Entwicklung eines Qualitätssicherungssystems für die Phytoplanktonanalyse

–

Entwicklung, messtechnische Validierung und Implementierung einer Referenzzählkammer

Diplomarbeit

eingereicht in der Fakultät Physikalische Technik/Informatik
der Westsächsischen Hochschule Zwickau

vorgelegt von
Diplom-Biologin Anika Mehlis
AFS 102704

Dezember 2013

Erster Gutachter: Prof. Dr.-Ing. Bernhard Gemende
Fakultät für Physikalische Technik/Informatik
Westsächsische Hochschule Zwickau

Zweiter Gutachter: Dipl.-Biol. Andreas Meybohm
Landestalsperrenverwaltung Sachsen

LANDESTALSPERREN-
VERWALTUNG



Freistaat
SACHSEN

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis ..... *V*

Abbildungsverzeichnis ..... *VII*

Tabellenverzeichnis ..... *IX*

Abkürzungsverzeichnis ..... *XI*

Symbolverzeichnis ..... *XIII*

Danksagung *1*

Abstract *3*

1. Problemstellung und Zielsetzung *5*

2. Theoretische Grundlagen *7*

2.1. Gesetzliche Grundlagen der Wassernutzung in Deutschland **7**

2.2. Wasserbeschaffenheit von Seen und Flüssen **10**

2.3. Phytoplankton **13**

2.4. Einfluss des Phytoplanktons im Rohwasser auf die Trinkwasseraufbereitung in Talsperren-Wasserwerken **14**

2.5. Qualitätssicherung **16**

2.5.1. Aufbau von QS-Systemen in Laboren 18

2.5.2. Besonderheiten biologischer Verfahren, speziell der Phytoplanktonanalyse 19

2.6. Poisson-Verteilung in der Phytoplanktonanalyse **21**

3. Erfassung und Bewertung von Planktonorganismen *23*

3.1. Verfahrensbeschreibung **23**

3.2. Fehlerarten und potenzielle Fehlerquellen bei der Phytoplanktonanalyse **29**

3.3. IST-Zustand der Qualitätssicherung im Labor LTV Sachsen, US Plauen **34**

3.3.1. Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien 34

3.3.2. Vorhandene QS-Maßnahmen für die Phytoplanktonanalyse im Labor LTV Sachsen, US Plauen 36

3.4. Defizite/Bedarfsanalyse **39**

4. Entwicklung eines QS-Systems für die Phytoplanktonanalyse *41*

4.1. Eignung und Verwendung von Referenzmaterialien **41**

4.1.1. Definition von Anforderungen an Referenzmaterialien 41

4.1.2. Algen aus Laborkulturen 44

4.1.2.1. Zählung von Replikaten - Konsensusvergleich 46

4.1.2.2. Aufstockung realer Proben 46
4.1.3. Mikropartikel 47
4.1.4. Referenzzählkammern 48
4.1.4.1. Beschreibung 48
4.1.4.2. Entwicklung und messtechnische Validierung 49
4.1.4.3. Integration in das QS-System der Phytoplanktonanalyse (Verwendung von Kontroll- und Zielwertkarten) 53
4.1.5. Aufbau von Referenzsammlungen 58

4.2. Ringversuche 59
4.2.1. Aufbau 59
4.2.2. Beispiel EQAT-Phytoplankton 60

4.3. Planung von internen Audits 63
4.3.1. Aufbau eines internen Audits 63
4.3.2. Entwicklung eines internen Audits für den Parameter Phytoplankton 66
4.3.3. Einsatz im Rahmen von EQAT Phytoplankton 68

4.4. Zusammenfassung: Vorschlag eines Qualitätssicherungssystems für die Phytoplanktonanalyse 69

5. Ausblick 71

Literaturverzeichnis 73

Begriffs-Glossar 79

Anhang – Fragenkatalog internes Audit

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Herkunft des Trinkwassers in Deutschland 7
Abbildung 2: Multi-Barrieren-System zum Trinkwasserschutz in Sachsen 11
Abbildung 3: Verfahrensstufen für die Aufbereitung von Talsperrenwasser im Wasserwerk 15
Abbildung 4: PDCA-Zyklus (planen (plan), ausführen (do), überprüfen (check), verbessern (act)) 17
Abbildung 5: Verteilung von einzelnen Pflanzen derselben Spezies über eine Region 21
Abbildung 6: Mit Algensuspension befüllte Zählkammer mit aufgesetztem Absetz- bzw. Sedimentationszylinder 24
Abbildung 7: Umkehrmikroskop 26
Abbildung 8: Zählkammer mit Deckgläschen im Umkehrmikroskop 26
Abbildung 9: UTERMÖHL-Kammer mit Zählgitter, dunkle Felder zum Auszählen ausgewählt 27
Abbildung 10: UTERMÖHL-Kammer mit Zählstreifen, dunkler Streifen zum Auszählen ausgewählt 27
Abbildung 11: Laborkulturen im Brutschrank 44
Abbildung 12: Zusammenstellung natürlicher Arten 45
Abbildung 13: Polymethlymethacrylat- und Polysulfon-Partikel, Fettblau der Firma microparticles GmbH 47
Abbildung 14: Referenzzählkammer und simulierte Mikropartikel der Referenzzählkammer bei 1000facher Vergrößerung 48
Abbildung 15: Shewhart-Regelkarte als Mittelwert-Qualitätskontrollkarte ($\bar{x}$ Mittelwert; σ Standardabweichung) 54
Abbildung 16: Vorperiode Referenzzählkammer 150 Partikel, Kammerzählung, Mikroskop 1, Objektiv 1000fache Vergrößerung 56
Abbildung 17: Aufbau und Prüfkriterien des Ringversuchs EQAT Phytoplankton 61
Abbildung 18: Screenshot des Webportals für die Ringversuchsdurchführung 62
Abbildung 19: Ausschnitt aus dem Auditplan Phytoplanktonanalyse 66
Abbildung 20: Beginn des Fragenkatalogs internes Audit Phytoplanktonanalyse 67
Abbildung 21: Maßnahmeplan internes Audit Phytoplanktonanalyse 68

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Poisson-Verteilung am Beispiel zufällig verteilter Pflanzen 22

Tabelle 2: Absetzzeiten für lugolfixierte Proben (4 h/cm Kammerhöhe) 25

Tabelle 3: Verfahrensschema der Phytoplanktonanalyse und zugeordnete potenzielle Fehlerquellen sowie vorhandene QS-Maßnahmen zu deren Kontrolle 28

Tabelle 4: Datensatz zur Herstellung einer Referenzzählkammer mit 10.000 Referenzpunkten mit einem Durchmesser von 15 µm 49

Tabelle 5: Herstellerseitige Konformitätsprüfung der Referenzzählkammern 52

Tabelle 6: Übersicht Eignung von Referenzmaterialien 57

Abkürzungsverzeichnis

ALIMBA	Algae Image Base
ATT	Arbeitsgemeinschaft Trinkwassertalsperren
BAM	Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung
DAkkS	Deutsche Akkreditierungsstelle
DIN	Deutsches Institut für Normung
DVGW	Deutsche Vereinigung des Gas- und Wasserfaches e. V.
DXF	Drawing Interchange File Format
EAL	European cooperation for Accreditation of Laboratories
EN	Europäische Norm
ENV	Environmental Management
EQAT	External Quality Assessment Trials
EU	Europäische Union
GLP	Gute Laborpraxis
IfSG	Infektionsschutzgesetz
ISO	Internationale Organisation für Normung (Englisch: International Organisation for Standardisation)
LAWA	Bund-/Länderarbeitsgemeinschaft Wasser
LTV	Landestalsperrenverwaltung
MU	Messunsicherheit
NIST	National Institute of Standards and Technology
OECD	Organisation für Wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
OGewV	Oberflächengewässerverordnung
PDCA-Zyklus	Plan-Do-Check-Act-Zyklus; = Deming-Zyklus
PTSI	Phytoplankton-Taxa-Seen-Index
QM	Qualitätsmanagement
QMS	Qualitätsmanagementsystem
QS	Qualitätssicherung

RM	Referenzmaterial
RV	Ringversuch(e)
SAA	Standardarbeitsanweisung
SON	suspendierte organische Stickstoffverbindungen
TrinkwV 2001	Trinkwasserverordnung
TRWA	Technische Regeln Wasseraufbereitung
UBA	Umweltbundesamt
US	Untersuchungsstelle
VA	Verfahrensanweisung
VB	Vertrauensbereich
WHG	Wasserhaushaltsgesetz
WRRL	Wasserrahmenrichtlinie
ZRM	zertifiziertes Referenzmaterial

Symbolverzeichnis

(1) $P(X = k) = \frac{\bar{x}^{\,k} e^{-\bar{x}}}{k!}$ Poisson-Verteilung

(2) $F = \pm t \cdot 100/\sqrt{N}$ statistischer Zählfehler

(3) 1/k · Varianz (Zählung einer Kammer) = (1/k) λ = m/t = Varianz

(4) 2·√m/k = Messunsicherheit

Symbol	**Bezeichnung**	**Dimension**
P(X = k)	Wahrscheinlichkeit	
$\bar{x}$	Mittelwert	
k	Anzahl Pflanzen/Partikel/Kammern je Einheit (Kammer, Probenvolumen, ...)	
n	Anzahl Felder	
G	Gesamtanzahl Pflanzen	
λ	Quotient aus Gesamtanzahl Pflanzen/Partikel/Kammern/... und Einheiten (Kammern, Probenvolumen, ...)	
	Individuenzahlen	Mio. Zellen/l
	Biovolumina	mm³/l
F	maximal möglicher statistischer Zählfehler	%
t	Wert nach STUDENT	
N	Zählzahl	
m	mittlere Partikelzahl	
σ	Standardabweichung	

Danksagung

Für die Begleitung während des Studiums und die Betreuung der Projekt- und Diplomarbeit mit hilfreicher, sachlicher Kritik und inhaltlichen Vorschlägen danke ich Prof. Dr.-Ing. Bernhard Gemende. Frau Anja Gerbeth, Fakultät für Physikalische Technik/Informatik, danke ich ebenfalls für die stets freundliche Betreuung und sachliche Kritik. Bei Frau Gerbeth möchte ich mich außerdem besonders für das außerordentlich gründliche Lesen des Entwurfes sowie die sehr hilfreichen Anmerkungen bedanken!

Herrn Dipl.-Biol. Andreas Meybohm schulde ich Dank für die Zweitbetreuung dieser Arbeit. Danke für die Idee zum Thema und die Überlassung von Literatur, Fotos, Berichten und Fachwissen sowie für die Erklärungen zu den Abläufen im Labor und Zeit für das ausführliche Besprechen der Arbeit.

Mein Dank gilt für hilfreiche Diskussionen meinem Mann und meiner Kommilitonin Antje Funke. Danke auch für das Korrekturlesen von Teilen der Arbeit an bereits genannte Personen sowie an Ulrike Just und Christiane Lorenz.

Meinem Bruder Dr. Alexander Otto danke ich ebenfalls für das Lesen und wissenschaftlich fundierte Kommentieren der Arbeit.

Besonders bedanke ich mich bei meinem Ehemann, meinen Eltern und Schwiegereltern und meinen Freunden für die Unterstützung in der Zeit dieses Aufbaustudiums, welche mit vielen Einschränkungen und zeitlichen Doppelbelastungen verbunden war. Sie haben mir Freiräume geschaffen und überhaupt erst die Möglichkeit eröffnet, trotz voller Berufstätigkeit und der Betreuung meiner Kinder das Studium durchzuführen und abzuschließen.

Meiner Vorgesetzten, Frau Dipl.-Med. Kerstin Zenker, Amtsärztin des Gesundheitsamtes Vogtlandkreis, danke ich für die Möglichkeit, für Anwesenheitszeiten während des Studiums von der Arbeit freigestellt zu werden und für das in mich gesetzte Vertrauen.

Abstract

Die Phytoplanktonanalyse ist ein wichtiger Indikatorparameter zur Qualitätsbestimmung und -überwachung von Rohwasser aus Oberflächengewässern. Aus der Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer und den Europäischen Normen DIN EN ISO/EC 17025, DIN EN 14996 sowie DIN EN 15204 für die Phytoplanktonanalyse leiten sich zwingend Maßnahmen zur Qualitätssicherung (QS) ab. Die DIN-Normen geben jedoch nur Vorschläge zur QS. Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines Qualitätssicherungssystems für die Phytoplanktonanalyse, das über die DIN EN 15204 hinaus geht und alle Aspekte der Qualitätssicherung integriert. Aus dem Vergleich des prinzipiellen Aufbaus von QS-Systemen mit dem IST-Zustand in der Phytoplanktonanalyse sowie potenziellen Fehlerquellen wird der konkrete Bedarf an weiteren QS-Bausteinen ermittelt. Dabei wird unter Berücksichtigung der Besonderheiten biologischer Verfahren im Allgemeinen und der Phytoplanktonanalyse im Speziellen die mögliche Verwendung von Referenzmaterialien untersucht. Diese fehlen bisher fast vollständig. Weitere QS-Werkzeuge wie interne Audits und Ringversuche werden beschrieben und gezielt für die Phytoplanktonanalyse entwickelt und angepasst.

Als Ergebnis werden die neu entwickelten Referenzzählkammern als geeignete Referenzmaterialien ausgewählt und Shewhart-Kontrollkarten entwickelt. Mit diesen können die Referenzzählkammern in der Praxis zur Fehlerminimierung beitragen. Das in dieser Arbeit entwickelte interne Audit mit Auditplan, Fragenkatalog und Maßnahmeplan ermöglicht eine Fehlerüberwachung sämtlicher Verfahrensschritte. In Kombination mit den Referenzzählkammern und dem von der Landestalsperrenverwaltung Sachsen, Untersuchungsstelle Plauen ausgerichteten Ringversuch EQAT Phytoplankton trägt das Audit zu einem umfangreichen QS-System bei. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die vorliegende Arbeit eine wesentliche Erweiterung des Qualitätssicherungssystems für die Phytoplanktonanalyse um essentielle Bausteine erreicht hat. Kleinere Defizite bleiben aber bestehen. Ganz im Sinne der Qualitätssicherung wird auch in Zukunft eine stetige Überprüfung und Verbesserung nötig und sinnvoll sein.

1. Problemstellung und Zielsetzung

In Deutschland erfolgt die Trinkwasserversorgung hauptsächlich über Grundwasser in Form von Brunnen und Quellen sowie über Oberflächenwasser aus Talsperren. Die Qualitätskontrolle des Trinkwassers ist gesetzlich geregelt und erfolgt sowohl nach als auch vor der Aufbereitung des Rohwassers.

Aus wirtschaftlicher Sicht spielt die Rohwasserqualität eine entscheidende Rolle, da sie den technischen und finanziellen Aufwand für die Trinkwasseraufbereitung maßgeblich beeinflusst. Als Beispiel wäre zu nennen, dass bei erhöhter Algenentwicklung (Phytoplankton) nach der Aufbereitung Geruchs- und Geschmacksstoffe im Rohwasser zurückbleiben können. Diese sind zwar gesundheitlich unbedenklich, mindern aber die Qualität des Trinkwassers. Durch Einsatz von Aktivkohle können diese Stoffe entfernt werden. Um diesen teuren Zusatzstoff jedoch bedarfsgerecht und auch so effizient und sparsam wie möglich einzusetzen, ist eine ständige Überwachung der Algenentwicklung nötig. Diese Untersuchungen müssen präzise und reproduzierbar sein, wofür eine Qualitätssicherung (QS) notwendig ist. An diesem Beispiel wird deutlich, dass ein wichtiger Indikatorparameter zur Qualitätsbestimmung und -überwachung von Rohwasser aus Oberflächengewässern die Phytoplanktonanalyse ist.

Aus der Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer (OGewV) und den Europäischen Normen DIN EN ISO/IEC 17025, DIN EN 14996 sowie DIN EN 15204 für die Phytoplanktonanalyse leiten sich zwingend Maßnahmen zur Qualitätssicherung ab. Die DIN EN 15204 gibt eine grundsätzliche Anleitung zur mikroskopischen Phytoplanktonanalyse sowie zu statistischen Verfahren zur Gestaltung, Optimierung und Validierung der Verfahren und Arbeitsvorschriften. Dies ist besonders zu erwähnen, da es lange keine konkrete Grundlage für die Analyse von Phytoplankton gab. Die DIN-Normen geben in Ihren Anhängen jedoch nur Vorschläge zur QS.

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines Qualitätssicherungssystems für die Phytoplanktonanalyse, welches über die DIN EN 15204 hinaus geht und alle Aspekte der Qualitätssicherung integriert. Dieses kann in Zukunft für die Planktonanalysen verwandt werden, die im Rahmen von Monitoringprogrammen für die

Gewässerbewertung nach der EU-Wasserrahmenrichtlinie (EU-WRRL) und nutzungsorientierten Fragestellungen wie der Wasseraufbereitung durchgeführt werden. Während bei den Untersuchungen für nutzungsorientierte Fragestellungen vor allem eine hohe Genauigkeit, hohe Reproduzierbarkeit bei gleichzeitig geringem Zeitaufwand von großer Relevanz sind, kommt bei den Untersuchungen für die Gewässerbewertung zusätzlich eine hohe Spezifität hinsichtlich der taxonomischen Bestimmung hinzu.

Aus dem Vergleich des prinzipiellen Aufbaus von QS-Systemen mit dem IST-Zustand in der Phytoplanktonanalyse sowie potenziellen Fehlerquellen wird der konkrete Bedarf an weiteren QS-Bausteinen ermittelt. Dabei wird unter Berücksichtigung der Besonderheiten biologischer Verfahren im Allgemeinen und der Phytoplanktonanalyse im Speziellen die mögliche Verwendung von Referenzmaterialien untersucht. Diese fehlen bisher fast vollständig. Für die Implementierung von neu entwickelten Referenzzählkammern werden Qualitätsregelkarten erstellt. Weitere QS-Werkzeuge wie interne Audits und Ringversuche werden beschrieben und gezielt für die Phytoplanktonanalyse entwickelt und angepasst.

Zum Thema Referenzmaterialien äußert sich die Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) wie folgt: „Die regelmäßige und korrekte Verwendung von Referenzmaterialien (…) und die damit gewährleistete Rückführung der Messergebnisse auf anerkannte Bezugsgrößen setzt sich (…) zunehmend durch. Die Zuverlässigkeit und Richtigkeit von Messergebnissen (…) besitzen (…) einen hohen volkswirtschaftlichen Nutzen. Fehlerhafte Messungen führen zu erheblichen, jedoch vermeidbaren Kosten. Damit nimmt die Bedeutung von Referenzmaterialien in Wirtschaft und Gesellschaft weiter zu. Die Entwicklung von Referenzmaterialen ist deshalb eine überaus wichtige Aufgabe.“[1]

Das in dieser Arbeit entwickelte Gesamtsystem muss darauf abzielen, möglichst viele der zuvor ermittelten potenziellen Fehlerquellen unter Kontrolle zu bringen. Der dafür notwendige Aufwand wird möglichst niedrig festgesetzt.

[1] Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (April 2010), S. 1

2. Theoretische Grundlagen

2.1. Gesetzliche Grundlagen der Wassernutzung in Deutschland

Heute obliegen in Deutschland der Bau und Betrieb von Anlagen zur Wasserversorgung und alle Maßnahmen zur Bereitstellung des benötigten Betriebs- und Trinkwassers den Bundesländern. Durch den Wasserreichtum kann der Bedarf vorwiegend lokal oder regional gedeckt werden. Sowohl Kommunen und Wassergenossenschaften als auch Wasserverbände und privatwirtschaftlich organisierte Unternehmen gewinnen das Wasser, bereiten es auf und verteilen es. Wie aus *Abbildung 1* ersichtlich wird, stammen in Deutschland 62 % des Trinkwassers aus Grundwasser. Weitere Anteile kommen aus Quellwasser (8 %), angereichertem Grundwasser (9 %), Uferfiltration (8 %) und Flusswasser (1 %). Immerhin 12 % stammen aus See- und Talsperrenwasser.[2]

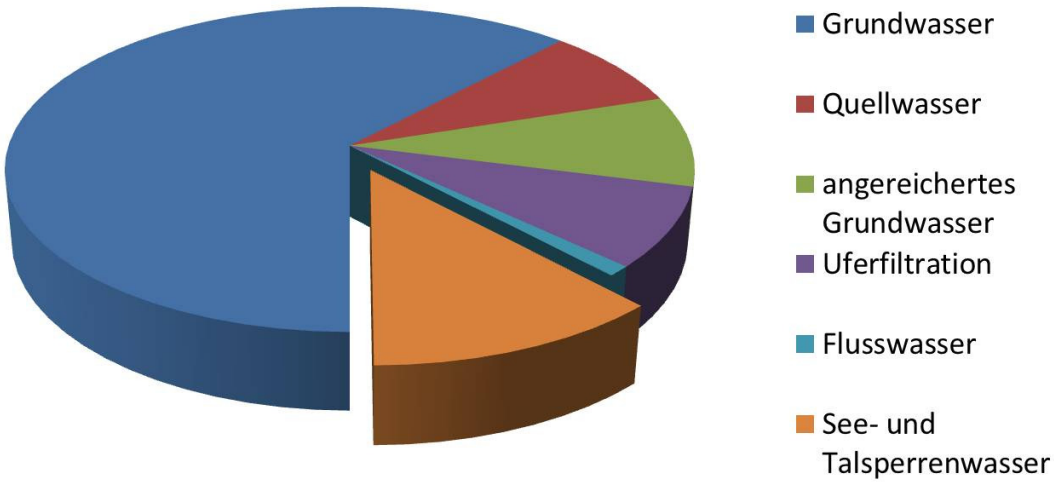


Abbildung 1: Herkunft des Trinkwassers in Deutschland (Quelle: Eigene Darstellung)

[2] Vgl. Bartel et al. (2013), S. 9

Dabei existieren große regionale Unterschiede. In Sachsen werden beispielsweise sogar rund 40 % des Trinkwassers aus Talsperren gewonnen.[3]

Den Ausgleich von Schwankungen in der Wasserversorgung sichern in Deutschland über 300 Talsperren, deren Wasserressourcen für die Energieerzeugung, den Hochwasserschutz bzw. die Niedrigwassererhöhung, wie auch für die Trinkwassernutzung zur Verfügung stehen. In Sachsen erfolgen deren Planung, Bau, die Unterhaltung und der Betrieb durch die Landestalsperrenverwaltung (LTV). Diese trägt zudem gemeinsam mit den Versorgungsunternehmen, die das Rohwasser aus den Talsperren entnehmen und zu Trinkwasser aufbereiten, die Verantwortung für dessen Qualität. Die so erreichte zuverlässige und qualitativ hochwertige Trinkwasserversorgung ist heute für die Verbraucher in ganz Mitteleuropa selbstverständlich.

Die Gesetzgebung zur Regelung des Umgangs mit dem Allgemeingut „Wasser“ richtet sich dabei an erster Stelle nach der Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlamentes und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik (Wasserrahmenrichtlinie; WRRL; ABl. EG Nr. L 327/1). Diese dient vor allem dazu, unter den sehr unterschiedlichen natürlichen Gegebenheiten der verschiedenen EU-Mitgliedsstaaten einheitliche Qualitätsziele aufzustellen sowie Methoden zur Erzielung einer guten Wasserqualität aufzuzeigen.

Das deutsche Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts[4] (Wasserhaushaltsgesetz; WHG; BGBl. I S. 734) wurde an die Vorgaben der Richtlinie angepasst. Laut WHG ist „der Zweck dieses Gesetzes, durch eine nachhaltige Gewässerbewirtschaftung die Gewässer als Bestandteil des Naturhaushalts, als Lebensgrundlage des Menschen, als Lebensraum für Tiere und Pflanzen sowie als nutzbares Gut zu schützen.“ Das Gesetz enthält sowohl Bestimmungen zu Nutzung und Schutz des Grundwassers und von Oberflächengewässern, als auch Vorschriften über die wasserwirtschaftliche Planung, den Ausbau von Gewässern sowie den Hochwasserschutz. Seit Inkrafttreten des WHG sind ausführende Verordnungen in Vorbereitung.

Dazu zählt die Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer vom 20.07.2011 (Oberflächengewässerverordnung; OGewV; BGBl. I S. 1429). Diese dient „dem Schutz

[3] Vgl. Schöne/Andreas (2007)
[4] vom 31. Juli 2009 (BGBl. I S. 2585), zuletzt durch Artikel 2 des Gesetzes vom 8. April 2013 geändert

der Oberflächengewässer und der wirtschaftlichen Analyse der Nutzungen ihres Wassers“. Jedes Bundesland hat eigene Wassergesetze, die an das neue WHG angepasst werden müssen. Eine Koordination der Wasserpolitik der Länder erfolgt in der Bund-/Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA).

Das Grundwasser aus Brunnen und Quellen samt des Oberflächenwassers aus Talsperren wird nach Bearbeitung durch die Wasserversorgungsunternehmen zum Lebensmittel „Trinkwasser“. Die gesetzlichen Regelungen erstrecken sich deshalb selbstverständlich auch auf das fertige „Produkt“ Trinkwasser – Bundesgesetz ist die Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch[5] (Trinkwasserverordnung; TrinkwV 2001; BGBl. I S. 2562), welche auf Grund des § 38 Absatz 1 des Gesetzes zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen[6] (Infektionsschutzgesetz; IfSG; BGBl. I S. 3154) vom Bundesministerium für Gesundheit erlassen wurde. Besonderes Augenmerk wird darin neben der Regelung von Verantwortlichkeiten stets auf die Messung und Überwachung der Wasserqualität gelegt.

Auf technischer Seite legen eine Fülle von Europäischen Normen sowie DIN-Normen Arbeitsprozesse und Voraussetzungen für den Umgang mit dem Gut „Wasser“ in seinen verschiedenen Aufbereitungsstadien dar. Institutionen wie der Deutsche Verein des Gas- und Wasserfaches (DVGW) und das Umweltbundesamt (UBA) veröffentlichen zudem – teilweise nach Anhörung der Trinkwasserkommission des Bundesministeriums für Gesundheit – Regelwerke, Empfehlungen und Stellungnahmen (Beispiel DVGW: Arbeitsblatt W 202 Technische Regeln Wasseraufbereitung (TRWA)[7,8]; Beispiel UBA: Maßnahmen zur Minderung des Eintrags von Humanarzneimitteln und ihrer Rückstände in das Rohwasser zur Trinkwasseraufbereitung[9]).

[5] vom 31. Januar 1975 (BGBl. I S. 453), zuletzt geändert durch Artikel 1 der Änderungsverordnung vom 5. Dezember 2012
[6] vom 20. Juli 2000 (BGBl. I S. 1045), das durch Artikel 4 Absatz 21 des Gesetzes vom 7. August 2013 geändert worden ist
[7] DVGW (2010)
[8] Planung, Bau, Betrieb und Instandhaltung Anlagen zur Trinkwasseraufbereitung
[9] Umweltbundesamt (2011)

2.2. Wasserbeschaffenheit von Seen und Flüssen

Da Trinkwasser in Deutschland als wichtiges Lebensmittel zählt, muss es höchsten Qualitätsanforderungen genügen. Seine Zusammensetzung wird deshalb ständig durch die Untersuchung vielfältiger, in den §§ 5-7 TrinkwV 2001 festgelegter, chemischer und biologischer Parameter überwacht. Verantwortlich für diese Untersuchungen sind laut § 14 TrinkwV 2001 zum einen die Wasserversorger, zum anderen auch Betreiber von Einrichtungen, in denen Trinkwasser abgegeben wird. In § 18 TrinkwV 2001 wird bestimmt, dass diese Überwachung von staatlicher Seite durch die Gesundheitsämter der Landkreise und kreisfreien Städte ergänzt wird.

Auch vor der „Veredlung“ des Oberflächenwassers zum Roh- bzw. Trinkwasser gelten bereits Qualitätsstandards. Um den Zielen des WHG zu entsprechen, überwacht die Landestalsperrenverwaltung in Sachsen die Gewässergüte in einem engen Messnetz.

Vor allem Einträge in die Flüsse der Einzugsgebiete der Trinkwassertalsperren haben Einfluss auf die Gewässergüte. Diese bestehen aus geklärten Siedlungsabwässern, aus geklärten Abwässern der Industrie und der Landwirtschaft. Dazu kommen Einträge aus natürlichen Ereignissen wie Starkregen mit erhöhtem Aufkommen erodierten Erdreiches und organischen Materials. Aufgrund der hohen Fließgeschwindigkeit haben diese auf die Flüsse eine eher kurzzeitige, auf die Seen, in welche die Flüsse münden, dagegen längerfristige Auswirkungen. Durch natürliche Periodik wie beispielsweise die jahreszeitliche Schichtung in tiefen, stehenden Gewässern ist ebenfalls ein Einfluss auf die Wassergüte festzustellen.[10]

Zur Sicherung der Roh- und später Trinkwasserqualität dient ein sogenanntes „Multi-Barrieren-System“, mit welchem diese Einträge überwacht und schädliche Einflüsse minimiert werden (*Abbildung 2*).

[10] Vgl. Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen (2007)

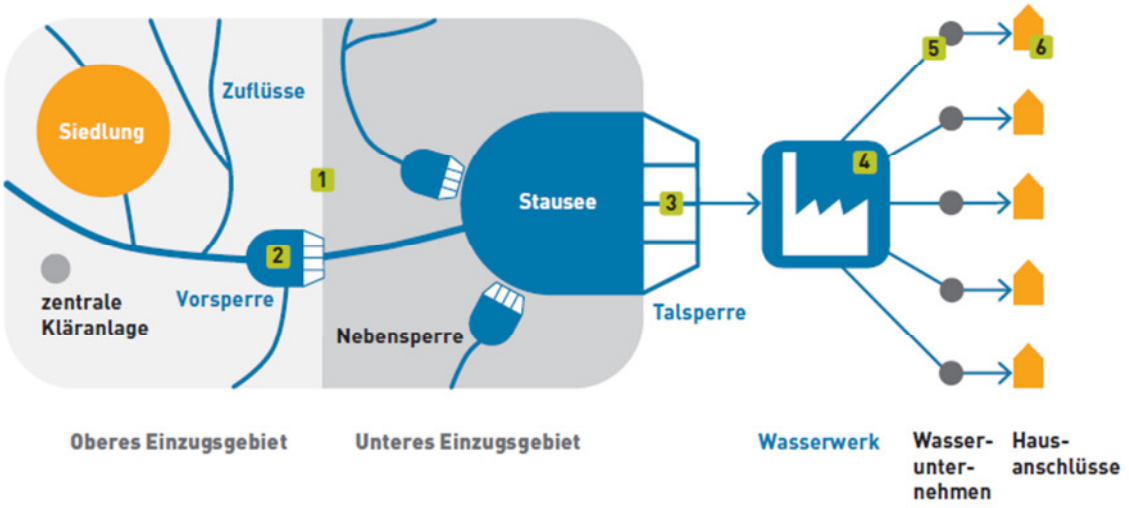


Abbildung 2: Multi-Barrieren-System zum Trinkwasserschutz in Sachsen, 1-6 siehe Text (Quelle: Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen (2007): „Beste Wasserqualität von der Quelle bis zum Wasserhahn“)

Um den Eintrag von Schadstoffen (z. B. Chemikalien wie Nitrat, Phosphat) sowie von Viren und Bakterien) in die Talsperren oder bereits in die Fließgewässer der Einzugsgebiete der Talsperre zu verhindern beziehungsweise zu minimieren, dient der Gewässerschutz und die Einrichtung von (Trink-)Wasserschutzgebieten als eine erste Barriere (1). In diesen Landschaftsteilen gelten nach §§ 50–53 WHG Nutzungseinschränkungen beispielsweise die Siedlungs- und Abwasserwirtschaft sowie landwirtschaftliche Nutzung betreffend.

Als weitere Barrieren fungieren die großen Wasserkörper der Vorsperren (2) und Talsperren (3) selbst. Durch Biofiltration und Sedimentation erfolgt ein Prozess der Selbstreinigung. Außerdem werden eingetragene Schadstoffe verdünnt und erst verzögert wieder abgegeben. Damit erhöht sich beispielsweise die Zeit, die zwischen Erfassen eines Schadstoffeintrages und der technischen Umstellung und Anpassung der Wasseraufbereitung für den Wasserversorger zur Verfügung steht. Eine bewegliche Höhensteuerung der Rohwasserentnahme sichert in den modernen Talsperren eine stete Anpassung der Entnahme an Trübungs- und Strömungsverhältnisse und damit eine optimale Rohwasserqualität zur Minimierung des Aufwandes für die weitere Aufbereitung. An diese Verantwortungsgebiete der LTV schließt sich die Wasseraufbereitung an.

Die erste und zweite Filterstufe im Wasserwerk (siehe *Abbildung 3* auf S. 15) stellen

zusammen mit der abschließenden Desinfektion die nächste Barriere (4) dar. In einem ersten Schritt werden Flockungsmittel hinzugegeben, welche ebenso wie die anschließende Filtration zur Eliminierung von Partikeln dienen. Diese Barriere unterliegt ebenso wie das folgende Wasserverteilungssystem (5) der Kontrolle des Wasserversorgers. Für den ordnungsgemäßen Betrieb der Hausinstallation (6) tragen schließlich die Hausbesitzer selbst laut § 5 Abs. 1 der Verordnung über Allgemeine Bedingungen für die Versorgung mit Wasser[11] (AVBWasserV) die Verantwortung.[12]

Für die Gewässergüte der Oberflächengewässer werden – den §§ 5 ff. der Oberflächengewässerverordnung folgend – ebenso wie im Trinkwasser chemische und biologische Parameter bestimmt. Diese dienen auch als Messdaten für Umweltüberwachungsprogramme, zur Beurteilung der ökologischen Qualität sowie der Beschreibung von Auswirkungen von Wasserbewirtschaftungsmaßnahmen. Mit der WRRL wurde „die Notwendigkeit eines einheitlichen Verfahrens zur Bewertung des ökologischen Zustands der Oberflächengewässer (…)“ bekräftigt und die „zunehmende Bedeutung der Ökologie in der neueren Rechtssetzung (…)“ betont. „Die Einstufung des ökologischen Potenzials eines künstlichen oder erheblich veränderten Oberflächenwasserkörpers richtet sich“ laut § 5 WRRL „nach den in Anlage 3 aufgeführten Qualitätskomponenten (…).“ Dazu zählen biologische, hydromorphologische und chemische, einschließlich allgemeiner physikalisch-chemischer Qualitätskomponenten. Die darauf basierende fünfstufige ökologische Klassifizierung der Gewässer im Hinblick auf bestehende anthropogene Einflüsse erfordert bei Nichterreichen des „guten ökologischen Zustandes“ die Durchführung von – unter Umständen sehr kostenintensiven – Gewässersanierungsmaßnahmen, um diesen Zustand wieder herzustellen. Daher ist es von besonderer Bedeutung, ein hohes Maß an Genauigkeit und Zuverlässigkeit der biologischen Bewertungsergebnisse zu erzielen.

Von besonderem Interesse ist im Folgenden die biologische Qualitätskomponentengruppe der Gewässerflora und hier besonders die Qualitätskomponente Phytoplankton. Hierzu zählen die Parameter Artenzusammensetzung und Biomasse.

[11] Neufassung vom 13. Januar 2010
[12] Vgl. Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen (2007)

2.3. Phytoplankton

Als Phytoplankton bezeichnet man die „Gemeinschaft frei schwebender, vorwiegend photosynthetischer Organismen aquatischer Systeme, einschließlich Cyanobakterien (Blaualgen) und Algen“.[13]

Phytoplankton steht an der Basis der Nahrungspyramide in stehenden und langsam fließenden Gewässern, da es als Primärproduzent Photosynthese betreibt. Dabei baut es seine Körpersubstanz aus Kohlenstoffdioxid und Nährstoffen mit Hilfe des Sonnenlichtes auf. Diese dient wiederum Zooplankton und vielen weiteren Tieren als Nahrungsgrundlage. Zudem produziert das Phytoplankton geschätzte 50-80 % des freien Sauerstoffes unserer Atmosphäre.[14]

Die Artenverteilung sowie die Häufigkeit von Phytoplankton in Oberflächengewässern stellen aufgrund dieser Stellung im Ökosystem einen verlässlichen Indikator für die Nährstoffbelastung und damit einhergehende Eutrophierung dar. Bei diesem, auch als „Umkippen“ eines Gewässers bekannten Vorgang, kommt es in einem Gewässer durch Nährstoffanreicherung zu übermäßigem Wachstum von Algen und Wasserpflanzen. Als Folge des vermehrten Absterbens dieser Lebewesen nach Verbrauch der vorhandenen Nährstoffe wird übermäßig Sauerstoff für ihre Zersetzung verbraucht, was weiteren aeroben Abbau verhindert. Durch weitere anaerobe Zersetzung erfolgt die Anreicherung giftiger Stoffe (z. B. Methan, Ammoniak) und Fischsterben und belästigende Gerüche sind das Resultat.[15]

Oft ist das Phytoplankton einer der wenigen, wenn nicht gar der einzige zur Verfügung stehende aussagekräftige Messwert. Dieser Parameter hat sich zudem als die Komponente herausgestellt, mit der die Gewässer zuverlässig und sicher bewertet werden können. Viele andere biologische Parameter, wie Makrophyten/Phytobenthos, Makrozoobenthos u. a. unterliegen zu starken Einschränkungen, beispielsweise durch schwankende Wasserstände und andere Umwelteinflüsse.

Die Aussagekraft und Zuverlässigkeit des Parameters Phytoplankton zeigt sich deutlich bei dem Bewertungsverfahren PhytoSee 5.0. Dabei setzt sich die Bewertung eines

[13] DIN EN 15204 (2006)
[14] Vgl. Hall (2011)
[15] Vgl. Sitte et al. (1998), S. 631f.

Gewässers aus drei Einzelmetriken zusammen. Bei sechs bis sieben Probenahmen pro Jahr werden Biomasse, Algenklassen sowie Phytoplankton-Taxa-Seenindex (PTSI) bestimmt. Aus diesen Einzelmetrics wird unter Einbeziehung von Gewichtungsfaktoren für jedes Gewässer und jedes Jahr eine Gesamtbewertung errechnet. Diese reagiert einerseits sensibel auf Gefährdungsereignisse wie Überschwemmungen oder Schadstoffeintrag, bleibt andererseits bei stabilen Umweltbedingungen aber sehr konstant.[16]

Da bei der Gewässerbewertung, für welche die Phytoplanktonanalyse herangezogen wird, hohe Geldbeträge in Form von Fördermitteln für Sanierungsmaßnahmen und öffentlichen Investitionen aufgewendet werden müssen, ist dieser Parameter – neben seiner Funktion bei der Beurteilung des Aufwandes zur Trinkwassergewinnung – von großem Interesse. Besonders die Anforderungen an die Genauigkeit der taxonomischen Bestimmung sind durch die WRRL enorm gestiegen, da bestimmten Indikatortaxa ein Indikationsgewicht zugewiesen wurde. Dadurch begründet sich deren Einfluss auf die Gewässerbewertung. Für die Wasseraufbereitung in den Wasserwerken sind eher die morphologischen und biochemischen Komponenten von Bedeutung.

2.4. Einfluss des Phytoplanktons im Rohwasser auf die Trinkwasseraufbereitung in Talsperren-Wasserwerken

Neben der zuverlässigen Abgabe von Trinkwasser in ausreichender Menge und höchster Qualität muss das aufbereitete Trinkwasser weiteren Anforderungen genügen. So sollten beispielsweise Grenzwerte für Trübung, Chlorophyll, suspendierte organische Stickstoffverbindungen (SON) und Mangan nicht überschritten werden, um die biologische Stabilität des Trinkwassers bei der Verteilung zu gewährleisten und die Bildung von Ablagerungen im Verteilungsnetz so gering wie möglich zu halten. Die Partikeleliminierung ist von entscheidender Bedeutung, da an Partikel angelagerte Krankheitserreger bei einer Desinfektion nicht sicher abgetötet werden können. Der

[16] Vgl. Hoehn et al. (2009)

durch Chlorophyll und SON repräsentierte Gehalt an Phyto- und Zooplankton im Rohwasser muss möglichst gering sein, da sonst eine erhöhte Bildung von Nebenprodukten bei chemischer Desinfektion auftreten kann. Auch Geruchs- und Geschmacksbeeinträchtigungen werden durch absterbende Algen verursacht.[17]

„Die wichtigsten Verfahrensstufen für die Aufbereitung von Talsperrenwasser sind die Flockung und Filtration.“[18] Durch die Zugabe von Flockungsmittel werden Partikel – vornehmlich Algen – gebunden und in der folgenden Filtrationsstufe eliminiert. Zur Immobilisierung beweglicher Algen kann eine vorgeschaltete Dosierungsmöglichkeit für ein Oxidationsmittel notwendig sein. Auch die Vorschaltung einer Mikrosiebanlage kann bei sehr hohen Algenbelastungen als erste Aufbereitungsstufe erforderlich werden. Unerwünschte Geruchs- oder Geschmacksstoffe, welche von Algen abgegeben werden und auch nach deren Entfernung im Wasser verbleiben und dieses beeinträchtigen können, werden durch die Zugabe von Pulverkohle oder eine abschließende Aktivkohlefiltration eliminiert. Diese Zugabe der Aktivkohle ist nicht nur teuer aufgrund des Stoffeinsatzes an sich; höhere Algenkonzentrationen bzw. die Notwendigkeit der Pulverkohledosierung können auch sehr schnell zu einer deutlichen Verkürzung der Laufzeiten der Filter führen. Diese Einschränkung der Leistungsfähigkeit der Aufbereitungsanlagen führen zu steigenden Kosten und müssen daher überwacht und möglichst verhindert werden.

Die Desinfektion des Wassers durch Chlor, Chlordioxid oder als UV-Desinfektion schließt die Aufbereitung ab (*Abbildung 3*).

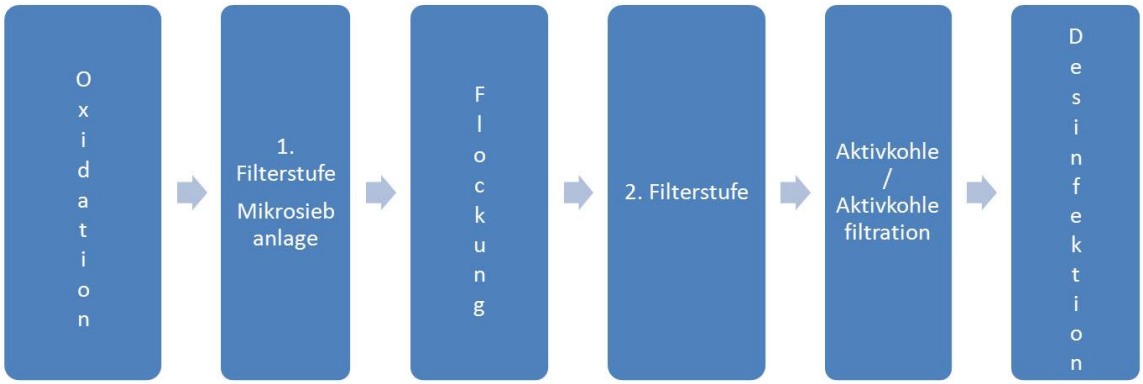


Abbildung 3: Verfahrensstufen für die Aufbereitung von Talsperrenwasser im Wasserwerk (Quelle: Eigene Darstellung)

[17] Vgl. Wricke et al. (2013), S. 4 ff.
[18] Vgl. ebd., S. 4

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Belastung des Rohwassers mit Phytoplankton und Algenmetaboliten sowohl die Anforderungen an die Aufbereitung als auch die Leistungsfähigkeit der Aufbereitungsstufen beeinflusst. Verschiedene Arten von Phytoplankton verursachen dabei unterschiedliche Probleme – beispielsweise werden Algen der Klasse Cryptophyceae aufgrund ihrer starken Beweglichkeit durch Geißeln von den Filtern kaum zurückgehalten, während Algen der Klasse Chrysophyceae dem Wasser einen unangenehmen Geschmack und Geruch verleihen können.[19] Fädige Algen passieren leichter die Filter, langkettige Kolonien werden unter Umständen nicht vollständig in die Flocken eingeschlossen. Die genaue taxonomische Bestimmung der vorkommenden Arten und die Kenntnis ihrer Morphologie und sonstigen Eigenschaften sind somit ebenso von Bedeutung wie die Bestimmung der Algendichte bzw. Prognosen hinsichtlich der Biomasse.
Die DIN EN 15204 legt fest, wie – basierend auf der Standard-Absetztechnik nach Utermöhl[20] – Häufigkeit und taxonomische Zusammensetzung von Süßwasserphytoplankton untersucht werden sollen. Aus der Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer und den Europäischen Normen DIN EN ISO/IEC 17025[21], DIN EN 14996[22] sowie DIN EN 15204 leiten sich für die Phytoplanktonanalyse zwingend Maßnahmen zur Qualitätssicherung ab.

2.5. Qualitätssicherung

Die Implementierung eines Qualitätsmanagementsystems (QMS) in einem Unternehmen oder einer Organisation hat ein systematisches Qualitätsmanagement (QM) zum Ziel. Dieses stellt sicher, dass die Qualität von Herstellung und Endprodukt – in diesem Fall des Wassers – dauerhaft und stetig überprüft und, wenn nötig und möglich, verbessert wird. Der Qualitätssicherung kommt dabei die Funktion zu, die

[19] Vgl. Wricke et al. (2013), S. 7
[20] Vgl. Utermöhl (1958)
[21] DIN EN ISO/IEC 17025 (2000)
[22] DIN EN 14996 (2006)

vorhandene Qualität zu messen und zu dokumentieren. Nach EN ISO 9000[23] ist unter Qualitätssicherung „jede geplante und systematische Tätigkeit“ zu verstehen, „die innerhalb des QM-Systems verwirklicht wird und die dargelegt wird, um Vertrauen dahingehend zu schaffen, dass eine Einheit die Qualitätsforderung erfüllen wird“. In dieser Arbeit wird auf die Qualitätssicherung fokussiert. Laut Definition ist die Qualitätssicherung lediglich ein Bestandteil eines Qualitätsmanagementsystems nach z. B. DIN EN ISO/IEC 17025.

Historisch entwickelte sich das Qualitätsmanagement aus der Qualitätskontrolle und dem Aussortieren fehlerhafter Produkte in der industriellen Fertigung. Seit Beginn des 20. Jahrhunderts wurden verschiedene Modelle und Standards erarbeitet. Einer der Pioniere des QM war William Edwards Deming[24]. Nach ihm wurde der allgemein anerkannte und eingesetzte Deming- oder „PDCA-Zyklus“ benannt (*Abbildung 4*).

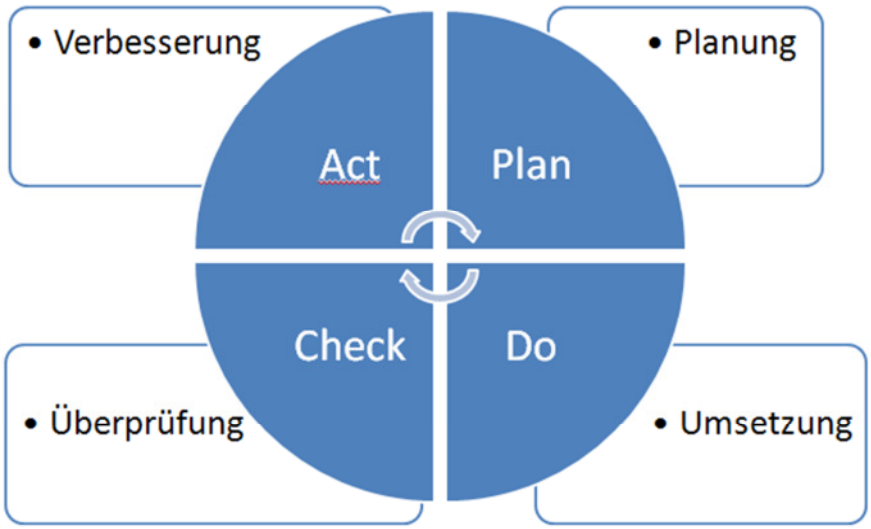


Abbildung 4: PDCA-Zyklus (planen (plan), ausführen (do), überprüfen (check), verbessern (act); Quelle: Eigene Darstellung)

Indem eine Sequenz von Aktionen – von der Planung eines Verfahrens über die Umsetzung und Überprüfung bis hin zur Verbesserung – in festgelegten Zeitabschnitten immer wieder durchlaufen wird, können alle relevanten Abläufe eines Verfahrens zielgerichtet gesteuert werden. Um Prozesse objektiv bewerten zu können, hat man unter anderem zertifizierbare Normen mit definierten Mindestanforderungen (an ein

[23] EN ISO 9000 (2005)
[24] Vgl. Mallek (2010)

wirksames Qualitätsmanagementsystem) geschaffen. Diese können durch unabhängige externe Audits bewertet werden. Neben der Normenreihe EN ISO 9000 ff., welche Grundsätze und Maßnahmen zum Qualitätsmanagement ausführt, gibt es eine Reihe branchenbezogener Normen, welche den Aufbau von QM-Systemen festlegen. Für die Lebensmittelherstellung – und damit auch das Trinkwasser – trifft DIN EN ISO/IEC 17025 zu. Auch Hinweise auf QS-Maßnahmen für die Phytoplanktonanalyse finden sich dort. Die Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer, die DIN EN 15204, sowie die DIN EN 14996 geben ebenfalls diverse QS-Werkzeuge vor.

Allen Verfahren zu Grunde liegt die „Gute Laborpraxis“ (GLP). Dabei handelt es sich laut den GLP-Grundsätzen der Organisation für Wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) um „ein Qualitätssicherungssystem, das sich mit dem organisatorischen Ablauf und den Rahmenbedingungen befasst, unter denen nicht-klinische gesundheits- und umweltrelevante Sicherheitsprüfungen geplant, durchgeführt und überwacht werden sowie mit der Aufzeichnung, Archivierung und Berichterstattung der Prüfungen.“[25] Dies wurde in EG-Richtlinien und anschließend in deutsches Recht übernommen und im Chemikaliengesetz verankert.

Meist bedeutet die Qualitätssicherung für die Unternehmen zusätzlichen Aufwand, was ihre Akzeptanz verringert. Mittel- und langfristig zahlt sie sich aber durch konstant hohe Qualität, Kundenzufriedenheit und Umsatz aus. Das Ziel sollte daher sein, soviel QS wie nötig, aber so wenig wie möglich zu betreiben. Im Vordergrund steht die Sicherheit der Verbraucher. Dies bedeutet im konkreten Fall die Sicherheit, dass Trinkwasser stets in höchster Qualität und ausreichender Quantität an die Verbraucher abgeben wird.

2.5.1. Aufbau von QS-Systemen in Laboren

Wie bereits feststellt, ist eine Voraussetzung zur Einführung eines einheitlichen Systems zur Qualitätssicherung die Standardisierung und Normung der verwendeten Untersuchungsverfahren.[26]

Die Grundlagen für die Einrichtung eines QS-Systems für Labore sind in der

[25] Vgl. OECD-Grundsätze der Guten Laborpraxis (1997)
[26] Vgl. Umweltbundesamt (2005), S. 2

DIN EN ISO/IEC 17025 festgeschrieben. „Der Bereich interne Qualitätssicherung innerhalb eines Laboratoriums muss parallel zur externen Qualitätssicherung zwischen den Laboratorien auf nationaler und internationaler Ebene entwickelt werden.
Zu den **internen QS-Maßnahmen** gehört eine Reihe von Maßnahmen, die laborintern von jedem Labor durchgeführt werden müssen, so wie es auch im Rahmen der Akkreditierung von Laboren gefordert wird:

- Erarbeitung eines Qualitätsmanagement-Handbuchs
- Dokumentation der eingesetzten Untersuchungsverfahren von der Probenahme über die einzelnen Untersuchungsschritte bis hin zum Endergebnis (einschließlich Datenhaltung und Archivierung des Untersuchungsmaterials)
- Anlage von Vergleichs- und Belegsammlungen
- Qualifikation und regelmäßige Schulung des Personals bezüglich sämtlicher Verfahrensschritte
- Validierung/Verifizierung der eingesetzten Untersuchungsmethoden zur Ermittlung der Verfahrenskenndaten

Zu den **externen QS-Maßnahmen** gehören die regelmäßige Teilnahme an nationalen und internationalen Laborvergleichen, an Ringversuchen (RV) und an Schulungen und Workshops.“[27]

2.5.2. Besonderheiten biologischer Verfahren, speziell der Phytoplanktonanalyse

Im Vergleich zu vielen chemischen Methoden und Produktionsprozessen ist die Qualitätssicherung in der biologischen Analytik und speziell in der Phytoplanktonanalyse noch nicht ausgereift.[28] Im Hinblick auf ihre wirtschaftliche und auch politische Bedeutung sowie einen zunehmenden Wettbewerb untersuchender Labore und Unternehmen bedeutet QS auch Kompetenzfeststellung nach Maß, um analytische Leistungsfähigkeit vor Auftraggebern und Gerichten darzustellen. Zurzeit ist ein stetig wachsender Anspruch nach Etablierung anerkannter QS-Systeme zu beobachten. Eine offizielle Akkreditierung durch ein Prüfinstitut ist für viele Vergabeverfahren mittlerweile Teilnahmevoraussetzung. Dies stellt für viele kleine

[27] Vgl. Umweltbundesamt (2005), S. 2
[28] ebd., S. 1

Labore ein Hindernis dar, da die erheblichen Kosten auf die geringe Probenzahl nicht umlegbar sind. Umso wichtiger ist auch für solche Labore der Nachweis ihrer Leistungsfähigkeit und der Reproduzierbarkeit ihrer Ergebnisse durch den Einsatz eines ausgereiften QS-Systems. National und international hat sich die Erkenntnis durchgesetzt, dass auch auf biologischem Gebiet Daten nur noch dann akzeptiert werden, wenn sie durch entsprechende QS-Maßnahmen abgesichert werden. Dies trifft im Besonderen auf die Umsetzung der WRRL im limnischen Bereich zu.[29]

Die Schwierigkeit liegt dabei in der Eigenart vieler biologischer Verfahren, sehr subjektiv und abhängig von Erfahrungen zu sein. Die Bestimmung des Phytoplanktons bis auf Artniveau beispielsweise erfordert einen hohen und spezifischen Wissensstand; die Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Bearbeitern wird dadurch erschwert und die „Fehlerquelle Mensch“ spielt eine deutlich größere Rolle als bei automatisierten Verfahren. Oft gibt es außerdem keine Sollwerte und der wahre Wert ist unbekannt, wodurch ein umfassendes Konzept zur Qualitätssicherung noch fehlt. Lediglich einzelne Schritte wurden bisher überprüft und validiert. Die Phytoplanktonanalyse unterliegt zudem, wie viele biologische Verfahren, großen Schwankungen. Diese gilt es, wie auch die anderen potenziellen Fehlerquellen, unter Kontrolle zu bringen. Dabei sind die beiden Parameter Artenzusammensetzung (qualitativ) und Biomasse (quantitativ) zu unterscheiden. Da die Bestimmung der Taxa durch den Bearbeiter in einer Teilprobe unabhängig von der Auszählung der Zellzahl erfolgt, sind beide Aspekte getrennt zu behandeln.

Im folgenden Abschnitt soll nun zunächst die Phytoplanktonanalyse methodisch beschrieben werden, um im Anschluss für die Methode vorhandene QS-Maßnahmen darzustellen und Defizite im Vergleich mit geforderten QS-Maßnahmen aufzudecken.

[29] Vgl. Umweltbundesamt (2005), S. 1

2.6. Poisson-Verteilung in der Phytoplanktonanalyse

Die Poisson-Verteilung (benannt nach dem französischen Mathematiker Siméon Denis Poisson (1781-1840)) ist eine diskrete Wahrscheinlichkeitsverteilung, mit der die Anzahl von Ereignissen modelliert werden kann, die mit konstanter Rate und unabhängig voneinander in einem festen Zeitintervall oder räumlichen Gebiet eintreten.[30] Ein Anwendungsbeispiel ist die zufällige Verteilung von Pflanzen derselben Spezies über eine Region, z. B. ein Feld (*Abbildung 5*).

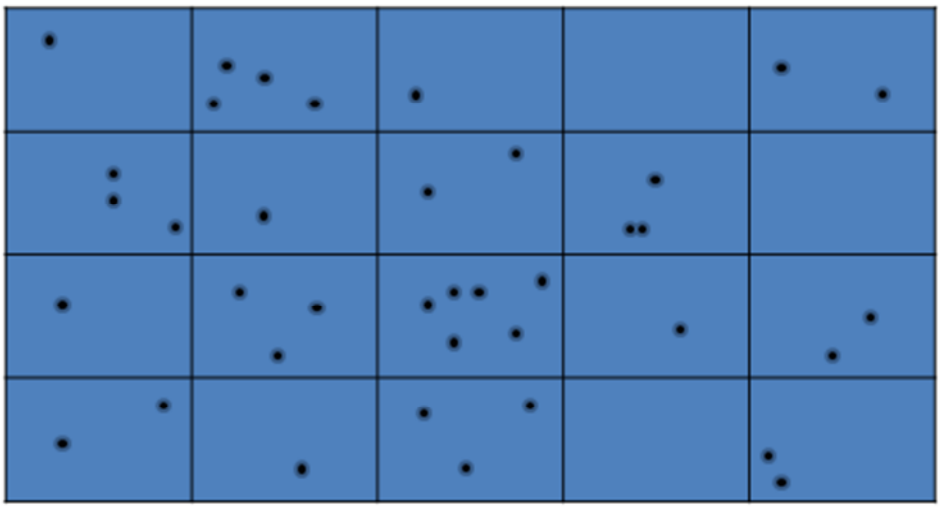


Abbildung 5: Verteilung von einzelnen Pflanzen derselben Spezies über eine Region (Quelle: Eigene Darstellung, nach Batschelet (1971))

Die n = 20 Felder in *Abbildung 5* enthalten je k = 0,..., 6 Pflanzen und insgesamt befinden sich G = 38 Pflanzen im betrachteten Ausschnitt.

Um das Muster der zufällig verteilten Pflanzen mathematisch zu beschreiben, führt man zunächst ein hypothetisches Zufallsexperiment durch. Dazu ersetzt man die Pflanzen durch Bälle, die unendlich oft über der Region fallengelassen werden, sodass jedes Rechteck dieselbe Wahrscheinlichkeit hat, getroffen zu werden. Jeder Versuch soll dabei unabhängig vom nächsten sein.

[30] Vgl. Batschelet (1971), S. 382 ff.

Der Vergleich zwischen dem Experiment und der berechneten Poisson-Verteilung P(X = k), wobei $\lambda = G/n = 38/20 = 1{,}9$ Pflanzen/Quadrat ist, zeigt eine gute Übereinstimmung (*Tabelle 1*):

Tabelle 1: Poisson-Verteilung am Beispiel zufällig verteilter Pflanzen

k	gezählt	P(X = k) * 20
0	3	2,84
1	6	5,7
2	5	5,54
3	4	3,5
4	1	1,62
5	0	0,58
6	1	0,16

Quelle: Eigene Berechnung, nach Batschelet (1971)

Das gleiche Prinzip lässt sich für die Gleichverteilung der Partikel auf dem Boden der Zählkammer nach der Sedimentation anwenden. Laut ENV ISO 13843 ist eine Poisson-Verteilung die „vollkommen zufällige Verteilung der Partikelzahlen bei Beprobung einer vollständig durchmischten Suspension“[31]. Mit Hilfe der Poisson-Verteilung lässt sich der unvermeidlich bei der Entnahme einer Teilprobe entstehende Fehler abschätzen. „Ergibt die visuelle Begutachtung, dass die Phytoplanktonorganismen zufällig ohne bedeutende Verklumpung oder ein zentrifugales oder zentripetales Muster verteilt sind, kann man die Annahme der Zufallsverteilung (...) überprüfen. Um zu bewerten, ob die Organismen als zufällig über die ausgezählte Kammerfläche verteilt angesehen werden können, bestimmt man das Verhältnis von Streuung zu Mittelwert.“[32]

Die Wahrscheinlichkeit P(k), genau k Partikel in einem Testvolumen zu beobachten, wenn der Mittelwert $\bar{x}$ ist, berechnet sich dann nach der Formel (1) für die Poisson-Verteilung[33]:

$$(1)\ P(X = k) = \frac{\bar{x}^{\,k} e^{-\bar{x}}}{k!}.$$

[31] ENV ISO 13843 (2001), S. 10
[32] DIN EN 15204 (2006), S. 24
[33] Batschelet (1971), S. 385

3. Erfassung und Bewertung von Planktonorganismen

3.1. Verfahrensbeschreibung

Da unterschiedliche Fragestellungen in unterschiedlichen Anforderungen an das Untersuchungsverfahren resultieren (siehe 2.3.), gibt die DIN EN 15204 (2006) lediglich eine Anleitung zu „grundsätzlichen Gesichtspunkten der mikroskopischen Algenanalyse sowie zu statistischen Verfahren zur Gestaltung, Optimierung und Validierung der Verfahren und Arbeitsvorschriften“[34]. Auf dieser Grundlage basiert die Standardarbeitsanweisung SAA 1 – 04 der Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen Untersuchungsstelle (US) Plauen zur „Qualitative(n) und quantitative(n) Phytoplanktonuntersuchung“ vom 01.11.2006[35].

Beide Anleitungen basieren auf der Standard-Absetztechnik nach Utermöhl und beschreiben, dass die Probe „nach Konservierung und Lagerung homogenisiert und eine Teilprobe in eine Sedimentationskammer gegeben wird. Nach der Sedimentation der Algen auf dem Bodenglas der Kammer werden sie mittels Umkehrmikroskopie bestimmt und gezählt.“[36] Zum Verfahren zählen aber auch sämtliche Arbeitsvorgänge, die der Probenahme und Probenvorbereitung, der qualitativen und quantitativen Untersuchung samt der nachfolgenden Berechnung und Bestimmung sowie der Qualitätssicherung dienen. Vergleichbare Anleitungen zur Phytoplanktonanalyse bieten auch die „Technische(n) Informationen Nr. 7“ der Arbeitsgemeinschaft Trinkwassertalsperren e. V. Arbeitskreis Biologie (ATT)[37] und das „Handbuch Angewandte Limnologie“[38].

[34] DIN EN 15204 (2006), S. 4
[35] Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006)
[36] DIN EN 15204 (2006), S. 8
[37] Hoehn et al. (1998)
[38] Nixdorf et al. (1995)

Laut Anlage 9 zu § 9 OGewV sollen „die Überwachungsfrequenzen und -intervalle (…) so gewählt werden, dass ein hinreichender Grad der Zuverlässigkeit und Genauigkeit der Bewertung des Zustandes sowie der langfristigen Veränderungen erreicht und der Schwankungsbreite bei den Parametern, die auf natürliche und auf anthropogene Ursachen zurückgeht, Rechnung getragen wird.“ Für die biologische Qualitätskomponente Phytoplankton ist für Seen – also auch Trinkwassertalsperren – eine Überwachungsfrequenz von sechs Proben/Jahr (relevante Vegetationsperiode) angegeben.

Die konkrete Durchführung der Phytoplanktonanalyse wird in der SAA nun wie folgt beschrieben: „Die Proben sollten unmittelbar nach ihrer Entnahme aus dem Wasserkörper mit einem festgelegten Konservierungsmittel fixiert werden. (…) Zusätzlich (ist) eine unfixierte Lebendprobe für die taxonomische Differenzierung abzufüllen.“[39] Lagerungstemperatur und -dauer sind dabei ebenso konkret vorgeschrieben wie Anforderungen an Probenahmeflaschen und Konservierungsmittel. „Um die für die Zählung statistisch erforderliche Partikelverteilung in der Zählkammer zu gewährleisten“[40], sollte die Probenvorbereitung sowohl eine Temperaturangleichung von Probe und verwendeten Gerätschaften als auch eine Homogenisierung der Proben durch sorgfältiges Schütteln umfassen. Um Kolonien oder Zellaggregate zur Erfassung der Einzelzellen zu zerstören, kann der Einsatz von Ultraschall notwendig werden. Im Anschluss werden die Absetz- und Zählkammern mit der so vorbereiteten Probe befüllt (*Abbildung 6*).

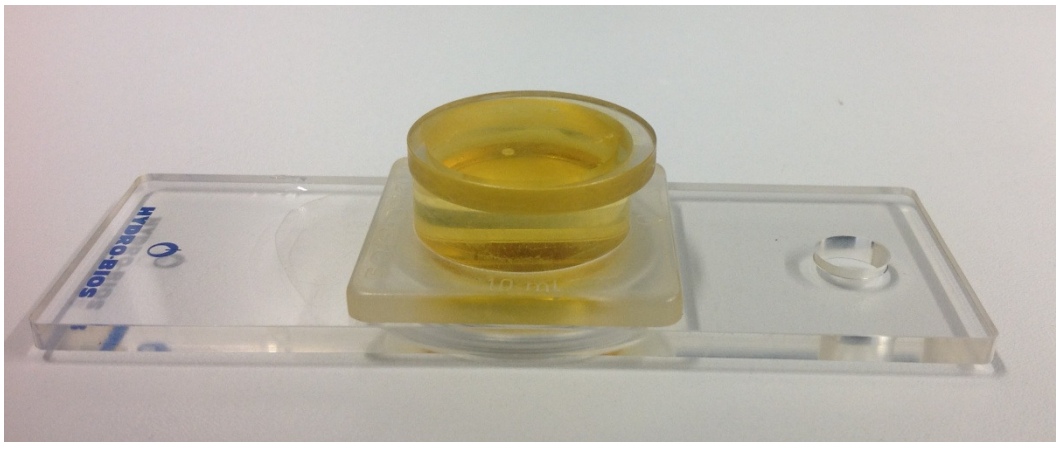


Abbildung 6: Mit Algensuspension befüllte Zählkammer mit aufgesetztem Absetz- bzw. Sedimentationszylinder (Quelle: Foto Andreas Meybohm)

[39] Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006), S. 5
[40] ebd.

Dabei ist eine Reihe von Punkten zu beachten. Besonders wichtig sind die Vermeidung von Luftblasen sowie die richtige Wahl der Absetzvolumina und -zeiten. „Das erforderliche Sedimentationsvolumen (…) richtet sich nach dem zu erwartenden Phytoplanktongehalt[41] der Probe und wird am Chlorophyllgehalt (…) orientiert.“[42] Letzterer wird in einem separaten Verfahren spektrophotometrisch aus dem Filterrückstand einer Oberflächengewässerprobe bestimmt[43] und gibt Aufschluss über das mengenmäßige Vorkommen des Phytoplanktons. Je größer das Volumen desto länger die Absetzzeiten (siehe *Tabelle 2*).

Tabelle 2: Absetzzeiten für lugolfixierte Proben (4 h/cm Kammerhöhe)

Kammervolumen (ml)	Absetzzeit (h)
50	48
25	24
10	10
5	4
2	2

Quelle: Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006)

Nach erfolgtem Absetzen wird eine qualitative Voruntersuchung durchgeführt. Diese kann verschiedenen Zwecken dienen. „Die qualitative Voruntersuchung einer lebenden, unfixierten Probe dient vor allem der Identifizierung von Planktonorganismen und dem Auffinden seltener Arten. Die Voruntersuchung der vorbereiteten Proben durch Durchmustern der Kammer bei geringer Vergrößerung dient der Überprüfung der Partikelverteilung in der Kammer, der Schaffung eines Überblicks über die Zusammensetzung der Phytoplanktonzönose sowie der Festlegung der Zählstrategie.“[44] Untersuchung bedeutet hier Begutachtung unter dem Umkehrmikroskop (*Abbildung 7, 8*).

[41] Es wird eine optische Vorbetrachtung durchgeführt und die zu erwartende Phytoplanktonmenge anhand der Erfahrung des Bearbeiters geschätzt.
[42] Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006), S. 8
[43] Vgl. DIN 38412-L16 (1985)
[44] Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006), S. 9



Abbildung 7: Umkehrmikroskop (Quelle: Foto Andreas Meybohm)

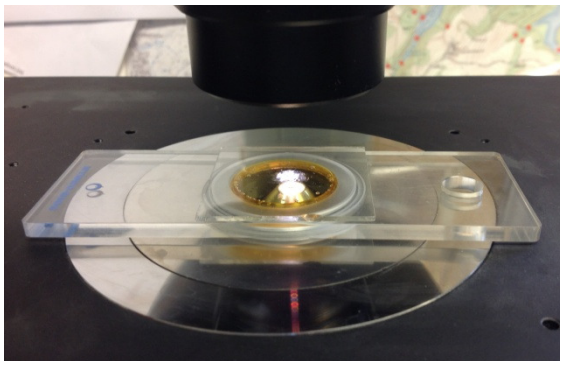


Abbildung 8: Zählkammer mit Deckgläschen im Umkehrmikroskop (Quelle: Foto Andreas Meybohm)

„Grundlage" der anschließenden quantitativen Untersuchung „ist die Zählung der Anzahl von ‚Algenobjekten' in einer bekannten Anzahl nach dem Zufall ausgewählter Felder oder Zählstreifen bekannter Größe in einer Zählkammer von bekannter Fläche und bekanntem Volumen."[45] Die Wahl der Zählstrategie (Zählfelder, -gitter, -raster[46]; Zählstreifenmethode[47] oder Auszählen der gesamten Kammer[48] (siehe *Abbildungen 9, 10*)) hängt stark von der „benötigten Information" – sprich der Fragestellung – sowie „der Abundanz der jeweiligen Phytoplanktonart"[49] ab. Innerhalb einer Probe kommen in der Regel mehrere Zählstrategien zum Einsatz. Mit einer Zählstrategie werden Arten ähnlicher Größe und ähnlicher Konzentration erfasst. Die Zählstrategie hat einen großen Einfluss, sowohl auf die Genauigkeit und die Präzision des Ergebnisses, als auch auf seine Reproduzierbarkeit.[50] In einem Zählprotokoll werden Zählstrategie, verwendete Vergrößerung und sonstige Erkenntnisse notiert.

[45] Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006), S. 10
[46] Diese Strategie für „kleine Zellen" (...) bei „hohen Vergrößerungen" beinhaltet das „Auszählen von Feldern definierter Größe, die vom Untersuchenden pseudozufällig ausgewählt werden", wobei „mindestens 10 Felder stochastisch über (die) gesamte Kammerfläche verteilt" ausgewählt werden.
[47] Dieser „häufigste Zählmodus" eignet sich „für Zellgrößen ab ca. 5 µm" und „Vergrößerungen von 40 bis 400fach" und beinhaltet das „Auszählen von Ausschnitten", also „ein oder mehrere Streifenflächen über den gesamten Kammerdurchmesser".
[48] Das „Auszählen der gesamten Kammer" ist sinnvoll „bei geringer Vergrößerung (...) für große Zellen, die in geringer Dichte auftreten".
[49] Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006), S. 10
[50] Zählstrategie und Poisson-Verteilung der Partikel nach der Sedimentation beeinflussen das Ergebnis stark, da aus Ungleichverteilung und ungeeigneter Zählstrategie ein sehr großer systematischer Fehler resultiert (z. B. Verklumpung und zufällige Zählung nur leerer oder nur voller Gitterfelder).

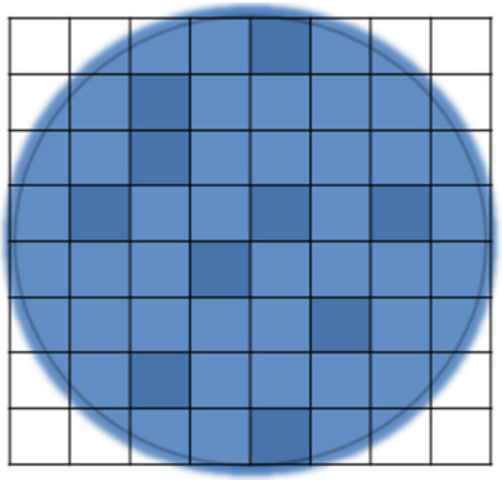


Abbildung 9: UTERMÖHL-Kammer mit Zählgitter, dunkle Felder zum Auszählen ausgewählt (Quelle: Eigene Darstellung)

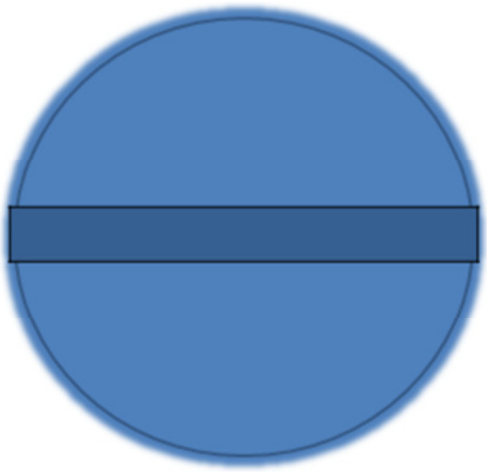


Abbildung 10: UTERMÖHL-Kammer mit Zählstreifen, dunkler Streifen zum Auszählen ausgewählt (Quelle: Eigene Darstellung)

Mit Hilfe eines Kalkulationsprogrammes (z. B. LimnoBase) werden aus den Zählergebnissen die Individuenzahlen in Mio. Zellen/l und die Biovolumina in mm^3/l errechnet.[51]

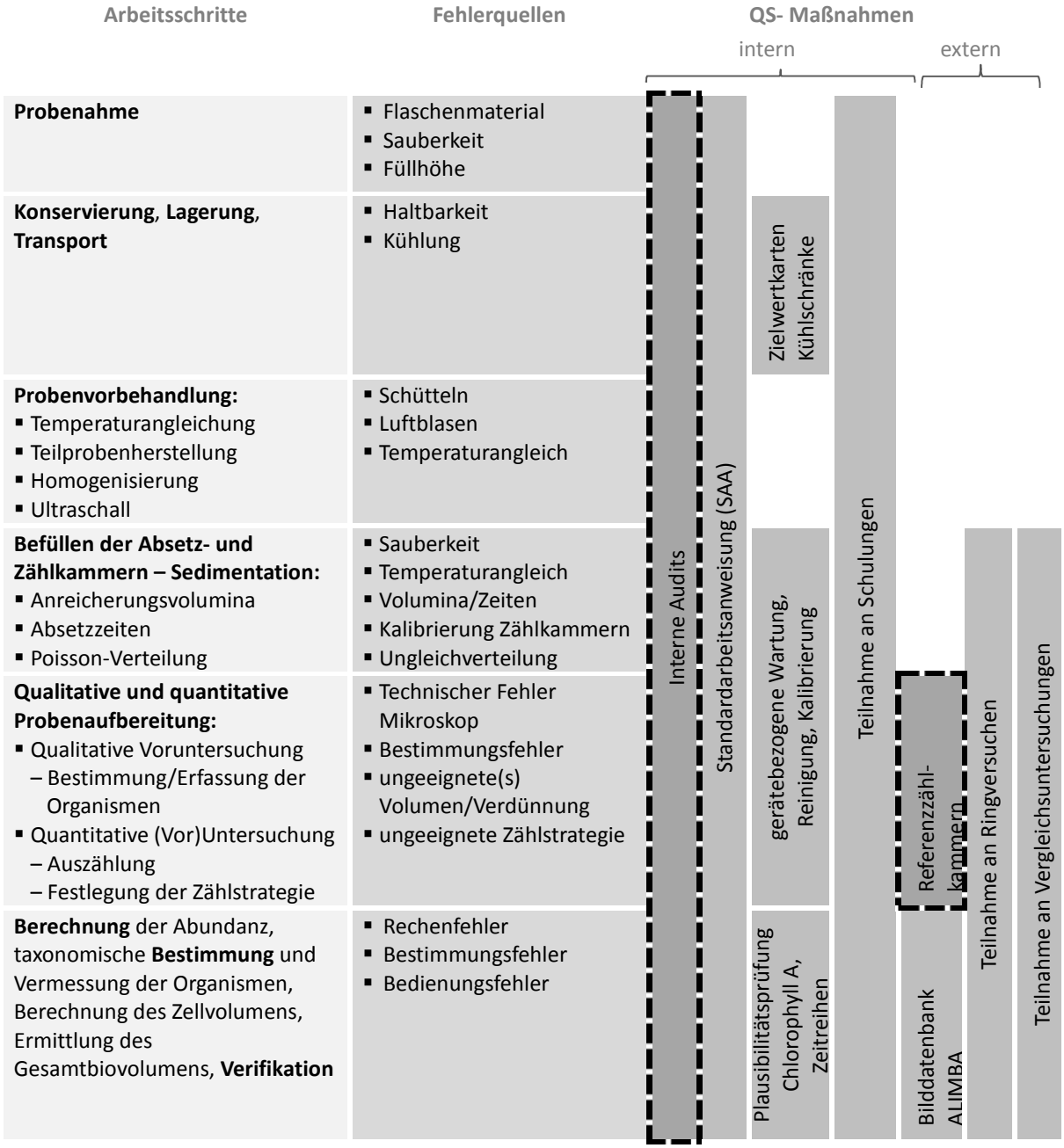
Als nächster Arbeitsgang ist die taxonomische Probenbearbeitung zu nennen, die über die quantitative Voruntersuchung hinausgeht. Für die taxonomische Bestimmung der Spezies wird „die wissenschaftlich anerkannte Bestimmungsliteratur“[52] herangezogen (z. B. die Reihe „Süßwasserflora von Mitteleuropa“[53]). Außerdem ist eine softwaregestützte Bilddatenbank mit „Ikonotypen“[54] als Referenz vorhanden (ALIMBA (Algae Image Base)). Die Erfahrung des bearbeitenden Biologen spielt an dieser Stelle die größte Rolle – „die Konsultation mit anderen Biologen bzw. Spezialisten“[55] kann sinnvoll und nötig sein. Alle Arbeitsschritte sind in *Tabelle 3* zusammengefasst.

Eine abschließende Überprüfung der Plausibilität der Ergebnisse erfolgt über Vergleiche mit vorherigen Messungen sowie Zeitreihen und der Vergleichsmessung des Chlorophyll-a-Gehaltes. Um die Repräsentanz der Ergebnisse zu beurteilen, sind eine Analyse der möglichen Fehlerquellen und eine Abschätzung der Reproduzierbarkeit der Zählung notwendig. Der Einfluss von Ungleichverteilungen im Gewässer und natürlicher Variabilität, die durch Umweltgradienten (Licht, Nährstoffen, Avoidance-

[51] Vgl. Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006), S. 12
[52] ebd., S. 13
[53] o. V. (1980)
[54] Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006), S. 13
[55] ebd., S.14

Verhalten etc.) hervorgerufen werden, können durch die Auswahl eines möglichst repräsentativen Probenahmeortes/-zeitpunktes oder Mehrfachproben minimiert werden.

Tabelle 3: Verfahrensschema der Phytoplanktonanalyse und zugeordnete potenzielle Fehlerquellen sowie vorhandene QS-Maßnahmen zu deren Kontrolle



Quelle: Eigene Darstellung

Die SAA benennt bereits einige mögliche Fehlerquellen, die dieses Verfahren beeinträchtigen können. Im nächsten Abschnitt werden diese erläutert und weitere Ursachen diskutiert.

3.2. Fehlerarten und potenzielle Fehlerquellen bei der Phytoplanktonanalyse

Als Fehler wird in DIN EN 15204 eine „Abweichung zwischen einem Einzelergebnis und dem wahren Wert“[56] definiert. Genauer ist die Definition aus ENV ISO 13843 „Die Genauigkeit einer Messung ist die Nähe der Übereinstimmung zwischen dem Ergebnis einer Messung und dem akzeptierten Referenzwert. Wird der Begriff „Genauigkeit“ auf eine Reihe von Testergebnissen angewandt, so beinhaltet er eine Zufallskomponente und einen allgemeinen systematischen Fehler (...).“[57] Laut DIN EN 14996 „(...) kann sich die Genauigkeit auch auf die Verwendung der korrekten taxonomischen Bezeichnung für einen Organismus beziehen“[58].

Der zufällige Fehler (Richtigkeit, Bias) gibt laut dieser Norm „die Differenz zwischen einem individuellen Ergebnis und dem Mittelwert“ an, beziehungsweise „einen Mittelwert einer unendlich großen Anzahl von Messungen der gleichen Messgröße unter Wiederholbedingungen, dividiert durch den wahren Wert für die Messgröße“[59]. Eine unendliche Anzahl an Messungen erlaubt hypothetisch eine beliebig genaue Bestimmung des Mittelwerts und damit einen Ausschluss von zufälligen Fehlern. „Da (aber) nur eine begrenzte Anzahl von Messungen durchgeführt werden kann, kann der Bias nur abgeschätzt werden.“[60]

Konkret für die Phytoplanktonanalyse beschreibt die „Verfahrensanweisung Abschätzung der Messunsicherheit bei der Phytoplanktonanalyse“ der LTV Sachsen die möglichen Fehlerquellen bei der Phytoplanktonanalyse wie folgt:

- „**Zufällige Fehler (statistischer Fehler)**: Werden von Faktoren verursacht, die nicht beeinflusst werden können (Problem Stichprobe vs. Grundgesamtheit, Auszählung von Teilflächen auf dem Zählkammerboden etc.). Die zufälligen Fehler unterliegen bekannten statistischen Gesetzen und können folglich relativ genau abgeschätzt werden.

[56] DIN EN 15204 (2006), S. 5
[57] ENV ISO 13843 (2001), S. 6
[58] DIN EN 14996 (2006), S. 5
[59] ebd., S. 6
[60] ebd.

- **Methodisch bedingte Fehler:** Werden durch Unzulänglichkeiten in der Probenahmetechnik und -behandlung, Verdünnungsmaßnahmen oder der Teilprobenentnahme (z. B. Pipettierfehler, Individuenklumpen um Partikel, Überdeckungen, Gleichverteilungen, physiologisch bedingte Fehler wie das ‚Zerplatzen' bzw. der Zerfall von Individuen/Kolonien in Ansätzen mit niedrigen Individuendichten) oder der Wahl ungeeigneter Zählstrategien hervorgerufen. Sind sie bekannt, lassen sie sich minimieren, bedingt durch die Nachweisgrenze der Methode jedoch niemals völlig vermeiden."[61]
- „(...) **subjektive Fehler** (z. B. Zähl-, Identifizierungsfehler)"[62]

„Alle vorab skizzierten Möglichkeiten, welche das Zählergebnis beeinflussen können, wirken synergetisch und können meist auch nicht klar voneinander getrennt werden. Der statistische Zählfehler kann experimentell nicht eindeutig quantifiziert werden, da methodische Fehler nicht auszuschließen sind, Methodenfehler wiederum, die man durch Zählungen quantifizieren möchte, beinhalten dann stets einen statistischen Zählfehler. Lediglich der maximal mögliche statistische Zählfehler (F) lässt sich (nach Formel (2); mit t-Wert nach STUDENT, *N* = Zählzahl) berechnen."[63]

(2) $F = \pm t \cdot 100/\sqrt{N}[\%]$

„Der Zählfehler grenzt dabei den Bereich ab, innerhalb dessen mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit (meist 95 %-Eintrittswahrscheinlichkeit) der wahre Zählwert liegt, wobei keine anderen als die rein zufällig auf die Verteilung des Planktons in der Zählkammer einwirkenden Faktoren als Größen angenommen werden (Ungleichverteilungen auf dem Kammerboden, nicht zufällig ausgewählte Zählfelder oder andere Unregelmäßigkeiten sind dem Methodenfehler zugehörig und werden nicht durch den Zählfehler erfasst, sie kommen jedoch zu diesem hinzu)."[64]

Bei der Phytoplanktonanalyse werden **zufällige** Fehler durch hohe Probenzahlen minimiert und der berechnete verbleibende Zählfehler im Prüfbericht zu jedem Ergebnis angegeben.

[61] Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Paulsdorf, Plauen, Radeburg, Saidenbach (2006), S. 2 f.
[62] Vgl. ebd.
[63] ebd., S. 3
[64] ebd.

Die SAA der Landestalsperrenverwaltung nennt folgende mögliche **systematische** Fehlerursachen für die wie in Kapitel 3.1. beschrieben durchgeführte Phytoplanktonanalyse und führt zum Teil auch gleich Lösungsvorschläge auf:

- „Temperaturdifferenzen zwischen Prüfgegenstand und den verwendeten Gerätschaften können zu Konvektionsströmungen in den Absetzkammern führen, die in ungünstigen Partikelverteilungen resultieren.
- Ungleichverteilung der Organismen in der Zählkammer, die auf eine nicht waagerechte Unterlage während der Sedimentation zurückzuführen ist.
- störende Blasenbildung in zu kalten Proben (Gaslöslichkeit nimmt bei Temperaturanstieg ab): es ist ein ausreichender Temperaturanstieg zu gewährleisten
- hoher Detritus-/Trübstoffanteil (mineralischer Partikel) in der Probe: ggf. die Probe verdünnen
- Verklumpungen: ggf. die Probe schütteln oder bspw. vorsichtig mittels Ultraschall (ohne Zerstörung der Phytoplankter) behandeln (Achtung: hohe Fehlergefahr durch Zerstörung sehr empfindlicher Phytoplankter!)
- zu lange Lagerung der Proben (Zersetzung des Fixiermittels, Fixierungs-Artefakte bei den Organismen, wie das Abwerfen von Geißeln, Verlust diakritischer Bestimmungsmerkmale etc.!): Abhilfe schafft in der Regel nur die alsbaldige Aufarbeitung der Proben (ggf. sollte auf Aufzeichnungen, die zur dazugehörigen Lebendprobe festgehalten wurden, zurückgegriffen werden) bzw. eine Fixierung mit Formaldehyd.“[65]

Es fällt auf, dass alle genannten Fehlerquellen in der Phase der Probenvorbereitung auftreten. Zum einen zeigt dies die besondere Bedeutung dieses Arbeitsganges für die Größe des Fehlers; zum anderen wirft es aber die Frage auf, welche weiteren Fehlerquellen in Betracht kommen.

Da alle Teilvorgänge manuell durchgeführt werden, sind auch überall „menschliche“ Fehler möglich. Dies beginnt bereits bei der Probenahme und zieht sich, wie zuvor gezeigt, durch die Probenvorbereitung bis hin zur abschließenden Messung.

[65] Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006), S. 14

Folgende Auflistung nennt weitere systematische Fehlerursachen:

- Arbeitsvorschrift mit Fehler verbunden (nicht validiert)
- **Probenahme und -transport:**
    - Flasche nicht sauber
    - Flasche nicht geeignet (soll: z. B. undurchlässig für Konservierungsmittel)
    - Flasche nicht dicht (soll: wasser- und gasdicht)
    - Flasche zu voll (soll: nur 80 %, um ausreichende Homogenisierung zu ermöglichen)
    - ungenügende Kühlung beim Transport
- **Probenvorbereitung:**
    - Konservierung:
        - Haltbarkeit Färbemittel/Konservierungsmittel (Lugol‘sche Lösung, Formaldehyd) abgelaufen
        - Fehler bei Konservierung (Lebendprobe fälschlicherweise konserviert, unzureichende oder zu hohe Konzentration von Konservierungsmittel)
    - Lagerung (falls nötig):
        - zu lange gelagert (soll: Lebendproben max. 36 h; lugolfixiert bis 12 Monate; darüber formolfixiert)
        - ungeeignete Temperaturen (soll: 4 – 10 °C)
        - nicht dunkel gelagert
        - Verdunstung durch ungeeignete Flaschen (siehe Probenahme)
    - Teilprobenerstellung/Homogenisierung:
        - unzureichendes Schütteln (soll: standardisiert kreisend, achtenförmig)
        - Algen durch zu starkes Schütteln geschädigt
        - Luftblasen
        - starke Koloniebildung
    - Sedimentation:
        - Inhalt der Sedimentationszylinder und/oder Zählkammern nicht kalibriert – ungenaues/schwankendes Volumen
        - Sedimentationszylinder/Zählkammern nicht sauber

        - Probe und/oder Geräte/Materialien nicht genug an Umgebungstemperatur angeglichen -> konzentrisches Muster
        - keine Zufallsverteilung der Algen auf dem Kammerboden (als Indikator für einen systematischen Fehler)

- **Analyse:**
    - Umkehrmikroskopie:
        - Okularmikrometer und Zählraster ungenau
        - falsche Einstellungen am Mikroskop (soll: 1,5- bzw. 2-fache Nachvergrößerung)
        - nach Wartung/Reinigung falscher Einbau der Optik
            - Zwischenringe
            - zusätzliche Optik, Adapter etc.
        - fehlerhafte Kalibrierung
            - fehlerhafte Bestimmung der Vergrößerungen mittels Objektmikrometer
            - fehlerhafte Flächenberechnung der Zählfläche
    - Bestimmung:
        - falsche Bestimmung (Taxa falsch)
        - unvollständige Bestimmung (Taxa übersehen)
    - Auszählung:
        - unterschiedliche Arbeitsvorschriften je nach Fragestellung; jede mit eigenem Fehler (Optimierung wichtig wegen Zeitaufwand -> Kosten)
        - ungeeignete Zählstrategie
        - Volumen der Teilprobe bzw. Verdünnung ungeeignet
            - zu geringes Sedimentationsvolumen (zu viele Algen):
                - Klumpen, Haufenbildung, Überdeckung
                - Fehler und Anzahl auszuzählender Felder gering (gut)
                - Richtigkeit des Nachweises sinkt (Nachweisgrenze hoch)
                - Ermüdung des Untersuchers, Übersehen von Algen

- zu hohes Sedimentationsvolumen (zu wenig Algen):
  - großer systematischer Zählfehler
  - Zählung einer geringen Anzahl von Zellen – hoher statistischer Zählfehler
  - Nachweisgrenze niedrig (gut)

- Zellvolumenberechnung:
  - falsche Formel, fehlerhafte Formel
  - Einheit falsch (μm^3 statt mm^3/L)[66]

Eine Übersicht über das Auftreten möglicher Fehlerquellen im Verlauf des Verfahrens gibt *Tabelle 3* auf S. 28.

3.3. IST-Zustand der Qualitätssicherung im Labor LTV Sachsen, US Plauen[67]

3.3.1. Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien

Nach § 8 Absatz 2 der Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer ist gefordert, dass „Laboratorien, die an der Überwachung biologischer, chemischer oder physikalisch-chemischer Qualitätskomponenten mitwirken, (…) die erforderlichen qualitätssichernden Maßnahmen (…) ergreifen, um eine hinreichende Zuverlässigkeit und Genauigkeit der Überwachungsergebnisse sicherzustellen. Die Laboratorien haben insbesondere die Anforderungen nach Anlage 8 Nummer 2 zu erfüllen."
Diese beinhalten unter anderem Folgendes:
„Für die Überwachung der Einhaltung von Umweltqualitätsnormen für Stoffe in Gewässern sind nur solche Analysenmethoden anzuwenden, die (...) im Einklang mit

[66] Vgl. Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006)
[67] Dieser ist repräsentativ für die meisten europäischen Labore, welche die Phytoplanktonanalyse durchführen.

der Norm DIN EN ISO/IEC 17025 validiert und dokumentiert sind. (...) Die Laboratorien, die chemische oder physikalisch-chemische Qualitätskomponenten überwachen, haben ein Qualitätsmanagementsystem im Einklang mit der Norm DIN EN ISO/IEC 17025 anzuwenden. Sie haben ihre Befähigung für die Durchführung der erforderlichen Analysen nachzuweisen durch:

- die Teilnahme an Ringversuchen zur Laboreignungsprüfung mit Proben, die repräsentativ für den untersuchten Konzentrationsbereich sind (...), und
- die Analyse verfügbarer Referenzmaterialien, die bezüglich Konzentration und Matrix repräsentativ für die zu analysierenden Proben sind.

Die Laboratorien, die biologische Qualitätskomponenten überwachen, haben die Befähigung für die Durchführung der erforderlichen Untersuchungen nachzuweisen und qualitätssichernde Maßnahmen durchzuführen, wie z. B. die Teilnahme an Schulungen, Vergleichsuntersuchungen sowie das Sammeln und Archivieren von Belegexemplaren der untersuchten Organismen."

Bei einer Akkreditierung nach DIN EN ISO/IEC 17025 wird das Vorhandensein diverser QS-Maßnahmen vorausgesetzt und überprüft. Diese internationale Norm enthält alle Anforderungen, „die Prüf- und Kalibrierlaboratorien erfüllen müssen, wenn sie nachweisen wollen, dass sie ein Qualitätsmanagementsystem betreiben, technisch kompetent und fähig sind, fachlich fundierte Ergebnisse zu erzielen."[68] Die entsprechenden europäischen Normen EN ISO 9001 und EN ISO 9002 gelten mit Arbeit nach DIN EN ISO/IEC 17025 automatisch als erfüllt, da ihr Inhalt in die DIN EN ISO/IEC 17025 aufgenommen wurde. Allgemein sollte auch ohne Akkreditierung jedes Labor diese im Folgenden beschriebenen allgemeinen Aspekte ebenso wie die „Gute Laborpraxis" (siehe 2.5.) anwenden.

Neben personellen und organisatorischen Grundlagen muss ein Labor nach DIN EN ISO/IEC 17025 ein schriftlich niedergelegtes Qualitätsmanagementsystem vorweisen können. Dokumente, Prüfungen, Kalibrierungen, Verfahren und Fehler sollen einer Lenkung unterliegen. Bei fehlerhaften Prüf- und Kalibrierarbeiten erfolgt eine Bewertung mit der anschließenden Einleitung von Korrekturmaßnahmen. Diese umfassen die Fehlerfeststellung, interne Audits, externe Audits und Qualitätsmanagement-Bewertungen einschließlich Rückmeldungen vom Kunden und Beobachtungen durch das Personal. Das Ziel dieser Fehlersuche ist die Bestimmung der

[68] DIN EN ISO/IEC 17025 (2000), S. 3

grundlegenden Ursache(n). In der Folge werden Korrekturmaßnahmen ausgewählt und umgesetzt, überwacht und zusätzliche Audits durchgeführt, um die Wirksamkeit der Maßnahmen zu kontrollieren.[69]
Interne Audits sind in der Regel jährlich durchzuführen.[70]
Auch die technischen Anforderungen nach DIN EN ISO/IEC 17025 sind klar definiert. Analog zu den bereits beschriebenen potenziellen Fehlerquellen bei der Phytoplanktonanalyse bestimmt eine Vielzahl an Faktoren die Richtigkeit und Zuverlässigkeit der Prüfungen und/oder Kalibrierungen. Zu nennen wären dabei:

- „menschliche Einflüsse (Personal)
- Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen
- Prüf- und Kalibrierverfahren und Verfahrensvalidierung
- Einrichtungen
- messtechnische Rückführung (Referenzmaterialien)
- Probenahme
- die Handhabung von Prüf- und Kalibriergegenständen“[71]

Im Folgenden werden nun für das Labor LTV Sachsen, US Plauen die bereits vorhandenen QS-Maßnahmen für die Phytoplanktonanalyse dargestellt.

3.3.2. Vorhandene QS-Maßnahmen für die Phytoplankton-analyse im Labor LTV Sachsen, US Plauen

Es existieren bereits Maßnahmen, um punktuell Fehlerquellen mit Hilfe von Qualitätssicherungswerkzeugen auszuschließen. Andere QS-Maßnahmen wie beispielsweise die Teilnahme an Ringversuchen verifizieren mehrere Prozesse, da sie die Bearbeitung kompletter Proben mit folgenden Einzelschritten überprüfen: Abfüllung in die Sedimentationskammern, Festlegung der Zählstrategie, Erfassen der Organismen, Berechnung der Abundanz, Vermessung der Organismen, Berechnung des

[69] Vgl. ebd.
[70] Vgl. DIN EN ISO/IEC 17025 (2000), S. 21
[71] Vgl. ebd., S. 22

Zellvolumens, Ermittlung des Gesamtbiovolumens, taxonomische Bestimmung und Zuordnung zu den Phytoplanktonklassen. Dies reicht aber als rein externe Maßnahme nicht; auch interne QS ist notwendig.
Die SAA gibt folgende Maßnahmen für die „Sicherung der Qualität der erzielten Prüfergebnisse“[72] vor:

- Überwachung der Temperatur in den Kühlschränken zur Probelagerung erfolgt unter Verwendung von Zielwertkarten
- unmittelbare Analyse stets nach den Angaben der SAA und anerkannten wissenschaftlichen Regeln
- externe QS über betriebsinterne Vergleichsuntersuchungen (zwischen Laboren der LTV) und regelmäßige Teilnahme an RV
- bei softwaregestützten Auswertmodi Ergebnisausgabe mit unabhängiger Software überprüft
- Verfahren zur Abschätzung der Messunsicherheit vorgehalten (Verfahrensanweisung (VA) Messunsicherheit)
- Die apparative Ausstattung des Biologiearbeitsplatzes wird im regelmäßigen Turnus überprüft (z. B. fachmännische Wartung und Reinigung der Mikroskope). Über diese Maßnahmen werden gerätebezogene Aufzeichnungen geführt. Die Überprüfung der Kalibrierung der mikroskopischen Messeinrichtungen erfolgt im Rahmen von Vergleichsmessungen (z. B. bei Ringversuchen).[73]

Die nachfolgende Übersicht fasst die vorhandenen Qualitätssicherungsmaßnahmen für die Phytoplanktonanalyse im Labor LTV, US Plauen zusammen:

- Arbeitsvorschrift vor Anwendung validieren
- **Probenahme und -transport:**
    - Schulung, Zertifizierung der Probenehmer
    - Qualitätskontrolle der Fixierung über Farbe (soll: cognacfarben)
    - Flaschenreinigung vor Probenahme (VA Flaschenreinigung)
- **Probenvorbereitung:**
    - Konservierungsmittel mit Öffnungsdatum beschriften, dunkel lagern;

[72] Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006), S. 14
[73] Vgl. ebd.. S. 14 f.

regelmäßig überprüfen

- Lagerung (falls nötig):
  - Beschriftung mit Datum
  - Temperaturüberwachung der Kühl- und Brutschränke (Kontrollkarten)
  - Füllhöhe markieren und überprüfen
- Homogenisierung:
  - manuelle Schüttelverfahren genau standardisiert
  - besser Schüttelgerät (Taumelschüttler)
  - absetzen lassen, um Luftblasen zu entfernen
  - Ultraschall, um Kolonien aufzulösen
- Sedimentation:
  - ausreichend Zeit zum Temperaturangleich (abhängig von Temperatur und Probenvolumen ca. 12 h)
  - Kontrolle der Temperaturangleichung
  - Reinigung der Zählkammern
  - Inhalt der Zählkammern kalibrieren
  - Überprüfung auf Poisson-Verteilung als Validierung bei Einsatz neuer Verfahren oder Ausrüstung; sonst visuelle Kontrolle

- **Analyse:**
  - Umkehrmikroskopie:
    - Okularmikrometer und Zählraster für jede Vergrößerung mit Objektmikrometer kalibrieren
  - Bestimmung:
    - Schulung; Teilnahme an Bestimmungskursen
    - Teilnahme an Ringversuchen
    - Probenaufbewahrung/Bilddokumentation (VA Rückstellmuster)
    - Konsultation mit anderen Biologen (intern oder ATT Planktonworkshop)
  - Auszählung:
    - jede (Änderung der) Arbeitsvorschrift vor Anwendung validieren
    - Prüfen der Poisson-Verteilung vor Beginn jeder Zählung
    - geeignete Zählstrategien je nach Aufgabenstellung definieren

- Probe bei verschiedenen Dichten/Verdünnungen auszählen
- ideale Dichte/Verdünnung hängt von relativer Größe und Konzentration der Algen (Sichtbarkeit), Anzahl der nicht zu Algen gehörenden Teilchen (Detritus) und Fertigkeiten des Untersuchenden ab
- Teilnahme an Ringversuchen

o Verifizierung der Prüfergebnisse durch Plausibilitätstests anhand des Surrogat-Parameters für das Phytoplankton, dem Chlorophyll a-Gehalt der Probe (siehe 3.1.). Außerdem erfolgt eine Plausibilitätsprüfung anhand der Prüfergebnisse der zuletzt an der betroffenen Probenahmestelle gewonnenen Proben bzw. langjährigen Zeitreihen.[74]

Tabelle 3 auf Seite 28 gibt einen Überblick, welche potenziellen Fehlerquellen im Prozessverlauf durch welche QS-Maßnahmen unter statistische Kontrolle gebracht werden.
Im folgenden Kapitel werden die bestehenden Defizite und der Bedarf an weiteren QS-Maßnahmen beschrieben.

3.4. Defizite/Bedarfsanalyse

Beim Vergleich der von der OGewV sowie der DIN EN ISO/IEC 17025 geforderten QS-Maßnahmen und den bereits vorhandenen Komponenten für die Phytoplanktonanalyse fällt vor allem das Fehlen von Referenzmaterialien auf. Deren Entwicklung, Validierung und Einführung, inklusive Erstellung von Kontrollkarten und ihre Implementierung in vorhandene Ringversuche, sind als Ziel festzuhalten.
Die Prüfung auf Poisson-Verteilung der Algen auf dem Kammerboden nach der Sedimentation stellt ein weiteres Defizit dar. Momentan erfolgt die Einschätzung, ab wann die Kammer nicht auswertbar ist, sondern ein neuer Ansatz hergestellt werden

[74] Vgl. Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, US Plauen (2006)

sollte, rein subjektiv. Da die Verteilung der Partikel aber, wie in Kapitel 3.1. (S. 26) dargestellt, in Kombination mit der Auswahl der Zählstrategie einen solch großen Einfluss auf das Ergebnis hat, ist eine Methode zur Objektivierung der Prüfung erforderlich.

Weiterhin werden parallel zur externen Komponente der Teilnahme an Ringversuchen von der DIN EN ISO/IEC 17025 jährliche interne Audits zur Überprüfung möglichst vollständiger Abläufe und Prozesse gefordert. Auch diese fehlen bisher für die Phytoplanktonanalyse. Die Aufstellung eines Auditplanes sowie die Erarbeitung eines Fragenkataloges sind daher ein weiteres Ziel dieser Arbeit.

Bedarf besteht auch für eine Zusammenführung der vorhandenen und der neu zu entwickelnden Maßnahmen in einem umfassenden Qualitätssicherungssystem für die Phytoplanktonanalyse. Dabei können beispielsweise die entwickelten Referenzmaterialen in die Ringversuche integriert werden. Abschließend ist eine Überprüfung auf weitere Defizite vorzunehmen.

4. Entwicklung eines QS-Systems für die Phytoplanktonanalyse

4.1. Eignung und Verwendung von Referenzmaterialien

Die Bedeutung von Referenzmaterialien wurde bereits in Kapitel 1 dargestellt. Nach einer allgemeinen Übersicht, welche Anforderungen Referenzmaterialien generell erfüllen müssen, werden nun zunächst vorhandene Alternativen verglichen und im Anschluss neue Möglichkeiten untersucht.

4.1.1. Definition von Anforderungen an Referenzmaterialien

Die Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung definiert ein Referenzmaterial als „ein Material oder eine Substanz von ausreichender Homogenität, von dem bzw. der ein oder mehrere Merkmale so genau festgelegt sind, dass sie zur Kalibrierung von Messgeräten, zur Beurteilung von Messverfahren oder zur Zuweisung von Stoffwerten verwendet werden können“[75].

Konkret werden Referenzmaterialien verwendet für:

- „die Kalibrierung von Messgeräten und -systemen sowie Rückführung der Messergebnisse (...).
- die Entwicklung und Validierung von Messverfahren (...)
- die ständige Qualitätskontrolle (...)
    - Das Referenzmaterial kann als Analysenkontrollprobe zur Überprüfung der Richtigkeit einer einzelnen Messung oder zur Überprüfung der Langzeitstabilität eines Messverfahrens (Kontrollkarte) verwendet

[75] Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (April 2010), S. 1

werden.

- die Ermittlung der Messunsicherheit (...)
- Vergleichsmessungen zwischen Laboratorien (Eignungsprüfungen) (...)
- die Identifizierung und qualitative Analyse (...)“[76]

Kontrollproben beziehungsweise Referenzstandards müssen über einen längeren Zeitraum stabil sein.[77] Man unterscheidet folgende Arten:

- **„Standardlösungen:** (...) Lösung einer Standardsubstanz bekannter Reinheit in einem (...) möglichst probenäquivalenten Lösungsmittel“; Genauigkeit 1 %; andere Charge als Kalibrierstandards
- **„Blindproben:** (...) Analysenprobe, frei von der zu bestimmenden Komponente“; durchläuft Analysenvorgang => Blindwert
- **„Reale Proben“:** nur für Präzisionskontrolle, richtiger Wert nicht bekannt; reale Probe mit zu bestimmender und unbekannten Komponenten; Gehalt vorab analytisch bestimmt
- **„Reale aufgestockte Proben“:** Analyse vor und nach „Zugabe einer definierten Menge Standardsubstanz“; Kontrollgröße Wiederfindungsrate
- **„Synthetische Proben“:** Standardlösung einschließlich weiterer Komponenten bekannter Konzentration (z. B. Störkomponenten)
- **„Zertifizierte Standardproben:** (...) reale oder synthetische Proben, deren Gehalt mittels unterschiedlicher (...) Verfahren von verschiedenen Personen bestimmt wurde“ (z. B. von NIST = National Institute of Standards and Technology); aufwendig und teuer; andere Charge als Kalibrierstandards[78]

Ein Referenzmaterial sollte auch hinsichtlich seiner Matrix und Konzentration für die zu analysierenden Proben repräsentativ sein. Daher sollte das ausgewählte Referenzmaterial der Messprobe so ähnlich wie möglich sein. Der Wert (z. B. Konzentration) ist so zu wählen, „dass analytisch wichtige Bereiche (auch in Grenzwertnähe) abgesichert werden können.“ Im Idealfall steht das Referenzmaterial einer Charge „in ausreichender Menge“ für „Kontrollanalysen über einen langen Zeitraum mit derselben Probe“ zur Verfügung. „Die Stabilität (...) muss erwiesen

[76] Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (April 2010), S. 3 f.
[77] Vgl. Funk et al. (1992), S. 53
[78] Vgl. ebd., S. 54

(möglichst einige Monate unter definierten Laborbedingungen) und ein Einfluss der Geräte zur Aufbewahrung der Kontrollprobe (...) ausgeschlossen sein. Die regelmäßige Entnahme von Teilproben darf nicht zu Veränderungen in der Kontrollprobe führen.“[79]

Die Hersteller von Kontrollmaterial sollten zusätzlich folgende Informationen zur Verfügung stellen:

- „Verfallsdatum der Kontrollprobe für ungeöffnete Probengefäße unter verschiedenen definierten Lagerbedingungen; Mindesthaltbarkeitsdatum.
- Zeitraum, über den eine Kontrollprobe nach dem Öffnen des Probengefäßes noch benutzt werden kann, mit Unterscheidung nach Lagerungsbedingungen (z. B. Lagerung bei Zimmertemperatur, bei + 4 °C, bei - 18 °C).
- Anleitung, wie die Kontrollprobe gehandhabt werden muss. (...)
- Angaben darüber, wie der Sollwert $\pm$ Vertrauensbereich (VB) ermittelt wurde sowie Empfehlungen bezüglich des anzuwendenden Analysenverfahrens.
- Angabe über mögliche Begleitkomponenten und ihre Konzentration in der Probe.
- Angaben bezüglich der Herkunft der Urprobe. Angabe der Menge und Reinheit der dazuaddierten Komponente(n).
- Angaben bezüglich der Homogenität des Kontrollmaterials. Für den Einsatz zur Präzisionskontrolle ist eine Homogenität $\geq$ 99,5 % erforderlich, überprüfbar mittels Wiederholanalysen aus demselben Probengefäß.“[80]

Die BAM beschreibt in einem Leitfaden die Vorgehensweise bei der Entwicklung von Referenzmaterialien (RM).[81] An diesen Schritten orientieren sich auch die vorliegende Arbeit und die Landestalsperrenverwaltung bei der Entwicklung neuer RM (z. B. Referenzzählkammern). In einer ersten Planungsphase werden die Anforderungen an das RM festgelegt sowie Partner ausgewählt und eine Planung über Ablauf und Bereitstellung der Mittel vorgenommen. Im Anschluss folgt die Durchführungsphase. Das Ausgangsmaterial wird hergestellt oder beschafft, aufbereitet und konfektioniert. Das fertige RM wird einer Homogenitäts- und Stabilitätsprüfung unterzogen. Es

[79] Vgl. Funk et al. (1992), S. 53
[80] Vgl. ebd., S. 55
[81] Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (2006; aktualisiert: 2010)

schließt sich die abschließende Phase von Lagerung und Vertrieb an, in der namensgebend die Lagerung, die Stabilitätsüberwachung und der Vertrieb im Vordergrund stehen.[82]

In den folgenden Abschnitten wird der Frage nachgegangen, welche vorhandenen potenziellen Referenzmaterialien diese Voraussetzungen für die Phytoplanktonanalyse erfüllen.

4.1.2. Algen aus Laborkulturen

Das auf den ersten Blick offensichtlichste Referenzmaterial stellen reale Proben dar. Da „natürliche“ Proben jedoch hinsichtlich Zusammensetzung und Konzentration völlig uneinheitlich sind, scheiden sie als Möglichkeit aus. Die Kultivierung reiner Laborkulturen als Referenzmaterial liegt als Alternative nahe. Allerdings treten auch hier eine Reihe von Problemen auf. Die Kultivierung von Algen ist nur für wenige Arten im Labor möglich (*Abbildung 11*).



Abbildung 11: Laborkulturen im Brutschrank (Quelle: Foto Andreas Meybohm)

Ein hoher Zeitaufwand, Materialeinsatz (Nährmedien) sowie ein großer Platzbedarf (Kulturschränke) stellen weitere Hindernisse dar.

[82] Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (2006; aktualisiert: 2010), S. 4 ff.

Algen aus Laborkulturen weisen nicht nur den gleichen fehlenden Sollwert für die Konzentration wie „natürliche“ Proben auf, sie bieten darüber hinaus auch keinen Sollwert für die Größe, da die Morphologie abhängig von den Wachstumsbedingungen sehr heterogen ausgeprägt ist.

Im Ringversuch External Quality Assessment Trials Phytoplankton (EQAT-Phytoplankton)[83], auf den später noch genauer eingegangen wird, werden Testmaterialien in Form natürlicher Algen, die in suspendierter Form zur Verfügung gestellt werden, genutzt (*Abbildung 12*).



1	Peridinium cinctum	Scandinavian Culture Collection of Algae and Protozoa	Stockholm, Sweden
2	Stauratsrum arctiscon	Culture Collection of Algae at the University of Cologne	Köln, Germany
3	Cryptomonas tetrapyrenoidosa	Culture Collection of Algae at the University of Cologne	Köln, Germany
4	Asterionella formosa	Culture Collection of Algae at Göttingen University	Göttingen, Germany
5	Monoraphidium griffthii	Culture Collection of Autotrophic Organisms	Třeboň, Czech Republic
6	Scenedesmus quadricauda	Culture Collection of Algae at Göttingen University	Göttingen, Germany
7	Mallomonas akrokomos	Scandinavian Culture Collection of Algae and Protozoa	Stockholm, Sweden
8	Mallomonas akrokomos	Scandinavian Culture Collection of Algae and Protozoa	Stockholm, Sweden
9	Microcystis aeruginosa	Scandinavian Culture Collection of Algae and Protozoa	Stockholm, Sweden

Abbildung 12: Zusammenstellung natürlicher Arten (Quelle: Andreas Meybohm: Probe 5 (gesäubert) aus Ringversuch 2013)

Ihre Grundeigenschaften der Sedimentation und Agglomeration im wässrigen Medium führen zu Ungleichverteilungen im Medium. Dies ermöglicht eine Überprüfung der Homogenisierung durch das Laborpersonal, erhöht jedoch zugleich den individuellen Fehler. Diese Art von Referenzmaterial weist für einen breiteren Einsatz zu viele Nachteile auf. Für einzelne Anwendungen und konkrete Fragestellungen ist ihre Anwendung jedoch denkbar.

[83] Meybohm (2012)

4.1.2.1. Zählung von Replikaten - Konsensusvergleich

Es besteht die Möglichkeit, Verdünnungen bzw. Anreicherungen von Proben herzustellen und die unterschiedlichen Ansätze zu zählen. Dadurch wird sichtbar, ob die Streuung/der Mittelwert vergleichbar mit der Zählung der Urprobe ist (Test der Varianzen). Der Vorteil dieser Methode ist, dass sie mit praktisch jeder Probe durchgeführt werden kann. Eine weitere Eignung dieses Konsensusvergleichs muss in Zukunft geprüft werden.

4.1.2.2. Aufstockung realer Proben

Unter Aufstockung versteht man die Zugabe von Standardproben bekannten Gehalts – in diesem Fall an Algen – zu einer Probe. Die zugegebene bekannte Menge sollte in der Messung wiedergefunden werden. Ein Vergleich von Proben, deren Probenmatrices die zu bestimmende Substanz vor der Aufstockung nicht enthielten, mit solchen, welche die Substanz enthielten, ermöglicht eine Bestimmung der enthaltenen Menge. Der bei solchen Messungen ermittelte Wert muss rechnerisch um die Verdünnungsstufe berichtigt werden. Sinn dieser Maßnahme ist, die Wiederfindung bei verschiedenen Konzentrationen und somit die Linearität der Kalibrierung und der Messung zu überprüfen sowie Proben mit geringem Gehalt an zu bestimmender Substanz „oberhalb“ der Nachweisgrenze zu messen.[84]

Die Aufstockung realer Proben vereint im Fall der Phytoplanktonanalyse jedoch die Nachteile von Algen aus Laborkulturen mit dem weiteren Problem, dass eine undefinierte Mischung verschiedener Algenarten in einer Probe vorliegen kann. Ihre Herstellung ist zudem aufwendig, so dass als nächster Schritt die Suche nach synthetischen Proben sinnvoll erscheint.

[84] Vgl. Funk et al. (1992), S. 54 f.

4.1.3. Mikropartikel

Eine Simulation von Algenpartikeln als Standard ist eine naheliegende Variante für Referenzmaterialien für die Phytoplanktonanalyse. Mikropartikel werden beispielsweise von der Firma microparticles GmbH[85] (z. B. Polysulfon-Fettblau) angeboten (*Abbildung 13*). Es handelt sich dabei um wässrige Suspensionen mit Größenstandards. Neben dem Vorteil des Sollwertes für die Größe weisen diese Mikropartikel in der Praxis allerdings ebenfalls eine Reihe von Nachteilen auf.

Da sich die Mikropartikel in der Suspension schnell absetzen, ist der Pipettierfehler trotz Homogenisierung sehr hoch. Jeder Nutzer pipettiert bei jeder Anwendung neu und erzeugt jeweils einen neuen individuellen Fehler. Außerdem weisen die Partikel sehr apolare Oberflächen auf und haften daher schnell an Oberflächen. Trotz Zugabe von Antihaftmitteln verklumpen sie daher leicht. Auch eine Verschleppung wird oft beobachtet. Die Reinigung der Kammern ist aufwendig und der gesamte Einsatz sehr teuer.

Insgesamt können Mikropartikel nur eine verlässliche Referenz für die Partikelgröße darstellen, nicht aber für die Konzentration, da sie keinen Sollwert für die Konzentration aufweisen. Die extrem hohen Konzentrationen der Stammsuspensionen machen auch eine Einstellung von Sollwerten sehr schwierig bzw. unmöglich, da hohe Pipettierfehler zu erwarten sind.

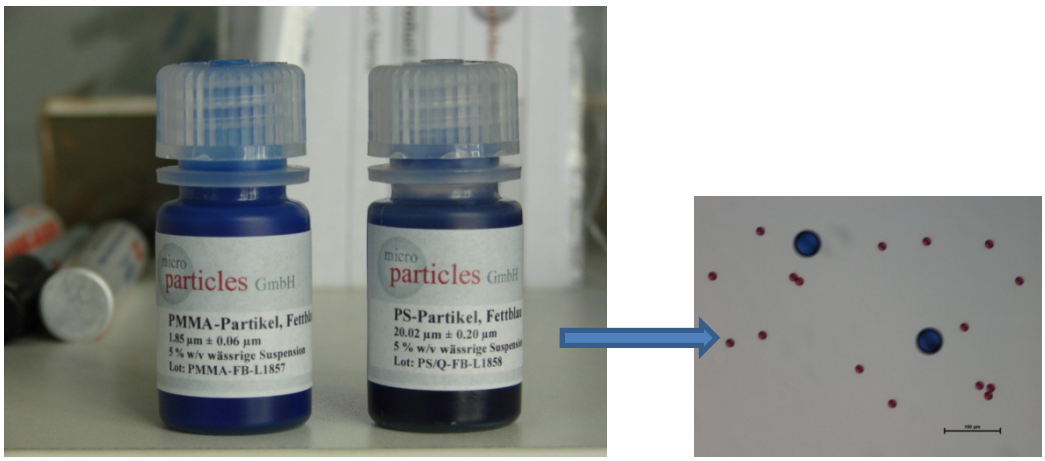


Abbildung 13: Polymethlymethacrylat- und Polysulfon-Partikel, Fettblau der Firma microparticles GmbH (Quelle: Fotos Andreas Meybohm)

[85] http://www.microparticles.de/

In einigen EQAT-Phytoplankton Ringversuchen wurden in der Vergangenheit Mikropartikel zur Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichbarkeit eingesetzt. Dies wurde aber von den Teilnehmern aus den beschriebenen Gründen als unbefriedigend eingestuft. Da auch diese Möglichkeit für eine breitere Verwendung ausfällt, liegt die Suche nach einem Referenzmaterial nahe, welches die Vorteile der beschriebenen Materialien vereint, ohne deren Nachteile aufzuweisen.

4.1.4. Referenzzählkammern

4.1.4.1. Beschreibung

Die Referenzzählkammern sind eine Eigenentwicklung der Landestalsperrenverwaltung und werden in Kooperation mit der Firma TSO Thalheim Spezialoptik GmbH (Pulsnitz) gefertigt. Dabei handelt es sich um Nachbildungen handelsüblicher Planktonkammern, auf deren Bodengläsern eine bekannte Anzahl Poisson-verteilter Zählreferenzpunkte definierter Größe aufgraviert werden (*Abbildung 14*). Die Referenzpunkte simulieren dabei verschiedene Phytoplankter, die nach Sedimentation auf dem Kammerboden mikroskopisch erfasst werden können.

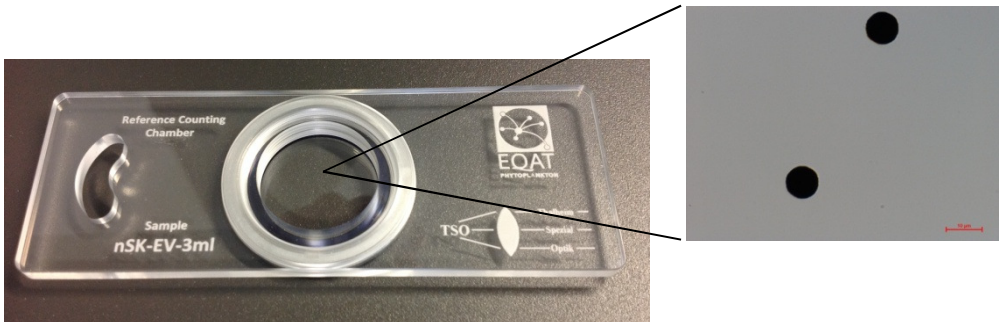


Abbildung 14: Referenzzählkammer und simulierte Mikropartikel der Referenzzählkammer bei 1000facher Vergrößerung (Durchmesser: 10 ± 1 µm) (Quelle: Fotos Andreas Meybohm)

Im Vergleich zu den vorher verwendeten Suspensionen mit Mikropartikeln, die wie eine Planktonprobe behandelt werden mussten, stellen die Referenzkammern gebrauchsfertige und hinsichtlich Anzahl und Verteilung der Mikropartikel völlig identische Proben dar. Erstmals ist es möglich, nicht nur einen Sollwert für die Größe, sondern auch einen echten Sollwert der Konzentration der Mikropartikel bei einem

festgelegten Sedimentationsvolumen zugrunde zu legen. Der Nutzer ist dadurch in der Lage, seine Zählkonfigurationen zu überprüfen.

Zur Simulation unterschiedlicher Algen und Konzentrationen sowie zur Anwendung unterschiedlicher Zählstrategien wird es einen Satz von drei Referenzzählkammern geben mit:

- großen Partikeln in geringer Konzentration (100-300 Partikel) zur Auszählung der ganzen Kammer,
- mittelgroßen Partikeln in mittlerer Konzentration (ca. 5000) zur Auszählung von Zählstreifen,
- kleinen Partikeln in hoher Konzentration (ca. 10 000) zur Auszählung von (einzelnen) Zählfeldern.

4.1.4.2. Entwicklung und messtechnische Validierung

Die Herstellung der Referenzzählkammern basiert auf einem Datensatz, dessen Ziel die Erfüllung zweier wichtiger Anforderungen ist. Zum einen soll ein fester Sollwert zur Verfügung gestellt werden und zum anderen soll ein natürliches Verteilungsmuster der Algen nachempfunden werden. Dazu wird über den Sollwert ein Datensatz auf der Grundlage vorher festgelegter Anzahl und Größe von Referenzzählpunkten sowie deren Verteilung erstellt, dessen Eckdaten dann Poisson-geprüft werden.

Beispiel: Es wurde eine Anzahl von 10.000 Referenzpunkten mit einem Durchmesser von 15 µm festgelegt, die auf das Bodenglas der Referenzzählkammer (Kammerdurchmesser 26 mm) graviert werden sollen. Es wird ein Datensatz folgender Struktur generiert:

Tabelle 4: Datensatz zur Herstellung einer Referenzzählkammer mit 10.000 Referenzpunkten mit einem Durchmesser von 15 µm

Nr. des Referenzpunktes	x-Koordinate	y-Koordinate
1	0,247	0,874
2	0,001	0,574
…	...	...
10.000	0,987	0,348

Quelle: Andreas Meybohm

Dieser Datensatz wird an die Fa. Thalheim Spezialoptik GmbH übergeben, welche die Fertigung und Prüfung der Referenzzählkammern realisiert. Dort wird anhand der Tabelle softwaregestützt eine Drawing Interchange File Format (DXF) Datei generiert. Basierend auf dem DXF-Datensatz wird mittels Elektronenstrahlverfahren maschinell eine Basismaske für die Belichtung erzeugt. Mittels eines hochauflösenden photolithographischen Verfahrens werden Abbilder der Basismaske hergestellt. Im anschließenden Produktionsschritt werden die einzelnen Referenzzählkammern in einem Trennverfahren separiert. Dazu werden die Abbilder zunächst in Quadrate aufgetrennt, um schließlich auf einen Nenndurchmesser reduziert zu werden. Zur Qualitätssicherung kann jede einzeln entstandene Referenzzählkammer der Position auf der Maske zugeordnet werden. Diese Kammern werden im Anschluss in je einen Edelstahlring eingebettet. Jeder Ring erhält eine Seriennummer, sodass jede einzelne Referenzzählkammer individualisiert und damit lückenlose Rückverfolgbarkeit gewährleistet ist. Für die abschließende Qualitätsprüfung wird jede Kammer zunächst mit einer Auflösung von ca. 3 µm/Pixel digitalisiert. Mit Hilfe von Passmarken wird das entstehende Messbild nun in seiner Lage bestimmt, sodass es mit einem Prüfbild, welches auf dem Datensatz basiert, verglichen werden kann. Damit kann für jede Referenzzählkammer die Frage beantwortet werden, wie viele Zählpunkte sich in dieser tatsächlich befinden. Im Anschluss daran werden in den Kammern mit Hilfe eines optischen Verfahrens zufällig Referenzpunkte ausgewählt, angefahren und anschließend vermessen. Dieser Vorgang wird solange wiederholt, bis eine ausreichende statistische Sicherheit, welche bei 100 - 1000 Messpunkten angenommen wird, gegeben ist. Die genaue Zahl der erforderlichen Messung differiert; sie hängt insbesondere davon ab, welche Punktgröße vorliegt und in welcher Anzahl diese in der Zählkammer vertreten sein sollen. Bei der zufälligen Punktauswahl wird sichergestellt, dass keine Doppelungen auftreten. Die Messung der Punktdurchmesser erfolgt automatisch. Mittels Kantendetektion werden Messpunkte auf jedem Referenzpunktkreis bestimmt. Aus jeweils mindestens drei dieser Messpunkte kann ein Kreis berechnet werden (je mehr Messpunkte vorliegen, umso genauer kann der Kreis berechnet werden). Die Genauigkeit dieser Messung ist vor allem durch die Auflösung der Optik begrenzt. Es wird eine Maximalgenauigkeit von ca. 0,25 µm erreicht.

Homogenitätstest:

Die Homogenität stellt ein generelles Problem beim Mikroskopieren dar. Testmaterialien, die für Ringversuche verwendet werden, sollten eine ausreichende Homogenität aufweisen (d. h. die Variabilität der mittleren Zusammensetzung des Testmaterials sollte geringer sein als die analytische Variabilität). Nur so kann sichergestellt werden, dass sich die Variabilität der Testergebnisse ausschließlich aus zufälligen, subjektiven und methodischen Fehlern ergibt. Generell erfüllen Materialien - ausgenommen es handelt sich um echte Lösungen - diesen Anspruch nur unzureichend.[86]

Laut BAM wird bei der Homogenitätsprüfung das Ausmaß der nach der Konfektionierung verbleibenden Inhomogenität – zwischen und innerhalb der Verpackungseinheiten – nach ISO Guide 35 festgestellt. Als Regelfall ist dabei die Batchzertifizierung vorgesehen, bei der das aufbereitete Material auf mehrere Verpackungseinheiten aufgeteilt und ein Unsicherheitsbeitrag für die zwischen den Einheiten verbleibende Inhomogenität festgelegt wird (Präzision (Richtigkeit untergeordnet)).[87]

Herstellerseitig erfolgt daher eine Prüfung, ob die Kopien mit dem Urnormal übereinstimmen. Diese Überprüfung der Referenzzählkammern hinsichtlich ihrer Konformität (d. h. liegen die gefertigten Punkte hinsichtlich ihrer Koordinaten am gewünschten, vorgegebenen Ort), kann auf verschiedene Art und Weise über eine Messunsicherheitsannahme auf Grundlage der Poisson-Verteilung erfolgen. Eine Möglichkeit besteht in der Prüfung einer festgelegten Anzahl von Referenzzählkammern hinsichtlich ihrer mittleren Partikelanzahl.

Unter der Annahme, dass dazu in *k* Kammern zur Überprüfung eine mittlere Partikelzahl *m* ermittelt wird, können in Abhängigkeit vom Zählaufwand – entsprechend der Poisson-Verteilungstheorie – exemplarisch folgende theoretische (erweiterte) Messunsicherheiten (MU) realisiert werden:

(3) Varianz (Mittelwert) = $1/k \cdot$ Varianz (Zählung einer Kammer) = $(1/k)\ \lambda = m/t$

(4) MU (Mittelwert) = $2 \cdot \sqrt{m/k}$

d. h. mit m = 100 ergibt sich MU = $2 \cdot \sqrt{10} = 6{,}3$, d. h. 6,3 %

d. h. mit m = 300 ergibt sich MU = $2 \cdot \sqrt{30} = 10{,}95$, d. h. 3,6 %

[86] Vgl. Fearn et al. (2006)
[87] Vgl. ISO Guide 35 (2006)

Wie diese Berechnung zeigt, ist allerdings die damit realisierte Messunsicherheit noch relativ hoch bemessen (bezogen auf den Aufwand und die damit erreichbare erweiterte Messunsicherheit).

Eine auch im Hinblick auf die Messunsicherheit deutlich effizientere Möglichkeit besteht in der ortsbezogenen Prüfung der Partikellage (individuell) zufällig ausgewählter Partikel. Auf einem Signifikanzniveau von 95 % (d. h. 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit) können mit dieser Prüfungsart deutlich niedrigere Messunsicherheiten mit vertretbarem Aufwand realisiert werden:

Tabelle 5: Herstellerseitige Konformitätsprüfung der Referenzzählkammern

Trefferwahrscheinlichkeit für einen bestimmten Partikel	0,970	0,985	0,990	0,994
Anzahl der zu untersuchenden Partikel	100	200	300	500
realisierte MU (%)	3,0	1,5	1,0	0,6

Quelle: Andreas Meybohm

Die Durchmesserprüfung erfolgt automatisiert in jeder Charge (10 Chargen mit jeweils 9 Rohlingen, diese werden komplett erfasst). Dazu wurde das zu Beginn dieses Absatzes beschriebene Verfahren entwickelt, mit dem jeder Punkt auf dem Bodengläschen hochaufgelöst aufgenommen und mit dem Datensatz abgeglichen wird. Jede Charge erhält danach eine Nummer, die im Einschraubring eingefräst wird. Das Bodengläschen wird anschließend fest mit dem Metallring verkittet.

Vom Ringversuchsausrichter werden zur nochmaligen Prüfung in einer zufällig ausgewählten Kammer jeweils zwanzig Punkte jeder Größenklasse vermessen. Sollten dabei Abweichungen zu den Angaben des Herstellers auftreten, muss der Ursache/dem Fehler nachgegangen werden.

Stabilitätstest:

Laut BAM muss „bei einem zertifizierten Referenzmaterial (ZRM) sichergestellt sein, dass die zertifizierten Werte bis zum Ablauf der im Zertifikat angegebenen Verwendungsfrist („Haltbarkeitsdatum“) gelten.“[88] Dem ISO Guide 35 folgend wird die

[88] Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (2006; aktualisiert: 2010), S. 9

zeitliche Änderung der zertifizierten Kennwerte über angemessene Zeiträume – ggf. in Abhängigkeit von stabilitätsrelevanten Parametern wie der Lagertemperatur – untersucht. Darauf basierend wird festgestellt, ob und in welchem Ausmaß das Material Instabilität aufweist sowie ein Haltbarkeitsdatum und Bedingungen für Lagerung und Versand festgelegt (Stabilität, Präzision).[89]

Da das Material der Referenzzählkammern keine Instabilität aufweist und keine Zertifizierung angestrebt wird, ist eine Stabilitätsprüfung nicht notwendig.

4.1.4.3. Integration in das QS-System der Phytoplanktonanalyse (Verwendung von Kontroll- und Zielwertkarten)

Referenzstandards mit definierten Kenndaten wie Konzentration oder Größe erleichtern die QS, indem sie bei jeder Analyse bzw. in regelmäßigen Abständen (wöchentlich, monatlich), zumindest aber nach jeder Wartung mitgeführt werden und der Überwachung der Kenndaten Einzelwert/Mittelwert, Wiederfindungsrate oder Standardabweichung dienen. Die Auswahl des geeigneten Standards und des dazu gehörigen Qualitätsregelkarten-Systems orientiert sich an der jeweiligen Fragestellung.

Qualitätsregelkarten ("Kontrollkarten"; *Abbildung 15*) sind „zweidimensionale Punktdiagramme zur Überwachung der Leistungsfähigkeit von Verfahren mit Kontrollwerten"[90]. Auf Kontrollkarten ist die horizontale Achse üblicherweise eine Zeitskala oder gibt eine Reihenfolge an, und die Kontrollvariable ist das arithmetische Mittel oder ein Präzisionsmaß. Die Kontrolle der Qualität erfolgt durch eingetragene Grenzlinien deren Lage durch Präzisionsmaße wie z. B. die Standardabweichung bestimmt wird:

- Kontrollgrenzen (bei Überschreitung („Außer-Kontroll-Situation") Eingriff nötig)
- Warngrenzen (einmalige Überschreitung gestattet, bei Überschreitung besondere Aufmerksamkeit nötig)

[89] Vgl. ISO Guide 35 (2006)
[90] ENV ISO 13843 (2001)

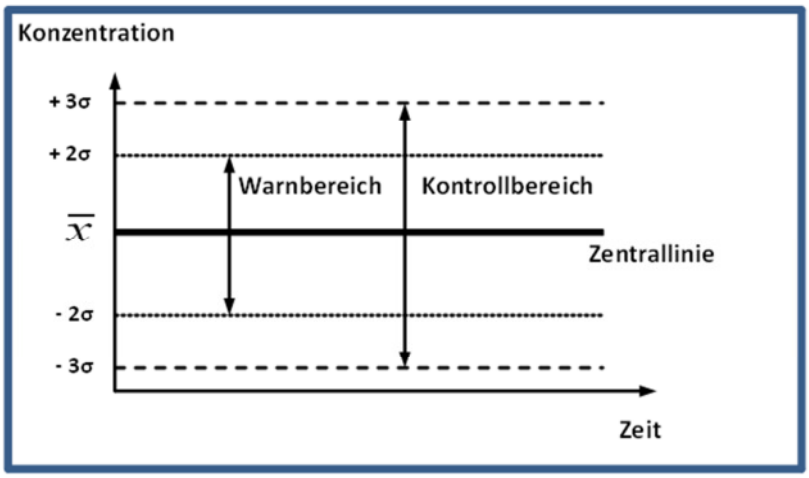


Abbildung 15: Shewhart-Regelkarte als Mittelwert-Qualitätskontrollkarte ($\bar{x}$ Mittelwert; σ Standardabweichung) (Quelle: Eigene Darstellung)

Nach Auswahl der geeigneten Standards und Kontrollkarten erfolgt die Vorbereitung der Routine-Qualitätskontrolle in Form der Erstellung einer Vorperiode. Dazu werden mehrere Kontrollproben (meist 20) zum Qualitätsvergleich analysiert und anhand ihrer Kenndaten die Karten konstruiert und die Grenzen festgelegt. Eine kurze statistische Auswertung der Vorperiode zeigt, ob die gesetzten Qualitätsziele erreicht wurden. Als Ergebnis liegen in erster Linie Präzisionskenndaten wie Mittelwert und Standardabweichung von Kontrollproben-Analysen sowie Spannweiten und Wiederfindungsraten bei Mehrfach- bzw. Kontrollmessungen vor. Auch Streu- oder Vertrauensbereiche, in deren Grenzen zukünftige Daten liegen müssen, werden ermittelt. Diese Vorarbeiten sollen das schnelle Erkennen von Unpräzisionen und Unrichtigkeiten in Ergebnissen der Routineanalytik bei vertretbarem Aufwand ermöglichen.

Grundsätzlich unterscheidet man Regelkarten nach der Art der zu untersuchenden Merkmale in Regelkarten für variable Merkmale (z. B. die Shewhart-Regelkarte nach Walter A. Shewhart) und Regelkarten für attributive Merkmale. **Shewhart-Karten** enthalten statistisch ermittelte Kontroll- und Warngrenzen. Sie dienen v. a. zur Kontrolle der Mittelwerte, Spannweiten und Standardabweichungen. **Zielwertkarten** enthalten dagegen nur Ausschlussgrenzen. Sie werden v. a. zur Kontrolle der Blindwerte eingesetzt.[91]

Die Auswertung der Qualitätsregelkarten erlaubt Rückschlüsse auf eine Reihe von systematischen und zufälligen Einflüssen. Eine Streuung der Punkte wird durch

[91] Vgl. Mittag (1993)

zufällige Einflüsse wie beispielsweise Temperaturschwankungen hervorgerufen. Sie sind nicht vermeidbar, sollten aber innerhalb der Warngrenzen bleiben. Systematische Einflüsse sind dagegen erkennbar an plötzlichen größeren Veränderungen oder an einer allmählichen Verschiebung der Messdaten. Sie können beispielsweise durch Geräte- oder Bedienfehler hervorgerufen werden und sind immer zu untersuchen, um sie abzustellen (z. B. falscher Zusammenbau der Optik nach Wartung). Dabei ist zu beachten, dass auch ohne Überschreiten der Warngrenzen ein Eingreifen nötig werden kann. Ist beispielsweise ein „Trend“ zu erkennen (mehrere Messpunkte zeigen eine lineare Steigung auf eine Grenze zu), so könnte ein Einfluss vorliegen, der in naher Zukunft eine Grenzüberschreitung verursachen wird. Auch ein nicht zufälliger Kurvenverlauf, z. B. ein wellenförmiger Verlauf um die Mittelwertlinie, kann auf Einflüsse hindeuten, die regelmäßig auftreten und abgestellt werden können und müssen. Die Anordnung der Datenpunkte ist also neben dem Überschreiten von Warn- und Eingriffsgrenzen ebenfalls als Anzeichen für potenzielle Probleme zu beachten.

Für die Phytoplanktonanalyse ist die Verwendung von Mittelwertkontrollkarten (Shewhart-Karten) sinnvoll. Die Auszählung der Referenzzählkammern ergibt jeweils einen konkreten Wert, welcher in den Karten als y-Wert erfasst werden kann. Die x-Achse gibt das Datum an. Für jedes Mikroskop und jedes Objektiv werden drei Kontrollkarten angelegt. Zunächst erfolgt die Auszählung der Referenzzählkammern jeweils Montag früh alle zwei Wochen sowie nach jeder Wartung und jedem Umbau eines Mikroskops. Eine spätere Verlängerung des Turnus auf monatliche Auszählungen ist denkbar. Die Auszählung erfolgt jeweils als Kammerzählung, Streifenzählung und als Zählnetz. *Abbildung 16* zeigt beispielhaft eine mögliche Vorperiode, welche aus fiktiven Zählergebnissen gewonnen wurde.
Die Weiterführung der Kontrollkarten soll mit der Programmierung einer neuen Software in naher Zukunft umgesetzt werden. In der Datentabelle zur Kontrollkarte müssen nicht nur Datum und Messwert, sondern auch Bearbeiter und, bei Abweichungen, eine Markierung sowie Bemerkungen zu eingeleiteten Maßnahmen erfasst werden.

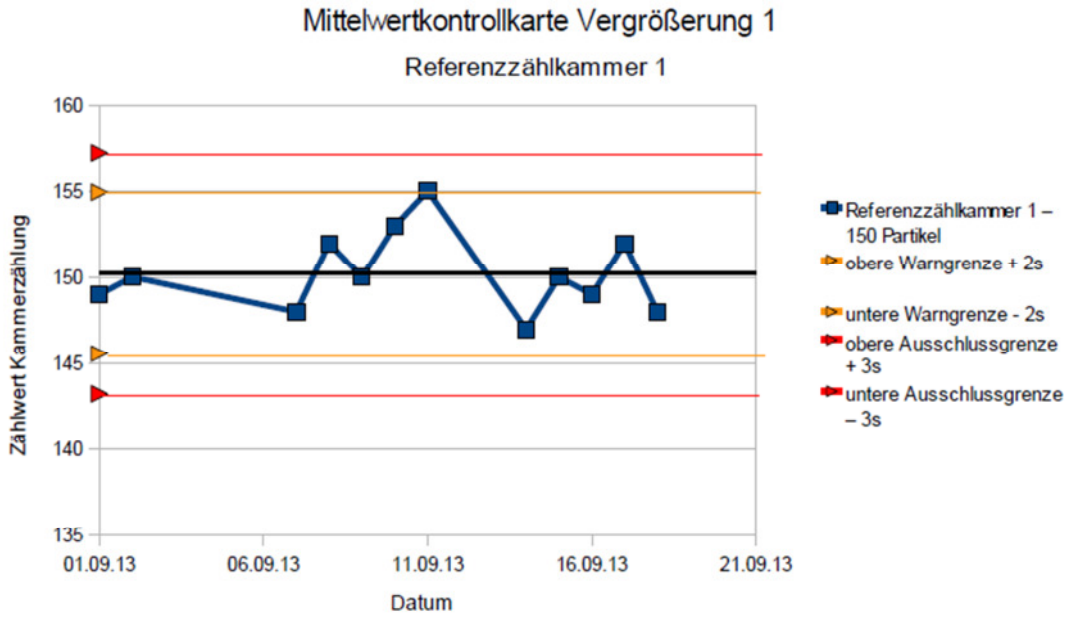


Abbildung 16: Vorperiode Referenzzählkammer 150 Partikel, Kammerzählung, Mikroskop 1, Objektiv 1000fache Vergrößerung (Quelle: Eigene Darstellung)

Eine Auswertung der Kontrollkarten für die Referenzzählkammern bei der Phytoplanktonanalyse lässt eher keine Trends erwarten, da eine allmähliche Veränderung von Mikroskop oder Referenzmaterial über die Zeit nahezu ausgeschlossen ist. Wahrscheinlicher sind größere, plötzliche Abweichungen beispielsweise durch falsche Kalibrierung oder Vergrößerung (z. B. falscher Einbau der Optik). Die Software zur Berechnung des Zellvolumens/Gesamtbiovolumens muss daher eine Protokollierung erlauben, wann durch welchen Bearbeiter welche Änderung an den Formeln vorgenommen wurde, um durch die Kontrollkarten aufgedeckte Fehler nachvollziehen zu können. Die Genauigkeit des Bearbeiters beim Auszählen wird ebenfalls durch die Referenzzählkammern und die Dokumentation in den Kontrollkarten überprüft.

Die SAA für die Phytoplanktonanalyse muss um ein Kapitel zur Anwendung der Referenzzählkammern und zum Führen der Kontrollkarten ergänzt werden. Dort sollte auch der Umgang mit Außer-Kontroll-Situationen dokumentiert sein. In jedem Fall sollte eine Warngrenzenüberschreitung die Kontrolle des Mikroskops auf korrekten Einbau der Objektive und richtige Wahl der Vergrößerung nach sich ziehen. Eine nochmalige Auszählung sollte sich anschließen. Bei der Überschreitung einer Ausschlussgrenze können die gewonnenen Ergebnisse seit der letzten Überprüfung theoretisch nicht verwandt werden. Hier muss ein Vorgehen noch abgestimmt werden.

Abschließend gibt *Tabelle 6* eine Übersicht über die Eignung der besprochenen potenziellen Referenzmaterialien. Während natürliche Proben ausgeschlossen werden, können Laborkulturen und ihre Aufstockungen sowie Mikropartikel durchaus für spezielle Fragestellungen von Nutzen sein. Die neu entwickelten Referenzzählkammern bieten im Vergleich jedoch die besten Eigenschaften und ermöglichen eine breite Anwendung.

Tabelle 6: Übersicht Eignung von Referenzmaterialien

Anforderung	**Natürliche Proben**	**Labor-kulturen**	**Aufstockung von Laborkulturen**	**Mikro-partikel**	**Referenz-zählkammern**
Stabil über längeren Zeitraum	nein	nein	nein	ja	ja
Matrix/Konzentration repräsentativ	ja	ja	ja	nein	ja
Einfluss v. Aufbewahrungs-geräten ausgeschlossen	nein	nein	nein	ja	ja
Ausreichende Menge	nein	nein	nein	ja	ja
Wert sichert analytisch wichtige Bereiche (auch Grenzwertnähe) ab	kein wahrer Wert	kein wahrer Wert	kein wahrer Wert	ja	ja
Entnahme Teilprobe führt nicht zu Veränderung der Kontrollprobe	nein	nein	nein	ja	ja
Kosten	niedrig	hoch	hoch	hoch	langfristig niedrig, da einmalig
Handhabung (Verklumpung, ...)	gut	gut	gut	schlecht	gut
Eignung	nein	gering	gering	gering	sehr gut

Quelle: Eigene Darstellung

4.1.5. Aufbau von Referenzsammlungen

Bei der taxonomischen Bestimmung handelt es sich um qualitative Befunde. Im Gegensatz zu der quantitativen Auszählung sind hier Werkzeuge wie Kontrollkarten nicht von Nutzen. Daher lautet eine weitere Forderung aus diversen Normen, Referenzexemplare zu sammeln bzw. (eine) Referenzsammlung/en zu erstellen.[92]

Während in der Botanik beispielsweise das Sammeln und Konservieren von Belegexemplaren nicht nur sinnvoll, sondern auch möglich und üblich ist, steht diese Möglichkeit bei Algen nicht zur Verfügung. Algen sind zu empfindlich und verlieren unter Konservierung zahlreiche für die Bestimmung wichtige morphologische Eigenschaften. Eine reine Nutzung von Bestimmungsliteratur ist zu aufwendig, da diese zu umfangreich ist. Daher ist es das Ziel der LTV, eine Bilddatenbank zu erstellen, in der ein Belegexemplar von allen in den ständig in einem Gebiet untersuchten Gewässern vorkommenden Arten abgespeichert werden kann. Auf diese Weise wird die Vielfalt der Bestimmungsliteratur auf ein Untersuchungsgebiet komprimiert. Wichtig ist hier vor allem die Erfassung von Fotos und Informationen zu schwierig zu bestimmenden Arten, um diese anhand morphologischer Kriterien nachbestimmen zu können. Somit können unterschiedliche Bearbeiter eine bessere Vergleichbarkeit ihrer Ergebnisse erreichen. Die Bedeutung der Kontinuität der taxonomischen Bestimmung wurde bereits dargelegt.

Die Landestalsperrenverwaltung Sachsen hat mit der Bilddatenbank ALIMBA bereits eine solche Referenzsammlung initiiert. Ein integrierter Filter ermöglicht die Suche nach spezifischen morphologischen Kriterien. Eine Arbeitsgruppe bespricht gemeinsam die unsicheren Fälle, um die Sicherheit und Zuverlässigkeit der Bestimmung zu erhöhen. ALIMBA wird auch im EQAT Phytoplankton-Forum den Teilnehmern der Ringversuche zur Verfügung gestellt. Auf EQAT-Phytoplankton als Ringversuch für die Phytoplanktonanalyse soll im Folgenden näher eingegangen werden.

[92] z. B. Vgl. EN ISO/IEC 17025 (2000)

4.2. Ringversuche

Während z. B. eine Akkreditierung nach DIN EN ISO/IEC 17025 lediglich aussagt, dass theoretisch eine hohe Qualität der Arbeit möglich ist, kann die Leistungsfähigkeit der Labore im Ringversuch real unter Beweis gestellt bzw. vor Auftraggebern dargestellt werden.
Laborvergleichsuntersuchungen können durch eine breite Beteiligung einen wertvollen Beitrag zur Verbesserung der Qualität und der Vergleichbarkeit der produzierten Daten leisten. Dieses Potenzial wird vor allem dann optimal ausgeschöpft, wenn der Aufbau des Ringversuchs weitgehend an dem zu prüfenden Verfahren ausgerichtet ist.

4.2.1. Aufbau

Das Prinzip von Ringversuchen ist der laborexterne Vergleich untereinander. Referenzmaterialien mit nur dem Veranstalter bekannten, aber fest definierten Soll-Größen werden von diesem an alle Teilnehmer versandt. Die Teilnehmer führen die jeweiligen Methoden mit den eingegangenen Materialien durch und senden ihre Ergebnisse an den Veranstalter zurück. Dieser wertet die Daten aus und stellt sie abschließend allen Teilnehmern zur Verfügung. Der wahre Wert ist entweder vorher festgelegt oder aber er errechnet sich in Annäherung aus den Ergebnissen aller Teilnehmer.[93]
Die – in den allermeisten Fällen kostenpflichtige – Teilnahme an Ringversuchen dient dem Vergleich zwischen den Laboren und für jeden Teilnehmer der Überprüfung seiner Methoden sowie der Genauigkeit der Bearbeiter eines Labors. Als externe Maßnahme sind RV somit ein wichtiger Baustein der Qualitätssicherung.

[93] Verfahren der robusten Statistik nach DIN 38402 A45 (2003), Q-Methode/Hampel-Schätzer

4.2.2. Beispiel EQAT-Phytoplankton

Seit 2007 bietet die Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen in Gemeinschaft mit der Arbeitsgemeinschaft Trinkwassertalsperren e. V. mit EQAT-Phytoplankton europaweite Ringversuche für die Phytoplanktonanalyse an. Die Teilnehmer können durch erfolgreiche Teilnahme – im Vergleich zu Akkreditierungsverfahren – kostengünstig ihre analytische Leistungsfähigkeit nachweisen und vor potenziellen Auftraggebern darstellen. Dies sollte in Zukunft bei der Vergabepraxis zu einem wichtigen Kriterium werden, da insbesondere viele freiberuflich arbeitende Biologen sowie kleine Laboratorien im hohen zeitlichen und finanziellen Aufwand einer Akkreditierung (nach DIN EN ISO/IEC 17025) ein Hindernis sehen.

EQAT-Phytoplankton bietet diese „Kompetenzfeststellung nach Maß“[94] regelmäßig im 2-jährigen Rhythmus an. Der Ringversuch basiert auf dem Standard-Sedimentationsverfahren nach Utermöhl und der darauf aufbauenden DIN EN 15204. Seine Durchführung und die Auswertung orientiert sich an der DIN EN 38402 – A45. Der Ringversuch besteht aus drei Komponenten (siehe *Abbildung 17*).

[94] Meybohm (2012)

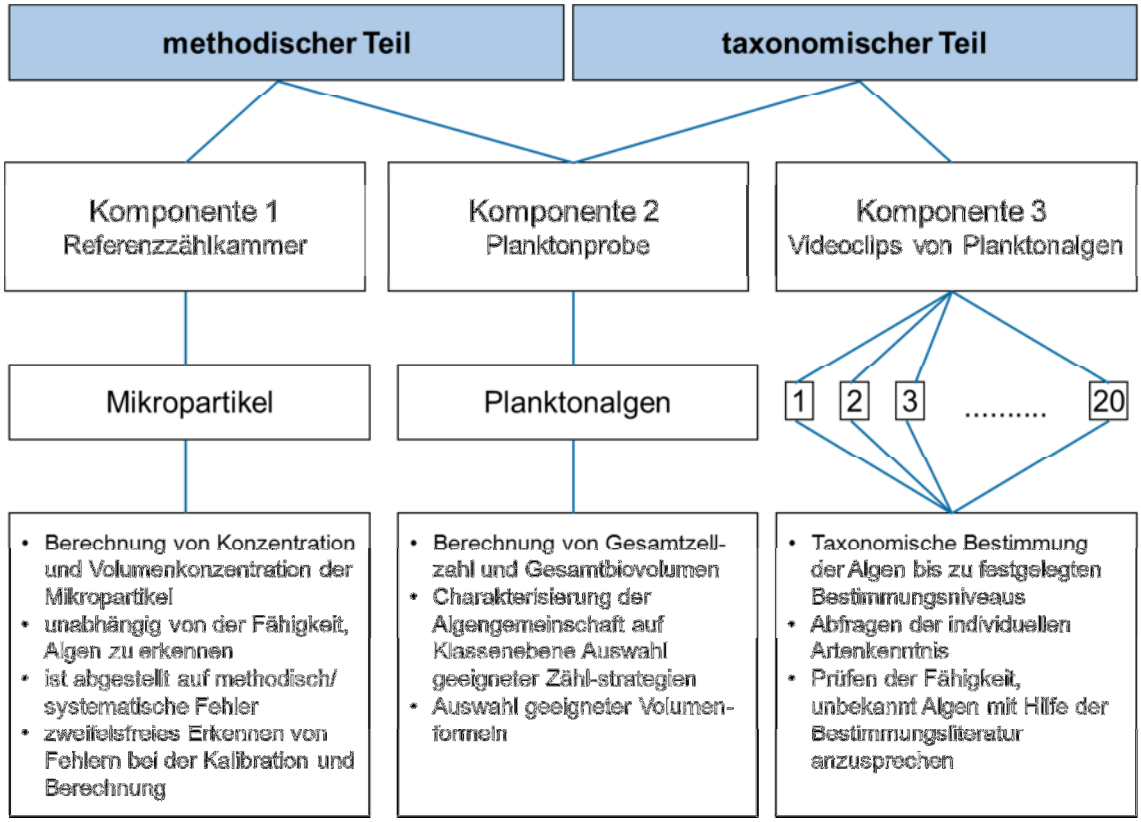


Abbildung 17: Aufbau und Prüfkriterien des Ringversuchs EQAT Phytoplankton (Quelle: Meybohm (2012) Ringversuche EQAT Phytoplankton – Kompetenzfeststellung nach Maß)

In der Komponente 1 kommt die neu entwickelte Referenzzählkammer (Vorläufer seit RV 2011) zum Einsatz. Damit können wie bereits beschrieben erstmals bei der Phytoplanktonanalyse für ein festgelegtes Sedimentationsvolumen ohne Absetzvorgang echte Sollwerte zur Verfügung gestellt werden. Die Teilnehmer sind dadurch in der Lage, die Kalibrierung der Zählfelder wie Transsekte oder Sehfelder bei unterschiedlichen Vergrößerungen sowie ihre Berechnungsprozedur der Phytoplankton-Konzentration zu überprüfen. Die mit diesen Arbeitsschritten assoziierten systematischen Fehler können auf diese Weise eindeutig identifiziert werden.

Bei der Komponente 2 werden Planktonproben zur Verfügung gestellt, die aus aufgestockten natürlichen Proben oder vollständig aus Kulturalgen bestehen. Neben der Bestimmung der Phytoplankton-Konzentration entsprechend der DIN EN 15204 ist hier auch die Berechnung des Algenbiovolumens erforderlich. Beide Kriterien sind sowohl als Gesamtzellzahl und Gesamtbiovolumen als auch auf der Ebene einzelner Algentaxa anzugeben. Bei dieser Komponente wird also der systematische Fehler mit Sedimentation einer natürlichen Probe überprüft. Eine Trennung der (hohen)

subjektiven Fehlerquellen (durch zusätzliche Arbeitsschritte im Vergleich zur ersten Komponente) von den systematischen Fehlern ist damit möglich.

Bei Komponente 3 kommen 20 Videoclips von Planktonalgen zum Einsatz, die für jeden Ringversuch neu hergestellt werden. Diese Komponente fokussiert ausschließlich auf die taxonomische Bestimmung dieser Algen, die von den Teilnehmern bis auf die vorgeschriebenen Bestimmungsniveaus vorgenommen werden soll. Neben der Prüfung der Artenkenntnis steht darüber hinaus die Verwendung von wissenschaftlicher Bestimmungsliteratur für das Ansprechen unbekannter Arten im Mittelpunkt.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Komponente 1 zum methodischen Teil des Ringversuchs gehört, da sie unabhängig ist von subjektiven Effekten wie dem Erkennen und der Bestimmung von Algen. Die Komponente 3 hingegen ist frei von methodischen Elementen und fokussiert ausschließlich auf die taxonomische Bestimmung. Demgegenüber enthält die Komponente 2 sowohl methodische als auch taxonomische Elemente. Mit diesem Aufbau werden alle notwendigen Kompetenzen geprüft, die für eine leistungsfähige Phytoplanktonanalyse sowie eine erfolgreiche und reproduzierbare Bewertung der Gewässer erforderlich sind.



Abbildung 18: Screenshot des Webportals für die Ringversuchsdurchführung (Quelle: www.planktonforum.eu; zugegriffen am 20.12.2013)

Unter www.planktonforum.eu (*Abbildung 18*) wurde in den letzten Jahren eine umfangreiche Ringversuchsinfrastruktur aufgebaut. Die Organisation und Durchführung des Ringversuches erfolgt nunmehr hauptsächlich über dieses Portal. Interessierte Nutzer können sich dort registrieren und werden dann rechtzeitig über einen neuen

Ringversuch informiert. Die Anmeldung zu einem Ringversuch erfolgt genauso online wie auch die Eingabe der Ergebnisse. Die Videoclips stehen den Teilnehmern ebenfalls online zur Verfügung. Durch eine zeitnahe Darstellung der Vorabergebnisse auf dem Portal können sich die Teilnehmer schnell über ihr Abschneiden informieren und ggf. umgehend qualitätssichernde Maßnahmen einleiten. Für potenzielle Arbeitgeber sind zur Recherche teilnehmender Labore Teilnehmerlisten online einsehbar.[95]

4.3. Planung von internen Audits

Die DIN EN ISO/IEC 17025 fordert die regelmäßige Durchführung interner Audits als internes QS-Element. Ein solches Audit überprüft eine Methode oder einen Vorgang in seinem gesamten Umfang, was einen Vorteil gegenüber anderen, jeweils nur auf Teile einer Methode beschränkten QS-Maßnahmen darstellt. Für die Phytoplanktonanalyse existiert ein solches Audit bisher nicht. Im Folgenden wird zunächst der allgemeine Aufbau interner Audits dargestellt und im Anschluss ein Audit für die Phytoplanktonanalyse entwickelt.

4.3.1. Aufbau eines internen Audits

Die European cooperation for Accreditation of Laboratories (EAL) stellte bereits 1997 einen Leitfaden für Prüf- und Kalibrierlaboratorien bereit, mit dem Ziel, diese bei der Aufstellung eines Plans für interne Audits zu unterstützen.[96]

Ein Qualitätsaudit ist laut diesem Leitfaden eine „systematische und unabhängige Untersuchung um festzustellen, ob die qualitätsbezogenen Tätigkeiten und die damit zusammenhängenden Ergebnisse den geplanten Vorgaben entsprechen und ob diese Vorgaben effizient verwirklicht werden und geeignet sind, die Ziele zu erreichen.“[97] Im Klartext ist das Ziel von in regelmäßigen Abständen durchgeführten internen Audits, zu

[95] Vgl. Meybohm (2012)
[96] Vgl. European cooperation for Accreditation of Laboratories (EAL) (1997)
[97] ebd., S. 5

überprüfen, ob alle festgelegten qualitätssichernden Maßnahmen in der Praxis auch richtig durchgeführt werden. Beim Audit auffallende Defizite dienen als Grundlage für eine stetige Verbesserung der betrachteten Prozesse.

Das interne Audit sollte hinsichtlich Turnus und Durchführung in einem Auditplan schriftlich niedergelegt sein und durch einen als Qualitätsmanagementbeauftragten eingesetzten und entsprechend geschulten Mitarbeiter durchgeführt werden. Außerplanmäßige Audits können stattfinden, wenn beispielsweise die Qualität sinkt, Kundenreklamationen vorliegen oder Änderungen in der Methode durchgeführt wurden. Man unterscheidet **horizontale** und **vertikale** Audits. Erstere überprüfen „ein QM-Element über die gesamte Breite der (...) Prüf- bzw. Kalibriertätigkeiten“ (z. B. „Mitarbeiterschulung, Bezugsnormale, Kalibrierung und Wartung von Prüf- und Messeinrichtungen, Kalibrier- und Prüfverfahren“). Ein vertikales Audit dagegen überprüft für eine spezielle Aufgabe „alle QM-Elemente, die mit Kalibrierung oder Prüfung zusammenhängen“ (z. B. für die Phytoplanktonanalyse: „Probenahme; Handhabung der Probe; beteiligte Mitarbeiter; Kalibrierung und Wartung der Prüf- und Messeinrichtungen; verwendete Kalibrier- und Prüfverfahren sowie -anweisungen; Forderungen der Qualitätskontrolle; Umgebungsbedingungen während der Kalibrierung und/oder Prüfung; Kalibrier- und Prüfungsaufzeichnungen und Ergebnisberichte; Datenspeicherung“).[98]

In der Praxis bietet es sich an, „einheitliche Formulare für die Auflistung (...) der zu auditierenden QM-Elemente; das Vermerken von Nichtkonformitäten und vereinbarten Korrekturmaßnahmen einschließlich nachfolgender Tätigkeiten sowie eine Zusammenfassung der Ergebnisse des Audits“ zu verwenden.[99]

Als erster Schritt wird in Vorbereitung eines Audits ein Auditplan mit Zeitplan erstellt und Auditor, Teilnehmer und der konkrete Fragenkatalog bestimmt. Anschließend erfolgt die Durchführung in Form eines Vorgespräches zur Klärung offener Fragen und einer Vor-Ort-Begehung. Dabei werden die Fragen des erstellten Fragenkataloges abgearbeitet sowie sich neu ergebende Fragen in den Katalog übernommen. Bei auffallenden schwerwiegenden Defiziten leitet der Auditor gemeinsam mit dem Prozessverantwortlichen sofortige Maßnahmen ein. In einem abschließenden Gespräch werden alle Punkte zusammengefasst und bewertet. Defizite und

[98] Vgl. European cooperation for Accreditation of Laboratories (EAL) (1997), S. 8
[99] Vgl. ebd.

Verbesserungsmöglichkeiten werden aufgezeigt und in einem Maßnahmeplan niedergeschrieben. Zu den einzelnen Punkten werden Aktivitäten sowie eine Zeitspanne für deren Umsetzung festgelegt. Die in einem Abschlussbericht dokumentierten Ergebnisse, Defizite, möglichen Ursachen und festgelegten Korrekturmaßnahmen werden dem Labor zur Verfügung gestellt und letztere bis zum Wirksamkeitsnachweis verfolgt. Der Bericht sollte insgesamt folgende Angaben enthalten:

(a) „den (die) Name(n) des (der) Auditor(en);
(b) das Datum des Audits“ und den Anlass;
(c) „die auditierten Bereiche“ mit Prozessverantwortlichen;
(d) „Einzelheiten über alle überprüften Bereiche“/kurze Methodenbeschreibung;
(e) Fragenkatalog mit Bewertung
(f) „alle festgestellten Nichtkonformitäten;
(g) vereinbarte Korrekturmaßnahmen, die zu deren Ablauf bewilligte Zeitspanne und die zur Durchführung der Maßnahme verantwortliche Person“ (Maßnahmeplan);
(h) „Datum der Bestätigung der Fertigstellung der Korrekturmaßnahme;
(i) Unterzeichnung durch den Qualitätsmanagementbeauftragten, der die Korrekturmaßnahmen bestätigt.“[100]

Für die Abarbeitung des Maßnahmeplans ist der Prozessverantwortliche zuständig, nicht der Auditor. Der Auditor prüft die Wirksamkeit der getroffenen Maßnahmen anhand einer Stichprobenprüfung. Wird trotz der getroffenen Maßnahmen die Wirksamkeit nicht ausreichend nachgewiesen, ist der Maßnahmeplan zu überarbeiten oder ein Nachaudit zu vereinbaren. Alle Dokumente zum Audit (Vorbereitung, Fragenkatalog, Maßnahmenkatalog, Auditbericht) sollten der Laborleitung zur Kenntnis gebracht und „für eine vereinbarte Zeitdauer aufbewahrt werden“.[101]

[100] Vgl. European cooperation for Accreditation of Laboratories (EAL) (1997), S. 12
[101] Vgl. ebd.

4.3.2. Entwicklung eines internen Audits für den Parameter Phytoplankton

Ein internes Audit, das die Qualitätssicherung bei der Phytoplanktonanalyse überprüfen soll, muss ein vertikales Audit sein. Alle QM-Elemente, die mit Kalibrierung oder Prüfung zusammenhängen (Probenahme; Handhabung der Probe; beteiligte Mitarbeiter; Kalibrierung und Wartung der Prüf- und Messeinrichtungen; verwendete Kalibrier- und Prüfverfahren sowie -anweisungen; Forderungen der Qualitätskontrolle; Umgebungsbedingungen während der Kalibrierung und/oder Prüfung; Kalibrier- und Prüfungsaufzeichnungen und Ergebnisberichte; Datenspeicherung) müssen von einem abteilungsfremden Qualitätsmanagementbeauftragten überprüft werden. Die jährliche Durchführung des internen Audits wird als sinnvoller Turnus festgelegt. Bei einer Veränderung der Methode sind zusätzliche Audits möglich. Die Dauer eines Audits sollte zwei Stunden nicht überschreiten. Der in *Abbildung 19* ausschnittsweise dargestellte Auditplan (siehe Anhang Seite 3) enthält mit fortlaufender Nummer zu jedem auditierten Aspekt die Grundlage aus DIN EN ISO/IEC 17025, DIN EN 15204 und DIN EN 14996. Dabei muss nicht jedes Thema in jedem Audit behandelt werden. Auch eine zeitlich getrennte Auditierung verschiedener Themen ist möglich.

Bezeichnung/Inhalt	DIN EN ISO/IEC 17025	DIN EN 15204	DIN EN 14996	Audit-thema
1. Organisation und Planung	4		5.	○
Probenahmeplanung	5.7.1		5.3	○
2. Wartung Mikroskop	5.5			○
Wartungsplan und Dokumentation	5.5.6			○
3. Kalibrierung	5.5.10	5.3		○
Kalibrierung des optischen Messsystems		5.3		○
Kalibrierung der Konzentrationsbestimmung		5.3		○
Überprüfung der Volumina von Sedimenationskammern und -zylindern	5.5	5.2		○
4. Probenahme	5.7	5.1	6.	○
Beschriftung Probenflaschen	5.8.2			○
Fixierung der Proben		5.4; 6.2		○
5. Probentransport	5.8			○
6. Probenlagerung	5.8.4	6.3		○
7. Probenvorbereitung		6.	7.1	○

Abbildung 19: Ausschnitt aus dem Auditplan Phytoplanktonanalyse (Quelle: Eigene Darstellung)

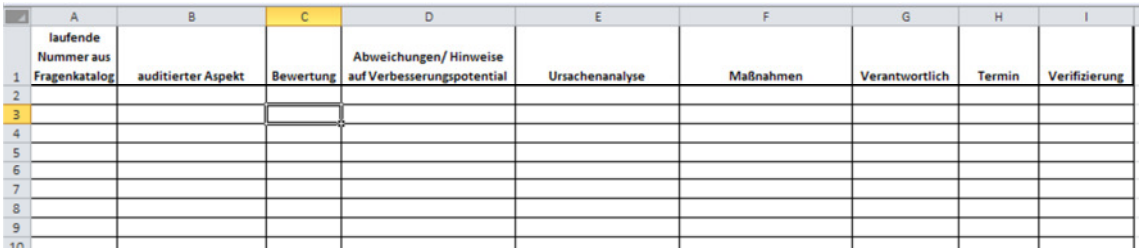
Basierend auf der SAA, der DIN EN ISO/IEC 17025 und weiteren DIN-Normen und Standardarbeitsanweisungen wurde ein Fragenkatalog erstellt (*Abbildung 20*; siehe Anhang Seite 4 ff.). Anmerkungen des Auditors zum Fundort der entsprechenden Dokumentationen und Unterlagen wie auch zu festgestellten Abweichungen werden dort im Verlauf des Audits ebenso eingetragen wie die Bewertungen.
Konkret sind nicht zutreffende Anforderungen der Norm als „0“ zu kennzeichnen und entsprechend zu begründen. Der Begutachter führt in der 4. Spalte eine Bewertung (Bewertungsschlüssel siehe Fußzeile) im Rahmen der Vorbereitung der Begutachtung (B. Dok.) und in der 5. Spalte vor Ort (B v. Ort) durch. Er begründet Bewertungen „nicht kritische Abweichung festgestellt “ (2) oder „kritische Abweichung festgestellt“ (3) in der 3. Spalte. Wird für einen Normpunkt keine Abweichung festgestellt genügt die Bewertung in der ersten Zeile des entsprechenden Abschnitts.

	Fragenkatalog	Notizen Auditor/Liste der eingesehenen Nachweise	B. Dok.	B. v. Ort
		ja/nein Wer? Wo? Wie oft bzw. Wann?		
1.	**Organisation und Planung** ➔ Existiert eine eindeutige und ausführliche Arbeitsanweisung für die Phytoplanktonanalyse? ➔ Steht den Mitarbeitern eine aktuelle, genehmigte Version der Arbeitsanweisung zur Verfügung und wird sie von ihnen verwendet? ➔ Werden die Dokumente regelmäßig geprüft und nötigenfalls überarbeitet sowie ungültige oder überholte Dokumente unverzüglich gekennzeichnet und aus allen Ausgabe- und Verwendungsstellen entfernt? ➔ Sind handschriftliche Änderungen vorhanden und wenn ja, sind diese eindeutig gekennzeichnet, abgezeichnet und datiert? ➔ Existiert vom Benutzer entwickelte Software für die Erfassung, Verarbeitung, Aufzeichnung, Erstellung von Berichten, Speicherung und Rückverfolgung von Prüf- oder Kalibrierdaten und wurde diese hinreichend detailliert dokumentiert u. in geeigneter Form auf ihre Verwendbarkeit validiert? ➔ Sind Verfahren für den Schutz der Integrität und Vertraulichkeit von Dateneingabe oder -erfassung, der Datenspeicherung, der Datenübertragung und der Datenverarbeitung eingeführt und realisiert? ➔ Sind die Umgebungsbedingungen, unter denen die Kalibrie-			

Abbildung 20: Beginn des Fragenkatalogs internes Audit Phytoplanktonanalyse (Quelle: Eigene Darstellung)

Der Ablauf des Audits sieht ein Vorgespräch vor, in dem offene Fragen geklärt und bereits einige Unterlagen eingesehen werden. Es folgt eine vor Ort Begehung des Labors zur Klärung aller Fragen des Kataloges. In einem Abschlussgespräch werden die festgestellten Abweichungen besprochen, mögliche Ursachen analysiert und

Maßnahmen zur Beseitigung der Abweichungen festgelegt. Unter ihrer fortlaufenden Nummer aus dem Fragenkatalog werden diese Angaben zusammen mit dem festgelegten Verantwortlichen und einem Termin zur Umsetzung in einen Maßnahmeplan übernommen (Excel-Tabelle; siehe *Abbildung 21*).



	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	laufende Nummer aus Fragenkatalog	auditierter Aspekt	Bewertung	Abweichungen/ Hinweise auf Verbesserungspotential	Ursachenanalyse	Maßnahmen	Verantwortlich	Termin	Verifizierung
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									

Abbildung 21: Maßnahmeplan internes Audit Phytoplanktonanalyse (Quelle: Eigene Darstellung)

In einem Abschlussbericht werden der Fragenkatalog, die dokumentierten Ergebnisse, Defizite, mögliche Ursachen und festgelegte Korrekturmaßnahmen sowie sonstige Daten zum Audit nochmals zusammengefasst. Zusammen mit allen Dokumenten, die Grundlage für die Vorbereitung waren, samt den Aufzeichnungen aus dem Audit, werden diese der Laborleitung zur Kenntnis gebracht und für 10 Jahre aufbewahrt.

4.3.3. Einsatz im Rahmen von EQAT Phytoplankton

Als QS-Instrument zur internen Überprüfung ist es denkbar, den Teilnehmern von EQAT Phytoplankton im Downloadbereich auf der Website (www.planktonforum.eu) den Fragenkatalog zur Verfügung zu stellen. Damit würden alle Teilnehmer in die Lage versetzt, zusätzlich zum Ringversuch ihre Kompetenz durch die Durchführung des Audits zu überprüfen.

4.4. Zusammenfassung: Vorschlag eines Qualitätssicherungssystems für die Phytoplanktonanalyse

In den Kapiteln 1 und 2 wurde dargestellt, dass es sich bei der Phytoplanktonanalyse um einen wichtigen Indikatorparameter für die Qualitätsbestimmung von Rohwasser aus Oberflächengewässern handelt. Die zugehörigen Normen und Gesetze verlangen die Implementierung von qualitätssichernden Maßnahmen.

Nachdem zu Beginn von Kapitel 3 eine Verfahrensbeschreibung erfolgte, wurden im Anschluss potenzielle Fehlerquellen erörtert. Einer Auflistung der für akkreditierte Labore geforderten QS-Maßnahmen folgte exemplarisch eine Beschreibung des IST-Zustandes bei der LTV Sachsen, US Plauen[102]. Durch den Vergleich der bereits vorhandenen QS-Maßnahmen mit den Forderungen nach DIN EN ISO/IEC 17025 konnten Defizite und ein Bedarf an weiteren QS-Maßnahmen abgeleitet werden. Dazu zählen vor allem der Einsatz von Referenzmaterialen sowie die Entwicklung eines internen Audits.

Kapitel 4 erläuterte zunächst die Anforderungen, die laut BAM an Referenzmaterialien gestellt werden. Im Anschluss wurde die Eignung diverser Materialien, wie natürlichen oder gezüchteten Algen und Mikropartikeln erörtert. Die neu entwickelten Referenzzählkammern erwiesen sich nach einer Beschreibung ihrer Herstellung und Testung als geeignete Referenzmaterialien. Ihr Einsatz in der Praxis mithilfe von Shewhart-Kontrollkarten wurde erläutert und vorbereitet. Des Weiteren erfolgte die Beschreibung der geforderten und umgesetzten Referenzsammlung(en). Außerdem wurde der Aufbau von Ringversuchen erläutert und der von der LTV durchgeführte EQAT Phytoplankton vorgestellt. Die Referenzzählkammern konnten in diesem bereits erfolgreich eingesetzt werden. Kapitel 4 endet mit der Darstellung des allgemeinen Aufbaus von internen Audits und der Vorstellung des in dieser Arbeit neu für die Phytoplanktonanalyse entwickelten Audits. Dieses umfasst einen Auditplan, einen Fragenkatalog, einen Maßnahmeplan und zudem Vorschläge zu Organisation und Durchführung sowie Auswertung und Dokumentation. Die Verwendung der

[102] Dieser steht stellvertretend für die meisten europäischen Labore, welche die Phytoplanktonanalyse durchführen, so dass die Ergebnisse des Vergleiches verallgemeinert werden können.

Referenzzählkammern im Ringversuch EQAT Phytoplankton und die vorgeschlagene Ergänzung durch das interne Audit beschreiben die Zusammenführung von vorhandenen und neu entwickelten Maßnahmen. So entsteht ein umfassendes Qualitätssicherungssystem für die Phytoplanktonanalyse, welches deutlich mehr potenzielle Fehlerquellen als bisher überprüft und unter Kontrolle bringt. *Tabelle 3* auf Seite 28 zeigt, welche Fehler durch welche Qualitätssicherungsmaßnahmen überwacht werden.

Ausgangspunkt war, dass Probenahme und Probenvorbehandlung lediglich in der SAA beschrieben und durch die Teilnahme des Personals an Schulungen „überwacht“ wurden. Gleichzeitig wurde aber dargelegt, dass gerade bei der Teilprobenherstellung und Homogenisierung die größten Fehlerquellen liegen. Durch das neue interne Audit kann hier eine stärkere Kontrolle stattfinden. Dies gilt auch für alle weiteren Verfahrensschritte. Die Sedimentation in den Kammern und die folgende qualitative und quantitative (Vor-)Untersuchung wurde ebenso wie die abschließende Berechnung der Biomasse und die Bestimmung der Taxa durch die Teilnahme an Vergleichsuntersuchungen bzw. Ringversuchen sowie durch gerätebezogene Wartung, Reinigung und Kalibrierung überprüft. Plausibilitätsprüfungen durch den Vergleich mit Messungen des Chlorophyll-a-Gehaltes sicherten die Ergebnisse ab. Die neuen Referenzzählkammern erhöhen diese Sicherheit weiter. Die mit einem hohen subjektiven Fehler verbundene Beurteilung der Gleichverteilung der Partikel nach dem Absetzvorgang wird jedoch mit den Referenzzählkammern nicht geprüft. Lediglich der systematische Fehler wird erfasst. Da ein sehr hoher subjektiver Fehler auftritt, ist die Trennung von subjektivem und systematischem Fehler wichtig. In Kombination mit dem Ringversuch wird wiederum die gesamte Methode überprüft.

Sämtliche QS-Maßnahmen weisen also unterschiedliche Fokussierungen auf und decken verschiedene Arbeitsschritte und die mit diesen verbundenen Fehlerquellen ab. Die meisten der festgestellten Defizite werden durch die zusätzlichen QS-Maßnahmen behoben. Das neue System ist in der Breite anwendbar und stellt eine kostengünstige, mit geringem Aufwand anwendbare Möglichkeit der Qualitätssicherung dar. Seine hohe Effizienz macht das System für alle Labore attraktiv, die eine Phytoplanktonanalyse durchführen. Einige kleinere Defizite bleiben jedoch bestehen. Diese werden im anschließenden Ausblick aufgegriffen und erläutert. Vorschläge für mögliche Lösungen bilden den Abschluss dieser Arbeit.

5. Ausblick

Eine weitgehende Beseitigung der ermittelten Defizite wurde mit der vorliegenden Arbeit erreicht. Dennoch verbleiben einige Problemfelder, die in Zukunft weitere Verbesserungen erfordern.

So stellt die Prüfung auf Poisson-Verteilung der Algen auf dem Kammerboden nach der Sedimentation nach wie vor ein Defizit dar. Wie bereits beschrieben (Kapitel 3.4.) erfolgt die Einschätzung, ab wann man die Kammer nicht auswerten, sondern einen neuen Ansatz herstellen sollte, momentan rein subjektiv. Die rechnerische Überprüfung ist zwar theoretisch (für die Methodenvalidierung) beschrieben (siehe Kapitel 2.6.), in der Praxis aber für jede Einzelprobe zu aufwendig. Eine Lösungsidee stellt die Zugabe von geeigneten Mikropartikeln dar. Diese könnten der Probe zugegeben und am Anfang nach festgelegter Strategie erfasst werden (x – Zählfelder; z. B. 20). Aus der Verteilung und Anzahl der Partikel in den einzelnen Zählfeldern könnten Rückschlüsse auf die Verteilung gezogen werden. Dafür müssten aber andere/bessere Mikropartikel als die bisher benutzten gefunden/entwickelt werden. Es dürften keine Verklumpungen auftreten und die Verschleppungen müssten minimiert werden.

Ein weiterer Verbesserungsvorschlag für die Zukunft ist die regelmäßige Durchführung des in Kapitel 4.1.2.1. beschriebenen Konsensusvergleiches. Eine Variation bzw. Ergänzung dieser Maßnahme wäre, die Vergleichszählungen (einmal) von einem Beobachter oder von unterschiedlichen Beobachtern durchführen zu lassen. Damit würde zugleich der individuelle Fehler geprüft. Denkbar wären hier zudem die Einführung einer Mittelwertkarte mit Präzisionsmaß und die Entwicklung entsprechender Arbeitsanweisungen und Auswertungsmodi.

Für die Zukunft ist sowohl für die Referenzzählkammern als auch für das interne Audit eine weitere Verwendung denkbar. So könnten beide von externen Begutachtern, wie z. B. der Deutschen Akkreditierungsstelle (DAkkS) oder von unabhängigen Auditoren verwendet werden. Auch eine – bisher nicht erfolgte – Zertifizierung der Referenzzählkammern ist möglich. Der ISO Guide 35 der BAM schreibt für Zertifizierungsmessungen die Auswertung der Messergebnisse (Richtigkeit) vor. Er trifft

folgende Festlegungen für das Zertifizierungsverfahren:

a) interne Zertifizierung an einem Messplatz

b) interne Zertifizierung an mehreren Messplätzen

c) Zertifizierung im RV mit externen Partnern

Es muss geklärt werden, wer die Auswertung durchführt; welches Auswertungsverfahren angewendet und welche Software verwendet wird.

Die in Kapitel 4.1.4.3. begonnene Entwicklung der Kontrollkarten soll mit der Programmierung einer neuen Software in naher Zukunft weitergeführt werden. Die SAA für die Phytoplanktonanalyse muss um ein Kapitel zur Anwendung der Referenzzählkammern und zum Führen der Kontrollkarten ergänzt werden. Dort sollte auch der Umgang mit Außer-Kontroll-Situationen dokumentiert sein. In jedem Fall sollte eine Warngrenzenüberschreitung die Kontrolle des Mikroskops auf korrekten Einbau der Objektive und richtige Wahl der Vergrößerung nach sich ziehen.

Um zusätzlich zur Auszählung den Faktor zur Berechnung der Biomasse in der Software zu überprüfen, könnte man aus dem Auszählergebnis zunächst die Biomasse berechnen und erst diesen Wert in eine Mittelwertkontrollkarte eintragen.

In Kapitel 4.3.3. wurde die Integration des internen Audits in den RV EQAT Phytoplankton diskutiert. Die Entwicklung eines Bewertungssystems für die Anzahl, Schwere und Beseitigung von Abweichungen ist in Zukunft denkbar. Dies könnte eine Auswertung in Form eines Vergleiches unter den Ringversuchsteilnehmern ermöglichen.

Abschließend könnte sich eine weitere Arbeit dem komplexen Thema der Messunsicherheit zuwenden. DIN EN ISO/IEC 17025 fordert, ein Verfahren für die Ermittlung der Messunsicherheit vorzuhalten. Dies gewährleistet die LTV für die Phytoplanktonanalyse zwar mit der VU Messunsicherheit, jedoch müsste diese überprüft werden, um zu klären, welche Teile davon wirklich anwendbar sind. Dazu könnten in einem top-down-Ansatz Ringversuchsergebnisse zur Ermittlung der Messunsicherheit genutzt werden, an Stelle vieler verschiedener, einzelner Messwerte.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die vorliegende Arbeit eine wesentliche Erweiterung des Qualitätssicherungssystems für die Phytoplanktonanalyse um essentielle Bausteine darstellt. Kleinere Defizite bleiben aber bestehen. Ganz im Sinne der Qualitätssicherung wird auch in Zukunft eine stetige Überprüfung und Verbesserung des Verfahrens und seiner QS-Maßnahmen nötig und sinnvoll sein.

Literaturverzeichnis

Bartel, Hartmut; Dieter, Hermann H.; Feuerpfeil, Irmgard; Grummt, Hans-Jürgen; Grummt, Tamara; Hummel, Annette; Konietzka, Rainer; Litz, Norbert; Rapp, Thomas; Rechenberg, Jörg; Schaefer, Benedikt; Schlosser, Frank-Ullrich und Vigelahn, Lothar (2013): Rund um das Trinkwasser (Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau)

Batschelet, E. (1971): Introduction to Mathematics for Life Scientists (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York)

Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (2006; aktualisiert: 2010): Leitfaden für die Entwicklung von BAM-Referenzmaterialien; in http://www.bam.de/de/fachthemen/referenzmaterialien/referenzmaterialien_medien/bam_rm_leitfaden.pdf; zugegriffen am 20.12.2013

Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (2010): Referenzmaterialien in der BAM; in http://www.bam.de/de/fachthemen/referenzmaterialien/referenzmaterialien_medien/referenzmaterialien_in_der_bam.pdf; zugegriffen am 20.12.2013

Deutsche Vereinigung des Gas- und Wasserfaches e. V. (2010): Technische Regel – Arbeitsblatt DVGW W 202 (A) Technische Regeln Wasseraufbereitung (TRWA) Planung, Bau, Betrieb und Instandhaltung von Anlagen zur Trinkwasseraufbereitung

DIN 38402 A45 (2003): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Allgemeine Angaben (Gruppe A) - Teil 45: Ringversuche zur externen Qualitätskontrolle von Laboratorien (A 45)

DIN 38412-L16 (1985): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehaltes von Oberflächenwasser (L 16)

DIN EN 14996 (2006): Wasserbeschaffenheit – Anleitung zur Qualitätssicherung biologischer und ökologischer Untersuchungsverfahren in der aquatischen Umwelt

DIN EN 15204 (2006) (D): Wasserbeschaffenheit – Anleitung für die Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik)

DIN EN ISO/IEC 17025 (2000): Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien

EN ISO 9000 (2005): Qualitätsmanagementsysteme - Grundlagen und Begriffe

ENV ISO 13843 (2001): Richtlinie zur Validierung mikrobiologischer Verfahren

European cooperation for Accreditation of Laboratories (EAL) (1997): Interne Audits und Qualitätsmanagement-Bewertung in Laboratorien (DAR-4-INF-03); in http://www.dar.bam.de/pdf/dar_4_inf_03.pdf; zugegriffen am 20.12.2013

Fearn, T. and Thompson, M. (2001): A new test for 'sufficient homogeneity'. *The Analyst* **126**, 1414-1417

Funk, W.; Dammann, V.; Donnevert, G. (1992): Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie. (VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, New York, Basel, Cambridge)

Hall, J. (2011): The Most Important Organism? in http://www.ecology.com/2011/09/12/important-organism/; zugegriffen am 15.12.2013

Hoehn, E.; Ketelaars, H. A. M.; Ewig, B. (1998): Erfassung und Bewertung von Planktonorganismen. *ATT Technische Informationen* Nr. 7 (Kommissionsverlag R. Oldenburg, München)

Hoehn, E.; Riedmüller, U.; Eckert, B.; Tworeck, A.; Leßmann, D. und Nixdorf, B. (2009): Abschlussbericht zum LAWA-Projekt, Ökologische Bewertung von künstlichen und erheblich veränderten Seen sowie Mittelgebirgsseen anhand der biologischen Komponente Phytoplankton nach den Anforderungen der EU-Wasserrahmenrichtlinie

http://www.microparticles.de/; zugegriffen am 20.12.2013

http://www.planktonforum.eu/; zugegriffen am 20.12.2013

ISO Guide 35 (2006): Reference materials – General and statistical principles for certification

Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen (2007): Beste Wasserqualität von der Quelle bis zum Wasserhahn (Pirna)

Landestalsperren-Verwaltung des Freistaates Sachsen US Paulsdorf, Plauen, Radeburg, Saidenbach (2006): Verfahrensanweisung Abschätzung der Messunsicherheit bei der Phytoplanktonanalyse (VA_MU_Phytoplankton_00)

Landestalsperren-Verwaltung des Freistaates Sachsen US Plauen (2006): Standardarbeitsanweisung SAA 1 – 04 Qualitative und quantitative Phytoplankton-Untersuchung

Mallek, M. (2010): Total Quality Management (TQM) als Qualitätsphilosophie: Historische Entwicklung und Demings 14-Punkte-Programm

Meybohm, A. (2012): Ringversuch EQAT Phytoplankton – Kompetenzfeststellung nach Maß

Mittag, H.-J. (1993): Qualitätsregelkarten. (Carl Hanser Verlag, München u. a.)

Nixdorf, B.; Hoehn, E.; Riedmüller, U.; Mischke, U. und Schönfelder, I. (1995): Handbuch Angewandte Limnologie - Probenahme und Analyse des Phytoplanktons in Seen und Flüssen zur ökologischen Bewertung
gemäß der EU-WRRL (Wiley-VCH, Weinheim)

OECD (1997): Grundsätze der Guten Laborpraxis. *ENV/MC/CHEM(98)***17**

o. V. (1. Aufl. 1980, Nachdrucke u. a. 2008): Süßwasserflora von Mitteleuropa, 24 Bde. in 27 Tl.-Bdn. (Springer Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg)

Schöne, K. und Andreas, B. (2007): Talsperren in Sachsen (Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen, Pirna)

Sitte, P.; Ziegler, H.; Ehrendorfer, F. und Bresinsky, A. (1998): Strasburger Lehrbuch der Botanik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm)

Umweltbundesamt (2011): Maßnahmen zur Minderung des Eintrags von Humanarzneimitteln und ihrer Rückstände in das Rohwasser zur Trinkwasseraufbereitung, Empfehlung des Umweltbundesamtes vom 30.08.2011 nach Anhörung der Trinkwasserkommission des Bundesministeriums für Gesundheit (Bundesgesundheitsbl 2012·**55**:143–149)

Utermöhl, H. (1958): Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt int Ver theor angew Limnol* **9**, 1-38

Umweltbundesamt (2005): Qualitätssicherung biologischer Untersuchungen unter dem Aspekt der Umsetzung der EG-Wasserrahmenrichtlinie. Gemeinsames Konzept des Unterausschusses „Biologische Bewertung in Fließgewässern und Interkalibrierung“ der LAWA, des UBA, des DGL-Arbeitskreises Qualitätssicherung sowie der Qualitätssicherungsstelle des Bund/Länder-Messprogramms Nord- und Ostsee am UBA; in https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/419/dokumente/qs_dgl_uba_lawa_04_05_05.pdf; zugegriffen am 16.12.2013

Wricke, B.; Petzoldt, H. und Bornmann, K. (2013): Studie Einfluss des Phytoplanktongehaltes im Rohwasser auf die Trinkwasseraufbereitung in Talsperrenwasserwerken (Technologiezentrum Wasser (TZW) Karlsruhe, Außenstelle Dresden)

Begriffs-Glossar

Agglomeration: Anhäufung, Ansammlung; hier: Verklumpung von Partikeln

Algenobjekt: Zähleinheit bzw. Kolonie einer oder mehrerer bei der Analyse des Phytoplanktons festgestellten Algenzelle(n), die nicht mit anderen (unabhängig davon sedimentierenden) Teilchen in der Probe verbunden ist bzw. sind[103]

Analytik: systematische Untersuchung eines Stoffes oder Gegenstandes hinsichtlich seiner Eigenschaften und Komponenten

Arbeitsvorschrift: spezifischer Arbeitsablauf eines Analyseverfahrens bezüglich des Volumens der Probe oder Teilprobe, der mikroskopischen Vergrößerung, der Anzahl auszuzählender Zellen, des taxonomischen Niveaus der Bestimmung usw.[104]

Audit: systematische und unabhängige Untersuchung um festzustellen, ob die qualitätsbezogenen Tätigkeiten und die damit zusammenhängenden Ergebnisse den geplanten Vorgaben entsprechen und ob diese Vorgaben effizient verwirklicht werden und geeignet sind, die Ziele zu erreichen[105]

Batchzertifizierung: Zertifizierung einer (jeden) Charge

Belegexemplare: Probe eines Taxons oder mehrere Taxa, die von einem bestimmten Ort zu einer bestimmten Zeit gewonnen und die konserviert wurde, um eine unabhängige Verifizierung der Identität von Taxa zu ermöglichen[106]

[103] DIN EN 15204 (2006), S. 5
[104] ebd., S. 7
[105] DIN EN ISO 9000 (2000)
[106] DIN EN 14996 (2006), S. 10

Bias: = Richtigkeit; Maß für einen Fehler, der seiner Natur nach überwiegend zufällig ist. Es ist der Mittelwert einer unendlich großen Anzahl von Messungen der gleichen Messgröße unter Wiederholbedingungen, dividiert durch den wahren Wert für die Messgröße[107]

Biologische Analytik: Teilgebiet der Biologie zur Bestimmung von Art und Menge biologischer Makromoleküle oder von Lebewesen

Biomasse: hier: ökologischer Biomassebegriff; keine einheitliche Definition; hier: Parameter zur Bestimmung der Menge an Phytoplankton in einem Gewässer

DIN: Deutsches Institut für Normung

Durchlichtmikroskop: optisches Vergrößerungsgerät bei dem das Licht durch das Präparat hindurch geleitet wird, bevor es vom Objektiv des Mikroskops aufgefangen wird

Eutrophierung:
im engeren Sinne: Nährstoffanreicherung in einem Gewässer und dadurch übermäßiges Wachstum von Wasserpflanzen und Algen;
im weiteren Sinne umfasst der Begriff auch die weiteren Folgen: durch vermehrtes Absterben der Pflanzen wird übermäßig Sauerstoff für ihre Zersetzung verbraucht, was weiteren aeroben Abbau verhindert; durch weitere anaerobe Zersetzung Anreicherung giftiger Stoffe (z. B. Methan, Ammoniak) und „Umkippen“ des Gewässers (Fischsterben und belästigende Gerüche)

Fehler: Differenz zwischen einem individuellen Ergebnis und dem Mittelwert (zufälliger Fehler)[108]

Fixierung: Schutz vor Zerfall der morphologischen Struktur von Organismen[109]

[107] DIN EN 14996 (2006), S. 6
[108] ebd.
[109] DIN EN 15204 (2006), S. 7

Flora: Pflanzenwelt; Summe der Pflanzenarten einer bestimmten Region

Genauigkeit: die Nähe der Übereinstimmung zwischen dem Ergebnis einer Messung und dem akzeptierten Referenzwert[110]

Gewässergüte: hier: Qualität von Oberflächengewässern; Anhand von Parametern, welche den Gewässerzustand abbilden, wird eine Bewertung ermöglicht.

Homogenisierung: Herstellung einer einheitlichen Mischung verschiedener, nicht ineinander löslicher Komponenten einer Lösung

ISO: International Organisation for Standardisation

Kalibrierung:
in der Messtechnik die Überprüfung von Messinstrumenten auf die Korrektheit der von ihnen gemessenen Werte hin
im weiteren Sinne die Herstellung einer funktionalen Beziehung zwischen den gemessenen Daten und den interessierenden Parametern

Konservierung: Schutz der organischen Substanz vor Zersetzung (Abbau)[111]

Kontrollkarte: zweidimensionales Punktdiagramm zur Überwachung der Leistungsfähigkeit von Verfahren (...)[112]

limnisch: Lagebezeichnung in der Biologie; in der Umgebung eines Süßwassersees

lugolfixiert: mit Lugol´scher Lösung (Iod-Kaliumiodid-Lösung) konservierte Probe

Makrophyten: mehrzellige, größere (d. h. mit bloßem Auge sichtbare) Pflanzen; keine einheitliche systematische Gruppe

[110] ENV ISO 13843 (2001), S. 6
[111] DIN EN 15204 (2006), S. 7
[112] ENV ISO 13843 (2001), S. 8

Makrozoobenthos: mit bloßem Auge erkennbare wirbellose Gewässertiere, die am Gewässergrund oder an untergetauchter Vegetation leben (z. B. Wasserkäfer, Krebse, ...)

Messgröße: besondere Quantität, die gemessen wird (z. B. Anzahl der Organismen in einer Probe ...)[113]

Messunsicherheit: dem Ergebnis zugeordneter Parameter, der die Streuung derjenigen Werte kennzeichnet, die vernünftigerweise der Messgröße zugeordnet werden könnte

Nachweisgrenze: Mindestanzahl und/oder Größe eines speziellen Taxons oder einer Gruppe von Organismen in einer Probe, bei der deren Vorhandensein mit einer bestimmten Zuverlässigkeit erfasst werden kann[114]

Oberflächengewässer: natürliche oder künstliche Gewässer, die ständig oder vorübergehend in Betten fließen oder stehen, auch oberirdisch austretendes Quellwasser

Photosynthese: Erzeugung von energiereichen Stoffen aus energieärmeren Stoffen mit Hilfe von Lichtenergie

Phytobenthos: auf dem Boden von Gewässern wachsende Pflanzen, v. a. Algen, aber auch Blütenpflanzen

Phytoplankton: Gemeinschaft frei schwebender, vorwiegend photosynthetischer Organismen aquatischer Systeme, einschließlich Cyanobakterien (Blaualgen) und Algen[115]

Pipettierfehler: Fehler bei der Volumendosierung

[113] DIN EN 14996 (2006), S. 6
[114] ebd.
[115] DIN EN 14204 (2006), S. 6

Poisson-Verteilung:
generell: diskrete Wahrscheinlichkeitsverteilung, die das zu erwartende Ergebnis einer Serie von Zufalls-Experimenten vorhersagt, die nur zwei mögliche Ergebnisse besitzen
speziell: vollkommen zufällige Verteilung der Partikelzahlen bei Beprobung einer vollständig durchmischten Suspension[116]

Präzision: Nähe der Übereinstimmung zwischen unabhängigen Versuchsergebnissen, die unter festgelegten Bedingungen erhalten werden (... wird berechnet als Standardabweichung der Versuchsergebnisse)[117]

Primärproduzent: autotropher Organismus, der Biomasse aus anorganischen Verbindungen und Energie aufbaut und damit am Beginn der Nahrungskette steht

Probenvolumen: Volumen einer Suspension von Partikeln, die in eine Einheit des Nachweissystems geimpft wird (... z. B. Quadrat eines mikroskopischen Zählgitters)[118]

Qualitätsmanagement: alle organisierten Maßnahmen die sicherstellen, dass die Qualität von Herstellung und Endprodukt beziehungsweise Dienstleistung dauerhaft und stetig überprüft und wenn nötig und möglich verbessert wird

Qualitätssicherung: alle geplanten und systematischen Vorgehensweisen, die notwendig sind, um ein angemessenes Vertrauen sicherzustellen, dass das Endprodukt die vorgegebenen Qualitätsanforderungen erfüllt[119]

Referenz:
generell: ein Bezugssystem oder Bezugswert für einen bestimmten Messwert
speziell: als Referenzsubstanz oder Referenzstandard ein Stoff oder ein Objekt mit definierten, bekannten Eigenschaften als Vergleichsmaterial

[116] ENV ISO 13843 (2001), S. 10
[117] ebd., S. 11
[118] ebd., S. 6
[119] DIN EN 14996 (2006), S. 7

Referenzsammlung: Sammlung von lebenden oder konservierten Arten, deren Identität unabhängig bestätigt wurde; sie ist für Laboratorien zugänglich, um die Bestimmung und Bewertung von ökologischen Proben zu unterstützen (Eine Referenzsammlung kann auch in Form von Photographien oder digitalen Darstellungen angelegt werden.)[120]

Ringversuch: Vergleichsuntersuchung zur Laborleistungsfähigkeit, bei der mehrere Laboratorien ein identisches Material auf die gleiche Messgröße hin untersuchen und die Resultate vergleichend beurteilt werden

Rohwasser: unbehandeltes Wasser vor der Reinigung und Aufbereitung (z. B. zu Trinkwasser)

SAA: Standardarbeitsanweisung; Arbeitsanweisung, die das Vorgehen innerhalb eines Prozesses beschreibt; engl. „Standard Operating Procedure“ (SOP)

Sedimentation: = Absetzen; das Trennen disperser fluider Systeme in ihre Komponenten anhand ihres Dichteunterschiedes

Sedimentationskammer: Objektträger mit Aussparung definierten Volumens und aufsetzbare Plexiglaszylinder mit verschiedenen, definierten Volumina zur Sedimentation von Phytoplankton aus Gewässerproben und der folgenden Zählung unter dem Durchlichtmikroskop

Shewhart-Regelkarte: graphische Auswertung von Messergebnissen über eine Häufigkeitsverteilungskurve; kann dem Labor Rückschlüsse auf z. B. Geräteeinflüsse, Reagenzien oder Mitarbeiterfehler geben, wenn einzelne Messergebnisse außerhalb bestimmter Bereiche liegen oder Tendenzen zu erkennen sind

Spezifität: Anteil negativer Partikel an der Gesamtzahl, die in der vorläufigen Untersuchung korrekt zugeordnet wurden[121]

[120] DIN EN 14996 (2006), S. 8
[121] ENV ISO 13843 (2001), S. 14

Taxon (Plural: Taxa): systematische Einheit oder Gruppe von Lebewesen, die sich durch gemeinsame Merkmale beschreiben und von anderen Gruppen unterscheiden lässt

top-down-Ansatz: Analyseansatz, bei dem vom Allgemeinen, Übergeordneten schrittweise hin zum Speziellen, Untergeordneten vorgegangen wird; Gegensatz zu „Bottom-up“ in der umgekehrten Richtung;
hier: Ermittlung der Messunsicherheit aus Ringversuchsergebnissen statt Ermittlung aus vielen einzelnen Faktoren

Umkehrmikroskop: Objektiv unter Objekttisch (im Gegensatz zum bekannten *Aufrechten Mikroskop*, bei dem das Objektiv von oben auf das Präparat gerichtet ist); der vergrößerte Raum zwischen Beleuchtungseinheit und Tisch erlaubt das Mikroskopieren von Präparaten mit größerer Dicke und durch die Wände von Laborgefäßen hindurch

Validierung: Bestätigung durch Untersuchung und Bereitstellung eines objektiven Nachweises, dass die besonderen Anforderungen für eine spezifisch beabsichtigte Anwendung erfüllt worden sind[122]

Variabilität:
allgemein: Veränderlichkeit von Individuen einer Stichprobe
hier: Unterschiede zwischen Individuen einer Art

Verifizierung: Bestätigung der Bestimmung, z. B. durch einen qualifizierten oder unabhängigen Experten[123]

Wasserqualität: anhand objektiver Parameter vergleichbarer und bewertbarer Zustand des Wassers

Zählkammer: Messgerät aus Spezialglas oder Kunststoff, welches die lichtmikroskopische Zählung von Teilchen/Zellen einer Suspension ermöglicht

[122] DIN EN 15204 (2006), S. 7
[123] DIN EN 14996 (2006), S. 9

Zooplankton: „tierisches Plankton“; alle Organismen des Planktons, die im Gegensatz zu dem Phytoplankton keine Photosynthese betreiben, sondern sich von anderen Organismen erähren

Zönose: **(Phytoplankton~);** Gruppe von Organismen verschiedener Arten, welche gemeinsam in einem abgrenzbaren Lebensraum vorkommen und zumindest teilweise miteinander in Beziehung stehen

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Benutzung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe. Wörtlich übernommene Sätze oder Satzteile sind als Zitat belegt, andere Anlehnungen hinsichtlich Aussage und Umfang unter Quellenangabe kenntlich gemacht. Die Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner Prüfungsbehörde vorgelegen und ist nicht veröffentlicht.

Ort, Datum	Anika Mehlis

Anhang

LANDESTALSPERREN-VERWALTUNG / Freistaat SACHSEN	**Fragenkatalog zum internen Audit Phytoplanktonanalyse**	Audit 1 2013

Name, Anschrift des Labors:	Landestalsperrenverwaltung Sachsen Betrieb Zwickauer Mulde/obere Weiße Elster Bärenstraße 46 08523 Plauen
Verfahrensnummer:	1 (2013)
Datum der Begutachtung:	
Anlass:	turnusmäßiges internes Audit

☒ Prüflaboratorium	☐ Kalibrierlaboratorium	
KBS mit mehreren Standorten:	☒ ja	☐ nein
Begutachtete Standorte: Betrieb Zwickauer Mulde/obere Weiße Elster		
(Name)/Anschrift:	08523 Plauen	Bärenstraße 46
(Name)/Anschrift:		
(Name)/Anschrift:		

Begutachtete Bereiche (horizontales Audit: Fachbereiche, Prüfgebiete, …; vertikales Audit: Methode)

Phytoplanktonanalyse

Angaben zum Begutachter

☐ leitender Begutachter	☐ System Begutachter	☒ Begutachter	☐ Experte	☐ Hospitant
Name Institution Telefon /Fax E-Mail	Dipl.-Biol. Anika Mehlis FH Zwickau			

Angaben zu weiteren Teilnehmern

Name	Position

Allgemeine Hinweise/Anmerkungen/Erläuterungen zur Anwendung des Fragenkataloges für das interne Audit zur Phytoplanktonanalyse:

Der vorliegende Fragenkatalog für Prüflaboratorien für ein internes Audit der Methode/des Parameters Phytoplanktonanalyse basiert auf dem Normentext der DIN EN ISO/IEC 17025 sowie der DIN EN 15204 und DIN EN 14996. Die Anmerkungen stellen keine Anforderungen dar. Die erste Tabelle ermöglicht eine Zuordnung der Forderungen zu den einzelnen Normen. Im Rahmen eines Audits kann angekreuzt werden, welche Forderungen jeweils überprüft/berücksichtigt werden.

Es folgen die konkreten Fragen. Die erste Spalte enthält eine fortlaufende Nummer zur Wiederfindung im Maßnahmenplan. In der zweiten Spalte finden sich zu jedem Aspekt die individuellen Fragen des Auditors, welche sich aus den Forderungen der Normen ergeben. In die 3. Spalte trägt der Auditor während/nach dem Vorgespräch folgende Informationen ein:

Wo ist die Umsetzung dieser Anforderung dokumentiert?
(Angabe der Fundstelle entsprechender Referenzdokumente) Nicht zutreffende Anforderungen der Norm sind als „0“ zu kennzeichnen und entsprechend zu begründen.

Der Begutachter führt in der 4. Spalte eine Bewertung (Bewertungsschlüssel siehe Fußzeile) im Rahmen der Vorbereitung der Begutachtung (B. Dok.) und in der 5. Spalte vor Ort (B. v. Ort) durch. Er begründet Bewertungen „nicht kritische Abweichung festgestellt “ (2) oder „kritische Abweichung festgestellt“ (3) in der 3. Spalte. Wird für einen Normpunkt keine Abweichung festgestellt genügt die Bewertung in der ersten Zeile des entsprechenden Abschnitts.

Die Feststellung(en) im Rahmen der Vorbereitung der Begutachtung und während der Begutachtung bezüglich der Umsetzung der Norm werden zusammenfassend in den Begutachtungsbericht eingetragen. Mit Verweis auf die fortlaufende Nummer werden außerdem die mit 2 (nicht kritische Abweichung) oder 3 (kritische Abweichung) bewerteten Anforderungen/Fragen in den Maßnahmenplan übernommen.

Bezeichnung/Inhalt	DIN EN ISO/IEC 17025	DIN EN 15204	DIN EN 14996	Audit-thema
1. Organisation und Planung	4		5.	◯
Probenahmeplanung	5.7.1		5.3	◯
2. Wartung Mikroskop	5.5			◯
Wartungsplan und Dokumentation	5.5.6			◯
3. Kalibrierung	5.5.10	5.3		◯
Kalibrierung des optischen Messsystems		5.3		◯
Kalibrierung der Konzentrationsbestimmung		5.3		◯
Überprüfung der Volumina von Sedimenationskammern und -zylindern	5.5	5.2		◯
4. Probenahme	5.7	5.1	6.	◯
Beschriftung Probenflaschen	5.8.2			◯
Fixierung der Proben		5.4; 6.2		◯
5. Probentransport	5.8			◯
6. Probenlagerung	5.8.4	6.3		◯
7. Probenvorbereitung		6.	7.1	◯
Temperaturangleichung		6.4		◯
Homogenisierung und Befüllen der Kammer		6.5; 8.2		◯
Probenanreicherung/-verdünnung		6.6; 6.7		◯
Sedimentationszeit		6.6		◯
Prüfen der Verteilung der Algen auf dem Kammerboden		6.6		◯
Prüfung auf vollständige Sedimentation		6.6; 6.7		◯
8. Zählung		7.		◯
Voruntersuchung		7.2		◯
Auswahl der Zählstrategien		7.3.1		◯
Präzision		7.3.2; 7.3.2.2	8.	◯
Nachweisgrenze		7.3.2.3	8.	◯
9. Konzentrations- und Biovolumenberechnung		7.3.3		◯
10. Taxonomische Bestimmung		7.4	7.2	◯
11. Prüfbericht	5.10; 5.10.3		11.	◯
12. Datenspeicherung	4.12			◯
13. Qualitätssicherung	4.2; 5.9	8.		◯
Mitarbeiterschulungen	4.1.5; 5.2		12.	◯
Abweichungen	4.9; 4.10			◯
Referenzmaterialien	5.6.3.2; 5.9	7.4	7.3	◯
Kontrollkarten				◯
Ringversuche	5.9	7.4		◯
Validierung	5.4.5	8.	9.	◯
Messunsicherheit	5.4.6	9.	10.	◯

	Fragenkatalog	Notizen Auditor/Liste der eingesehenen Nachweise	B. Dok.	B. v. Ort
		ja/nein Wer? Wo? Wie oft bzw. Wann?		
1.	**Organisation und Planung** ➔ Existiert eine eindeutige und ausführliche Arbeitsanweisung für die Phytoplanktonanalyse? ➔ Steht den Mitarbeitern eine aktuelle, genehmigte Version der Arbeitsanweisung zur Verfügung und wird sie von ihnen verwendet? ➔ Werden die Dokumente regelmäßig geprüft und nötigenfalls überarbeitet sowie ungültige oder überholte Dokumente unverzüglich gekennzeichnet und aus allen Ausgabe- und Verwendungsstellen entfernt? ➔ Sind handschriftliche Änderungen vorhanden und wenn ja, sind diese eindeutig gekennzeichnet, abgezeichnet und datiert? ➔ Existiert vom Benutzer entwickelte Software für die Erfassung, Verarbeitung, Aufzeichnung, Erstellung von Berichten, Speicherung und Rückverfolgung von Prüf- oder Kalibrierdaten und wurde diese hinreichend detailliert dokumentiert u. in geeigneter Form auf ihre Verwendbarkeit validiert? ➔ Sind Verfahren für den Schutz der Integrität und Vertraulichkeit von Dateneingabe oder -erfassung, der Datenspeicherung, der Datenübertragung und der Datenverarbeitung eingeführt und realisiert? ➔ Sind die Umgebungsbedingungen, unter denen die Kalibrierungen und/oder Prüfungen durchgeführt werden, angemessen? ➔ Sind die benötigte Laboratoriumsausstattung sowie die technischen Anforderungen an Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen, die die Ergebnisse von Prüfungen und Kalibrierungen beeinflussen können, schriftlich niedergelegt?			
	Probenahmeplanung ➔ Existiert ein Probenahmeplan? ➔ Orientiert sich die Probenahmeplanung an den spezifischen Bedingungen jeden Gewässers? ➔ Ist der Probenahmeplan am Ort der Probenahme verfügbar?			
2.	**(Wartung) Mikroskope** ➔ Sind die aktuellen Gebrauchs- und Wartungsanleitungen für die Mikroskope (einschließlich der vom Hersteller gelieferten geltenden Handbücher) für den Gebrauch durch das Laboratoriumspersonal leicht zugänglich? ➔ Wird für jedes Mikroskop ein Gerätebuch geführt, ist dieses greifbar und enthält es alle relevanten Angaben? (a) die Bezeichnung des Einrichtungsgegenstandes und seiner Software; b) den Namen des Herstellers, Typbezeichnung und die Seriennummer oder andere eindeutige Bezeichnungen; c) die Prüfung der Übereinstimmung der Einrichtung mit den Spezifikationen; d) wo zutreffend, der gegenwärtige Standort; e) die Anleitungen des Herstellers, sofern verfügbar, oder einen Hinweis auf ihren Standort; f) Daten, Ergebnisse und Kopien von Berichten und			

	Bescheinigungen über alle Kalibrierungen, Justierungen, Zulassungskriterien und den Termin für die nächste Kalibrierung; g) sofern angemessen einen Wartungsplan und bisher durchgeführte Wartungsarbeiten; h) Schäden, Funktionsstörungen, Änderungen oder Reparaturen der Einrichtungen.			
	Wartungsplan und Dokumentation ➔ Werden alle Mikroskope in einem festgelegten Rhythmus (jährlich) durch Fachpersonal gewartet? ➔ Existiert ein Wartungsplan und werden alle relevanten Schritte dokumentiert?			
3.	**Kalibrierung des optischen Messsystems und der Konzentrationsbestimmung** ➔ Werden das Okularmikrometer und das Zählraster nach jedem Umbau/nach jeder Wartung für jede Vergrößerung und jedes Mikroskop kalibriert? ➔ Wird diese Kalibrierung dokumentiert? ➔ Werden alle Einrichtungen, die Kalibrierung erfordern, beschildert, gekennzeichnet o. anderweitig identifiziert, wobei der Kalibrierstatus einschließlich des Datums der letzten Kalibrierung und der Termin oder die Verfallskriterien für die nächste Kalibrierung anzugeben sind?			
	Überprüfung der Volumina von Sedimenationskammern und -zylindern ➔ Werden die Volumina von Sedimentationskammern und -zylindern regelmäßig überprüft? ➔ Existiert eine Arbeitsanweisung zur Reinigung und Trocknung der Zählkammern zwischen den einzelnen Untersuchungen? ➔ Werden verschlissene Zählkammern aussortiert?			
4.	**Probenahme** ➔ Existiert ein Verfahren und eine entsprechende Arbeitsanweisung zur Probenahme? ➔ Ist diese Arbeitsanweisung am Ort der Probenahme verfügbar? ➔ Sind die Probenehmer ausreichend geschult? ➔ Werden alle wesentlichen Angaben und Tätigkeiten hinsichtlich der Probenahme aufgezeichnet? (angewendetes Verfahren der Probenahme, die Identifikation des Probenehmers, die Umweltbedingungen (sofern relevant), Diagramme oder andere Darstellungen zur Beschreibung des Ortes der Probenahme und, wenn angemessen, das statistische Verfahren, auf dem das Probenahmeverfahren beruht)			
	(Beschriftung) Probenflaschen ➔ Werden die Probenflaschen mit allen notwendigen Daten beschriftet? ➔ Wird diese Probenkennzeichnung während des gesamten Zeitraums, für den sich die Probe im Labor befindet, beibehalten? ➔ Schließt die Kennzeichnung eine Verwechslung von Proben aus? ➔ Werden geeignete Probenflaschen (Material) verwandt? ➔ Erfolgt die Befüllung wie in der Arbeitsanweisung vorgegeben?			

	Fixierung der Proben ➔ Weisen die Lugolsche Lösung (Färbung) bzw. das Formaldehyd die richtige Konzentration auf? ➔ Werden die Ansetzdaten der Fixierlösungen auf den Flaschen notiert und das Verfallsdatum beachtet?			
5.	**Probentransport** ➔ Existiert eine Verfahrensanweisung für den Transport der zu prüfenden Proben und wird diese verwendet? ➔ Erfolgt der Probentransport in geeigneten Behältern? ➔ Ist die Kühlung beim Transport gewährleistet?			
6.	**Probenlagerung** ➔ Existiert eine Verfahrensanweisung für den Eingang, die Handhabung, den Schutz, die Lagerung und die Aufbewahrung (sowie die Beseitigung) der zu prüfenden Proben; steht diese den Mitarbeitern zur Verfügung und wird sie befolgt? ➔ Werden nach Eingang der Proben alle Ungewöhnlichkeiten oder Abweichungen von den normalen oder vorgeschriebenen Bedingungen aufgezeichnet? ➔ Ist eine temperaturstabile Lagerung der Proben gewährleistet? ➔ Werden die Umgebungsbedingungen, unter denen die Proben gelagert und konditioniert werden müssen, eingehalten, überwacht und aufgezeichnet? ➔ Existieren Kontrollkarten für die Temperaturüberwachung der Probenkühlschränke? ➔ Werden die Proben im Dunkeln bei 4 – 10 °C aufbewahrt?			
7.	**Probenvorbereitung** ➔ Werden die Proben in zwei Teilproben geteilt, von denen eine fixiert und die andere zur Untersuchung lebenden Materials aufbewahrt wird? ➔ Ist die Unversehrtheit der Proben während der Vorbereitung gewährleistet?			
	Temperaturangleichung ➔ Wird die fixierte Probe vor Entnahme einer Teilprobe zur Untersuchung an die Umgebungstemperatur angeglichen? ➔ Werden die Proben und die verwendeten Geräte über eine angemessene Angleichungsdauer stehen gelassen? ➔ Wird die Temperaturangleichung von Probe und Zählkammer kontrolliert? ➔ Werden die Umgebungsbedingungen, welche die Phytoplanktonanalyse beeinflussen können, überwacht, geregelt und aufgezeichnet? ➔ Werden, wo angebracht, Aufzeichnungen zu den Umgebungsbedingungen aufbewahrt; werden die Aufzeichnungen zu den Umgebungsbedingungen überprüft um festzustellen, ob die Umgebungsbedingungen zum Zeitpunkt der Kalibrierungen und/oder Prüfungen erfüllt werden? ➔ Sind die Messeinrichtungen, die für die Aufzeichnung der Umgebungsbedingungen verwendet werden, ordnungsgemäß kalibriert?			
	Homogenisierung und Befüllen der Kammer ➔ Wird zur Homogenisierung der Probe ein Taumelschüttler oder ein standardisiertes manuelles Schüttelverfahren eingesetzt? ➔ Wird zur Auflösung von Kolonien eine Ultraschallbehandlung durchgeführt? ➔ Wird die Kammer direkt aus der Probenflasche befüllt? ➔ Wird die Bildung/der Einschluss von Luftblasen vermieden?			

Bewertung (B):	0 – nicht zutreffend	1 – keine Abweichung	2 – nicht kritische Abweichung	3 – kritische Abweichung

	Probenanreicherung/-verdünnung ➔ Werden die Proben angemessen angereichert und/oder verdünnt, um der Konzentration in der Ausgangsprobe Rechnung zu tragen und beispielsweise Verklumpungen zu vermeiden sowie das Zählverfahren zu optimieren?			
	Sedimentationszeit ➔ Erfolgt die Sedimentation im Dunkeln und vibrationsfrei? ➔ Wird die erforderliche Sedimentationszeit eingehalten und dokumentiert?			
	Prüfen der Verteilung der Algen auf dem Kammerboden ➔ Erfolgt vor jeder Auszählung eine visuelle Prüfung der Verteilung der Algen auf dem Kammerboden? ➔ Existiert eine Anweisung, ab welcher Abweichung die Probe zu verwerfen ist?			
	Prüfung auf vollständige Sedimentation ➔ Erfolgt vor jeder Auszählung eine Prüfung auf vollständige Sedimentation?			
8.	**Zählung** ➔ Existiert eine Arbeitsanweisung zur Auswahl des geeigneten Zählverfahrens?			
	Voruntersuchung ➔ Wird vor Beginn der quantitativen Analyse eine Voruntersuchung durchgeführt? ➔ Wird eine Taxa-Liste erstellt und werden zusätzliche Angaben erfasst?			
	Auswahl der Zählstrategien ➔ Wird für jede Probe die angemessene Zählstrategie ausgewählt? ➔ Werden die Zählstrategie und die Anzahl der ausgezählten Felder in einem Zählprotokoll festgehalten? ➔ Werden Besonderheiten wie Coenobien, Kolonien und Filamente bei der Auszählung gesondert berücksichtigt?			
	Präzision ➔ Existiert eine Festlegung für die Präzision, mit der die Anzahl der Objekte in einer Kammer geschätzt werden soll?			
	Nachweisgrenze ➔ Wird die Nachweisgrenze für jedes Taxon mittels Poisson-Verteilung bestimmt?			
9.	**Konzentrations- und Biovolumenberechnung** ➔ Existiert ein Programm zur Berechnung der Konzentration und des Biovolumens? ➔ Unterliegen alle Berechnungen und Datenübertragungen angemessenen Überprüfungen?			
10.	**Taxonomische Bestimmung** ➔ Existiert eine Taxa-Liste des Labors? ➔ Enthält diese die taxonomische Ebene, die Bestimmungsmerkmale sowie einschlägige Literaturverweise? ➔ Existiert eine Referenzsammlung in Form von digitalen Fotografien?			
11.	**Prüfbericht** ➔ Werden die Ergebnisse der einzelnen Prüfungen genau, klar, eindeutig und objektiv in einem Prüfbericht zusammengestellt? ➔ Enthält der Prüfbericht alle relevanten Daten? ➔ Wird der Prüfbericht durch eine autorisierte Person erstellt und unterzeichnet?			

	➔ Enthält der Prüfbericht Meinungen oder Schlussfolgerungen und sind diese eindeutig gekennzeichnet und von Messergebnissen getrennt? ➔ Werden Änderungen oder Ergänzungen an Prüfberichten gekennzeichnet und ggf. der Prüfbericht als neues, das Original ersetzendes Dokument gekennzeichnet?			
12.	**Datenspeicherung** ➔ Existiert ein Verfahren für die Kennzeichnung, Sammlung, Registrierung, Zugänglichkeit, das Ordnen, die Lagerung, Pflege und Beseitigung von Qualitäts- und technischen Aufzeichnungen? ➔ Sind alle Daten leserlich und leicht auffindbar? ➔ Werden alle relevanten Dokumente, Daten und Aufzeichnungen für einen festgelegten Zeitraum (10 Jahre) als geeignetes Medium aufbewahrt? ➔ Sind elektronisch gespeicherte Daten gesichert und gegen unberechtigten Zugriff und Änderungen geschützt? ➔ Enthalten alle technischen Aufzeichnungen die Identität des für die Ausführung zuständigen Mitarbeiters? ➔ Sind Fehler in Aufzeichnungen ausgestrichen, jedoch nicht ausradiert, unleserlich gemacht oder gelöscht und der richtige Wert daneben eingetragen? Sind alle Änderungen von dem Mitarbeiter unterschrieben oder abgezeichnet, von dem die Korrektur vorgenommen wurde?	Beispielunterlagen zeigen lassen und kontrollieren!		
13.	**Qualitätssicherung** ➔ Existiert ein Qualitätsmanagement-Handbuch? ➔ Ist ein Qualitätsmanagement-Beauftragter benannt? ➔ Verfügt das Laboratorium über Qualitätslenkungsverfahren zur Überwachung der Gültigkeit von durchgeführten Prüfungen und Kalibrierungen? a) regelmäßige Verwendung von zertifiziertem Referenzmaterial und interne Qualitätslenkung unter Verwendung von sekundärem Referenzmaterial; b) Teilnahme an Programmen von Vergleichen zwischen Laboratorien oder von Eignungsprüfungen; c) Wiederholungsprüfungen oder -kalibrierungen unter Anwendung derselben oder unterschiedlicher Verfahren (z. B. Chlorophyll-a-Messung).			
	Mitarbeiter(-schulungen) ➔ Führt das Labor aktuelle Tätigkeitsbeschreibungen? ➔ Sind alle Mitarbeiter, die spezielle Aufgaben ausführen und bestimmte Einrichtungen bedienen/Prüfungen durchführen, Ergebnisse werten und Prüfberichte unterschreiben, auf der Grundlage von geeigneter Ausbildung, Schulung, Erfahrung und/oder nachgewiesener Fähigkeit wie erforderlich qualifiziert? ➔ Sind alle Mitarbeiter für die Ausübung ihrer Tätigkeit ausreichend geschult? ➔ Werden Informationen über relevante Qualifikationen, Schulungen und Erfahrungen der Mitarbeiter aufgezeichnet und auf dem neuesten Stand gehalten? ➔ Wird den Mitarbeitern regelmäßig die Möglichkeit zu Weiterbildungen gegeben? (Nachweise?) ➔ Nehmen alle Mitarbeiter regelmäßig an Schulungen zu taxonomischen Bestimmungen teil?			
	Abweichungen ➔ Existiert ein Qualitätssicherungssystem zur Erkennung und Behebung von Abweichungen? ➔ Sind die Verantwortlichkeiten und Befugnisse zur Behandlung von fehlerhaften Ergebnissen festgelegt?			

Bewertung (B):	0 – nicht zutreffend	1 – keine Abweichung	2 – nicht kritische Abweichung	3 – kritische Abweichung

	➔ Existiert ein Verfahren zur Bewertung, Bearbeitung und Verbesserung fehlerhafter Ergebnisse? ➔ Existiert ein Verfahren zur Ursachenanalyse? ➔ Ist die Rückhaltung von Prüfberichten im Fehlerfall geregelt? ➔ Wird die Durchführung von Korrekturmaßnahmen dokumentiert und auf ihre Wirksamkeit überprüft?			
	Referenzmaterialien ➔ Ist eine Sammlung von Referenzobjekten vorhanden? ➔ Werden Referenzmaterialien zur regelmäßigen internen QS verwandt? ➔ Wird, wenn ausschlaggebend, das Langzeitverhalten von Referenznormalen untersucht? ➔ Sind die Anweisungen für jegliche laboreigene Herstellung von Referenzmaterialien dokumentiert?			
	Kontrollkarten ➔ Existieren Kontrollkarten zur Erfassung von Messergebnissen von Referenzmaterialien? ➔ Werden die Qualitätslenkungsdaten analysiert? ➔ Ist festgelegt, welche Maßnahmen ergriffen werden müssen, wenn sich herausstellt, dass die Daten außerhalb von definierten Eingriffskriterien liegen?			
	Ringversuche ➔ Nimmt das Labor regelmäßig an laborübergreifenden Vergleichsmessungen teil? ➔ Werden die Ergebnisse, die das Laboratorium in Eignungsprüfungen und in Vergleichsversuchen erzielt hat, bewertet und die notwendigen Korrekturmaßnahmen, wenn erforderlich, vorgenommen?			
	Validierung ➔ Existieren Validierungsschritte zum Nachweis der Genauigkeit der Teilprobenentnahme, der Verteilung der abgesetzten Algen sowie der spezifischen Arbeitsvorschrift für das Auszählen?			
	Messunsicherheit ➔ Wird ein Verfahren zur Ermittlung der Messunsicherheit vorgehalten? ➔ Existiert eine Verfahrensanweisung zur Ermittlung der Messunsicherheit und wird dieses angewendet?			

---------- ----------

Begutachter: Datum /Unterschrift

Hinweis: Mit der Unterschrift des Begutachters wird nicht die vollständige Richtigkeit der angegebenen Referenzdokumente der Konformitätsbewertungsstelle bestätigt.