

Auswertung
Länderübergreifender Ringversuch B 7 „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 Teilbereich 9. [2]

Methodik

Bei der Untersuchung waren folgende Verfahren zugelassen (Basis FM Wasser, LAWA Merkblatt A 11 bzw. aktualisierte Fassungen der genannten Verfahren):

Tabelle 1: zugelassene Verfahren

Leuchtbakterien Hemmtest	DIN 38412 L 34: 1997-07 in Verbindung mit DIN 38412-L 341: 1993-10 DIN EN ISO 11348-1: 1999-04 (L 34-1) DIN EN ISO 11348-2: 1999-04 (L 34-2) 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.

Im Vergleich zum LÜR V B5 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 01.10.2014), 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 1 der DIN 38412-L 34: 1997-07 und DIN 38412-L 30 (G1, G2, G3, G4, G6, G8, G12, G16, G24, G32, G48, G64, G96, G128).
- Sollbereich für 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 aufgestockt.

Die Konzentrationsniveaus wurden so gewählt, dass der G-Wert für beide Toxizitätstests zwischen 8 und 64 lag. Alle Teilnehmer erhielten eine Probe des unteren Konzentrationsniveaus und von den drei oberen Konzentrationsniveaus je zwei zufällig ausgewählte Proben.

Auswertung

Im Unterschied zum LÜRV B5 konnten von den Teilnehmern zwei verschiedene Einzelwerte aus den Doppelbestimmungen abgegeben werden. In diesem Fall ergeben sich bei der Auswertung G-Stufen mit Nachkommastellen als Labormittelwert. Diese Verfahrensweise ist für die Labore besonders dann von Vorteil, wenn das Ergebnis zwischen zwei G-Stufen liegt. Auf den grafischen Darstellungen 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 im Gegensatz zum LÜRV B 5 auch eine Untergrenze für die relativen Vergleichsstandardabweichung festgelegt und die Konzentrationsniveaus so hoch gewählt, dass die Berechnung einer unteren Toleranzgrenze für alle Proben möglich ist.

Die Berechnung des robusten Mittelwertes und der Standardabweichung 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 (Hampel-Schätzer als Vorgabewert m_{soll} , mit Q-Methode berechnete Vergleichsstandardabweichungen s_R) wieder entlogarithmiert.

Sollwert m_{soll} : entlogarithmierter robuster Mittelwert (G-Stufe nicht ganzzahlig)

Sollstandardabweichung s_{soll} : entlogarithmierte Vergleichsstandardabweichungen s_R

z-Score berechnet nach:
$$z\text{-Score} = \frac{(Messwert - m_{soll})}{s_{soll}}$$

Toleranzgrenzen: 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

Bewertung:

Die Bewertung des Ringversuches wurde an die aktualisierte Ausgabe des Fachmoduls Wasser angepasst. Für eine erfolgreiche Notifizierung eines Teilbereiches muss die Kompetenz für mindestens 2/3 der aufgeführten Parameter des jeweiligen Teilbereiches nachgewiesen werden. [2]

Deshalb erfolgt keine Gesamtbewertung des Ringversuches, sondern eine Einzelbewertung der Parameter. 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.

Folgende Ergebnisse wurden als falsch bewertet:

- Werte mit $z > |2|$,
- Werte, bei denen die Rahmenbedingungen nicht eingehalten worden sind (Verdünnungsstufen, Verwendung gefriergetrockneter Bakterien).

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

Für alle Werte wurden die z-Scores auf Grundlage des berechneten Sollwertes und der Soll-Standardabweichung ermittelt. Mit Hilfe der Einzeldarstellungen aller z-Scores in der Anlage zum Zertifikat kann der Leistungsumfang für die analysierten Parameter unabhängig von der Einhaltung der LÜRV-Rahmenbedingungen nachgewiesen werden.

Die aus dem Ringversuch berechneten relativen Vergleichsstandardabweichungen liegen für die Biotests zwischen 17 und 39 %. Die berechneten Vergleichsstandardabweichungen lagen dreimal innerhalb der festgelegten Ober- und Untergrenzen und wurden zur Ermittlung der Toleranzgrenzen verwendet. In einem Fall war die berechnete Vergleichsstandardabweichung größer als die festgelegte Obergrenze, d. h. die Vergleichsstandardabweichung wurde limitiert und der Toleranzbereich wurde kleiner. In diesem Ringversuch war die berechnete Vergleichsstandardabweichung viermal unterhalb der festgelegten Untergrenze und wurde angehoben, um den Toleranzbereich über drei Verdünnungsstufen zu haben.

In der Anlage Parameterangaben werden diese Daten zusammengefasst dargestellt:

- die festgelegten Ober- und Untergrenzen der Vergleichsstandardabweichung (RSTMax, RSTMin)
- die berechnete Vergleichsstandardabweichung (rel. STD)
- die zur Auswertung verwendete Vergleichsstandardabweichung (Rel. Soll-STD).

Der Einsatz gefriergetrockneter Bakterien führte unter den Bedingungen dieses Ringversuchs zu Ergebnissen innerhalb der Toleranzgrenzen.

Beim Daphnientest waren 100 % der Teilnehmer und beim Leuchtbakterientest 95% der Teilnehmer erfolgreich. Das zeigt, dass bei exakten Vorgaben zur Analytik und Verwendung unkomplizierter Matrices die Verfahren von den Laboren beherrscht werden. Basierend auf den Erfahrungen des LÜRV B5 wurde die Auswertung mit Unterstützung der Firma quodata optimiert, so dass der Ringversuch insgesamt erfolgreich verlaufen ist.



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 23.03.2012) Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA)

Parameterangaben

Probe	Parameter	Einheit	Sollwert	Toleranz unten	Toleranz oben	RSTDMIN [%]	RSTDMAX [%]	rel. STD [%]	Rel. Soll-STD [%]
A	Giftigkeit gegenüber Daphnien		8,39	4,73	14,89	27,45	34,66	28,69	28,69
A	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		9,05	4,52	18,10	27,45	34,66	39,28	34,66
B	Giftigkeit gegenüber Daphnien		15,45	8,92	26,74	27,45	34,66	24,12	27,45
B	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		13,76	7,88	24,02	27,45	34,66	27,86	27,86
C	Giftigkeit gegenüber Daphnien		25,21	14,56	43,66	27,45	34,66	16,63	27,45
C	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		40,13	21,05	76,50	27,45	34,66	32,26	32,26
D	Giftigkeit gegenüber Daphnien		32,11	18,55	55,60	27,45	34,66	20,26	27,45
D	Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien		60,33	34,84	104,46	27,45	34,66	19,23	27,45

Zusammenfassung Labormittelwerte

(gültige Werte entsprechend Rahmenbedingungen)

	Probe A	Probe B	Probe C	Probe D
002	8		24	32
003	6,928	16	24	
004	8		24	32
005	8	13,856		32
007	8	16	24	
008	12	24		48
009	8		24	32
010	6	12		32
013	6		24	32
014	12	16	32	
015	8		24	32
017	8	13,856	16	
019	6,928		24	24
021	8		27,713	32
022	8	16	24	
023	8	12		32
024	12	19,596		64 E
025	12		24	32
026	12	24		32
028	8		24	
031	8	16		27,713
032	9,798	16	24	
033	8		24	32
035	8	16	24	
038	8		27,713	32
042	12		32	32
044	9,798		24	32
045	9,798		24	32
047	8	13,856		32
049	6	16	32	
050	6,928	12		32
052	12	19,596	24	
054	9,798	16		39,192
055	8	16	24	
056	8		24	32
057	6		24	24
061	6		32	64 E
063	6,928	13,856		32
067	12	12	27,713	
069	6,928	13,856		27,713
-	--	--	--	--
Bewertung	Z <=2,0	Z <=2,0	Z <=2,0	Z <=2,0
Anzahl der Labore, deren Ergebnisse zur statistischen Berechnung genutzt wurden	40	23	28	28
Sollwert	8,389	15,445	25,214	32,112
Rel.Soll-Stdabw.	28,69 %	27,45 %	27,45 %	27,45 %
unt. Toleranzgr.	4,726	8,92	14,562	18,546
ob. Toleranzgr.	14,889	26,744	43,659	55,603

Erläuterung der Ausreißertypen

E: Score außerhalb Tol.-Bereich

Zusammenfassung Labormittelwerte

(gültige Werte entsprechend Rahmenbedingungen)

	Probe A	Probe B	Probe C	Probe D
001	8		32	
002	8	16		64
003	12	16	48	
004	9,798		48	64
005	8	12		48
006	8	12		48
007	12	16	48	
008	8	16		64
009	12	16	48	
010	8	12		55,426
012	12	16		64
013	8		48	64
014	12	24	48	
015	8		48	48
016	6		24	32 E
017	12	16	48	
018	12		48	64
019	6,928	16	32	
020	9,798	12		55,426
021	8	12		55,426
022	12	16		64
023	3,464 E	8	24	
024	8	12		64
025	8		48	64
026	8	16		64
027	12	16	48	
028	8		48	64
029	8	13,856	32	
030	12	16	48	
031	12		48	64
032	8		32	64
033	12		48	64
035	6	8	32	
036	12	16		64
037	8	12		64
038	9,798	16		64
039	8	12		96
040	12	16	48	
041	8	12	48	
042	8	12	32	
044	8	12		64
045	9,798		39,192	64
046	8		48	64
047	12	16	48	
048	12		32	
049	8		32	48
050	9,798		39,192	64
051	8		48	64
052	12	13,856	48	
053	12		48	64
054	27,713 E	24	78,384 E	
055	9,798	12		55,426
056	8		32	48

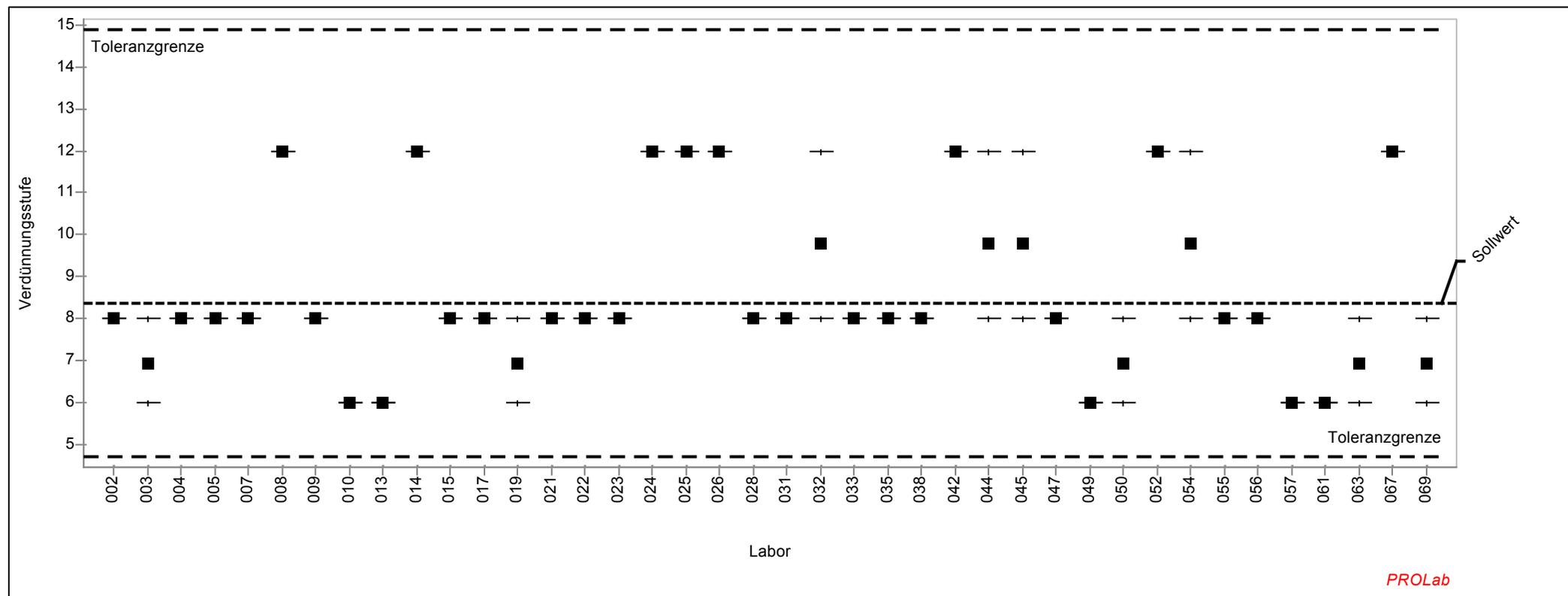
	Probe A	Probe B	Probe C	Probe D
058	4 E	8	16 E	
059	8	16		64
060	8	16		64
062	8	16	32	
063	12		48	64
064	12		32	64
065	4,899		19,596 E	39,192
066	4,899	6,928 E	24	
067	9,798	12		64
068	12		48	64
069	4,899	6,928 E		24 E
070	12	16	48	
-	--	--	--	--
Bewertung	$ Z \leq 2,0$			
Anzahl der Labore, deren Ergebnisse zur statistischen Berechnung genutzt wurden	65	42	44	42
Sollwert	9,048	13,759	40,134	60,328
Rel. Soll-Stdabw.	34,66 %	27,86 %	32,26 %	27,45 %
unt. Toleranzgr.	4,524	7,882	21,055	34,841
ob. Toleranzgr.	18,097	24,018	76,504	104,46

Erläuterung der Ausreißertypen

E: Score außerhalb Tol.-Bereich

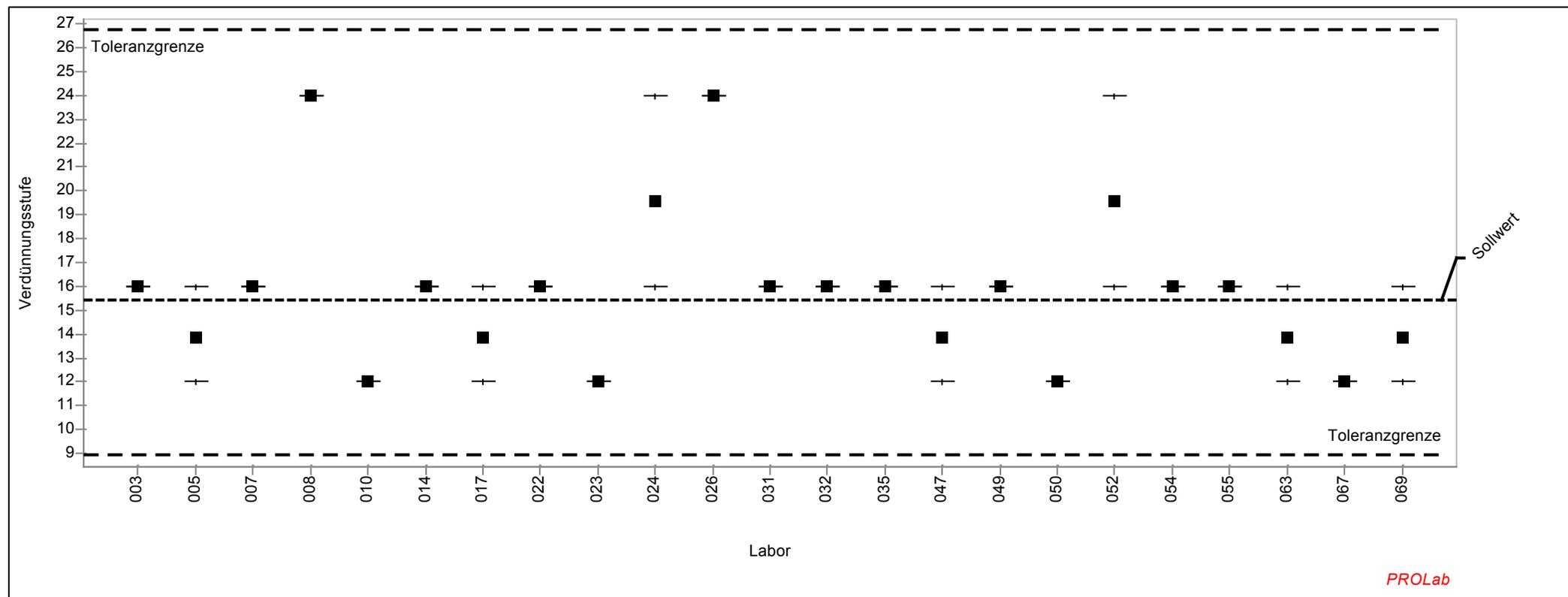
Einzeldarstellung

Probe: Probe A **Sollwert:** 8,389
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien **Rel. Soll-Stdabw.:** 28,69%
Anzahl Labore: 40 **Toleranzbereich:** 4,726 - 14,889 ($|Z\text{-Score}| \leq 2,0$)



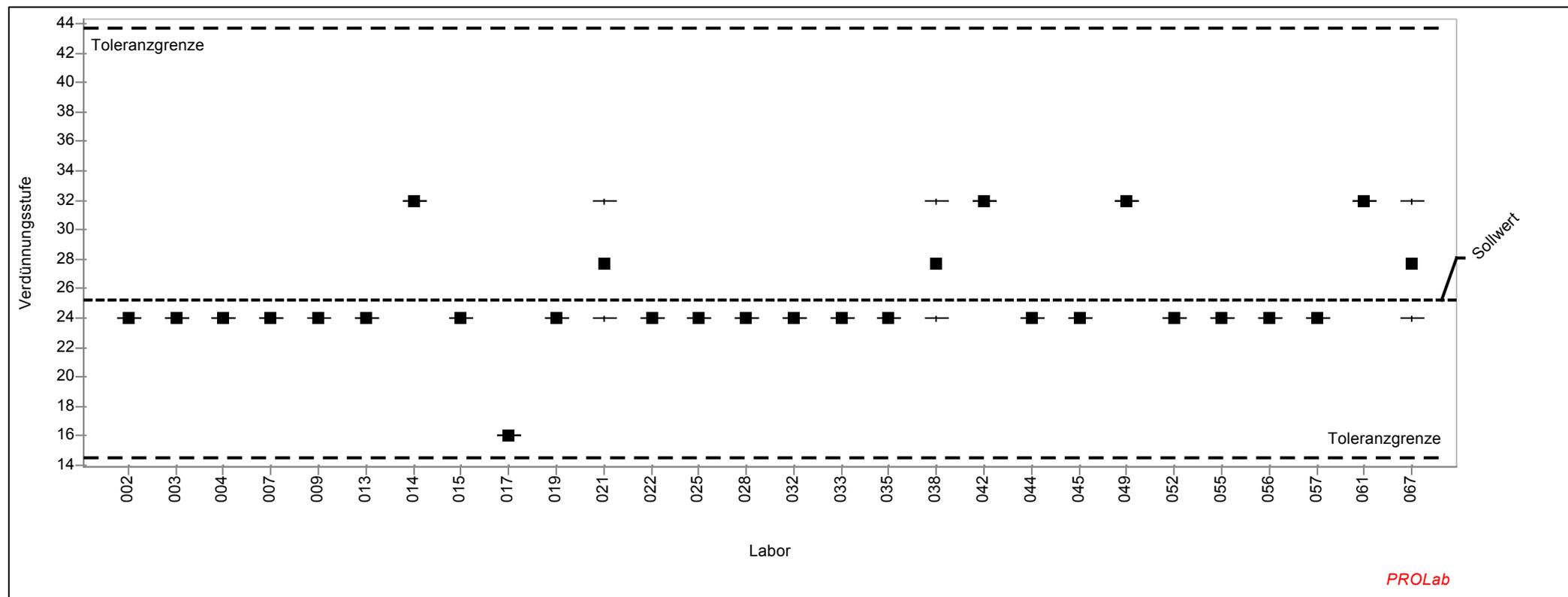
Einzeldarstellung

Probe: Probe B **Sollwert:** 15,445
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,45%
Anzahl Labore: 23 **Toleranzbereich:** 8,92 - 26,744 ($|Z\text{-Score}| \leq 2,0$)



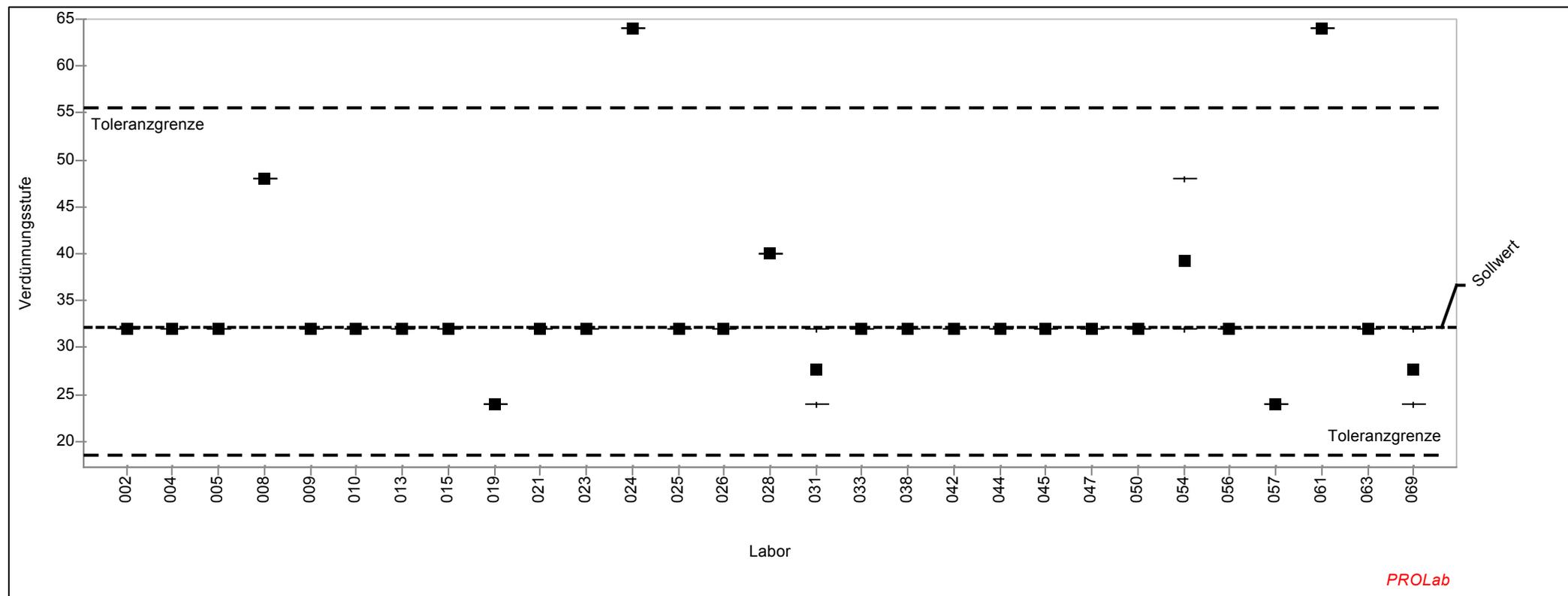
Einzeldarstellung

Probe: Probe C **Sollwert:** 25,214
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,45%
Anzahl Labore: 28 **Toleranzbereich:** 14,562 - 43,659 (|Z-Score| <= 2,0)



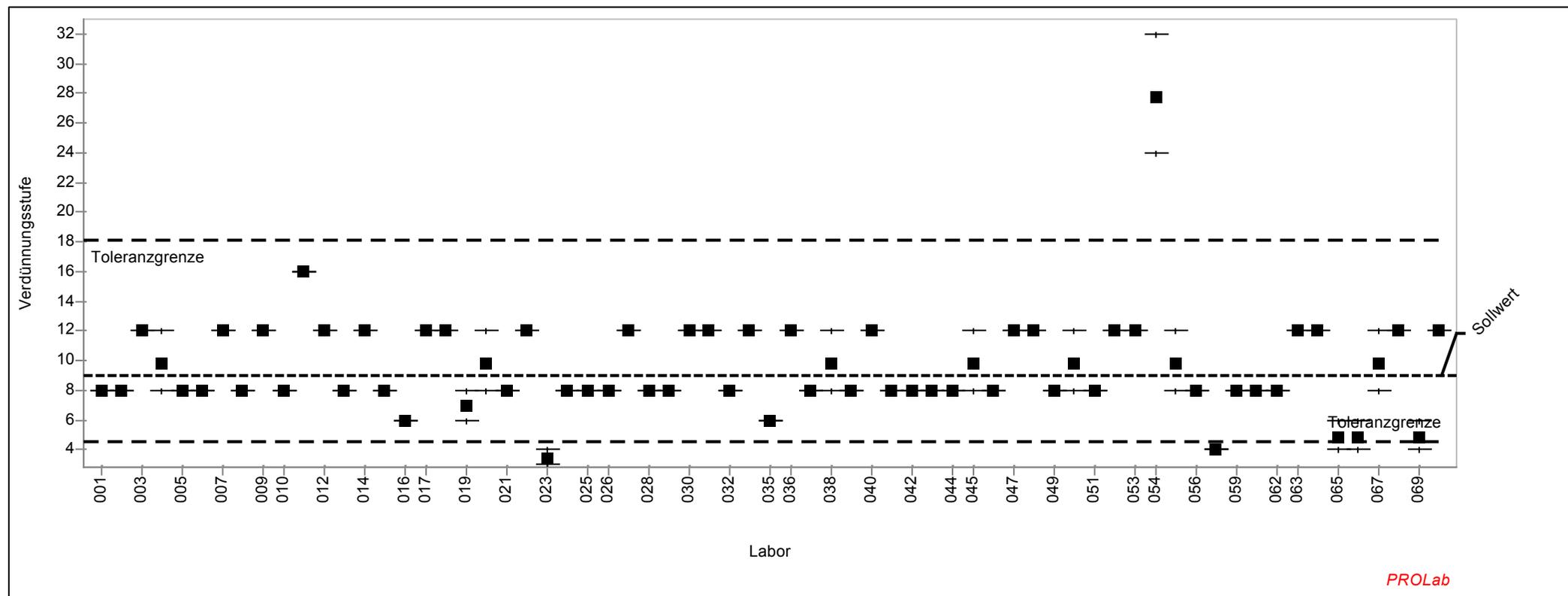
Einzeldarstellung

Probe: Probe D **Sollwert:** 32,112
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,45%
Anzahl Labore: 29 **Toleranzbereich:** 18,546 - 55,603 (|Z-Score| <= 2,0)



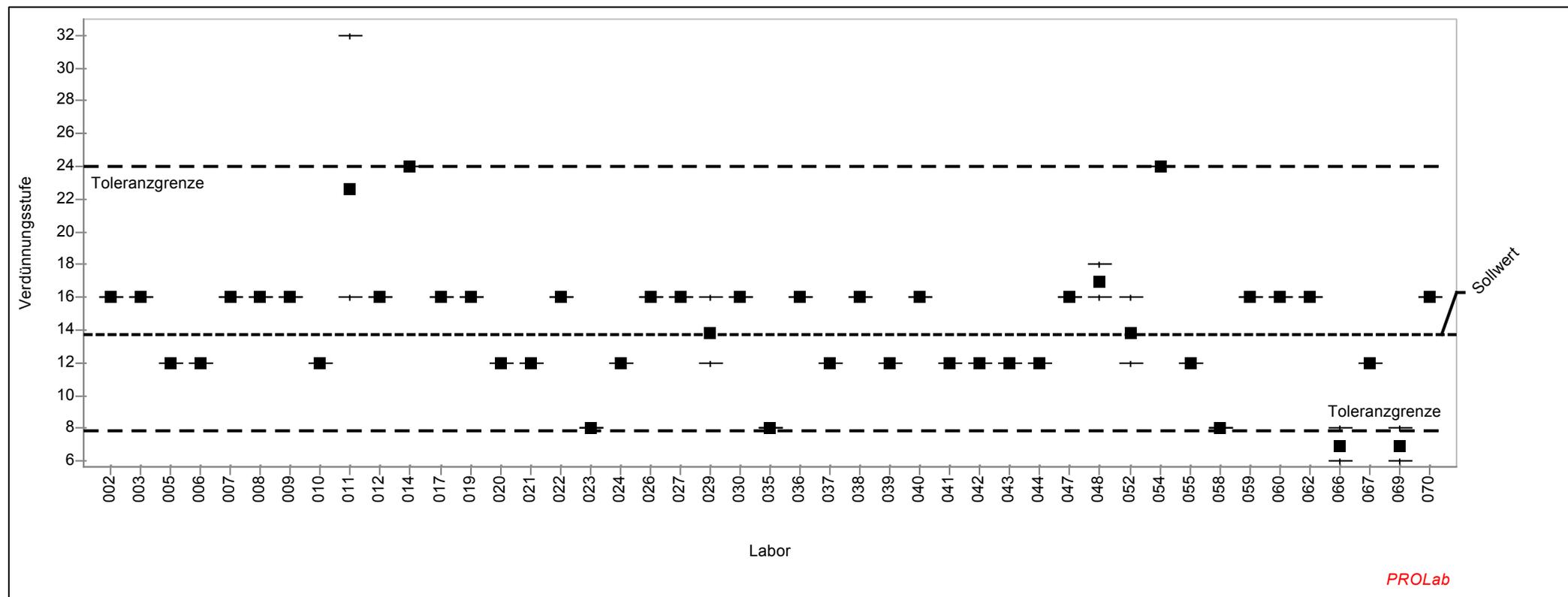
Einzeldarstellung

Probe: Probe A **Sollwert:** 9,048
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien **Rel. Soll-Stdabw.:** 34,66%
Anzahl Labore: 67 **Toleranzbereich:** 4,524 - 18,097 ($|Z\text{-Score}| \leq 2,0$)



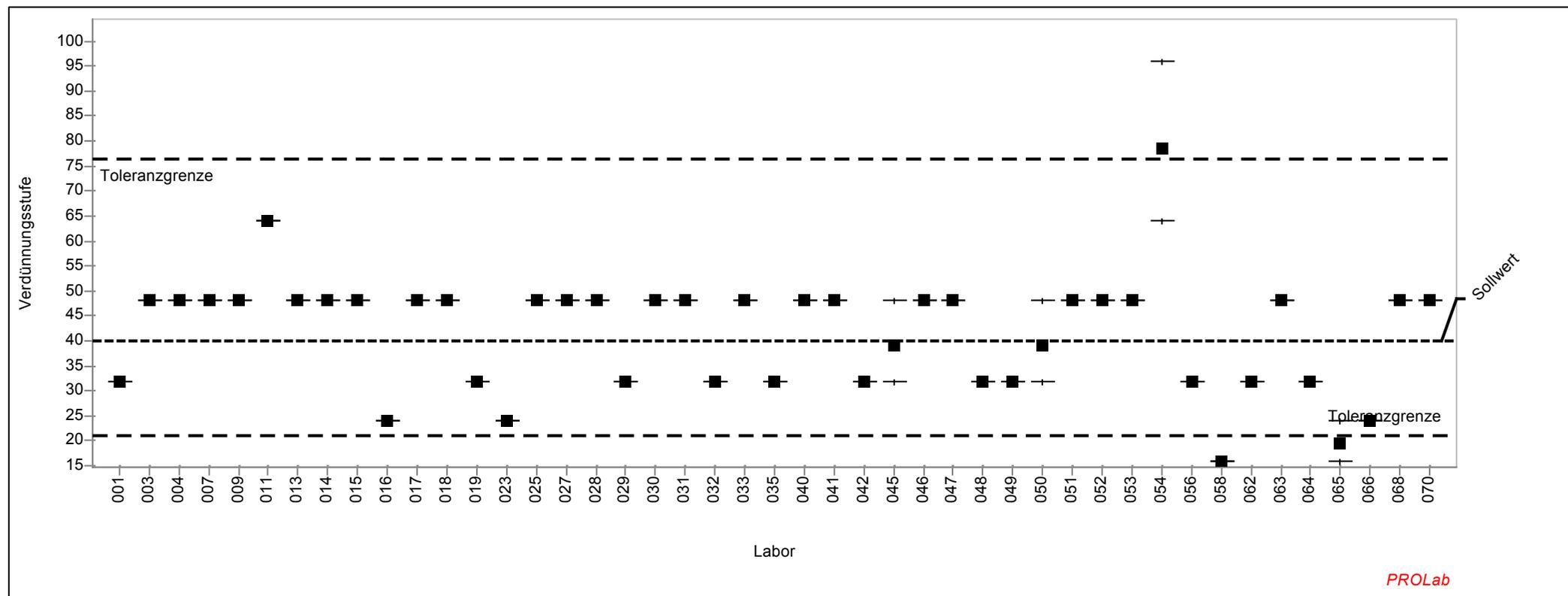
Einzeldarstellung

Probe: Probe B **Sollwert:** 13,759
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,86%
Anzahl Labore: 45 **Toleranzbereich:** 7,882 - 24,018 ($|Z\text{-Score}| \leq 2,0$)



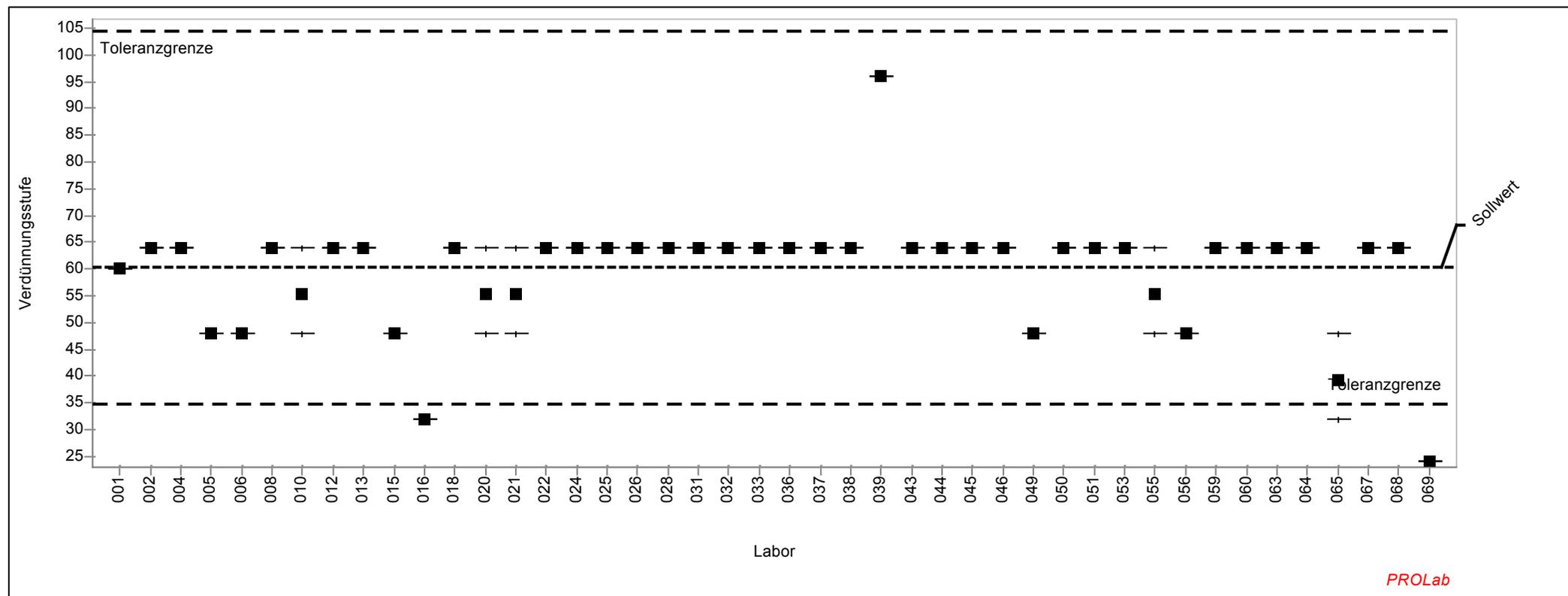
Einzeldarstellung

Probe: Probe C **Sollwert:** 40,134
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien **Rel. Soll-Stdabw.:** 32,26%
Anzahl Labore: 45 **Toleranzbereich:** 21,055 - 76,504 (|Z-Score| <= 2,0)



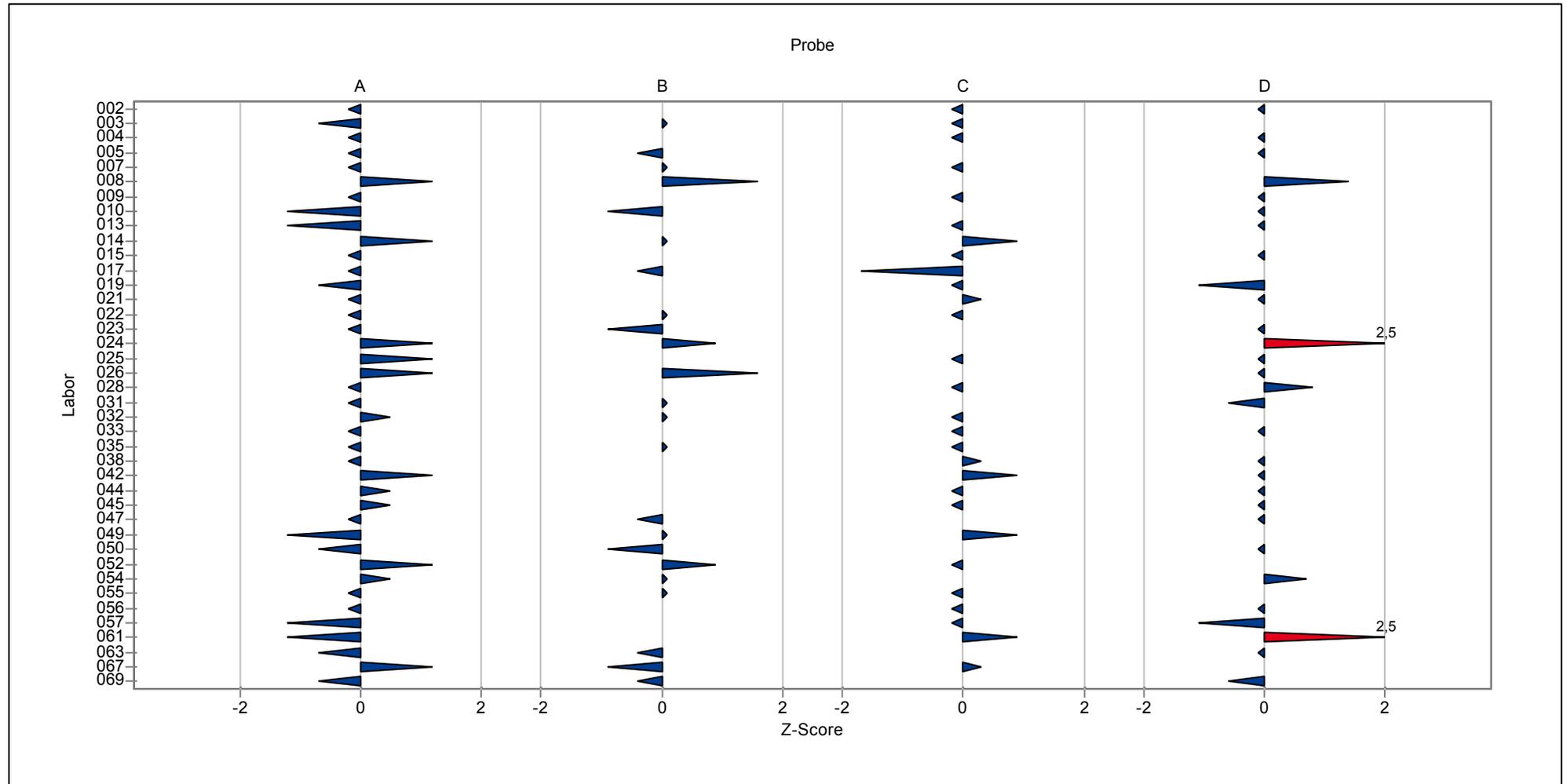
Einzeldarstellung

Probe: Probe D **Sollwert:** 60,328
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien **Rel. Soll-Stdabw.:** 27,45%
Anzahl Labore: 44 **Toleranzbereich:** 34,841 - 104,46 (|Z-Score| <= 2,0)



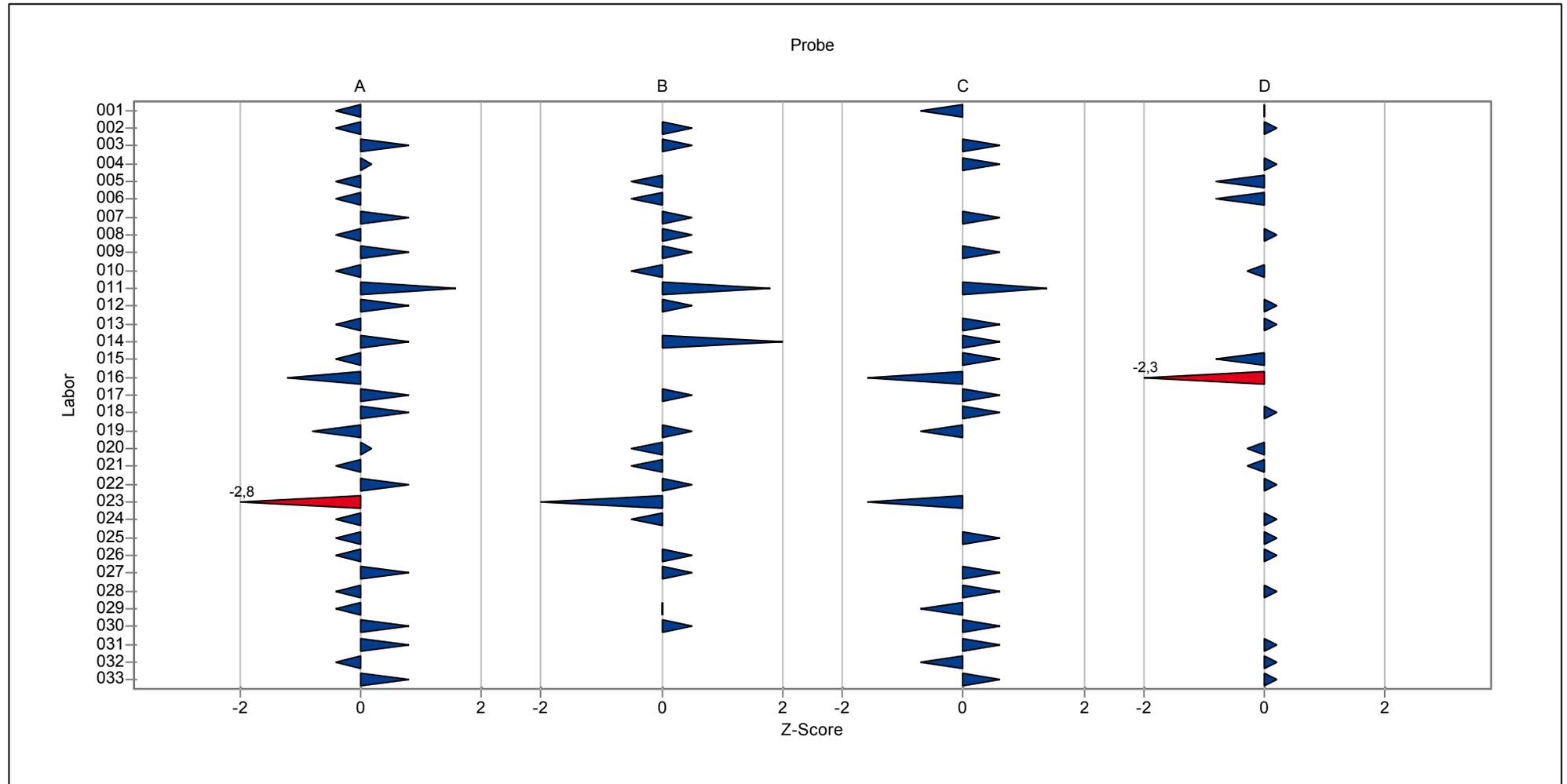
Übersicht Z-Scores

Merkmal: Giftigkeit gegenüber Daphnien



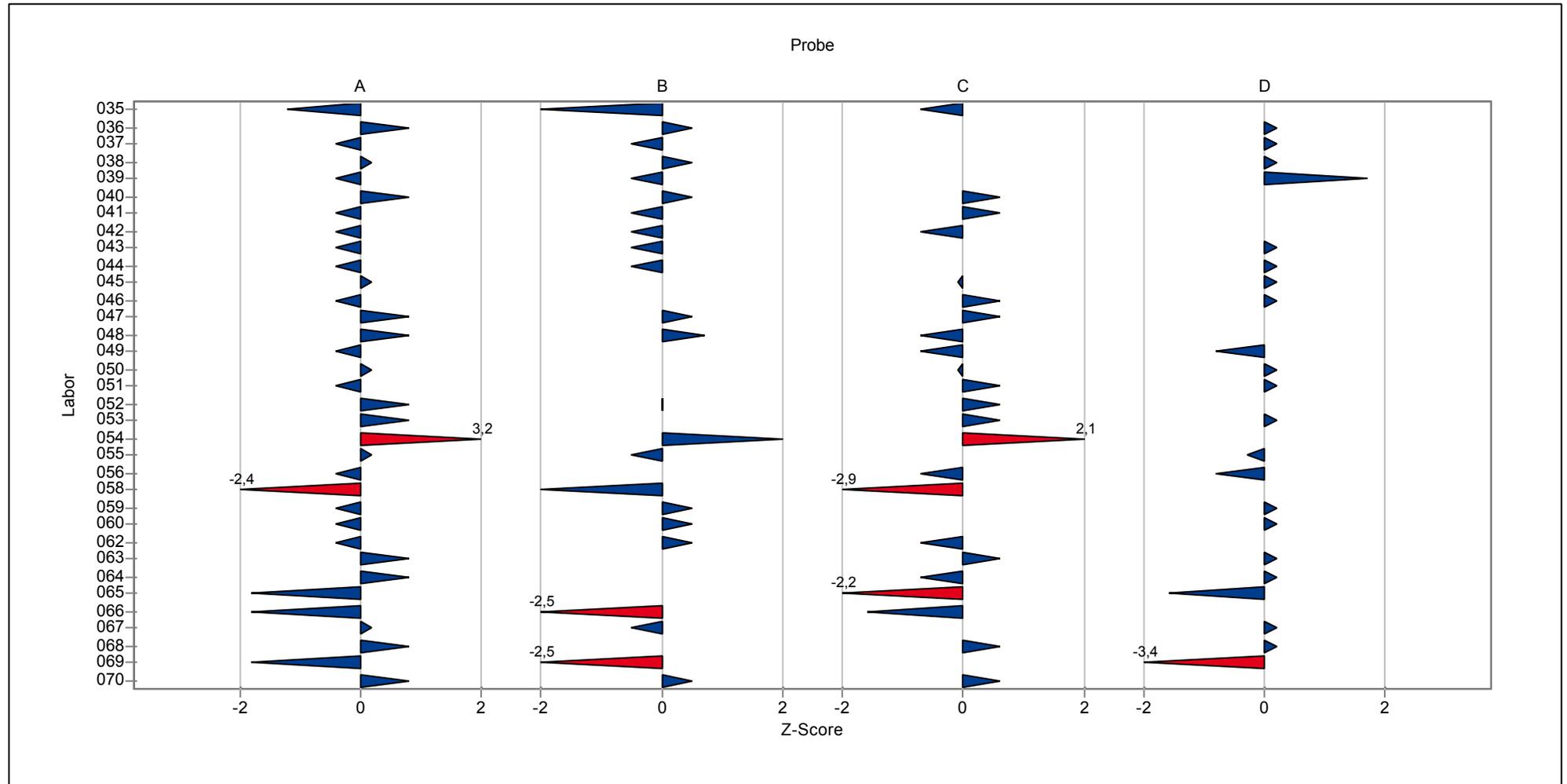
Übersicht Z-Scores

Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien



Übersicht Z-Scores

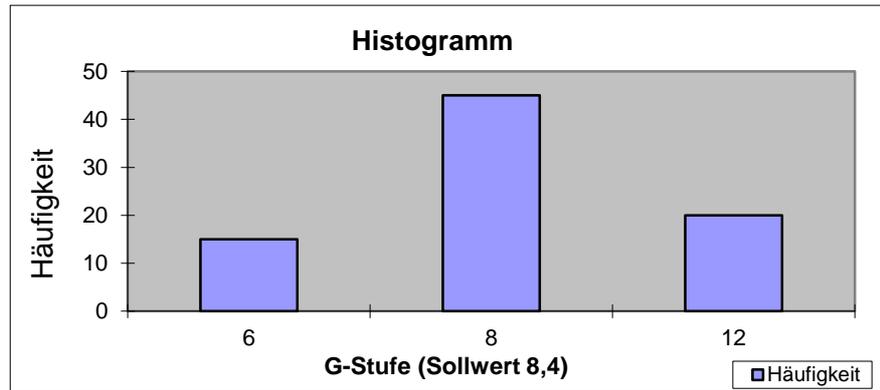
Merkmal: Giftigkeit gegenüber Leuchtbakterien



Histogramme Daphnientest

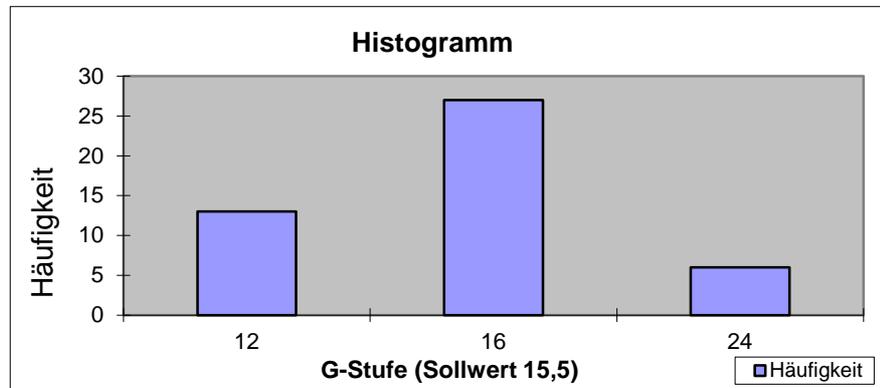
Probe A

Klasse	Häufigkeit
6	15
8	45
12	20



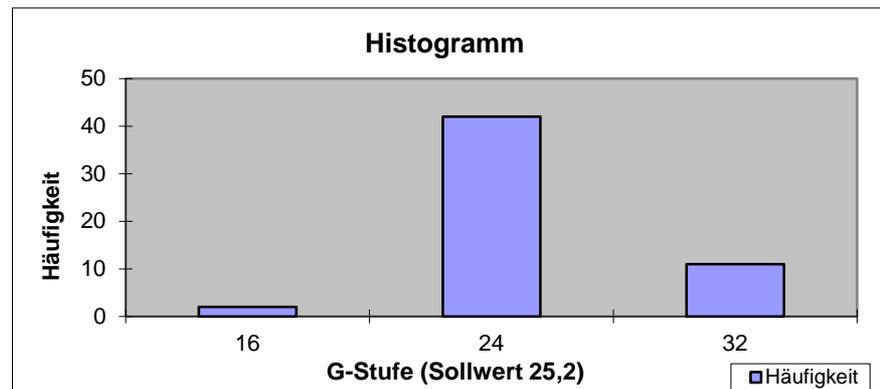
Probe B

Klasse	Häufigkeit
12	13
16	27
24	6



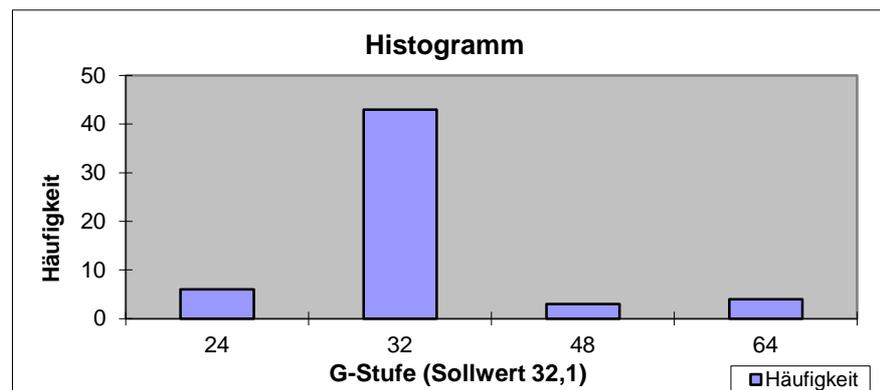
Probe C

Klasse	Häufigkeit
16	2
24	42
32	11



Probe D

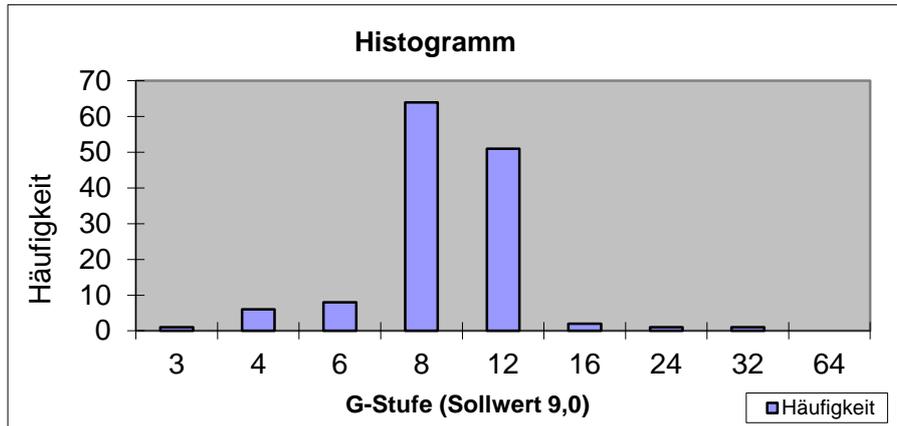
Klasse	Häufigkeit
24	6
32	43
48	3
64	4



Histogramme Leuchtbakterientest

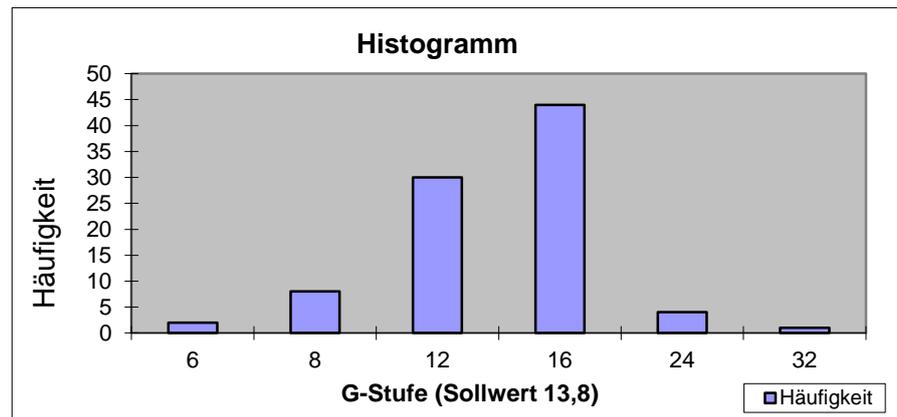
Probe A

G-Stufe	Häufigkeit
3	1
4	6
6	8
8	64
12	51
16	2
24	1
32	1
64	0



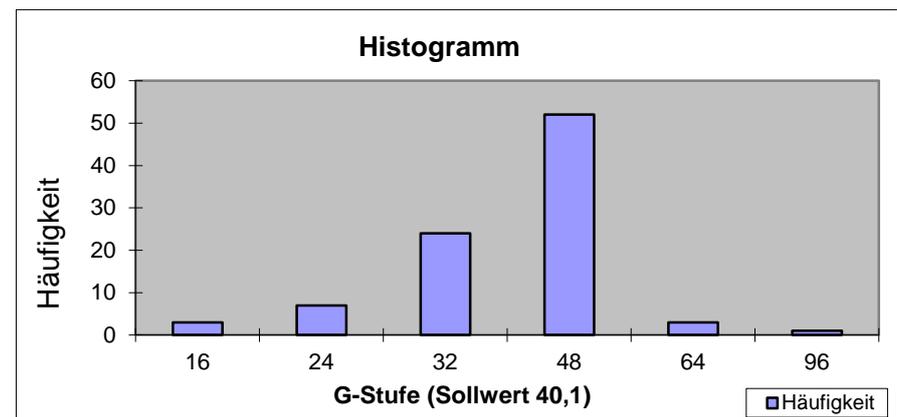
Probe B

G-Stufe	Häufigkeit
6	2
8	8
12	30
16	44
24	4
32	1



Probe C

G-Stufe	Häufigkeit
16	3
24	7
32	24
48	52
64	3
96	1



Probe D

G-Stufe	Häufigkeit
24	2
32	3
48	15
64	64
96	2

