

Ringversuch
zur Zertifizierung eines
Qualitätskontrollmaterials
DTN, DTP, DOC

organisiert von der

AG Qualitätssicherung des Bund/Länder-Meßprogramms Nord- und Ostsee

Herstellung/Stabilitätsprüfung/Versand:

Dipl.-Ing. Helmut Keune,

Dipl.-Ing. Jörg Wellnitz

Statistische Auswertung/Abschlußbericht:

Dr. Peter Voitke

Umweltbundesamt

FG II 2.5/Labor für Wasseranalytik

PF 33 00 22

14191 Berlin

Inhaltsverzeichnis

1.	EINLEITUNG	3
2.	PROBENMATERIAL	3
2.1.	Auswahl und Präparation	3
2.2.	Homogenität	4
2.3.	Stabilität.....	4
3.	RINGVERSUCH ZUR ZERTIFIZIERUNG.....	6
3.1.	Ablauf und Teilnehmer	6
3.2.	Analysenverfahren.....	6
3.4.	Auswertung und Zertifizierung.....	6

ANHÄNGE

- Anhang 1: Liste der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge
- Anhang 2: Formularmaske des Ergebnisprotokolls
- Anhang 3: Zusammenstellung der verwendeten Analysenverfahren
- Anhang 4: Meßwerte der einzelnen Laboratorien zur Zertifizierung der Qualitätskontrollstandards DTN, DTP und DOC
- Anhang 5: Grafiken aller Meßwerte zur Zertifizierung der Qualitätskontrollstandards DTN, DTP und DOC

1. EINLEITUNG

Zu den Parametern, die im Rahmen des Eutrophierungs-Monitorings im Bund/Länder-Meßprogramm Nord- und Ostsee (BLMP) von verschiedenen Laboratorien bestimmt werden, gehören

- der gelöste Gesamtstickstoff („dissolved total nitrogen“ - DTN),
- der gelöste Gesamtphosphor („dissolved total phosphorus“ - DTP) und
- der gelöste organische Kohlenstoff („dissolved organic carbon“ - DOC).

Für die externe Qualitätssicherung der am BLMP beteiligten Laboratorien werden für diese Parameter internationale Laborvergleichsuntersuchungen vom QUASIMEME Laboratory Proficiency Testing Scheme, Aberdeen angeboten. Regelungen zur laborinternen Qualitätssicherung erfordern außerdem die Verwendung von Qualitätskontrollmaterialien, die möglichst extern zertifiziert sein sollten. Aus diesem Grund hat die AG Qualitätssicherung im BLMP beschlossen, jeweils für DTN, DTP und DOC ein solches Material herzustellen. Die Zertifizierung der Konzentration sollte in einem gemeinsamen Ringversuch mit den am BLMP beteiligten Laboratorien erfolgen. Dieser Bericht stellt die Ergebnisse dieses Ringversuchs zusammen.

2. PROBENMATERIAL

2.1. Auswahl und Präparation

Ein Qualitätskontrollmaterial für die Bestimmung von DTN, DTP und DOC, welches in allen am BLMP beteiligten Laboratorien genutzt werden kann, muß bestimmte Voraussetzungen erfüllen. Bedingungen, die für die Auswahl und Präparation dieser Materialien berücksichtigt werden müssen, sind beispielsweise:

- die unterschiedlichen Konzentrationsbereiche der Parameter, die von den einzelnen Laboratorien entsprechend ihrer Probenahme-Stationen im BLMP erfaßt werden müssen (im Küstenbereich sind die DTN-, DTP- und DOC-Gehalte höher als auf der Hohen See),
- die unterschiedliche Matrix der im BLMP zu untersuchenden Proben (insbesondere verschiedene Salzgehalte) oder
- die verschiedenen Methoden, die von den Laboratorien des BLMP zur Bestimmung von DTN, DTP und DOC eingesetzt werden (dies hat u.a. auch unterschiedliche Bestimmungsgrenzen zur Folge).

Unabhängig von der verwendeten Methode setzt die Bestimmung von DTN, DTP und DOC einen Aufschluß der Proben voraus, um organische Stickstoff- und Phosphorverbindungen in anorganische Spezies zu überführen. Daher sollte das herzustellende Qualitätskontrollmaterial auf organischen Verbindungen basieren. Um den Ringversuch zur Zertifizierung der DTN-, DTP- und DOC-Konzentration gleichzeitig für eine Einschätzung der Leistungsfähigkeit der beteiligten Laboratorien nutzen zu können, mußten die ausgewählten Verbindungen stöchiometrisch eindeutig zusammengesetzt sein, um eine Soll-Konzentration vorgeben zu können. Da den Laboratorien das interne Qualitätskontrollmaterial außerdem über einen längeren Zeitraum zur Verfügung stehen soll, müssen die hergestellten Lösungen ausreichend stabil sein.

Um eine Anpassung der Qualitätskontrollmaterialien an eine unterschiedliche Salzmatrix sowie an verschiedene Konzentrationsbereiche zu gewährleisten, erfolgte ihre Herstellung als Konzentrat in Reinstwasser. Dies hat außerdem den Vorteil, daß neben geringeren Stabilitätsproblemen eine bessere Erfassung der zu zertifizierenden Konzentration möglich sein sollte. Des weiteren erlauben

zertifizierte Konzentrate Aufstockversuche von Realproben zur internen Qualitätskontrolle. Tabelle 1 stellt die Ausgangsbedingungen und die festgelegten Soll-Konzentrationen (Referenzwerte) zusammen. Tabelle 2 enthält Angaben zur Herstellung der Qualitätskontrollmaterialien.

Tab. 1: Bedingungen für die Herstellung der Qualitätskontrollmaterialien DTN, DTP und DOC und festgelegte Konzentration

	Bestimmungsgrenze [mg/l]*	Konzentrationsbereich im BLMP [mg/l]**	Soll-Konzentration [mg/l]
DTN	0,01 - 0,2 N	005 - 9,8 N	10
DTP	0,003 - 0,3 P	0,006 - 1,6 P	3
DOC	0,5 C	1 - 11 C	500

* nach Angaben der verschiedenen am BLMP beteiligten Laboratorien

** zusammengestellt aus der Meeresumweltdatenbank (MUDAB)

Tab. 2: Herstellung der Qualitätskontrollmaterialien DTN, DTP und DOC

	ausgewählte organische Substanz	Einwaage [mg]*	Portionierung (PE-Flaschen)	Soll-Konzentration [mmol/l]**
DTN	Na ₂ EDTA · 2 H ₂ O	664,3	125 ml	0,7139
DTP	Glucose-6-PO ₄ (Na-Salz)	136,6	125 ml	0,09685
DOC	Kaliumhydrogenphthalat	5313	125 ml	41,63

* für ein Endvolumen von 5 l

** berechnet

Die in Tabelle 2 angegeben Mengen der Substanzen wurden in je einem 5 l-Maßkolben eingewogen und in Reinstwasser (Seralpur-Anlage Pro 90 C, Leitfähigkeit < 0,05 mS/cm) gelöst. Die Lösungen blieben zwei Tage bei Raumtemperatur stehen und wurden mehrfach gut durchmischt. Das Abfüllen der Lösungen erfolgte in PE-Rechteckflaschen. Vorversuche ergaben, daß die Flaschen nicht mit Stickstoff, Phosphor oder Kohlenstoff kontaminiert waren.

2.2. Homogenität

Da es sich bei den Qualitätskontrollmaterialien um echte Lösungen handelt, die in nur einer Charge hergestellt wurden, sind Untersuchungen zur Homogenität nicht erforderlich.

2.3. Stabilität

Lösungen, die verfügbare Nährstoffe für Algen und Bakterien enthalten, erfordern spezielle Maßnahmen zur Stabilisierung der vorgegeben Konzentration. Eine Auswertung entsprechender Erfahrungen ließ eine Tiefkühlkonservierung der hergestellten Materialien geeignet erscheinen. Daher wurden die portionierten Lösungen sofort nach dem Abfüllen eingefroren und bei -20°C gelagert. Zur Absicherung der erforderlichen Stabilität wurde jeweils eine Flasche (DTN-, DTP- bzw. DOC-Qualitätskontrollmaterial) ausgewählt und im Abstand von mehreren Wochen die Konzentration der Lösungen bestimmt. Die DOC-Bestimmung erfolgte mit einem TOC-Analysator (Shimadzu, TOC 5000), die DTN- bzw. DTP-Konzentrationen wurden nach Peroxodisulfat-Aufschluß als Nitrat bzw. o-Phosphat bestimmt. Die in Abbildung 1 dargestellten Ergebnisse der durchgeführten

Stabilitätsuntersuchungen belegen die Möglichkeit, die hergestellten DTN-, DTP- und DOC-Konzentrate bei -20°C über einen längeren Zeitraum zu lagern. Die Stabilitätsuntersuchungen werden fortgesetzt.

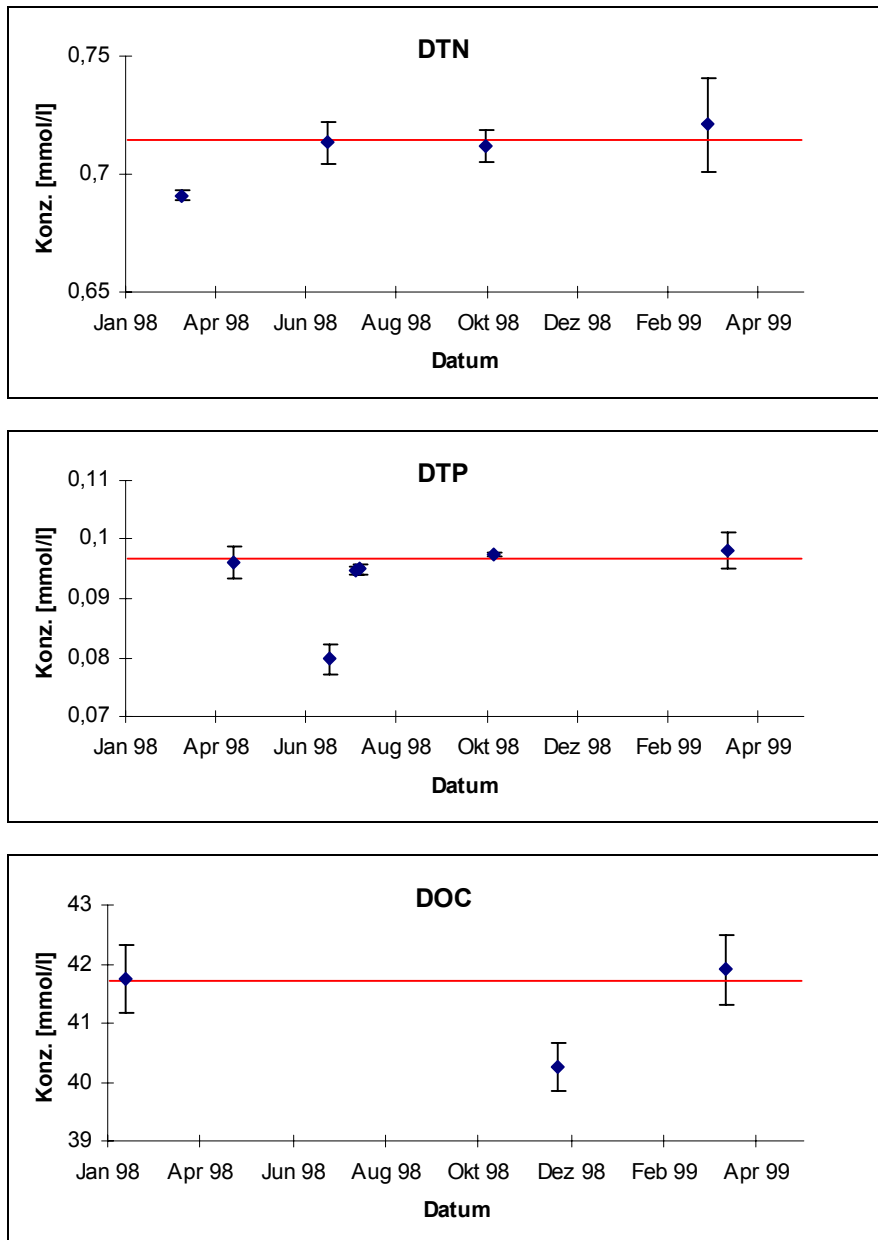


Abb. 1: Mittelwerte und Vertrauensintervalle ($P = 95\%$) der durchgeführten Stabilitätsuntersuchungen für die Qualitätskontrollmaterialien DTN, DTP und DOC, der jeweils letzte Wert stellt die Ergebnisse des Ringversuchs dar

3. RINGVERSUCH ZUR ZERTIFIZIERUNG

3.1. Ablauf und Teilnehmer

Vom Fachgebiet II 2.5 des Umweltbundesamtes wurden die DTN-, DTP- und DOC-Konzentrate hergestellt, den beteiligten Laboratorien zur Bestimmung dieser Parameter zugesandt und nach Übermittlung der Analysenergebnisse die Auswertung des Ringversuchs übernommen. In Tabelle 3 ist der Zeitplan des Ringversuchs dargestellt.

Tab. 3: Zeitplan des Zertifizierungs-Ringversuchs der DTN-, DTP- und DOC-Konzentrate

Datum	Aktion
Oktober 1997	AG Qualitätssicherung im BLMP beschließt Herstellung von Qualitätskontrollstandards für DTN, DTP und DOC
Januar 1998	Herstellung der DTN-, DTP- und DOC-Konzentrate im Umweltbundesamt
Feb. 1998 - März 1999	Stabilitätstests der Lösungen
21.01.1999	Verschickung der Proben an 15 Laboratorien
05.03.1999	Abgabetermin für die Analysenergebnisse
März/April 1999	Auswertung und Abschlußbericht

An 15 Laboratorien wurde jeweils eine Flasche der DTN-, DTP- und DOC-Konzentrate in tiefgefrorenem Zustand auf Trockeneis verschickt. Bis zum Abgabetermin (vgl. Tab. 3) wurden dem Umweltbundesamt die Analysenergebnisse von allen Laboratorien zugesandt. Eine Zusammenstellung der Labors, die an diesem Ringversuch teilgenommen haben, findet sich in Anhang 1.

3.2. Analysenverfahren

Zur Analyse der Qualitätskontrollstandards DTN, DTP und DOC konnte das jeweilige "Hausanalyseverfahren" des teilnehmenden Laboratoriums verwendet werden. Dabei mußten die Konzentrate vor der Bestimmung von DTN, DTP bzw. DOC verdünnt werden. Die Art und Weise der Verdünnung auf eine dem Arbeitsbereich der Methode angepaßte Konzentration (Stufe, Matrix) war ausdrücklich freigestellt. Es mußten Vierfachbestimmungen (vier unabhängige Verdünnungen) und Blindwertbestimmungen durchgeführt werden. Zusammen mit den Ergebnissen (auf Formblättern, Anhang 2) sollten Informationen über das verwendete Analysenverfahren (Art des Aufschlusses, Verdünnung) übermittelt werden. Eine Zusammenstellung des von den einzelnen Laboratorien angewandten Verdünnungsfaktors, der zur Verdünnung verwendeten Matrix und der eingesetzten Analysenmethoden findet sich im Anhang 3. Für die Auswertung des Ringversuchs wurden nur die aus den Verdünnungen berechneten Konzentrationen in den Konzentraten verwendet.

3.3. Auswertung und Zertifizierung

Die Auswertung des DTN/DTP/DOC-Ringversuchs erfolgte nach den Vorgaben der DIN ISO 5725 mit dem Programm PROLAB98 (Dr. Uhlig, quo data, Dresden) genutzt. Tabelle 4 stellt die einzelnen Schritte der Datenbearbeitung zusammen. Anhang 4 enthält alle Meßwerte der einzelnen Laboratorien, die in der Auswertung berücksichtigt wurden. Auf die in der o.g. Norm vorgesehene Bereinigung der Daten von Ausreißern wurde aus folgenden Gründen verzichtet:

- Ausreißer vom Typ A (einzelner laborinterner Ausreißer) existierten in nur einem Fall bei drei Labormeßwerten, von denen zwei identisch waren,

- Ausreißer vom Typ B (zu stark abweichender Labormittelwert) wurden wieder in den Datensatz eingefügt, wenn die Vergleichsstandardabweichung aller Labore kleiner als 5% (unrealistisch) oder kleiner als die Wiederholstandardabweichung wurde und
- Ausreißer vom Typ C (zu große laborinterne Standardabweichung) wurden im Datensatz belassen, da unterschiedliche Verdünnungen der Konzentrate sowie verschiedene Bestimmungsmethoden eingesetzt wurden, was zu Unterschieden in der laborinternen Streuung der Meßwerte führen kann.

Anhang 5 enthält die Grafiken mit den Ergebnissen der Laboratorien sowie die berechneten Werte des gemeinsamen Mittelwerts (aus allen Daten) und der relativen Wiederhol- und Vergleichspräzision.

Tab. 4: Datenbearbeitung vor Beginn der Auswertung

Aktion	Labor
Vergabe von Buchstaben-Kodes für alle Datensätze	A - R
Aufteilung der Datensätze bei den Laboratorien, die mehrere Methoden oder verschiedene Matrices zur Verdünnung der Konzentrate eingesetzt haben	siehe Anhang 3
manuelle Dateneingabe in eine EXCEL-Datei	
manuelle Rundung der Analysenergebnisse bzw. Neuberechnung aus den Verdünnungen auf drei signifikante Stellen, wie in den Datenformularen gefordert	B, C, L, Q, R
zweifacher Vergleich der EXCEL-Daten-Files mit den Originaldaten	
Export der Daten in das Programmpaket PROLAB98	

Entsprechend den "Guidelines for the Production and Certification of BCR Reference Materials" (1997) werden für eine Zertifizierung die Ergebnisse von mindestens 6 Laboratorien gefordert. An diesem Ringversuch haben 15 Laboratorien teilgenommen, von denen alle Ergebnisse berücksichtigt werden konnten. Die Ermittlung der zertifizierten Gehalte für das DTN-, DTP- und DOC-Konzentrat erfolgte entsprechend der o.g. Guidelines über:

- die Berechnung laborinterner Mittelwerte und Standardabweichungen,
- Test auf Normalverteilung der Labormittelwerte (Spannweiten-Test, $P = 95\%$),
- Berechnung des Mittelwertes und der Standardabweichung aus den Labormittelwerten und
- Berechnung des Vertrauensintervalls (zweiseitig, $P = 95\%$).

Anhang 6 enthält die zertifizierten Konzentrationen des DTN-, DTP- bzw. DOC-Qualitätskontrollmaterials sowie weitere Ergebnisse der Ringversuchsauswertung.

Eine Bewertung des durchgeführten Ringversuchs erlaubt folgende Schlußfolgerungen:

- Es gibt keinen signifikanten Unterschied ($\alpha = 0,05$) zwischen dem Gesamtmittelwert aller Laboratorien und der vorgegebenen Soll-Konzentration.
- Die erreichten Werte für die Vergleichspräzision zwischen 2% und 6% (Anhang 6) belegen eine hohe Leistungsfähigkeit der am Ringversuch beteiligten Laboratorien.
- Das enge Vertrauensintervall des Mittelwerts der DTN-, DTP- bzw. DOC-Konzentration erlaubt die Verwendung der Lösungen als extern zertifiziertes Qualitätskontrollmaterial.