

Auswertung

Länderübergreifender Ringversuch B 17 „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 Daphnientest sind Bestandteile des Fachmoduls Wasser Teilbereich 4 [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

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 18.06.2026), sonst sofortiges Einfrieren bei -18°C (Analytik bis 03.07.2026).
- 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 Ringversuchskennzahlen 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:

Untergrenze der relativen Vergleichsstandardabweichung: 27,45%
entspricht Sollwert +/- 1,5 Stufen
→ der Toleranzbereich umfasst mindestens 3 Stufen
Obergrenze der relativen Vergleichsstandardabweichung: 34,66%
entspricht Sollwert +/- 2 Stufen
→ der Toleranzbereich umfasst maximal 4 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 Daphnientest zwischen 22,39% und 23,52% und damit unter der festgelegten Untergrenze, sodass sie für alle drei Proben auf 27,45% angehoben wurde.

Beim Leuchtbakterientest wurde für die Berechnung der Vergleichsstandardabweichungen das Verfahren mit Varianzfunktion nach DIN 38402-45 Abschnitt 10.3. genutzt (Zusammenhang zwischen Konzentration und Vergleichsstandardabweichung aller Konzentrationsniveaus), um die zufälligen Unterschiede zwischen den Konzentrationsniveaus und die daraus resultierende unterschiedliche Bewertung auszugleichen. Die berechneten Vergleichsstandardabweichungen liegen für alle vier Proben innerhalb der festgelegten Grenzen und wurden zur Ermittlung der Toleranzgrenzen verwendet.

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

Parameter	Probe	Toleranzbereich									
		Grenze unten		Sollwert				Grenze oben			
Daphnientest	A	3	3,88	4	6	6,72	8	11,63	12		
	B	16	18,3	24		31,69	32	48	54,87	64	
	C	24	29,29	32	48	50,71	64	87,8	96		
Leuchtbakterien-test	A	3	3,54	4	6	6,52	8	12,0	16		
	B	8	8,32	12		15,32	16	24	28,22	32	
	C	16	16,8	24		30,95	32	48	57,01	64	
	D	32	35,24	48	64	64,9		96	119,5	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, 13 Teilnehmer froren alle Proben ein und 6 Teilnehmer nutzten beide Möglichkeiten für ihre Proben.

Beim Leuchtbakterientest führten 29 Labore den Test sofort und 22 Labore nach Einfrieren aller Proben durch. Vier Teilnehmer nutzten beide Möglichkeiten für ihre Proben.

Ein Labor konnte aufgrund des Gerätedefektes keine Ergebnisse abgeben. Alle Teilnehmer wendeten nur die zugelassenen Analysemethoden an, aber nicht alle hielten die Normenvorgaben bezüglich der Verdünnungsstufen ein.

Drei Labore verwendeten frisch gezüchtete Leuchtbakterien, ansonsten wurden flüssig getrocknete Bakterien verwendet.

Bei diesem Ringversuch wurde der Lieferant der Leuchtbakterien erfasst. 20 Labore gaben als Hersteller der Leuchtbakterien die Firma Hach und 32 Labore die Firma Macherey-Nagel an. Die Proben mit höheren Konzentrationen (C und D) erzielten bei Verwendung der Leuchtbakterien von Macherey-Nagel geringfügig höhere Sollwerte als die von Hach-Lange. Das hatte keine negativen Auswirkungen auf die Bewertung einzelner Teilnehmer, da sich aufgrund der Vorgaben für die relativen Vergleichsstandardabweichungen ein Toleranzbereich von mindestens 3 G-Stufen ergibt.

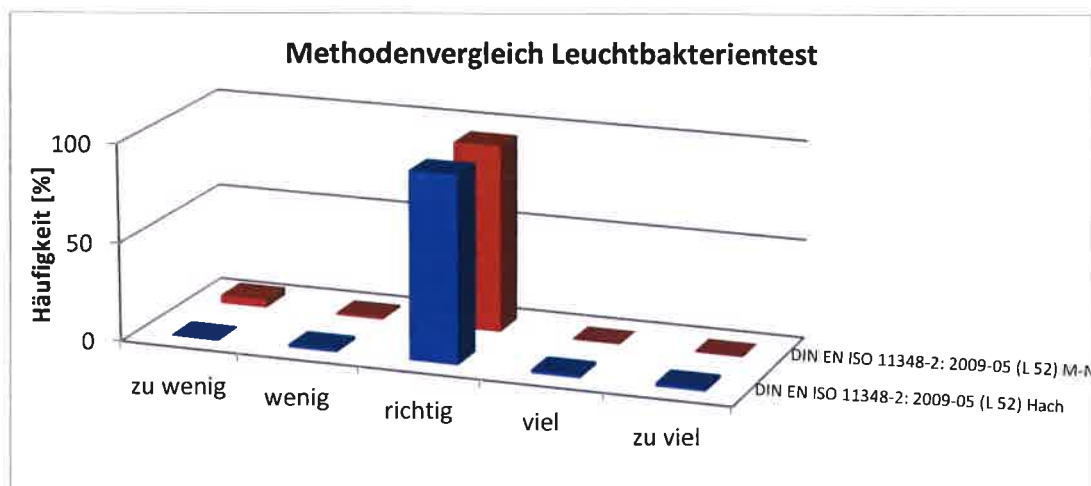


Abbildung 1: Vergleich der Hersteller in Bezug auf die ermittelten z-Scores

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

Beim Daphnientest war ein Teilnehmer nicht erfolgreich. Beim Leuchtbakterientest waren 3 Teilnehmer nicht erfolgreich.

Folgende Ergebnisse wurden als falsch bewertet:

- Werte mit $z > |2|$,
- Werte, bei denen die Rahmenbedingungen nicht eingehalten worden sind (z.B. kein Ansatz der vorgegebenen Verdünnungsstufen).

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 Ringversuchskennzahlen 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, <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		6,72	3,88	11,63	27,45	34,66	22,42	27,45
B	Giftigkeit gegenüber Daphnien		31,69	18,30	54,87	27,45	34,66	23,92	27,45
C	Giftigkeit gegenüber Daphnien		50,71	29,29	87,80	27,45	34,66	22,39	27,45
A	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		6,52	3,54	12,00	27,45	34,66	29,18	30,54
B	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		15,32	8,32	28,22	27,45	34,66	31,08	30,54
C	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		30,95	16,80	57,01	27,45	34,66	29,66	30,54
D	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		64,90	35,24	119,53	27,45	34,66	32,51	30,54

Zusammenfassung Labormittelwerte

(gültige Werte entsprechend Rahmenbedingungen)

	A	B	C
001	9,8	48	64
002	8	39,19	64
004	6	27,71	32
006	8	32	48
008	6	32	64
011	9,8	32	55,43
012	6	32	55,43
014	6	27,71	48
015	6	27,71	48
017	6	32	48
018	6,93		
019	6	32	55,43
021	6	24	48
022	16 E	48	64
023	6	32	48
024	6	27,71	48
025	6	32	48
026	6	24	48
028	13,86 E	32	39,19
029	6	27,71	48
030	6,93	27,71	48
031	6	32	48
033	6	32	48
037	8	32	48
044	6,93	32	55,43
050	6	32	48
052	6,93	24	32
054	8	48	64
056	6	39,19	64
–	–	–	–
Statistische Methode	DIN38402 A45 log	DIN38402 A45 log	DIN38402 A45 log
Anzahl der Labore, die Ergebnisse vorgelegt haben	29	28	28
Sollwert	6,72	31,69	50,71
Rel. Soll-Stdabw.	27,45 %	27,45 %	27,45 %
unt. Toleranzgr.	3,88	18,3	29,29
ob. Toleranzgr.	11,63	54,87	87,8
Anzahl Labore mit Einzelwert(en) außerhalb der Toleranzgrenzen	4		

Zusammenfassung Labormittelwerte

(gültige Werte entsprechend Rahmenbedingungen)

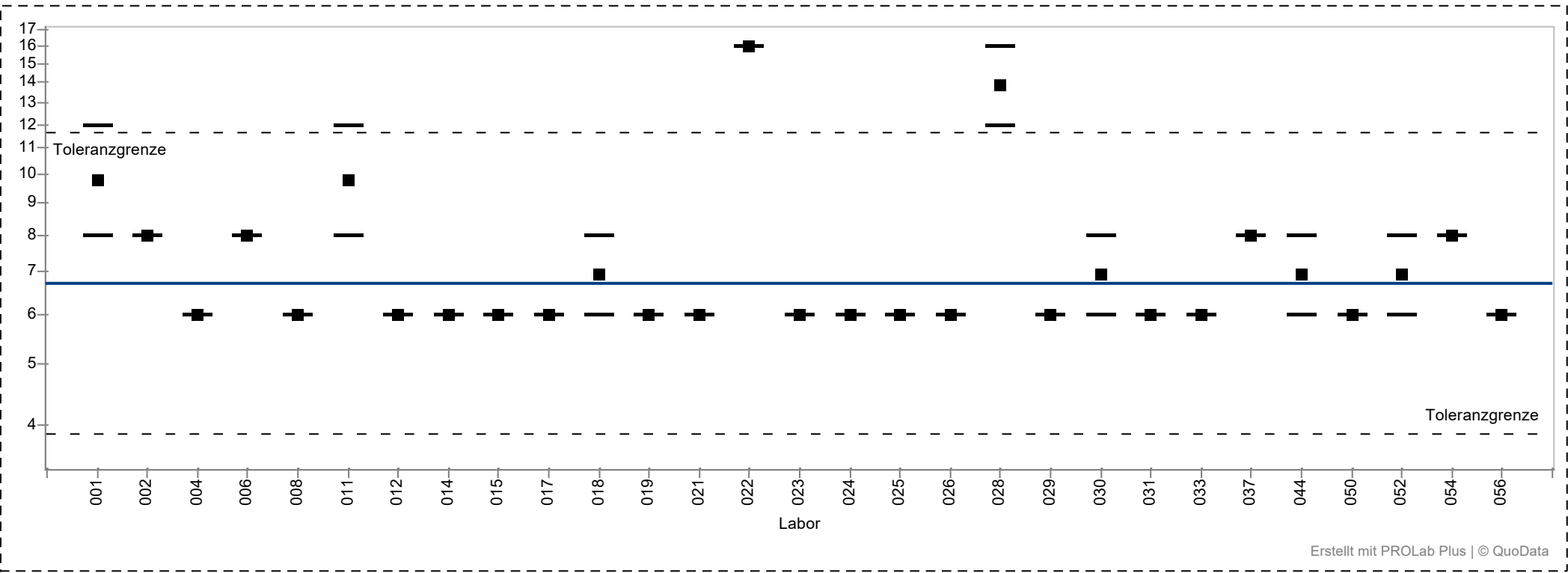
	A	B	C	D	Analysemethoden
001		16	32	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
002	6	12	32		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
004		16	39,19	78,38	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
005	12	32 E			DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
006	6		48	96	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
007	6	13,86	24		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
008	4,9	19,6		64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
009	6		32	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
010	4	16		96	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
011	4,9	13,86		55,43	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
013		12	24	48	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
014	6	13,86		64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
015	6,93	16	32		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
016	6		32	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
017	8		24	48	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
019		12	24	48	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
020		16	32	78,38	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
021	4		48	96	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
022	4	8 E		16 E	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
023	8	19,6		55,43	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
024		19,6	39,19	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
025	6,93	13,86	27,71		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
026	6		48	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
027	8	16	32		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
028	4,9		24	55,43	DIN EN ISO 11348-1: 2009-05 (L 51) Macherey&Nagel
029	9,8	24	48		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
030	6		27,71	55,43	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
031		12	32	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
032	8	16	32		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
033	6	12	24		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
034		3 E	8 E	16 E	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel

LÜRV B17 - Biotests im Abwasser
Merkmal Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien

	A	B	C	D	Analysemethoden
035	6	16	24		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
036	8	16		64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
037	8	24		64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
038	8	16		78,38	DIN EN ISO 11348-1: 2009-05 (L 51) Hach
039	6	12		48	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
040	6,93	12	24		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
041	8	16	32		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
042	6,93	19,6	32		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
043	6	16		64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
044		16	32	48	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
045		16	24	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
046	8		32	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
047	4	8 E	24		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
048	6		27,71	48	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
049	6,93		32	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
050		24	48	96	DIN EN ISO 11348-1: 2009-05 (L 51) Hach
051		12	24	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
052	6	12	24		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
053	9,8	16		192 E	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
054	6		24	48	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Hach
055	6		32	64	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
056	8	16		96	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
057	9,8		48	78,38	DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
058	6	16	32		DIN EN ISO 11348-2: 2009-05 (L 52) Macherey&Nagel
–	--	--	--	--	--
Statistische Methode	DIN38402 A45 log	DIN38402 A45 log	DIN38402 A45 log	DIN38402 A45 log	
Anzahl der Labore, die Ergebnisse vorgelegt haben	43	41	41	39	
Sollwert	6,52	15,32	30,95	64,9	
Rel. Soll-Stdabw.	30,54 %	30,54 %	30,54 %	30,54 %	
unt. Toleranzgr.	3,54	8,32	16,8	35,24	
ob. Toleranzgr.	12	28,22	57,01	119,53	
Anzahl Labore mit Einzelwert(en) außerhalb der Toleranzgrenzen		4	1	3	

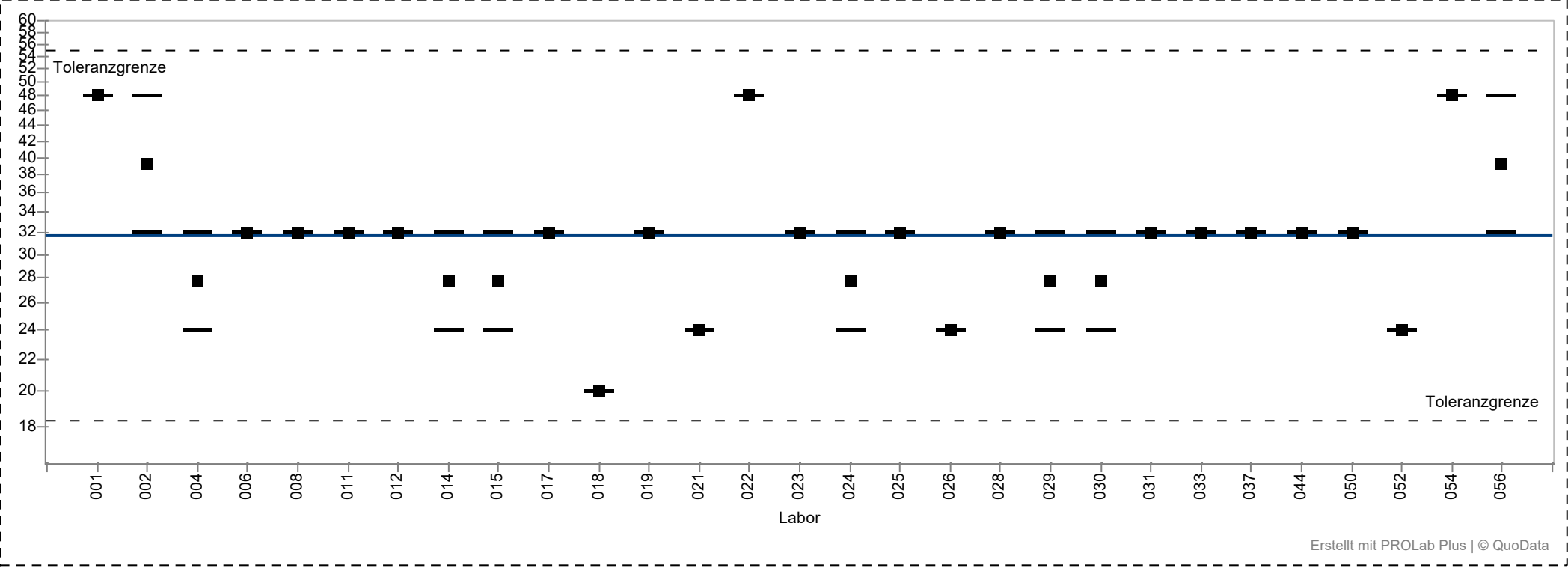
Einzeldarstellung

Probe: A Sollwert: 6,72 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien Rel. Soll-Stdabw.: 27,45% (Limited)
Anzahl Labore in Berechnung: 29 Toleranzbereich: 3,88 - 11,63 (|Z-Score| <= 2,0)



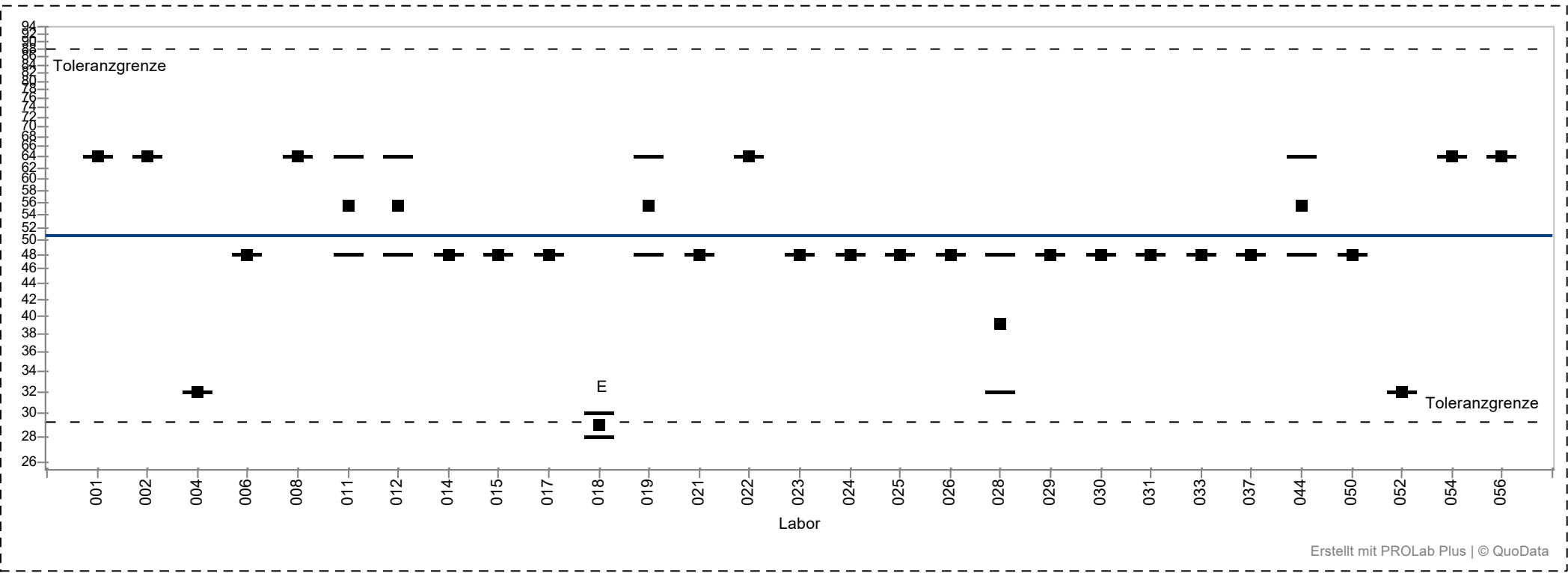
Einzeldarstellung

Probe: B Sollwert: 31,69 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien Rel. Soll-Stdabw.: 27,45% (Limited)
Anzahl Labore in Berechnung: 28 Toleranzbereich: 18,3 - 54,87 (|Z-Score| <= 2,0)



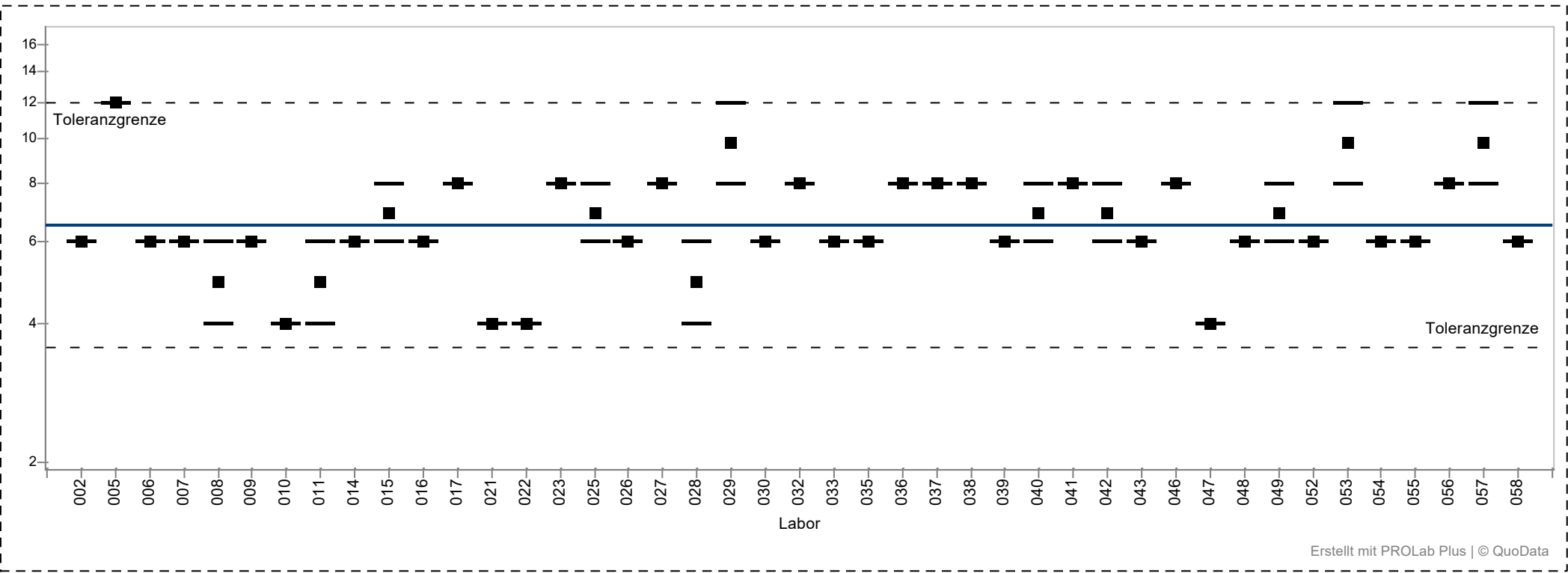
Einzeldarstellung

Probe: C Sollwert: 50,71 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien Rel. Soll-Stdabw.: 27,45% (Limited)
Anzahl Labore in Berechnung: 28 Toleranzbereich: 29,29 - 87,8 (|Z-Score| <= 2,0)



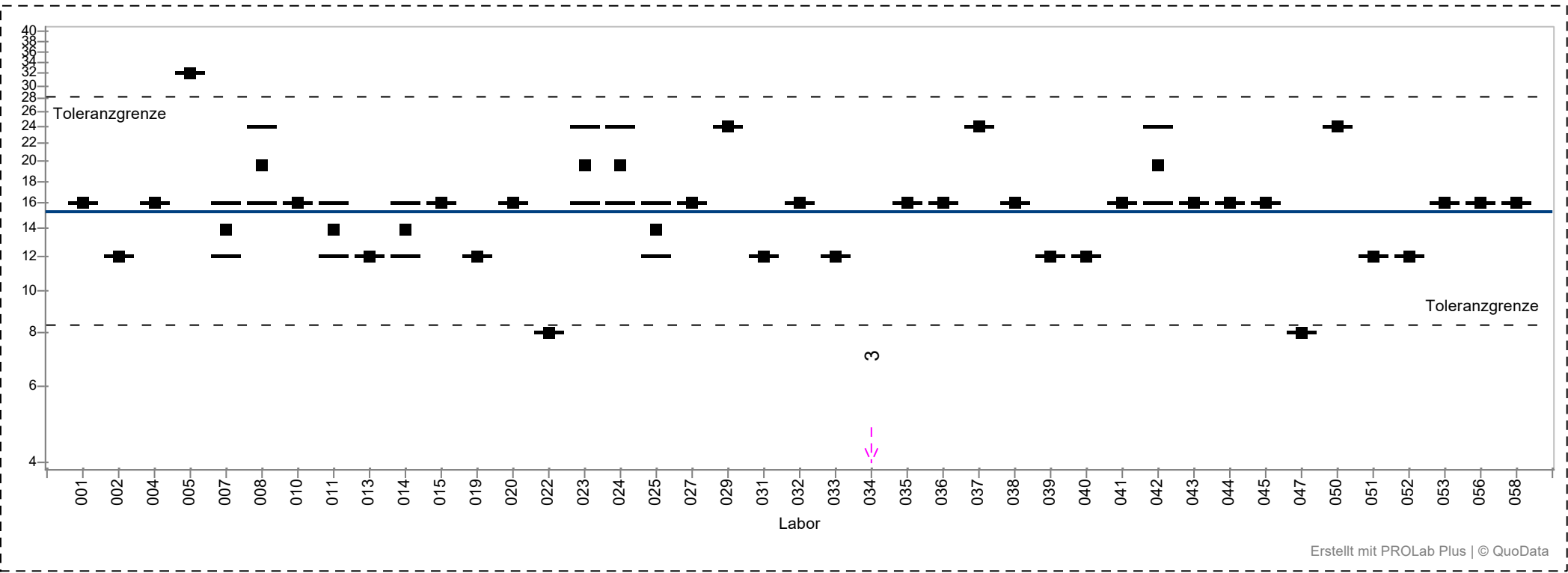
Einzeldarstellung

Probe: A Sollwert: 6,52 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien Rel. Soll-Stdabw.: 30,54% (Varianzfunktion)
Anzahl Labore in Berechnung: 43 Toleranzbereich: 3,54 - 12 (|Z-Score| <= 2,0)



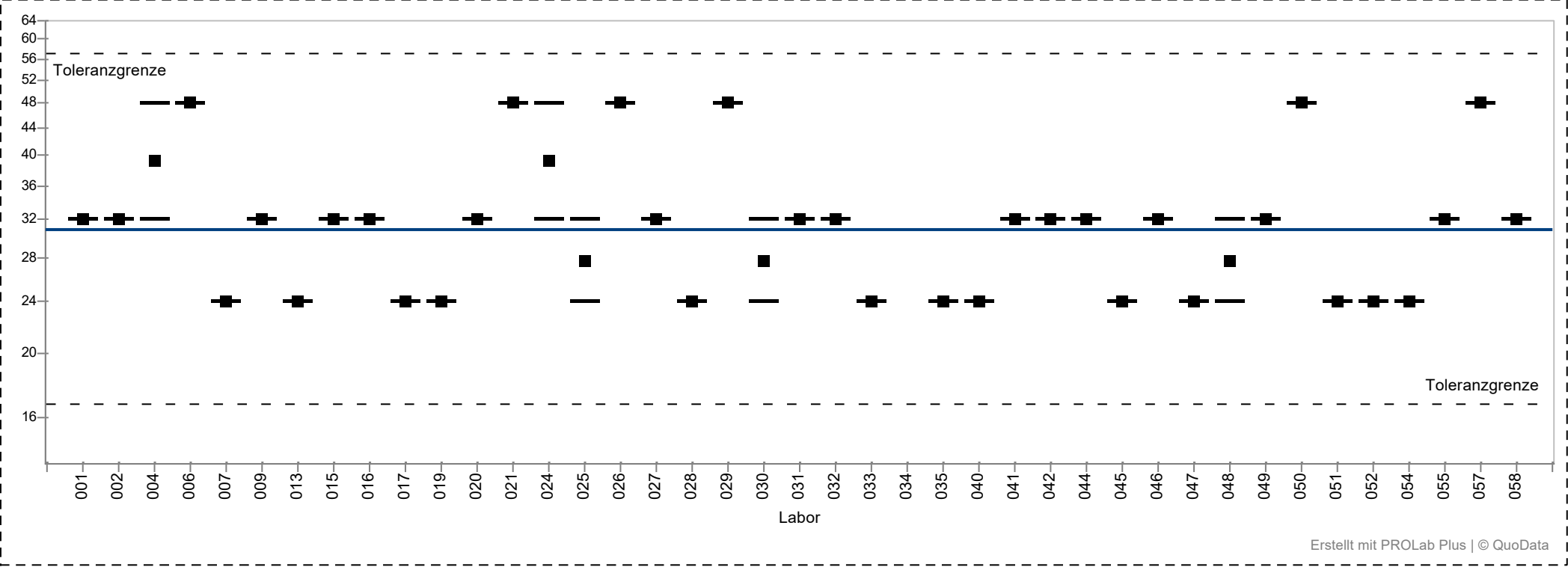
Einzeldarstellung

Probe: B Sollwert: 15,32 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien Rel. Soll-Stdabw.: 30,54% (Varianzfunktion)
Anzahl Labore in Berechnung: 41 Toleranzbereich: 8,32 - 28,22 (|Z-Score| <= 2,0)



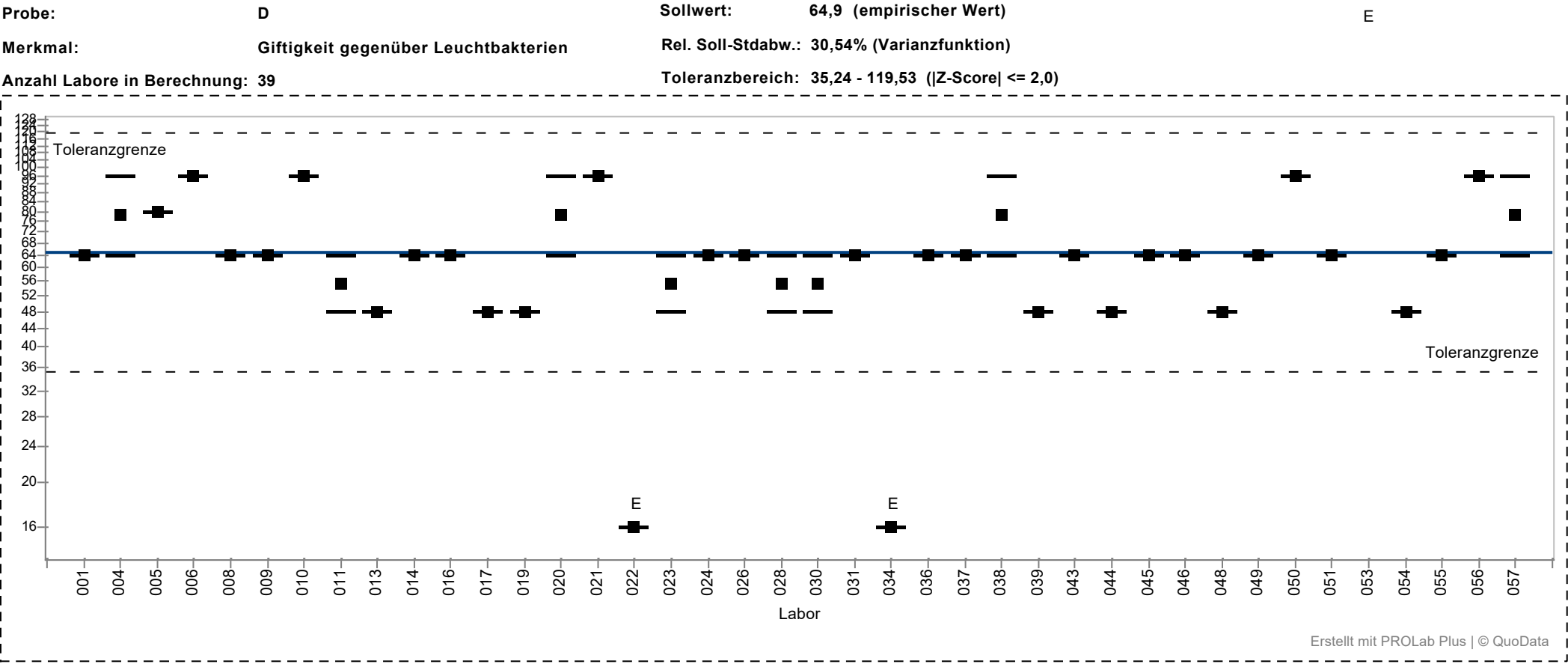
Einzeldarstellung

Probe: C Sollwert: 30,95 (empirischer Wert)
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien Rel. Soll-Stdabw.: 30,54% (Varianzfunktion)
Anzahl Labore in Berechnung: 41 Toleranzbereich: 16,8 - 57,01 (|Z-Score| <= 2,0)



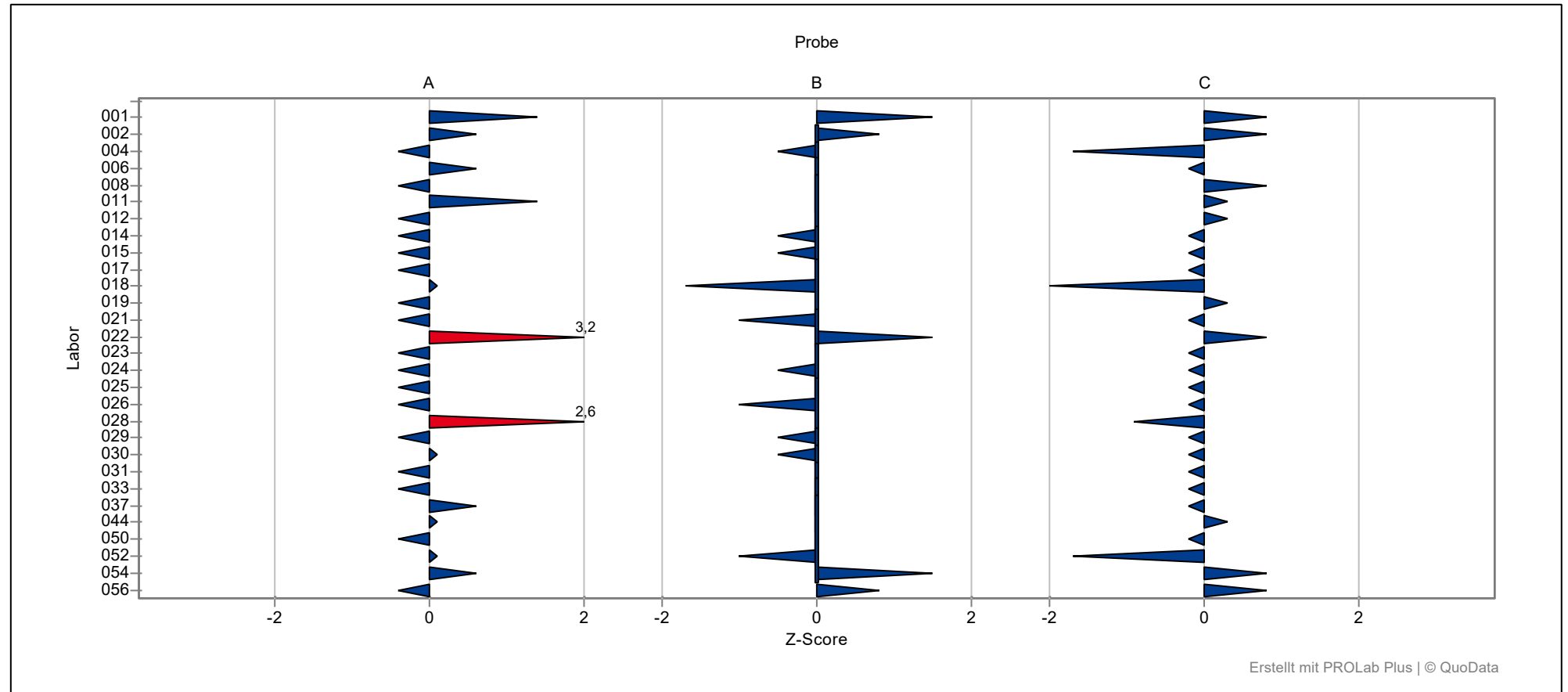
E

Einzeldarstellung



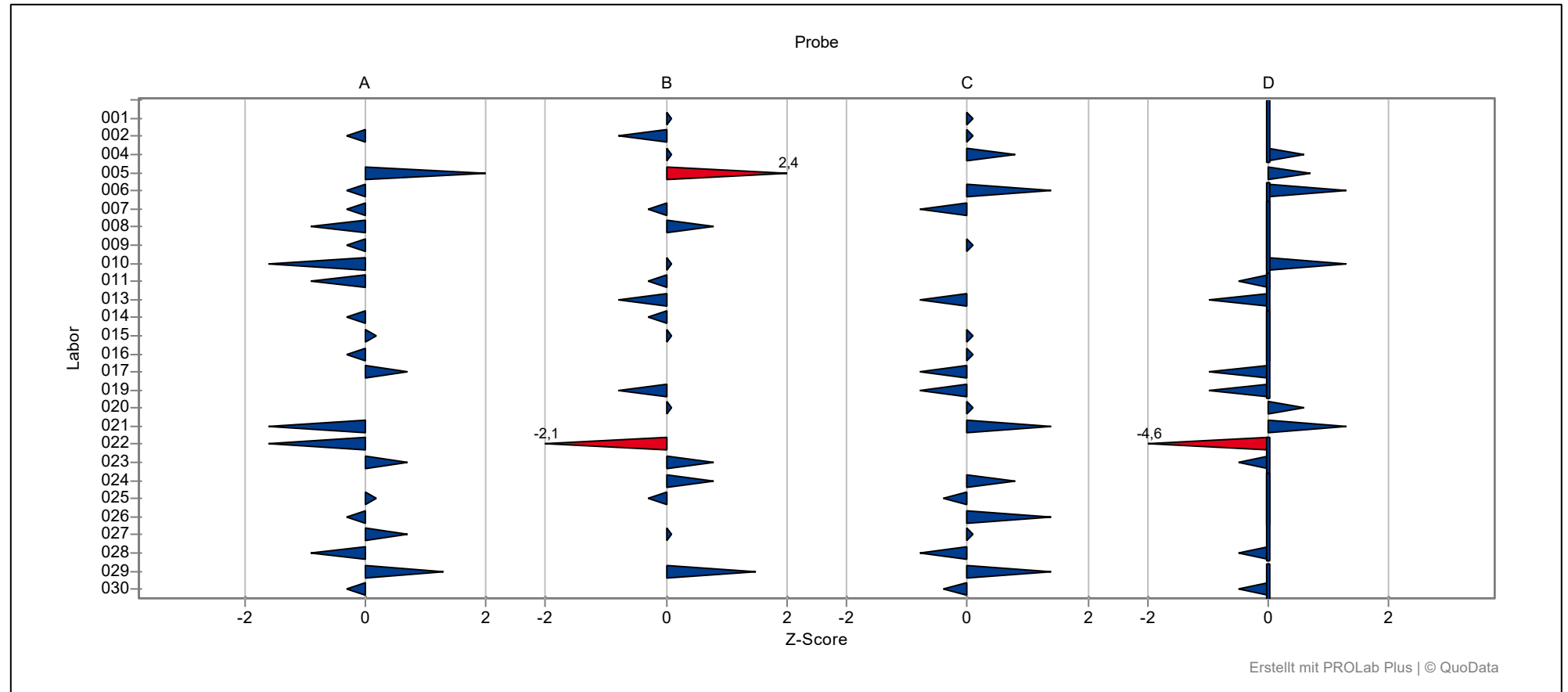
Übersicht Z-Scores

Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien



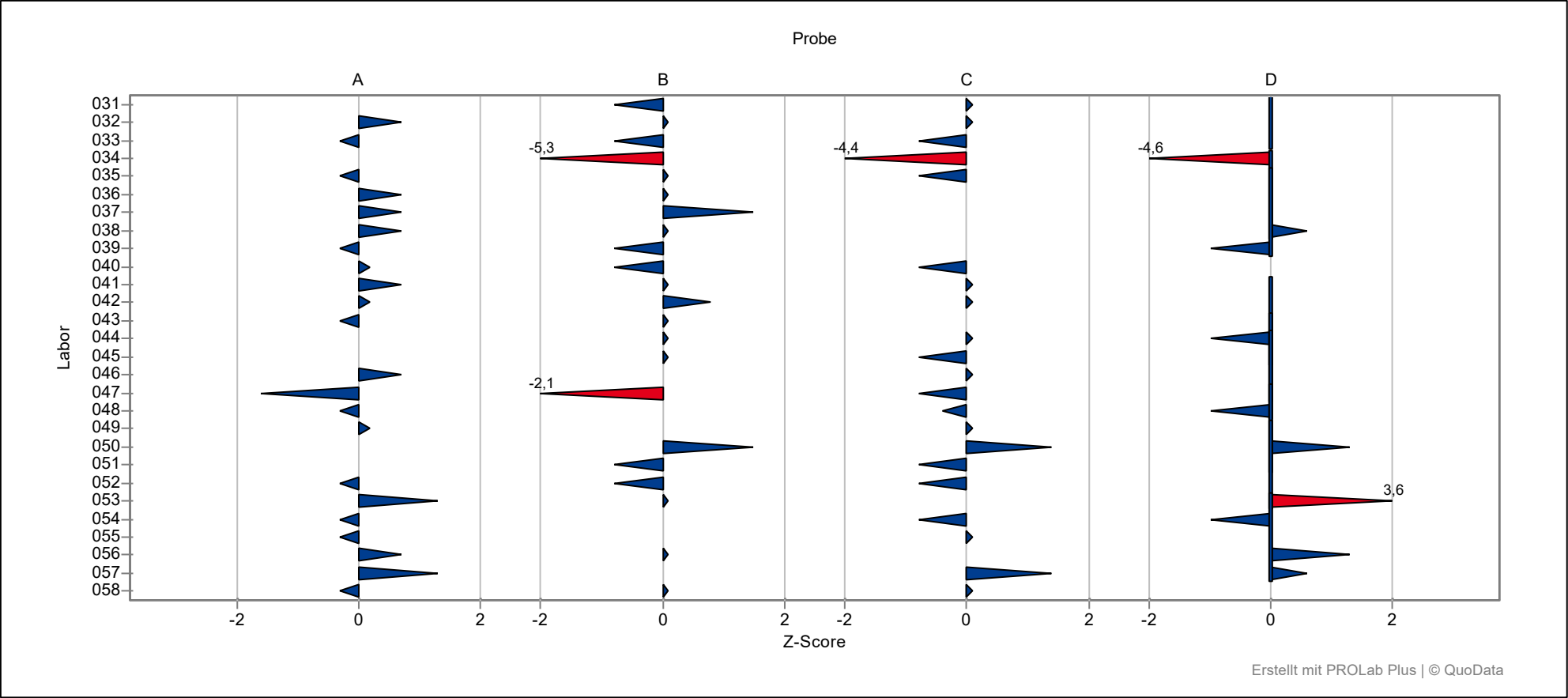
Übersicht Z-Scores

Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien



Übersicht Z-Scores

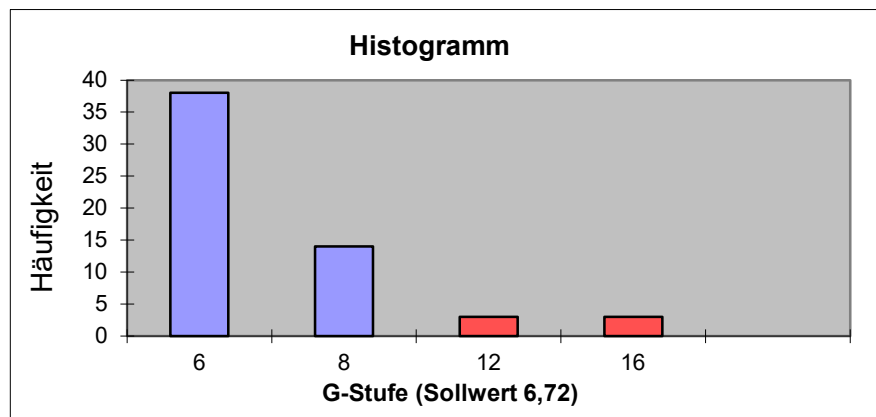
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien



Histogramme Daphnientest

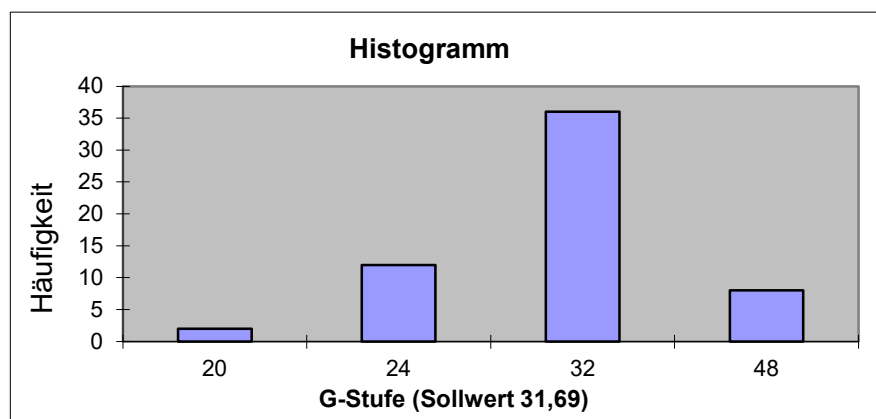
Probe A

Klasse	Häufigkeit
6	38
8	14
12	3
16	3



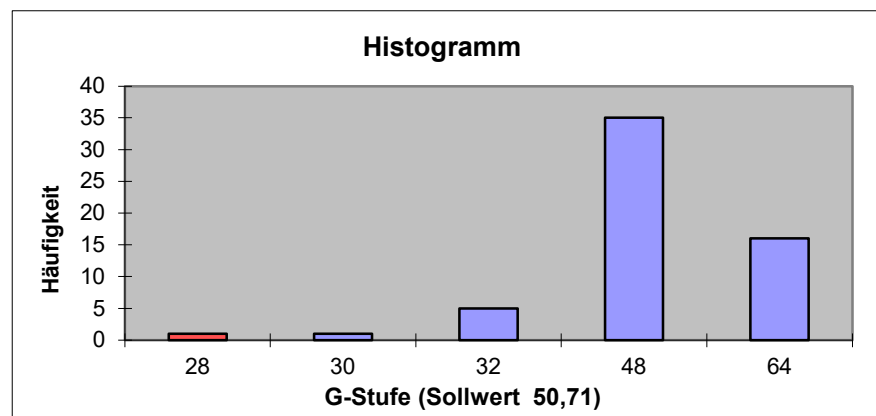
Probe B

Klasse	Häufigkeit
20	2
24	12
32	36
48	8



Probe C

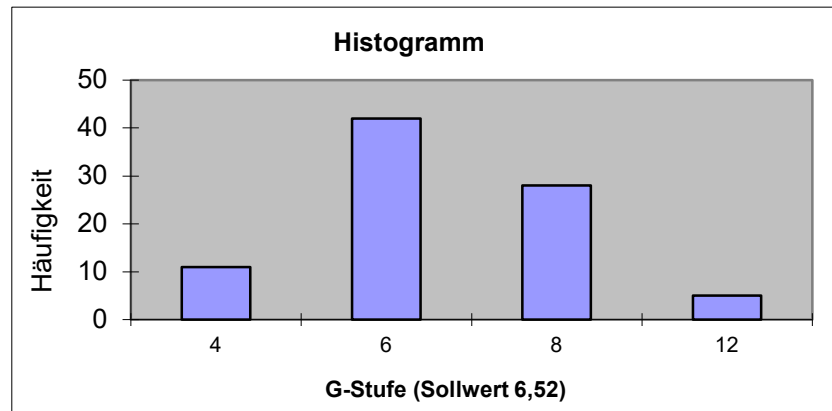
Klasse	Häufigkeit
28	1
30	1
32	5
48	35
64	16



Histogramme Leuchtbakterientest

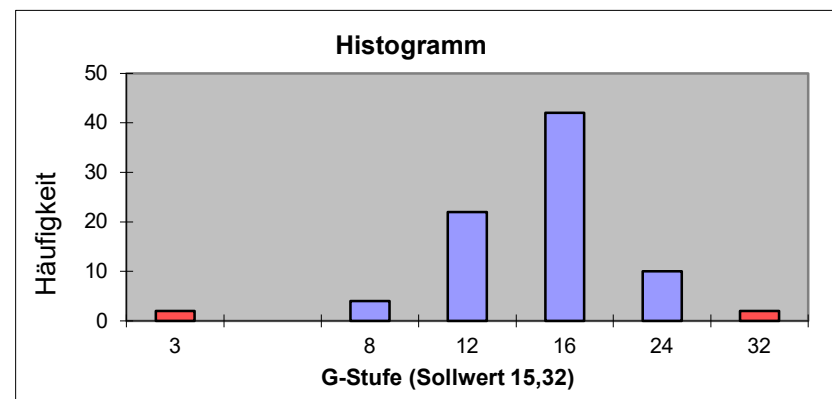
Probe A

G-Stufe	Häufigkeit
4	11
6	42
8	28
12	5



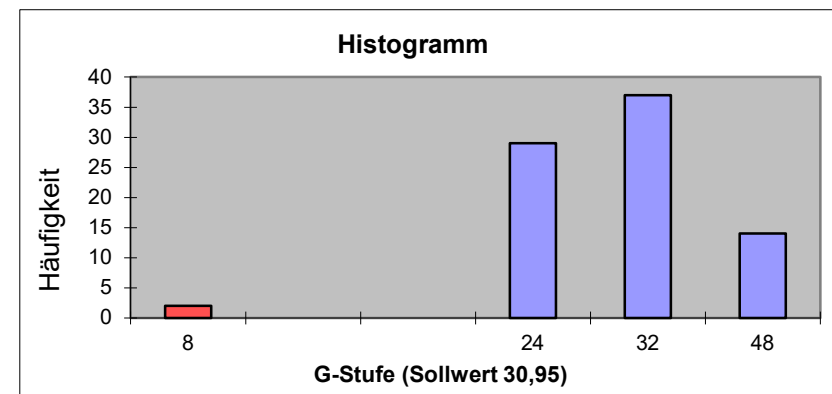
Probe B

G-Stufe	Häufigkeit
3	2
8	4
12	22
16	42
24	10
32	2



Probe C

G-Stufe	Häufigkeit
8	2
24	29
32	37
48	14



Probe D

G-Stufe	Häufigkeit
16	4
48	18
64	40
80	2
96	14
192	2

