

c.n.r. istituto di ricerca sulle acque

Metodi analitici

per le acque

notiziario

ISSN: 0392-1425

Anno 10 - N. 4

Ottobre-Dicembre 1990

- Determinazione di pesticidi fosforati con un sensore enzimatico a colina ossidasi
(L. Campanella, M. Achilli, M.P. Sammartino, M. Tomassetti, G. Visco).
- Indice generale del manuale sui «Metodi analitici per le acque»
- Indice generale del manuale sui «Metodi di analisi per acque di mare»
- *Enzymatic method for the determination of organophosphorus pesticides*
(L. Campanella, M. Achilli, M. P. Sammartino, M. Tomassetti, G. Visco).
- «Metodi Analitici per le Acque» (Handbook for Water Analysis). General Index
- «Metodi di analisi per acque di mare» (Handbook for Seawater Analysis). General Index

Notiziario di informazioni scientifico-tecniche dell'Istituto di Ricerca sulle Acque del C.N.R.
Direzione e Redazione: Istituto di Ricerca sulle Acque. Via Reno, 1 - 00198 Roma
Tel. 06/8841451 - Telex IRSAL 614588 - Fax 06/8417861
Comitato di Redazione: Luigi Campanella, Silvio Capri, Tullio La Noce, Alfredo Liberatori
Segreteria di Redazione: Anna Maria Strani Quell, Giuseppa Tripodi - Grafico: Piero Fusco

La riproduzione è autorizzata a condizione che venga citata la fonte:
C.N.R. - ISTITUTO DI RICERCA SULLE ACQUE - ROMA

ISSN: 0365-1425

Ottobre-Dicembre 1990

Anno 10 - N. 4

Con questo Notiziario trimestrale l'Istituto di Ricerca sulle Acque del CNR intende dare un contributo alla divulgazione ed al trasferimento dei risultati di studi relativi all'ammodernamento ed aggiornamento dei metodi ufficiali di analisi degli inquinanti nelle acque, con riferimento allo sviluppo di nuove tecniche analitiche, alla determinazione di nuovi indici, alla definizione ed ai rimedi per nuove interferenze. In tal senso il Notiziario si rivolge ai laboratori di analisi e controllo pubblici e privati ed ai centri di ricerca specializzati nel settore dell'analisi delle acque ai quali intende fornire un utile strumento di lavoro. Le metodologie che vengono proposte per la determinazione di inquinanti non potranno, in ogni caso, essere considerati ufficiali finché non verranno recepite nel Manuale IRSA «Metodi Analitici per le acque».

NORME REDAZIONALI

1. Il Notiziario accoglie lavori originali, contributi e comunicazioni a carattere sperimentale e applicativo, reviews e informazioni su attività relative alle metodologie applicate all'analisi delle acque. Inoltre pubblica rubriche speciali dedicate a particolari argomenti di carattere ambientale ivi incluse normative nazionali e comunitarie. I lavori vengono sottoposti per l'approvazione al Comitato di Redazione che provvederà a comunicare agli autori il proprio parere in merito.

2. I testi dei lavori debbono pervenire in originale, dattiloscritti con interlinea due e debbono essere corredati da: 1) il titolo del lavoro; 2) i nomi completi degli Autori e dei rispettivi enti di appartenenza; 3) un breve riassunto (non più di 10 righe) in italiano e in inglese.

3. Il materiale illustrativo deve essere di ottima qualità e consistere in originali disegnati con inchiostro di china su carta non millimetrata, oppure copie eliografiche o fotografiche, oppure fotografie in bianco e nero, possibilmente su carta opaca. Figure (Fig.) e tabelle (Tab.) debbono avere la relativa didascalia, essere numerate progressivamente con numeri arabi e richiamate nel testo. È preferibile non appesantire le figure con scritte esplicative, che trovano migliore collocazione nella didascalia a piè pagina con numerazione di richiamo nella figura.

4. La Bibliografia sarà riportata alla fine del testo e dovrà essere ordinata alfabeticamente indicando, nel seguente ordine, il cognome e le iniziali del nome di tutti gli Autori, l'anno di pubblicazione, possibilmente il titolo dell'articolo, il titolo del periodico, il numero del volume, la prima e l'ultima pagina del lavoro.

La Bibliografia dovrà essere citata nel testo indicando il cognome degli Autori e l'anno di pubblicazione di ciascun lavoro.

Per l'abbreviazione dei titoli dei periodici si prega di attenersi alle norme internazionali oppure si consiglia di citarli per esteso.

DETERMINAZIONE DI PESTICIDI FOSFORATI CON UN SENSORE ENZIMATICO A COLINA OSSIDASI

L. Campanella, M. Achilli, M.P. Sammartino, M. Tomassetti, G. Visco
 Dipartimento di Chimica, Università di Roma «La Sapienza»
 Ple Aldo Moro 5, 00185 Roma

Riassunto

Viene presentato un metodo per la determinazione di pesticidi fosforati, a concentrazioni comprese tra circa 10-600 $\mu\text{g/L}$, basato sulle proprietà inibitrici di questi composti verso butirril-(o acetil)-colinesterasi, facendo uso di un sensore enzimatico a colina ossidasi.

Summary

An enzymatic method for the determination of organophosphorus pesticides in the range 10-600 $\mu\text{g/L}$ is presented.

Introduzione

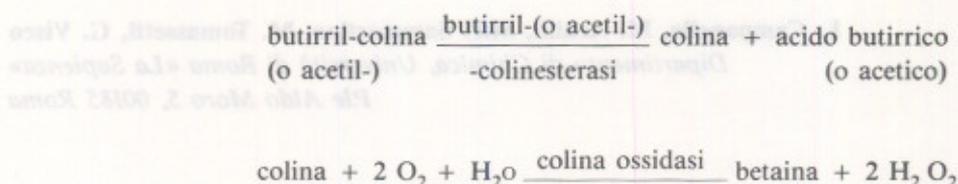
I pesticidi sono composti altamente tossici in quanto, inibendo l'attività dell'acetilcolinesterasi, possono alterare il metabolismo dell'acetilcolina e quindi della colina, provocando scompensi neurologici [1, 2]; tuttavia tali composti sono tuttora largamente usati in agricoltura e, poiché poco solubili, non vengono facilmente eliminati né dalle piogge né con i normali lavaggi che si eseguono sui prodotti agricoli.

La loro determinazione, di notevole interesse sia ambientale che bioclinico, è stata effettuata con metodi cromatografici, HPLC, o spettrofotometrici [3]. I recenti progressi nel campo dei biosensori [4] hanno consentito la messa a punto di un nuovo metodo nel seguito descritto.

Principio del metodo

Nel presente metodo viene utilizzato un sensore enzimatico a colina ossidasi per il dosaggio della colina ed un secondo enzima, in soluzione omogenea, che agisce su composti idrolizzabili a colina, quali acetilcolina, o butirrilcolina [5].

Il metodo sfrutta l'azione inibitrice di questi pesticidi sugli enzimi butirril-(o acetil-)colinesterasi [4]. Il metodo enzimatico-amperometrico adottato si basa sulle seguenti reazioni enzimatiche:



la prima reazione è catalizzata dalla butirril-(o acetil-) colinesterasi in soluzione omogenea, la seconda dalla colina ossidasi, immobilizzata in membrana di triacetato; la velocità della prima reazione viene seguita misurando, con il sensore enzimatico a colina ossidasi, la velocità di produzione della colina, che risulta a sua volta proporzionale al consumo di ossigeno, relativo alla seconda reazione; quest'ultimo viene misurato con un elettrodo ad ossigeno (elettrodo di Clark).

Il dosaggio del pesticida, che si ottiene determinando la variazione della velocità di reazione, causata dall'inibizione del pesticida sull'attività della butirril-(o acetil-) colinesterasi, si riduce in definitiva alla misura della velocità di consumo di ossigeno in presenza ed in assenza di inibitore.

Reattivi

Per la preparazione della membrana enzimatica di triacetato di cellulosa

— Viscosa, di triacetato di cellulosa: 4 g di triacetato di cellulosa sono disciolti in 100 mL di una soluzione di acido formico (98% m/m) ed acqua (90+10), sotto agitazione fino a completa dissoluzione (6 ore circa)

— Soluzione tampone di glicina (0,1 mol/L): 7,5 g di glicina vengono disciolti in 1 L di acqua distillata, si porta quindi a pH 9,0 con una soluzione concentrata di idrossido di sodio

— Soluzione di colina ossidasi: 10 mg di enzima liofilizzato (E.C. 1.1.3.17 da «Alcaligenes»), 10 U/mg vengono disciolti in 1 mL di tampone glicina

Per la determinazione dei pesticidi

— Soluzione di acetilcolinesterasi: 1,3 mg di enzima liofilizzato (E.C. 3.1.1.7., da «Electric Eel», 820 U/mg) vengono disciolti in 1 mL di tampone glicina

— Soluzione di butirrilcolinesterasi: 4,2 mg di enzima liofilizzato (E.C. 3.1.1.8., da «horse serum», 242 U/mg) vengono disciolti in 1 mL di tampone glicina

— Soluzione di cloruro di acetilcolina ($2,5 \cdot 10^{-4}$ mol/L): 0,4542 g di acetilcolina vengono disciolti in 100 mL di acqua distillata

— Soluzione di cloruro di butirrilcolina ($2,5 \cdot 10^{-4}$ mol/L): 0,5243 g di butirrilcolina vengono disciolti in 100 mL di acqua distillata

— Soluzioni di pesticidi: 50,0 mg di pesticida vengono solubilizzati in 100 mL di acqua.

Apparecchiature

Biosensore

a) Immobilizzazione dell'enzima

La procedura di immobilizzazione della colina ossidasi, in membrane di triacetato di cellulosa è la seguente [6]: la viscosa di triacetato di cellulosa viene rapidamente estrusa in film da 300 μm di spessore. Il film è immerso in acqua ove coagula. La membrana geliforme ottenuta è ripetutamente lavata con acqua distillata, ne vengono tagliati dei dischi, di circa 3,5 cm di diametro, che vengono immersi nella soluzione tampone contenente l'enzima colina ossidasi. Dopo circa 30 ore, a 5 °C, le membrane discoidali vengono estratte dalla soluzione ed essiccate rapidamente sotto vuoto. L'attività enzimatica immobilizzata specifica [7], risulta pari a 41 nmol/(min · cm²).

b) Assemblaggio del biosensore

Il sensore enzimatico a colina ossidasi è ottenuto modificando la risposta di un elettrodo commerciale ad ossigeno (Orion modello 97-08), in cui la membrana originale, gas permeabile, è stata sostituita con una in polipropilene (I.L. cat. n. 19010), mediante sovrapposizione della membrana di triacetato di cellulosa, contenente l'enzima, a quella gaspermeabile dell'elettrodo ad ossigeno. Le due membrane sono fissate sull'elettrodo ad ossigeno per mezzo di un apposito O-ring in gomma [7].

Altre apparecchiature

- Cella in vetro da 25 mL, con camicia termostata a circolazione forzata d'acqua
- Termostato a circolazione esterna di liquido con precisione di $\pm 0,1$ gradi
- Agitatore magnetico a velocità regolabile
- Potenzziometro Orion Ionalyzer modello 901, o analogo
- Registrazione Y-tempo, Amel 868, o analogo
- Centrifuga A.L.C. 4226, o analogo
- Stratificatore in alluminio per film da 300 μm di spessore
- Pompa da vuoto ($\leq 0,1$ mm Hg), o analogo
- Essiccatore in vetro con gel di silice ed attacco per il vuoto
- Vetreria tarata e controllata

Campionamento

Gli estratti acquosi, per la determinazione del pesticida nei terreni agricoli, sono ottenuti come segue: quantità pesate di terreno, ben omogeneizzato, sono poste in dei beaker contenenti determinati volumi di acqua distillata e mantenute sotto agitazione per 24 ore, quindi si centrifuga e si filtra accuratamente, per eliminare il residuo solido.

I campioni di acqua (sorgive, di fiume, o lago), non sono sottoposti ad alcun pretrattamento prima dell'analisi, salvo una eventuale diluizione con acqua distillata, per rientrare nell'intervallo di linearità del metodo.

Procedimento

1) Taratura:

a) La soluzione di pesticida, preparata come precedentemente descritto, viene opportunamente diluita; effettuando appropriati prelievi di quest'ultima vengono preparate una serie di soluzioni da 25,0 mL, in tampone glicina (0,1 mol/L, pH 9), a concentrazioni crescenti di pesticida, comprese nell'intervallo di linearità di quest'ultimo (vedi tab. 1).

Tab. 1 - Curve di calibrazione di differenti pesticidi, ottenute con il sensore enzimatico a colina ossidasi, con butirrilcolinesterasi in soluzione omogenea e butirrilcolina come substrato

	Intervallo di linearità $\mu\text{g/L}$	Coefficiente angolare ($\Delta \text{ppmO}_2 \text{ min}^{-1}/\text{mg L}^{-1}$)	Intercetta $\Delta \text{ppmO}_2/\text{min}$	r (coefficiente di correlazione)
paraoxon	10 - 150	-0,323	0,061	0,9763
etilbromofos	75 - 600	-0,181	0,429	0,9997
etilparathion	150 - 600	-0,735	1,215	0,9337
bisfluorofosfato	38 - 600	-1,008	1,700	0,994
malathion	75 - 600	-0,243	0,647	0,9952
malathion*	54 - 625	-0,144	0,095	0,9997

(*) con acetilcolinesterasi in soluzione omogenea e acetilcolina come substrato.

b) In ogni soluzione sono aggiunte, in tempi successivi, 25 U di acetilcolinesterasi (oppure 50 U di butirrilcolinesterasi)

c) Si incuba ogni soluzione, per 45 minuti in bagno termostatico, a 25 °C

d) L'elettrodo a colina ossidasi è immerso in una delle soluzioni e lasciato stabilizzare per 15 minuti, a 25 °C, sotto agitazione magnetica

e) Vengono quindi rapidamente aggiunti a questa soluzione 0,2 mL della soluzione di butirril-(o acetil-)colina $2,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$

f) È registrato in continuo il consumo di ossigeno nella soluzione, durante i 10 minuti successivi all'aggiunta della butirril-(o acetil-)colina.

Si ripete il procedimento relativo ai punti (d), (e), (f), per ognuna delle soluzioni preparate.

Dopo ogni misura si ricontrolla l'andamento del consumo di ossigeno, in una soluzione identica, ma in assenza di pesticida. Si ottengono una serie di curve (fig. 1) dalla cui pendenza è possibile misurare la velocità di consumo di ossigeno e costruire quindi rette di taratura, come quelle mostrate in figura 2a e 2b, rispettivamente utilizzando come substrato butirrilcolina, o acetilcolina.

2) Analisi di campioni reali:

A 100 mL di campione (acqua, o estratto acquoso), contenente un determinato pesticida, vengono aggiunti 750 mg di glicina e soluzione concentrata di idrossido, fino a pH 9. Si prelevano 25,0 mL e si

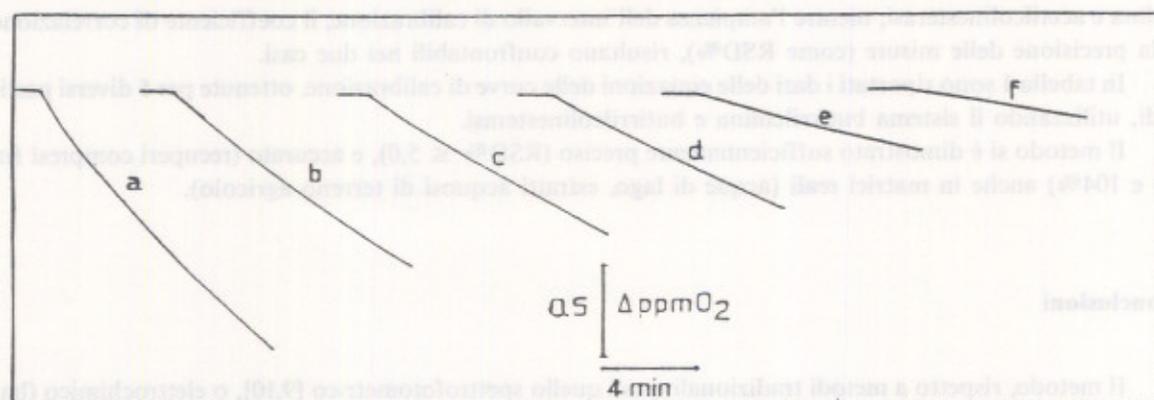


Fig. 1 - Tipico andamento di una serie di misure per la determinazione del Malathion effettuate con il sistema acetilcolina-acetilcolinesterasi, utilizzando il sensore enzimatico a colina ossidasi.
 a: senza Malathion b: con 0,054 mg/L di Malathion, c: con 0,107 mg/L di Malathion, d: con 0,215 mg/L di Malathion, e: con 0,430 mg/L di Malathion.

procede quindi come per gli standard, dal punto (b) fino ad (f). Con il valore della velocità di consumo di ossigeno trovata si entra nella retta di taratura per ottenere la corrispondente concentrazione di pesticida.

Controllo dell'accuratezza con il metodo delle aggiunte: A 100 mL di campione vengono aggiunti 750 mg di glicina e soluzione concentrata di idrossido di sodio, fino a pH 9. Si divide il campione in 4 porzioni uguali e su tre di queste si aggiungono quantità note e crescenti di un determinato pesticida; si effettua l'analisi dei quattro campioni, come precedentemente descritto dal punto (b) al punto (f). I valori, relativi alle diverse velocità di consumo di ossigeno, ottenuti sono elaborati secondo il classico metodo delle aggiunte.

Ottimizzazione del metodo, precisione e accuratezza

L'ottimizzazione sperimentale del metodo, nei riguardi della concentrazione del substrato (butiril-(o acetil-) colina) e dell'enzima (butiril- (o acetil-)colinesterasi), ha mostrato che, per concentrazioni di butirilcolina e per attività di butirilcolinesterasi rispettivamente non troppo superiori, od uguali, a $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L e 2 U/mL, non si osservano ulteriori incrementi della risposta del sistema. Di conseguenza, operando con soluzioni a concentrazioni di enzima e substrato uguali a quelle riportate, la risposta del sistema risulta correlata esclusivamente alla concentrazione del pesticida.

Alcuni pesticidi, come il Malathion, sono inibitori indiretti della butiril-(o acetil-)colinesterasi [8], ne consegue che l'inibizione non è immediata; il procedimento di incubazione, previsto dal metodo, ha quindi lo scopo di assicurare che il pesticida possa esercitare pienamente la propria azione inibitrice, in modo che si possa registrare una apprezzabile diminuzione della velocità della reazione enzimatica. Naturalmente anche il tempo di incubazione (45 min) è stato ottimizzato.

La sensibilità del metodo risulta maggiore usando butirrilcolina e butirrilcolinesterasi, anziché acetilcolina e acetilcolinesterasi, mentre l'ampiezza dell'intervallo di calibrazione, il coefficiente di correlazione e la precisione delle misure (come RSD%), risultano confrontabili nei due casi.

In tabella 1 sono riportati i dati delle equazioni delle curve di calibrazione, ottenute per 5 diversi pesticidi, utilizzando il sistema butirrilcolina e butirrilcolinesterasi.

Il metodo si è dimostrato sufficientemente preciso (RSD% \leq 5,0), e accurato (recuperi compresi fra 93 e 104%) anche in matrici reali (acque di lago, estratti acquosi di terreno agricolo).

Conclusioni

Il metodo, rispetto a metodi tradizionali quali quello spettrofotometrico [9,10], o elettrochimico (basato su variazioni di pH), presenta il vantaggio di utilizzare un elettrodo rivelatore estremamente specifico, di poter lavorare in soluzioni ben tamponate e la possibilità di eseguire la determinazione anche in presenza di matrici torbide e/o colorate.

Un inconveniente risiede nella diversa sensibilità del metodo verso differenti pesticidi, permettendo misure perfettamente quantitative in campioni contenenti un unico pesticida noto, semiquantitative in campioni contenenti contemporaneamente differenti pesticidi, qualitative in campioni acquosi di tutti i tipi.

Infine il metodo permette di ottenere informazioni tossicologiche ancor più utili, ad esempio di valutare l'attività anticolinesterasica del totale dei pesticidi fosforati, contenuti in una soluzione, che può venire espressa in riferimento all'attività anticolinesterasica di un determinato pesticida preso come riferimento.

Bibliografia

- 1) R.O. O'BRIEN, «Insecticide Action and Metabolism», Academic Press, New York (1967).
- 2) G. BRIAN ANSELL, SHELLA SPANNER, «Methabolism», L. Horrocks (Ed.), Raven press, New Yor (1982).
- 3) J.S. SHERMA, «Manual of Analytical Quality Control for Pesticides and Related Compounds in Human and Enviromental Samples», EPA-600, 2-81-059.
- 4) G.G. GUILBAULT, «Enzymatic Methods of Analysis», Pergamon Press, Oxford (1970).
- 5) L. CAMPANELLA, M.P. SAMMARTINO, M. TOMASSETTI, «An enzyme sensor for determination of acetylcholine and choline in rat brain extract», Anal. Letters, 22(6), 1389 (1989).
- 6) L. CAMPANELLA, M. TOMASSETTI, M.P. SAMMARTINO, «Enzyme-entrapping membranes for enzyme sensors», Sens. Actuat., 16, 235 (1989).
- 7) L. CAMPANELLA, M. TOMASSETTI, M.P. SAMMARTINO, «Enzyme sensor for determination of choline-containing phospholipids in some biological fluids», Analyst, 113, 77 (1988) e 113, 994 (1989).
- 8) «Bhiochemica Information, A revised biochemical reference source», First Edition, Joseph Keesey (Ed.), (Publ.) Boehringer Mannheim Biochemicals, P.O. Box 50826, Indianapolis, IN 46250.
- 9) T.E. ARCHER, G. ZWEIG, «Direct colorimetric analysis of cholinesterase-inhibiting insecticides with indophenyl acetate», J. Agr. Food Chem., 7, 178 (1959).
- 10) N.V.N. KUMAR, M. RAMASUNDARI, «Colorimetric determination of methyl parathion and oxygen analog», J. Assoc. Off. Anal. Chem., 63(3), 536 (1980).

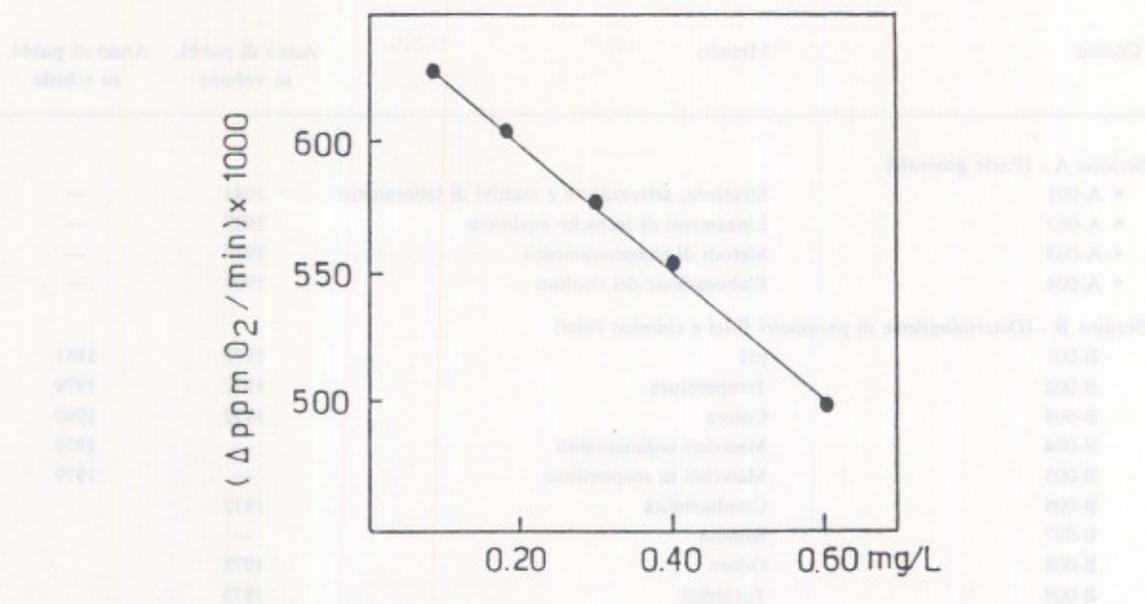


Fig. 2a - Curva di calibrazione del Malathion, ottenuta con il sensore enzimatico a colina ossidasi, con butirrilcolinesterasi in soluzione omogenea e butirrilcolina come substrato.

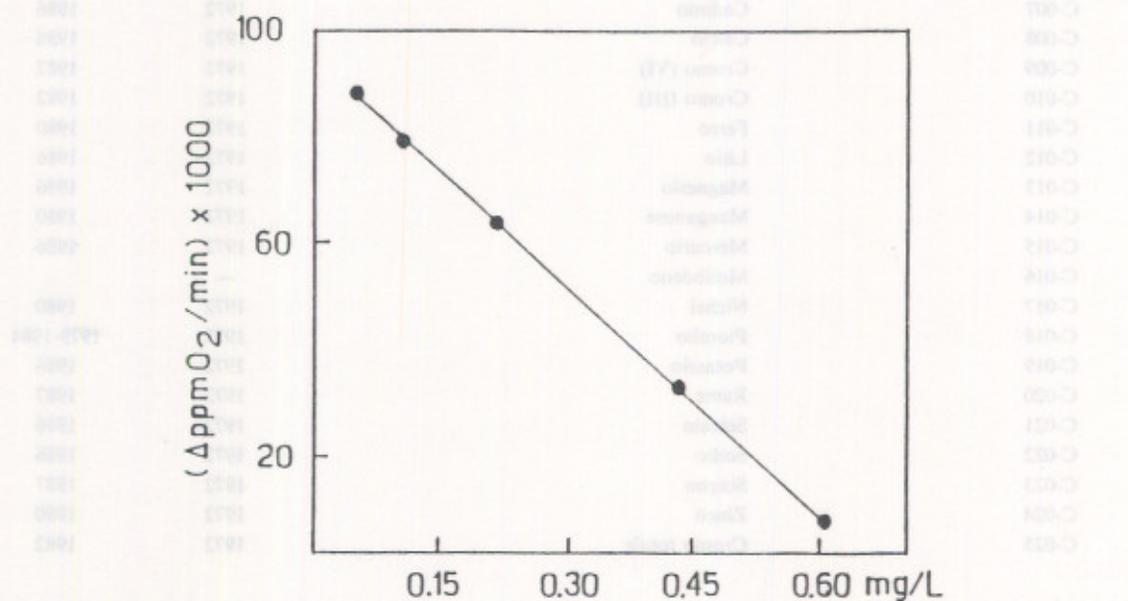


Fig. 2b - Curva di calibrazione del Malathion, ottenuta con il sensore enzimatico a colina ossidasi, con acetilcolinesterasi in soluzione omogenea e acetilcolina come substrato.

INDICE GENERALE DEL MANUALE SUI "METODI ANALITICI PER LE ACQUE" (*)

Codice	Metodo	Anno di pubbl. su volume	Anno di pubbl. su scheda
Sezione A - (Parte generale)			
• A-001	Strutture, attrezzature e reattivi di laboratorio	1984	—
• A-002	Lineamenti di tecniche analitiche	1983	—
• A-003	Metodi di campionamento	1977	—
• A-004	Elaborazione dei risultati	1983	—
Sezione B - (Determinazione di parametri fisici e chimico fisici)			
B-001	pH	1972	1981
B-002	Temperatura	1972	1979
B-003	Colore	1972	1980
B-004	Materiali sedimentabili	—	1979
B-005	Materiali in sospensione	—	1979
B-006	Conducibilità	1972	—
B-007	Salinità	—	—
B-008	Odore	1972	—
B-009	Torbidità	1972	—
Sezione C - (Determinazione di metalli e di specie metalliche)			
C-001	Alluminio	1972	1988
C-002	Argento	1972	—
C-003	Arsenico	1972	1983
C-004	Bario	1972	1980
C-005	Berillio	1972	1990
C-006	Boro	1972	1982
C-007	Cadmio	1972	1986
C-008	Calcio	1972	1986
C-009	Cromo (VI)	1972	1982
C-010	Cromo (III)	1972	1982
C-011	Ferro	1972	1980
C-012	Litio	1972	1986
C-013	Magnesio	1972	1986
C-014	Manganese	1972	1980
C-015	Mercurio	1972	1986
C-016	Molibdeno	—	—
C-017	Nichel	1972	1980
C-018	Piombo	1972	1979-1984
C-019	Potassio	1972	1986
C-020	Rame	1972	1987
C-021	Selenio	1972	1986
C-022	Sodio	1972	1986
C-023	Stagno	1972	1987
C-024	Zinco	1972	1980
C-025	Cromo totale	1972	1982

(segue)

(*) I metodi analitici sono in vendita presso il Consiglio Nazionale delle Ricerche - Ufficio Pubblicazioni - Servizio Vendite, Piazzale Aldo Moro, 7 - 00185 Roma (Tel. 4993255). La spedizione viene effettuata con pagamento contro assegno.

(•) I metodi indicati sono pubblicati in volume.

Segue: Indice generale sui «Metodi Analitici per le Acque»

Codice	Metodo	Anno di pubbl. su volume	Anno di pubbl. su scheda
Sezione D - (Determinazione di sostanze e parametri inorganici non metallici)			
D-001	Acidità e basicità	1972	
D-002	Azoto ammoniacale	1972	1981-1983
D-003	Azoto nitroso	1972	1981
D-004	Azoto nitrico	1972	1986
D-005	Biossido di carbonio	1972	
D-006	Solfuri	1972	1984
D-007	Cianuri	1972	1980
D-008	Cloro	1972	
D-009	Cloruri	1972	1979
D-010	Fluoruri	1972	1983
D-011	Fosforo	1972	1981
D-012	Ossigeno disciolto	1972	
D-013	Silice	1972	
D-014	Solfati	1972	1979
D-015	Solfiti	1972	1983
Sezione E - (Determinazione di sostanze e parametri organici)			
E-001	Azoto albuminoideo	1972	
E-002	Azoto organico	1972	
E-003	Sostanze oleose totali	1972	1984
E-004	Oli minerali	—	1984
E-005	Grassi e oli animali e vegetali	—	1984
E-006	Carbonio organico	1972	
E-007	Richiesta chimica di ossigeno (COD)	1972	1981
E-008	Richiesta biochimica di ossigeno (BOD)	1972	1982
• E-009	Pesticidi clorurati	1978	—
• E-010	Pesticidi fosforati	1982	—
• E-011	Policlorodifenili	1981	—
• E-012	Policloroterfenili	1981	—
E-013	Tensioattivi non ionici	1972	1979
E-014	Fenoli	1972	1979
E-015	Aldeidi	—	1978
E-016	Solventi aromatici	—	1984
E-017	Tensioattivi anionici	1972	1983
E-018	Solventi organici clorurati	—	1978
Sezione F - (Determinazione di parametri biologici e microbiologici)			
F-001	Saggio di tossicità	1972	
F-002	Coliformi totali	1972	
F-003	Coliformi fecali	1972	
F-004	Streptococchi fecali	1972	

(*) I metodi indicati sono pubblicati in volume.

INDICE GENERALE DEL MANUALE SUI «METODI DI ANALISI PER ACQUE DI MARE» (*)

Codice	Metodo	Anno di pubblicazione
	Indicazioni generali	
—	Fattori di conversione e di calcolo	
—	Campionamento	
	Caratteristiche chimico- fisiche	
100	Trasparenza	1984
110	Temperatura	
120	Colore	
130	Salinità	1983
140	Materiale in sospensione	1984
150	pH	
160	Ossigeno disciolto	
170		
	Specie metalliche	
200	Alluminio	
210	Argento	
215	Arsenico	
220	Cadmio	1983
225	Cromo	1984
230.3	Ferro	1983
235	Manganese	
240	Mercurio	
245	Nichel	1983
250	Piombo	1983
255	Rame	1983
260	Selenio	1983
265	Zinco	
270		
	Specie inorganiche non metalliche	
300	Azoto ammoniacale	1984
310	Azoto nitroso	
315	Azoto nitrico	
320	Azoto totale	
325	Fosforo ortofosfato solubile	1982
330	Fosforo totale	1982
340	Silice	1983
350		
	Composti organici	
400	Fenoli	
410	Oli minerali	1984
420	Tensioattivi anionici	
430	Composti organo-alogenati	
440	Pesticidi clorurati	1986
440.1		
	Saggi biologici e microbiologici	
500	Coliformi totali	1983
510	Coliformi fecali	1983
520	Streptococchi fecali	1983
530	Salmonelle	1984
540	Enterovirus	
550	Adenosintrifosfato (ATP)	1988
560	Clorofilla	1990
570.1		
	Prove di tossicità	
600	Saggio di ittiotossicità	
610		

(*) I metodi sono pubblicati a scheda e sono in vendita, con il relativo raccoglitore, presso il Consiglio Nazionale delle Ricerche - Ufficio Pubblicazioni - Servizio Vendite, Piazzale Aldo Moro, 7 - 00185 Roma (Tel. 4993.255). La spedizione viene effettuata con pagamento contro assegno.