



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA
podle ČSN EN ISO/IEC 17043:2010
Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10 – Vinohrady



Závěrečná zpráva

Program zkoušení způsobilosti laboratoří

PT # V / 5 / 2020

**Stanovení mikroskopického obrazu
v přírodních koupalištích, stanovení
sinic a stanovení chlorofylu-a**

Praha, listopad 2020

Obsah

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT # V/5/2020	2
1 Úvod.....	3
2 Příprava vzorků	3
3 Obecný přístup k hodnocení ukazatelů	3
3.1 Kvalitativní stanovení sinic	3
3.2 Mikroskopický obraz	4
3.3 Kvantitativní ukazatele.....	4
4 Podrobný rozbor výsledků	4
4.1 Kvalitativní stanovení.....	4
4.1.1 Kvalitativní stanovení sinic ve vzorcích 2 A-D.....	4
4.1.2 Kvalitativní stanovení fytoplanktonu ve vzorcích 1A a 1B a ukazatel mikroskopický obraz	5
4.1.3 Použitá determinační literatura	5
4.2 Kvantitativní stanovení sinic	5
4.3 Stanovení chlorofylu-a a feopigmentů.....	6
Příloha č. 1: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2A.....	7
Příloha č. 2: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2B.....	7
Příloha č. 3: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2C.....	8
Příloha č. 4: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2D.....	8
Příloha č. 5: Slovní popis mikroskopického nálezu ve vzorcích 1A a 1B.....	9
Příloha č. 6: Kvalitativní rozbor sinic - souhrnné hodnocení účastníků	10
Příloha č. 7: Soupis determinační literatury používané účastníky.....	11
Příloha č. 8: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v buňkách/ml.....	12
Příloha č. 9: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v objemové biomase.....	12
Příloha č. 10: Z-skóre pro ukazatele chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorku 3A.....	13
Příloha č. 11: Z-skóre pro ukazatele chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorku 3B.....	13
Příloha č. 12: Souhrnné hodnocení výkonnosti účastníků	14
Příloha č. 13: Výsledky měření extraktů (vzorek 4)	14

Program zkoušení způsobilosti PT#V/5/2020 byl zaměřen na stanovení sinic v přírodních koupalištích podle ČSN 75 7717 a chlorofylu-a a feopigmentů podle ČSN ISO 10260 pro účely vyhlášky č. 238/2011 Sb. Program je však vhodný i pro laboratoře vodárenských společností, které zpracovávají vzorky surové vody se sinicemi a jakékoli další laboratoře, které se zabývají stanovením sinic ve vodných vzorcích. Realizace tohoto kola programu zkoušení způsobilosti byla prováděna podle standardního operačního postupu SOP č. V/5 a V/6. Vzorky byly připraveny a vyhodnoceny na pracovišti Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti Státního zdravotního ústavu. Toto pracoviště je akreditováno Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. podle ČSN EN ISO/IEC 17043: 2010 jako poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001. S veškerými informacemi dodanými účastníky je zacházeno jako s důvěrnými a nejsou bez souhlasu účastníka poskytovány třetím stranám.

Zprávu vypracovali: Mgr. Petr Pumann, Tereza Pouzarová

Zprávu schválil koordinátor programu: Mgr. Petr Pumann

V Praze dne 24. 11. 2020

Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT # V/5/2020

Název: Stanovení mikroskopického obrazu v přírodních koupalištích, stanovení sinic a stanovení chlorofylu-a
Označení: PT#V/5/2020
Účel: Stanovení mikroskopického obrazu a sinic v přírodních koupalištích podle ČSN 75 7717 a chlorofylu-a a feopigmentů podle ČSN ISO 10260 pro účely vyhlášky č. 238/2011 Sb.
Poskytovatel: Státní zdravotní ústav, Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti; Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10, tel.: + 420 267082220, e-mail: petr.pumann@szu.cz , internet: http://www.szu.cz/pzz-voda
Vedoucí expertní skupiny: Ing. Věra Vrbíková
Koordinátor: Mgr. Petr Pumann
Charakteristika materiálu: Vzorky 1A a 1B – povrchová voda; Vzorky 2A až 2D – formalínem konzervované vzorky sinic; Vzorek 3A a 3B – směs povrchových vod, Vzorek 4 – etanolový extrakt chlorofylu-a
Způsob přípravy: Po dostatečném promíchání byly vzorkem naplněny vzorkovnice pro účastníky, připraveno podle SOP č. V/5 a V/6
Množství připravovaného testovaného materiálu: Vzorky 1A a 1B (kvantifikace sinic) – připraveno 8 vzorkovnic po cca 140 ml; vzorky 2A-D (kvalitativní rozbor sinic) - připraveny 4 vzorkovnice po cca 1 ml; vzorky 3A a 3B (chlorofyl-a a feopigmenty) – připraveno 11 vzorkovnic po cca 2 l; vzorek 4 (extrakt) – připraveno 11 vzorkovnic po 30 ml.
Označení vzorkovnic: PT#V/5/2020 Vzorek 1A a 1B - Stanovení mikroskopického obrazu v přírodních koupalištích a stanovení sinic; PT#V/5/2020 Vzorek 2A - 2D - Stanovení sinic; PT#V/5/2020 Vzorek 3A, 3B a 4 - Stanovení chlorofylu-a
Zabezpečení jakosti vzorku (homogenita a stabilita): Pro všechny vzorky byl použit ověřený způsob přípravy, který v případě stabilních vzorků zajišťuje dostatečnou homogenitu. Homogenita byla testována na samotných zkušebních vzorcích, kdy byly vzorky 1A, 1B, 3A, 3B a 4 zpracovány v laboratoři SZÚ (po 3 vzorkovnicích). Vzorkovnice byly vybírány rovnoměrně v celém průběhu plnění. Vzorky 2A – 2D nebyly díky svému charakteru na homogenitu testovány.
Podmínky distribuce a uchování vzorků: Vzorek 1A, 1B, 3A, 3B a 4 přeprava a krátkodobé uchování v chladu a temnu; 2A - 2D bez zvláštních požadavků na přepravu a uchování.
Počet účastníků: mikroskopický obraz a sinice - 3, chlorofyl-a – 6
Způsob distribuce: Osobní převzetí účastnickou laboratoří 22. 9. 2020. Přílohy: Pokyny pro zpracování vzorků. Formulář pro zápis výsledků byl v elektronické podobě volně k dispozici na internetu.
Předání výsledků: Písemně do 14. 10. 2020 v elektronické podobě e-mailem, případně poštou.
Určení přijaté vztažné hodnoty a způsob vyhodnocení výsledků:
Kvantitativní rozbor sinic – stanovení počtu buněk. Vztažná hodnota a vztažná odchylka byly stanoveny z výsledků laboratoře SZÚ a všech zúčastněných laboratoří jako robustní aritmetický průměr a robustní směrodatná odchylka. Vzorek 1A: nebylo možno vyhodnotit Vzorek 1B: vztažná hodnota: 151944 buněk/ml, meze pro správné hodnoty: 99864 - 204024 buněk/ml
Kvantitativní rozbor sinic – stanovení objemové biomasy. Vztažná hodnota a vztažná odchylka byly stanoveny z výsledků laboratoře SZÚ a všech zúčastněných laboratoří jako robustní aritmetický průměr a robustní směrodatná odchylka Vzorek 1A: nebylo možno vyhodnotit Vzorek 1B: vztažná hodnota: 5,7 mm ³ /l, meze pro správné hodnoty: 2,08 – 9,32 mm³/l
Kvalitativní rozbor sinic. Hodnoty byly stanoveny podle pravidel SOP č. V/5 direktivně koordinátorem. <u>Hodnocené taxony:</u> vzorek 2A – <i>Aphanizomenon gracile</i> , <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> a <i>Planktothrix agardhii</i> ; vzorek 2B – <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> ; vzorek 2C – <i>Dolichospermum viguieri</i> , <i>Microcystis wesenbergii</i> a <i>Dolichospermum</i> sp. (spirální taxony); 2D – <i>Dolichospermum planctonicum</i> ; vzorek 1A – <i>Planktothrix agardhii</i> ; vzorek 1B – <i>Woronichinia naegeliana</i>
Stanovení chlorofylu-a a feopigmentů. Vztažná hodnota i vztažná odchylka byly stanoveny z výsledků laboratoře SZÚ a všech zúčastněných laboratoří jako robustní aritmetický průměr a robustní směrodatná odchylka, která byla ve všech případech rozšířena. Vzorek 3A: Chlorofyl-a: vztažná hodnota: 16,1 µg/l, meze pro správné hodnoty: 13,6 – 18,6 µg/l Feopigmenty: vztažná hodnota: 8,4 µg/l, meze pro správné hodnoty: 4,9 – 11,9 µg/l Vzorek 3B: Chlorofyl-a: vztažná hodnota: 25,7 µg/l, meze pro správné hodnoty: 22,7 – 28,7 µg/l Feopigmenty: vztažná hodnota: 8,6 µg/l, meze pro správné hodnoty: 5,2 – 12,0 µg/l
Termín rozeslání zprávy účastníkům: listopad 2020
Termín semináře (webináře): 26. 11. 2020

1 Úvod

Tento program zkoušení způsobilosti je zaměřen především na stanovení sinic v přírodních koupalištích, a to jak na jejich správné určení, tak na mikroskopickou kvantifikaci podle ČSN 75 7717. S problematikou kvantifikace fytoplanktonu úzce souvisí stanovení chlorofylu-a, které je rovněž součástí programu. Účast v programu je vhodná také pro laboratoře vodárenských společností, které zpracovávají vzorky surové vody se sinicemi, i když množství sinic ve vydávaných vzorcích zpravidla značně přesahuje hodnoty obvyklé v surové vodě. Pro laboratoře, které sice nekvantifikují sinice podle ČSN 75 7717, ale mají zájem si vyzkoušet svoji schopnost správně určit přítomné zástupce, jsme v tomto kole připravili finančně zvýhodněnou možnost účastnit se programu pouze v ukazateli kvalitativní rozbor sinic (nebylo využito).

Doplňující informace k této zprávě (fotodokumentace ke kvalitativnímu rozboru sinic, ve zprávě neuvedená hodnocení apod.) se nachází v prezentaci ze semináře k vyhodnocení kola, kterou lze volně stáhnout na internetové adrese <http://www.szu.cz/pzz-sinice>.

Budeme rádi, pokud nám vyplníte krátký hodnotící dotazník na <http://www.szu.cz/espt>. Vaše připomínky a náměty na zlepšení nám také můžete sdělit e-mailem nebo telefonicky (e-mail: petr.pumann@szu.cz; tel.: 267082220).

2 Příprava vzorků

Vzorek 1A byl připraven z vody odebrané dne 20. 9. 2020 z rybníka ve Vochově (západně od Plzně). Vzorek byl v laboratoři k odstranění velkých kolonií a různých nečistot filtrován přes gázu. Připraveno bylo celkem 8 vzorkovnic po cca 140 ml.

Vzorek 1B byl připraven z vody odebrané dne 20. 9. 2020 z rybníka ve Voznici (severně od Dobříše). Vzorek byl v laboratoři k odstranění velkých kolonií a různých nečistot filtrován přes gázu. Připraveno bylo celkem 8 vzorkovnic po cca 140 ml.

Vzorek 2A byl odebrán dne 18. 8. 2020 planktonní sítí s průměrem ok 20 µm na Hostivařské nádrži v Praze.

Vzorek 2B byl odebrán dne 15. 9. 2020 planktonní sítí s průměrem ok 20 µm na rybníku Šeberák v Praze - Kunraticích.

Vzorek 2C byl odebrán dne 27. 7. 2020 z vodního květu na Staňkovském rybníku.

Vzorek 2D byl odebrán dne 13. 8. 2020 z vodního květu na horní nádrži Rozkoš.

Vzorky 2A – 2D byly konzervovány formalínem. Před vydáním byly rozplněny Pasteurovou pipetou do šroubovacích kryozkumavek (4 vzorkovnice po cca 1 ml vzorku)

Vzorek 3A byl odebrán z Vltavy v Modřanech dne 21. 9. 2020. V laboratoři byl vzorek kvůli odstranění nečistot filtrován přes přeloženou gázu.

Vzorek 3B byl odebrán v rybníku Eliška v Praze – Horních Počernicích dne 21. 9. 2020. V laboratoři byl vzorek kvůli odstranění nečistot filtrován přes přeloženou gázu.

Před plněním jsme vzorky promíchávali v plastovém barelu pomocí plexisklové tyče po dobu 2 minut. Při přípravě jednotlivých zkušebních vzorků jsme vzorek nabrali do 2 litrové plastové odměrky a z ní přelévávali do jednotlivých vzorkovnic, ve kterých jsme vždy ponechali vzduchovou bublinu. Po naplnění každé vzorkovnice jsme vzorek v barelu znovu krátce zamíchali. Celkem bylo naplněno 22 vzorkovnic (11 x 3A a 11 x 3B).

Vzorek 4 byl smíchán z různých etanolových extraktů, a to jak připravených speciálně pro vzorek 4, tak zbytků extraktů z různých měření chlorofylu-a. Rozplněn do vzorkovnic z hnědého skla (celkem 11 vzorkovnic po 30 ml) byl 22. 9. 2020.

Kontrola homogenity

Pro stanovení sinic (vzorky 1A a 1B) bylo připraveno 8 vzorkovnic od každého vzorku. Homogenita byla kontrolována laboratoří SZÚ, která zpracovávala 3 vzorky odebrané rovnoměrně během celé přípravy vzorků (1., 5. a 8. připravený) a dále dva vzorky před zpracováním nestandardně uchované. U vzorků 2A – 2D nebyla homogenita testována.

Pro stanovení chlorofylu-a (3A a 3B, 4) bylo připraveno 11 vzorkovnic od každého vzorku. Kvůli kontrole homogenity byly zpracovány 3 vzorky rovnoměrně rozložené v průběhu přípravy (1., 6. a 11. připravený vzorek). Další tři vzorky byly zpracovány pro kontrolu stability. Jednak se jednalo o vzorky nestandardně skladované (při laboratorní teplotě v temnu i v chladu) a dále o vzorky sice standardně uložené v lednici ale zpracované o den později (více v prezentaci ze semináře k vyhodnocení kola). Pro kontrolu homogenity byly vybrány také tři vzorkovnice s extraktem. Obdobně jako u vzorků 3A a 3B byla testována stabilita.

3 Obecný přístup k hodnocení ukazatelů

3.1 Kvalitativní stanovení sinic

U každého konzervovaného vzorku (2A - D) a obou vzorků pro kvantifikaci (1A a 1B) byl hodnocen jeden, až tři nejhojněji zastoupené taxony sinic. Určení každého taxonu bylo oceněno jednak 5 bodovou stupnicí

a dále individuálně posouzeno na základě úvahy koordinátora kola, zda uvedené určení bylo dostatečné. Za dostatečné bývá obvykle považováno správné určení alespoň do rodu.

Způsob bodového hodnocení dominantních taxonů

- správné určení do druhu - 5 bodů
- správné určení do druhu s vyjádřením nejistoty - 4 body
- správné určení do rodu bez uvedení druhu - 3 body
- správné určení do rodu, nesprávné určení do druhu, s vyjádřením nejistoty - 3 body
- správné určení do rodu, nesprávné určení do druhu bez vyjádření nejistoty - 2 body
- nesprávné určení do rodu, ale jedná se o podobný rod - 1 bod
- vše ostatní (především přehlížení dominantního taxonu) - 0 bodů

V některých případech je obtížné uvedenou stupnici důsledně použít. Proto je u každého vzorku vhodnost uvedeného bodového hodnocení posouzena individuálně a kritéria jsou případně operativně upravena.

3.2 Mikroskopický obraz

Tento ukazatel byl na žádost účastníků zařazený poprvé do programu k úplnému pokrytí rozsahu ukazatelů požadovaných vyhláškou č. 238/20011 Sb. Je hodnocen direktivně koordinátorem na základě správného určení dominantních sinic a řas ve vzorcích 1A a 1B. Výsledky jsou patrné z přílohy 5.

3.3 Kvantitativní ukazatele

Pro stanovení vztažných hodnot u kvantitativních ukazatelů byly použity výsledky všech zúčastněných laboratoří. Výsledky laboratoře SZÚ (kód 36) jsou rovněž použity pro stanovení vztažných hodnot. Laboratoř SZÚ však zpracovává více vzorků (kvůli kontrole homogenity). Proto je do souboru pro stanovení vztažných hodnot zařazen aritmetický průměr z těchto stanovení. Vztažné hodnoty jsou vypočítány jako robustní průměr. Hodnota cílové směrodatné odchylky (σ) je nejdříve vypočítána jako robustní směrodatná odchylka souboru výsledků terčových laboratoří. Následně může být na základě uvážení koordinátora rozšířena. Mezi důvody k rozšíření může figurovat např. dobrá shoda terčových laboratoří, malý počet terčových laboratoří (a tím pádem velkou nejistotu vztažné hodnoty) nebo podezření na nedostatečnou homogenitu vzorků. Informace o výpočtu robustního průměru a robustní směrodatné odchylky lze najít v ČSN ISO 13528 z roku 2017.

O úspěšnosti účastníka se usuzuje podle z-score, které je přiřazeno každému výsledku a vypočítá se podle vztahu:

$$z = (X - x) / \sigma$$

kde X = výsledek uvedený laboratoří
 x = vztažná hodnota
 σ = cílová hodnota směrodatné odchylky

Z-score je interpretováno následujícím způsobem: $|z| \leq 2$ jako uspokojivé, $2 < |z| \leq 3$ jako sporné a $|z| > 3$ jako neuspokojivé. Z-score charakterizuje přesnost dat produkovaných laboratoří a je definováno jako systematická chyba laboratoře vztažená na cílovou hodnotu směrodatné odchylky.

4 Podrobný rozbor výsledků

4.1 Kvalitativní stanovení

Pro úspěšné hodnocení ukazatele kvalitativní rozbor sinic bylo potřeba určit dostatečně 8 z 10 hodnocených taxonů (8 ve vzorcích 2A – D a 2 ve vzorcích 1A a 1B) a obdržet alespoň 30 bodů ze 48 možných. Podrobnou analýzu výsledků pro kvalitativní rozbor lze najít v přílohách č. 1 – 6.

4.1.1 Kvalitativní stanovení sinic ve vzorcích 2 A-D

Každý účastník obdržel čtyři formalínem fixované vzorky sinic (vzorky 2A – 2D). Ve vzorcích měly být určeny všechny přítomné sinice a vyjádřeno jejich poměrné zastoupení v procentech. Správnost určení dominantních taxonů byla stanovena koordinátorem na základě vlastních výsledků. V letošním kole se jednalo v míře větší než obvyklé o vzorky bohaté na nostokální sinice, především rodu *Dolichospermum*. Výsledky všech tří zúčastněných laboratoří byly v podstatě bezchybné (přinejmenším na úrovni dominantních taxonů).

Ve vzorku 2A dominovala vlákna nostokální sinice *Aphanizomenon gracile*, s jejímž určením neměli účastníci problémy (vyvinuty akinety). Dále byly hojně zastoupeny sinice *Planktothrix agardhii* a *Cylindrospermopsis raciborskii*. Druhá jmenovaná sinice měla většinou vyvinuté terminální heterocyty, tak o jejím určením také nebylo pochyb. Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 1.

Ve vzorku 2B jasně dominovala vlákna sinice *Aphanizomenon flos-aquae*, což bez problémů určili všichni účastníci. Účastník 1221 navíc uvedl poměrně významný nález *Aphanizomenon gracile*, což bude rozebráno na webináři. Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 2.

Ve vzorku 2C se hojně vyskytovala široká rovná vlákna sinice *Dolichospermum viguieri* (ojediněle s akinetami). Dále bylo přítomno několik zástupců rodu *Dolichospermum* s kroucenými vlákny, což nebylo úplně snadné vyhodnotit. Proto jsme přistoupili pouze ke skupinovému hodnocení *Dolichospermum* – spirální taxony. Ve společenstvu se vyskytovaly i další sinice (především *Microcystis* a *Woronichinia*), z nichž nejhojnější byla zřejmě *Microcystis wesenbergii*, kterou jsme zařadili mezi hodnocené taxony. Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 3.

Ve vzorku 2D jasně dominovala široká rovná vlákna sinice *Dolichospermum planctonicum*, která díky dostatečnému množství dobře vyvinutých akinet šla poměrně dobře určit. Kompletní výsledky lze najít v příloze č. 4.

4.1.2 Kvalitativní stanovení sinic ve vzorcích 1A a 1B a ukazatel mikroskopický obraz

Ve vzorku 1A dominovala krásnoočka (především *Trachelomonas*) a zelené řasy (Chlamydomphyceae), významně zastoupena vláknité sinice *Planktothrix agardhii*. Za dostatečné jsme považovali, pokud bylo uvedeno, že dominovaly řasy (krásnoočka a / nebo zelené řasy) a že se vykytovaly sinice rodu *Planktothrix*.

Ve vzorku 1B dominovala sinice *Woronichinia naegeliana*. Za dostatečné jsme považovali, když bylo uvedeno, že dominuje *Woronichinia*.

Soupis a náš komentář k výsledkům tohoto ukazatele je uveden v příloze č. 5.

4.1.3 Použitá determinační literatura

Tradiční součástí zprávy je soupis použité určovací literatury, který je uveden v příloze č. 7. Všichni účastníci měli k dispozici alespoň jednu určovací pomůcku (tištěnou či elektronickou), ve které jsou podle našeho názoru planktonní sinice dostatečně zpracovány pro určování v praxi.

4.2 Kvantitativní stanovení sinic

V tomto roce stejně jako v předchozích letech jsme pro kvantitativní rozbor sinic vydávali dva různé vzorky. Ve vzorku 1A převládaly vláknité sinice, ve vzorku 1B dominovaly sinice kokální. Dva rozdílné vzorky mají postihnout dva základní metodické postupy z ČSN 75 7717 – Jakost vod – Stanovení planktonních sinic. Do této části programu byli zapojeni pouze 3 účastníci, což při hodnocení vzorku 1A přineslo zásadní problém a vzorek nebylo možné vyhodnotit (tabulka č. 1).

Stanovení sinic v buňkách. Vztažné hodnoty byly stanoveny jako robustní aritmetický průměr z výsledků laboratoře SZÚ a všech zúčastněných laboratoří. Vztažná odchylka byla u vzorku 1A natolik široká (výsledky laboratoří se pohybovaly mezi cca 17 a 54 tisíci buněk/ml), že by i bez zohlednění nejistoty vztažné hodnoty interval pro správné hodnoty zahrnoval nulu. To pochopitelně není vhodné, takže jediným řešením bylo vzorek 1A v tomto kole nevyhodnotit. U vzorku 1B byla shoda laboratoří poměrně dobrá a vzorek šlo bez větších potíží vyhodnotit (nejistota vztažné hodnoty nebyla zohledněna). Podrobné zpracování výsledků lze najít v příloze č. 8.

Stanovení objemové biomasy. Vztažná hodnota byla u obou stanovena jako robustní aritmetický průměr z výsledků laboratoře SZÚ a všech účastníků. Vztažná odchylka byla vypočítána jako robustní směrodatná odchylka. Situace byla obdobná jako u počtu sinic v buňkách. Vzorek 1A nešlo vyhodnotit, vzorek 2B ano, i když meze pro správné hodnoty byly poměrně široké. Podrobné zpracování výsledků lze najít v příloze č. 9.

Tabulka č. 1: Vztažné hodnoty (včetně nejistoty), vztažné odchylky a intervaly pro správné hodnoty pro kvantitativní rozbor sinic ve vzorku 1A a 1B.

	Vzorek 1A		Vzorek 1B	
	buňky/ml	mm ³ /l	buňky/ml	mm ³ /l
vztažná hodnota	nebylo možno vyhodnotit		151944	5,7
vztažná odchylka			26040	1,81
interval správných hodnot			99864 - 204024	2,08 - 9,32
nejistota vztažné hodnoty			1627	1,13
počet účastníků*	3	3	3	3
počet úspěšných účastníků *	x	x	3	3

* do počtu účastníků nezahrnuta laboratoř SZÚ

4.3 Stanovení chlorofylu-a a feopigmentů

V rámci stanovení chlorofylu-a jsme v tomto kole zachovali rozsah předchozích kol a vydávali účastníkům dva živé vzorky a jeden etanolový extrakt.

Vztažné hodnoty byly stanoveny jako robustní aritmetický průměr z výsledků laboratoře SZÚ (průměr ze tří stanovení) a všech účastníků, kteří dodali výsledky. Vztažná odchylka byla ve všech případech rozšířena oproti vypočítané robustní směrodatné odchylce ve shodě s ČSN ISO 13528 kvůli zohlednění nejistoty vztažné hodnoty. Dodané výsledky se v tomto kole pohybovaly pouze v úzkém rozmezí, tak nebyl problém přes malý počet účastníků tyto ukazatele vyhodnotit. Vztažné hodnoty, odchylky a meze pro správné hodnoty jsou uvedeny v tabulce 2. Podrobné zpracování výsledků lze najít v přílohách č. 10 a 11.

Tabulka č. 2: Vztažné hodnoty (včetně nejistoty), vztažné odchylky a intervaly pro správné hodnoty pro chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorcích 3A a 3B.

	Vzorek 3A		Vzorek 3B	
	chlorofyl-a	feopigmenty	chlorofyl-a	feopigmenty
vztažná hodnota (µg/l)	16,1	8,4	25,7	8,6
vztažná odchylka (µg/l)	±16 % (8 %)	±42 % (21 %)	±12 % (6 %)	±40 % (20 %)
interval správných hodnot (µg/l)	13,6 - 18,6	4,9 - 11,9	22,7 - 28,7	5,2 - 12
nejistota vztažné hodnoty (µg/l)	0,38	0,52	0,41	0,51
počet účastníků*	6	6	5	5
počet úspěšných účastníků *	6	6	5	5

* do počtu účastníků nezahrnuta laboratoř SZÚ

Stanovení absorbance v extraktu pro stanovení chlorofylu-a: K ověření měření absorbancí na spektrofotometru jsme připravili etanolové extrakty. Výsledky (jako rozdíl absorbancí při 665 a 750 nm před okyselení a po něm) jsou uvedeny v grafu č. 1 (příloha 13) a nejsou mezi nimi stejně jako u výsledků stanovení chlorofylu a feopigmentů ve vzorcích 3A a 3B výrazné rozdíly. Jen u účastníka 1255 se objevila mírně nižší hodnota u jednoho z paralelních stanovení. Tento účastník však měřil paralelní stanovení v různých kyvetách (s 1 cm a 5 cm optickou dráhou).

Stanovení chlorofylu-a pomocí fluorescenčních metod: Do této části programu v letošním kole dodal výsledky jeden účastník. Srovnání jeho výsledků a výsledků, které naměřila laboratoř SZÚ, bude probráno na webináři.

Příloha č. 1: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2A

Taxon	1221	1282	1306	SZU
<i>Anabaenopsis</i> sp.	+	1		2
<i>Aphanizomenon</i> cf. <i>gracile</i>		62		
<i>Aphanizomenon gracile</i>	57		90	65
<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i>	5	4		2
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	12	13	2	9
<i>Limnothrix redekei</i>	+	1		+
<i>Planktolyngbya limnetica</i>		+		
<i>Planktothrix agardhii</i>	19		3	16
<i>Planktothrix</i> sp.		15		
<i>Pseudanabaena</i> sp.	7	4	5	7
<i>Aphanizomenon gracile</i>				
počet bodů	5	4	5	
úspěšnost	+	+	+	
sporný výsledek				
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>				
počet bodů	5	5	5	
úspěšnost	+	+	+	
sporný výsledek				
<i>Planktothrix agardhii</i>				
počet bodů	5	4	5	
úspěšnost	+	+	+	
sporný výsledek				

SZU - Státní zdravotní ústav

Hodnocení: + v pořádku; - nedostatečné; ? s výhradami

Příloha č. 2: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2B

Taxon	1221	1282	1306	SZU
<i>Aphanocapsa</i> sp.				+
<i>Aphanizomenon</i> cf. <i>gracile</i>	38			
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	62	96	97	95
<i>Dolichospermum flos-aquae</i>	+			
<i>Dolichospermum</i> sp.		+		+
<i>Microcystis aeruginosa</i>	+	3	3	1
<i>Microcystis ichthyoblabe</i>	+	+		+
<i>Pseudanabaena mucicola</i>		P		
<i>Woronichinia naegeliana</i>	+	1	+	1
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>				
počet bodů	5	5	5	
úspěšnost	+	+	+	
sporný výsledek				

SZU - Státní zdravotní ústav

Hodnocení: + v pořádku; - nedostatečné; ? s výhradami

Příloha č. 3: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2C

Taxon	1221	1282	1306	SZU
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	+	+		
<i>Aphanizomenon</i> sp.			1	
<i>Aphanocapsa</i> sp.				+
<i>Coelomoron pusillum</i>	+			
<i>Dolichospermum</i> cf. <i>circinale</i>	29	4		
<i>Dolichospermum crassum</i>	+			+
<i>Dolichospermum</i> cf. <i>crassum</i>		+		
<i>Dolichospermum flos-aquae</i>	6		29	7
<i>Dolichospermum</i> cf. <i>flos-aquae</i>		7		
<i>Dolichospermum</i> cf. <i>mucosum</i>				5
<i>Dolichospermum lemmermanii</i>	+	9		
<i>Dolichospermum</i> cf. <i>lemmermannii</i>				3
<i>Dolichospermum viquerii</i>	59		45	64
<i>Dolichospermum</i> cf. <i>viquerii</i>		61		
<i>Microcystis aeruginosa</i>	+	3	4	2
<i>Microcystis ichthyoblabe</i>	+	+	+	+
<i>Microcystis viridis</i>	+	2	8	3
<i>Microcystis wesenbergii</i>	6	8	6	12
<i>Microcystis</i> sp.				+
<i>Pseudanabaena mucicola</i>				P
<i>Snowella lacustris</i>	+			
<i>Snowella</i> sp.		1		+
<i>Woronichinia naegeliana</i>	+	5	7	3
<i>Dolichospermum viquerii</i>				
počet bodů	5	4	5	
úspěšnost	+	+	+	
sporný výsledek				
<i>Microcystis wesenbergii</i>				
počet bodů	5	5	5	
úspěšnost	+	+	+	
sporný výsledek				
<i>Dolichospermum</i> sp. (spirální)				
počet bodů	3	3	3	
úspěšnost	+	+	+	
sporný výsledek				

SZU - Státní zdravotní ústav

Hodnocení: + v pořádku; - nedostatečné; ? s výhradami

Příloha č. 4: Výsledky účastníků - kvalitativní rozbor sinic - vzorek 2D

Taxon	1221	1282	1306	SZU
<i>Dolichospermum</i> cf. <i>circinale</i>		1		2
<i>Dolichospermum crassum</i>	+			
<i>Dolichospermum planctonicum</i>	95	93	90	96
<i>Dolichospermum</i> cf. <i>sigmoideum</i>				+
<i>Dolichospermum</i> sp.		+		
<i>Microcystis aeruginosa</i>	+	1	1	+
<i>Microcystis flos-aquae</i>			2	
<i>Microcystis viridis</i>	+	1	5	2
<i>Microcystis</i> sp.				+
<i>Microcystis wesenbergii</i>	+	1		1
<i>Pseudanabaena mucicola</i>		P		P
<i>Woronichinia naegeliana</i>	5	3	2	+
<i>Dolichospermum planctonicum</i>				
počet bodů	5	5	5	
úspěšnost	+	+	+	
sporný výsledek				

SZU - Státní zdravotní ústav

Hodnocení: + v pořádku; - nedostatečné; ? s výhradami

Příloha č. 5: Slovní popis mikroskopického nálezu ve vzorcích 1A a 1B

Podbarveny jsou chyby ve jménech a případný komentář SZÚ. Hodnocení: + v pořádku; - nedostatečné; ? s výhradami

kód	vzorek 1B			
36	Ve vzorku dominují krásnoočka a zelení bičíkovci ze skupiny Chlamydomonadales (Chlamydomonas, Chlorogonium). Sinice jsou ve srovnání z řasami méně (nalezena Planktothrix agardhii).	+	Dominuje sinice Woronichinia naegeliana, méně pak Microcystis sp. Řasy jsou zastoupeny méně (skryténky, zelené řasy, rzosivky).	+
1221	V biocenozě dominují řasy nad sinicemi (Cyanobacteria), z nichž největšího zastoupení dosahují krásnoočka (Euglenophyceae) rodů Euglena a Trachelomonas. Ze sinic dominuje druh Planktothrix agardhii. Dále byly zjištěny tyto druhy sinic, v nízkých počtech, s možnou produkcí toxinů: Dolichospermum sp. a Microcystis sp. Poznámka SZÚ: Chybí zmínka o hojně zastoupených zelených bičíkovcích ze skupiny Chlamydomonadales	+	Ve vzorku dominují kokální sinice s dominancí druhu Woronichinia naegeliana. Dále byl zjištěn rod Microcystis. Všechny uvedené druhy sinic mohou produkovat toxiny a tvořit vodní květ. Výskyt řas je zvýšený s dominancí skrytének (Cryptophyceae) s dominancí rodu Cryptomonas.	+
1282	Ve vzorku se hojně vyskytují řasy Chlorogonium sp., Chlamydomonas sp., kryptomonády (Cryptomonas sp.) a zástupci rodu Trachelomonas. Z vláknitých sinic dominuje Planktothrix agardhii.	+	Ve vzorku dominuje kokální sinice Woronichinia naegeliana, v menší míře se vyskytuje Microcystis sp.. Ve vzorku se dále hojně nacházejí kryptomonády (Cryptomonas sp.), zástupci rodu Trachelomonas a Euglena.	+
1306	Mikroskopický obraz: Ve vzorku dominují zelené řasy rodu Chlamydomonas a krásnoočka rodu Euglena. Hojně se ve vzorku nachází vláknitá sinice Planktothrix agardhii.	+	Mikroskopický obraz: Ve vzorku dominují kokální sinice Woronichinia naegeliana a řasy rodu Cryptomonas. Ve vzorku se dále vyskytují zelené řasy (Chlamydomonas, Closterium), krásnoočka (Trachelomonas) a bezbarví bičíkovci.	+

Příloha č. 6: Kvalitativní rozbor sinic - souhrnné hodnocení účastníků**Body**

vzorek	taxon	kód účastníka			
		1221	1282	1306	MAX
2A	<i>Aphanizomenon gracile</i>	5	4	5	5
2A	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	5	5	5	5
2A	<i>Planktothrix agardhii</i>	5	4	5	5
2B	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	5	5	5	5
2C	<i>Dolichospermum viguieri</i>	5	4	5	5
2C	<i>Microcystis wesenbergii</i>	5	5	5	5
2C	<i>Dolichospermum</i> sp. (spirální)	3	3	3	3
2D	<i>Dolichospermum planctonicum</i>	5	5	5	5
1A	<i>Planktothrix agardhii</i>	5	5	5	5
1B	<i>Woronichinia naegeliana</i>	5	5	5	5
Celkem		48	45	48	48

Dostatečné určení

vzorek	taxon	kód účastníka			
		1208	1221	1224	MAX
2A	<i>Aphanizomenon gracile</i>	+	+	+	+
2A	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	+	+	+	+
2A	<i>Planktothrix agardhii</i>	+	+	+	+
2B	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	+	+	+	+
2C	<i>Dolichospermum viguieri</i>	+	+	+	+
2C	<i>Microcystis wesenbergii</i>	+	+	+	+
2C	<i>Dolichospermum</i> sp. (spirální)	+	+	+	+
2D	<i>Dolichospermum planctonicum</i>	+	+	+	+
1A	<i>Planktothrix agardhii</i>	+	+	+	+
1B	<i>Woronichinia naegeliana</i>	+	+	+	+
Celkem		10	10	10	10

Výsledná úspěšnost	kód účastníka		
	1208	1221	1224
	+	+	+

K úspěchu v kvalitativním rozboru sinic musel účastník získat alespoň 30 bodů ze 48 možných a zároveň dostatečně určit z 10 hodnocených taxonů alespoň 8.

Příloha č. 7: Soupis determinační literatury používané účastníky

Publikace	1221	1282	1306	Celkem
Komárek J. (1996)	X	X	X	3
Kaštovský et. al. (2018)	X	X	X	3
Hindák F. (2008)		X	X	2
Hindák F. (2001)	X	X		2
Komárek J. (1999)	X		X	2
Komárek J. (2013)	X	X		2
Komárek J., Anagnostidis K. (1999)	X			1
Komárek J., Anagnostidis K. (2005)	X			1
Šejnohová L. et al. (2005)			X	1
www.cyanodb.cz	X			1
Komárek J., Komárková J. (2006)		X		1

Poznámka: Do soupisu byly zahrnuty pouze publikace k určování sinic.

Literatura:

Hindák F. (2008): Colour Atlas of Cyanophytes, Veda, Bratislava.

Hindák, F. (2001): Fotografický atlas mikroskopických sinic. Veda, Bratislava.

Kaštovský J. a kol. (2018): Atlas sinic a řas ČR 1. Powerprint, Praha, 384 s.

Komárek J (2013): Cyanoprokaryota 3. Teil Nostocales, in Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 19/3, Spektrum Akademischer Verlag.

Komárek J. & Anagnostidis K. (1999): Cyanoprokaryota 1. Teil Chroococcales, in Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 19/1, Gustav

Komárek J. (1996): Klíč k určování vodních květů sinic v České republice. - pp. 22-85 in Maršálek et al.: Vodní květy sinic. Nadtatio Flos-aquae, Brno.Fischer Verlag, Stuttgart.

Komárek J. (1999): Přehled planktonních sinic v povodí Labe.Mezinárodní komise pro ochranu Labe,Magdeburk.

Komárek J.& Anagnostidis, K. (2005), Cyanoprokaryota 2. Teil Oscillatoriales, in Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 19/2, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Komárek, Komárková (2006): Diversity of Aphanizomenon-like cyanobacteria, Czech Phycology 6: 1-32.

Šejnohová L. a kol. (2005): Interaktivní klíč k určování sinic vodních květů, BÚ AV ČR & MU Brno, CD.

www.cyanodb.cz

Příloha č. 8: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v buňkách/ml**Vzorek 1A nebylo možné vyhodnotit**

terč, účastník

Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1B (buňky)

V	lab	výsledek (buňky/ml)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1306	131500.0	-0.79					■				
X	1282	132860.0	-0.73					■				
X	36	168667.0	0.64					■	■			
X	1221	174750.0	0.88					■	■			

počet laboratoří: 4

vztažná hodnota: 151944 buňky/ml

nejistota vztažné hodnoty: 16275 buňky/ml

z toho vyhovuje: 4

vztažná odchylka: 26040 buňky/ml

z toho nevyhovuje: 0

interval správných hodnot: 99864 - 204024 buňky/ml

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Příloha č. 9: Z-skóre pro kvantitativní stanovení sinic v objemové biomase**Vzorek 1A nebylo možné vyhodnotit**

terč, účastník

Tabulka Z-score pro kvantitativní rozbor sinic - vz. 1B (objemová biomasa)

V	lab	výsledek (mm ³ /l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1306	3.1	-1.44				■					
X	1282	5.0	-0.37					■				
X	36	7.0	0.70					■	■			
X	1221	7.1	0.75					■	■			

počet laboratoří: 4

vztažná hodnota: 5,7 mm³/lnejistota vztažné hodnoty: 1,13 mm³/l

z toho vyhovuje: 4

vztažná odchylka: 1,81 mm³/l

z toho nevyhovuje: 0

interval správných hodnot: 2,08 - 9,32 mm³/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Příloha č. 10: Z-skóre pro ukazatele chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorku 3A**Tabulka Z-score pro chlorofyl-a vzorek 3A**

terč = účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1305	15,5	-0,50					■				
X	1221	15,5	-0,47					■				
X	1255	15,6	-0,43					■				
X	1282	16,0	-0,08					■				
X	36	16,2	0,04					■				
X	1337	17,8	1,28					■	■			
X	1115	17,9	1,40					■	■			

počet laboratoří: 7

vztažná hodnota: 16,1 µg/l

nejistota vztažné hodnoty: 0,38 µg/l

z toho vyhovuje: 7

vztažná odchylka: ±16%

z toho nevyhovuje: 0

interval správných hodnot: 13,6 - 18,6 µg/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka Z-score pro feopigmenty vzorek 3A

terč = účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1255	6,4	-1,13				■					
X	36	7,7	-0,43				■					
X	1305	8,2	-0,14				■					
X	1337	8,6	0,09				■					
X	1115	8,7	0,14				■					
X	1282	9,4	0,57				■	■				
X	1221	9,5	0,62				■	■				

počet laboratoří: 7

vztažná hodnota: 8,4 µg/l

nejistota vztažné hodnoty: 0,52 µg/l

z toho vyhovuje: 7

vztažná odchylka: ±42%

z toho nevyhovuje: 0

interval správných hodnot: 4,9 - 11,9 µg/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Příloha č. 11: Z-skóre pro ukazatele chlorofyl-a a feopigmenty ve vzorku 3B**Tabulka Z-score pro chlorofyl-a vzorek 3B**

terč = účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	1282	24,5	-0,78				■					
X	1221	25,0	-0,49				■					
X	1305	25,7	0,00				■					
X	36	25,9	0,10				■					
X	1115	25,9	0,13				■					
X	1337	27,2	0,97				■	■				

počet laboratoří: 6

vztažná hodnota: 25,7 µg/l

nejistota vztažné hodnoty: 0,41 µg/l

z toho vyhovuje: 6

vztažná odchylka: ±12%

z toho nevyhovuje: 0

interval správných hodnot: 22,7 - 28,7 µg/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Tabulka Z-score pro feopigmenty vzorek 3B

terč = účastník

V	lab	výsledek (µg/l)	z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
X	36	7,3	-0,78				■					
X	1305	7,9	-0,44				■					
X	1221	8,5	-0,06				■					
X	1337	8,9	0,15				■					
X	1115	9,0	0,20				■					
X	1282	9,9	0,73				■	■				

počet laboratoří: 6

vztažná hodnota: 8,6 µg/l

nejistota vztažné hodnoty: 0,51 µg/l

z toho vyhovuje: 6

vztažná odchylka: ±40%

z toho nevyhovuje: 0

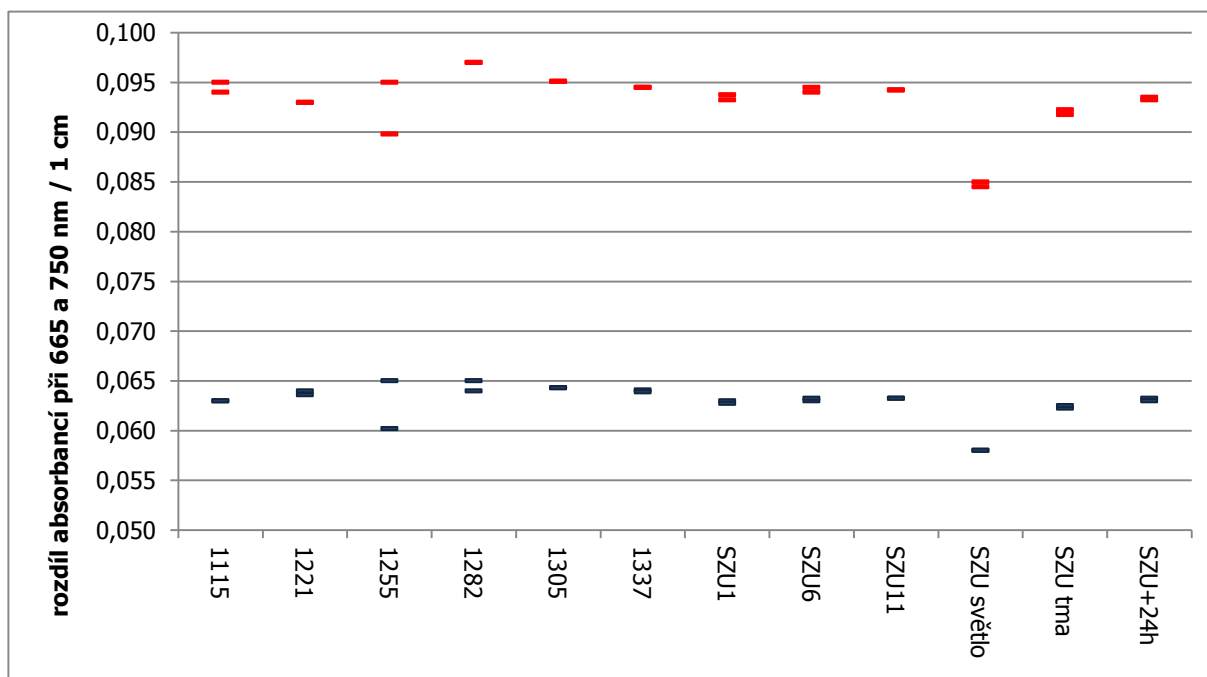
interval správných hodnot: 5,2 - 12 µg/l

X-vyhovuje, ? - sporné, ! - nevyhovuje

Příloha č. 12: Souhrnné hodnocení výkonnosti účastníků

ukazatel	Kód						
	1115	1221	1255	1282	1305	1306	1337
kvantitativní rozbor sinic - vz. 1A (buňky)	nehodnoceno						
kvantitativní rozbor sinic - vz. 1A (objemová biomasa)							
kvantitativní rozbor sinic - vz. 1B (buňky)	X		X		X		X
kvantitativní rozbor sinic - vz. 1B (objemová biomasa)	X		X		X		X
kvalitativní rozbor sinic	X	+	X	+	X	+	X
mikroskopický obraz	X	+	X	+	X	+	X
chlorofyl-a - vz. 3A						X	
feopigmenty - vz. 3A						X	
chlorofyl-a - vz. 3B			X			X	
feopigmenty - vz. 3B			X			X	

Legenda	
	z-score $ z \leq 2$
	z-score $2 < z \leq 3$
	z-score $ z > 3$
+	vyhovuje
X	neúčast / výsledek nedodán

Příloha č. 13: Výsledky měření extraktů (vzorek 4)

Červené značky představují rozdíl absorbancí při 665 a 750 nm, který byl přepočítaný na optickou dráhu kyvety 1 cm před okyselením vzorku. Modré totéž po okyselení.

KONEC ZPRÁVY