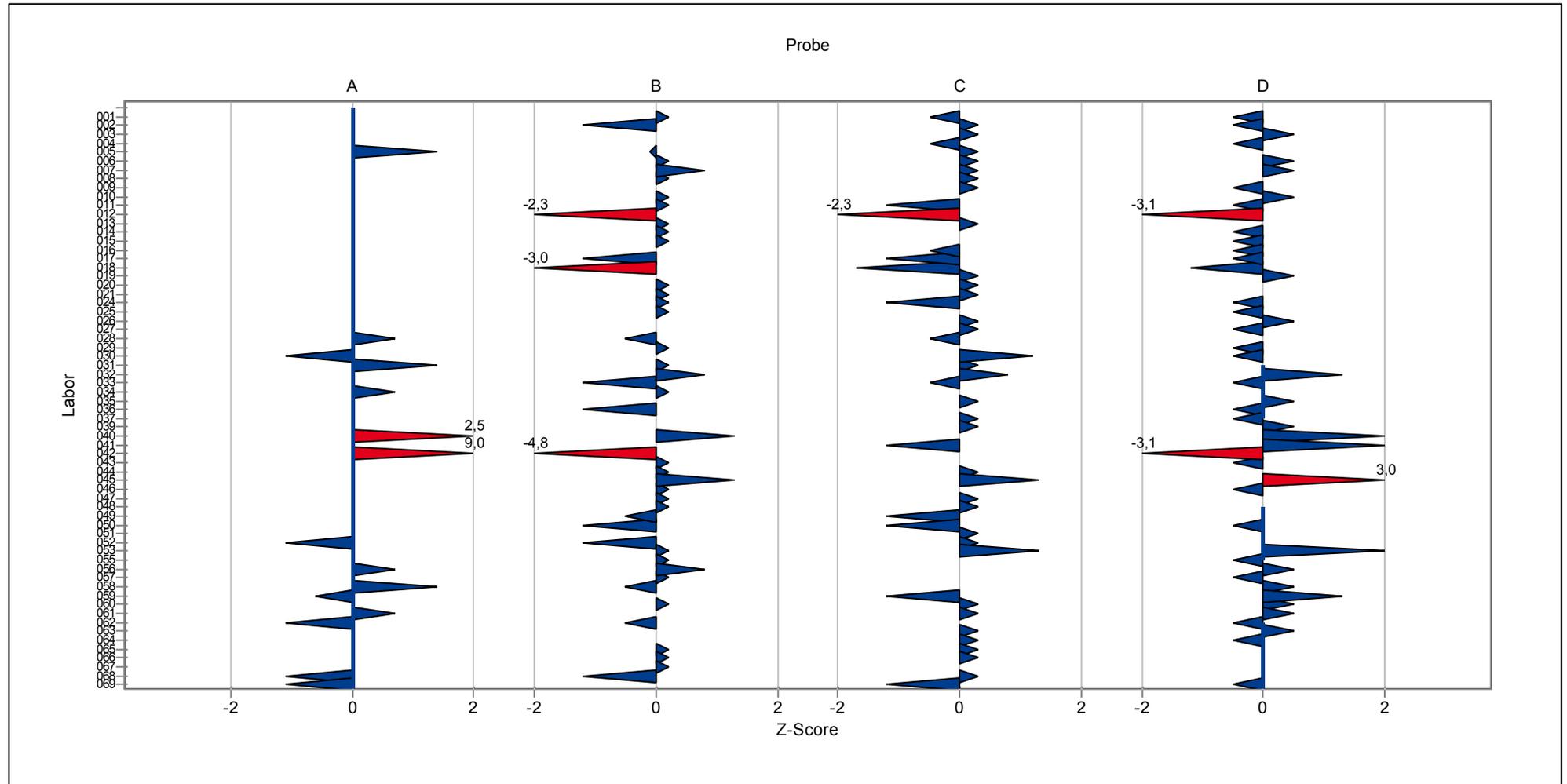
Übersicht Z-Scores

Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien



Übersicht Z-Scores

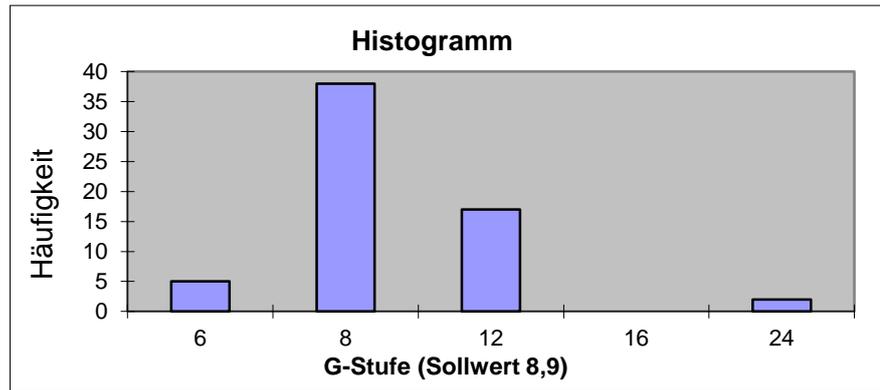
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien



Histogramme Daphnientest

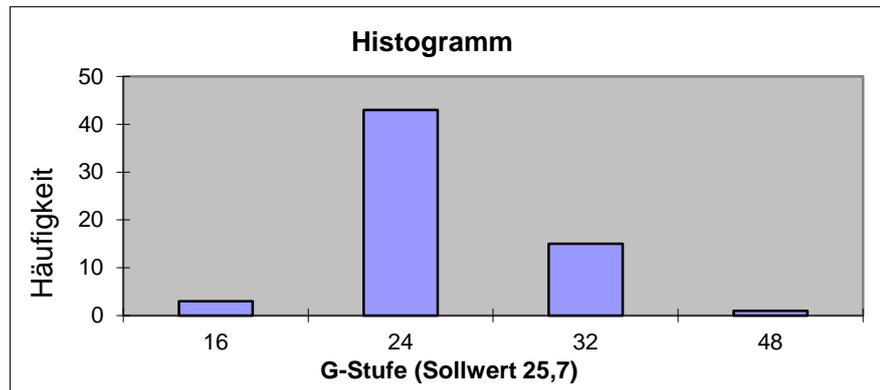
Probe A

<i>Klasse</i>	<i>Häufigkeit</i>
6	5
8	38
12	17
16	0
24	2



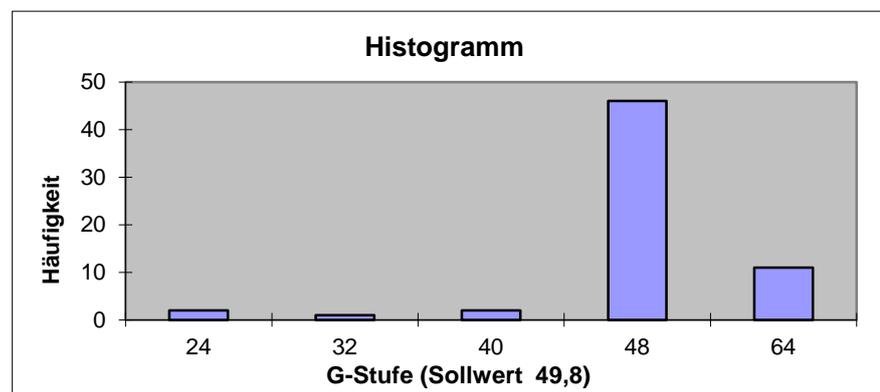
Probe B

<i>Klasse</i>	<i>Häufigkeit</i>
16	3
24	43
32	15
48	1



Probe C

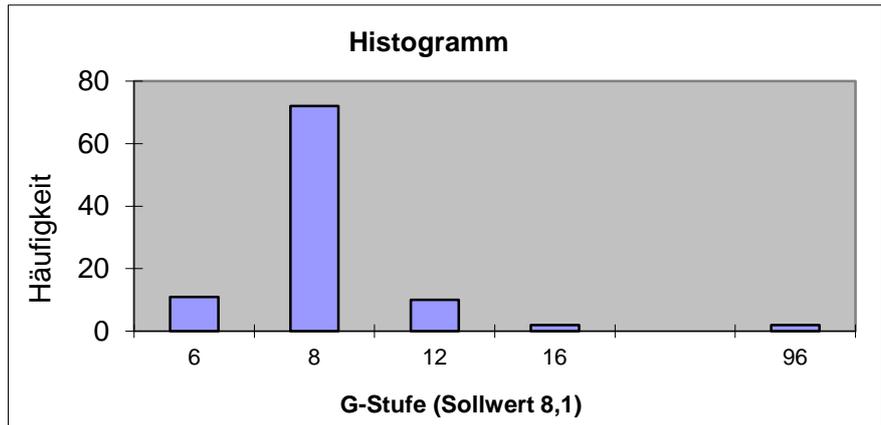
<i>Klasse</i>	<i>Häufigkeit</i>
24	2
32	1
40	2
48	46
64	11



Histogramme Leuchtbakterientest

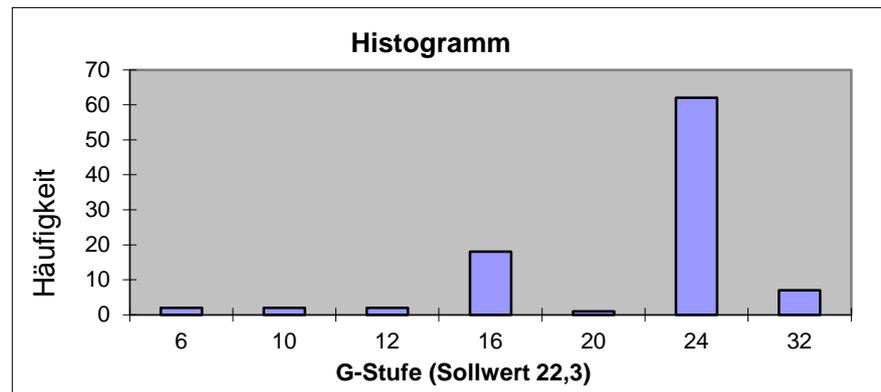
Probe A

G-Stufe	Häufigkeit
6	11
8	72
12	10
16	2
96	2



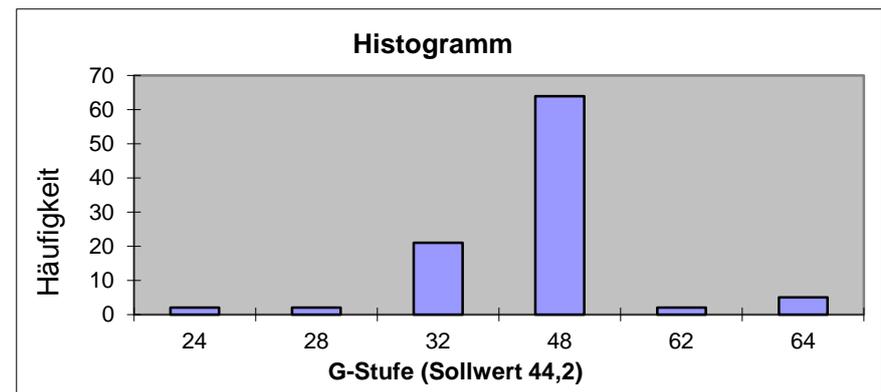
Probe B

G-Stufe	Häufigkeit
6	2
10	2
12	2
16	18
20	1
24	62
32	7



Probe C

G-Stufe	Häufigkeit
24	2
28	2
32	21
48	64
62	2
64	5



Probe D

G-Stufe	Häufigkeit
24	4
40	3
48	52
60	1
64	32
96	8
128	2

