

# c.n.r. istituto di ricerca sulle acque

# Metodi analitici

# per le acque

## notiziario

ISSN: 0392-1425

Anno 9 - N. 2

Aprile-Giugno 1989

- Programma di calcolo per l'elaborazione dei risultati di un saggio di tossicità mediante analisi dei Probits (A. Puddu).
- **Rubrica sulla protezione ambientale**
- Metodo rapido per la determinazione della richiesta chimica di ossigeno (COD) (T. La Noce)
- Indice generale del manuale sui «Metodi analitici per le acque»
- Indice generale del manuale sui «Metodi di analisi per acque di mare»
  
- *A computer program for the elaboration of toxicity test results by Probits analysis (A. Puddu)*
- **News about environmental protection**
- *Rapid method for the determination of chemical oxygen demand (COD) (T. La Noce)*
- «Metodi Analitici per le Acque» (Handbook for Water Analysis). General Index.
- «Metodi di analisi per acque di mare» (Handbook for Seawater Analysis). General Index.

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

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.

**PROGRAMMA DI CALCOLO PER L'ELABORAZIONE DEI RISULTATI DI UN SAGGIO DI TOS-  
SICITÀ MEDIANTE ANALISI DEI PROBITS****A. Puddu***Istituto di Ricerca sulle Acque CNR - ROMA***Riassunto**

Vengono riportati due programmi di calcolo, scritti in Fortran ed eseguibili con Personal Computer, per elaborare mediante l'analisi dei Probits l'LC1 e l'LC50 da dati di mortalità ottenuti con saggi condotti con animali e l'EC1 e l'EC50 da dati di crescita ottenuti con saggi algali.

**Summary**

*Two computer programs, written in Fortran, to calculate LC1 and LC50 from mortality data (animal bioassays) or EC1 and EC50 from growth data (algal bioassays) using Probit Analysis are reported.*

L'obiettivo di un test di tossicità è quello di mettere in relazione la concentrazione di tossico con la quantità di effetto prodotto sugli organismi sottoposti al saggio. Ciò, corrispondendo alla titolazione di un principio biologicamente attivo mediante la sua attività, non è altro che la ricerca della soglia di tolleranza al tossico degli organismi sottoposti al saggio. Il risultato viene espresso come concentrazione di tossico che produce un effetto negativo su una percentuale definita di organismi sottoposti al saggio nelle condizioni sperimentali adottate, che possono differire sia per il tempo di esposizione che per il tipo di effetto studiato (sopravvivenza, crescita, riproduzione, sviluppo, etc.), esprimendolo a seconda dei casi come concentrazione letale (LC) e efficace (EC).

Nei saggi per valutare la tossicità acuta di una sostanza, di una miscela di sostanze o di un effluente si adotta più frequentemente come punto finale l'EC50 (o LC50), cioè la concentrazione di tossico (che nel caso di un effluente corrisponderà alla diluizione) che provoca l'effetto osservato sul 50% degli organismi saggiati nel tempo determinato. Se invece si vogliono valutare effetti di tossicità a livello cronico, sarà più opportuno stimare l'EC1 (o LC1) che, corrispondendo alla concentrazione che produce un effetto negativo sull'1% della popolazione, rappresenta la concentrazione di soglia, intesa come concentrazione più bassa capace di produrre un effetto negativo relativamente ai parametri osservati.

Per ottenere l'esatto risultato ricercato è necessario elaborare i risultati sperimentali del saggio che se opportunamente condotto fornirà una serie di percentuali di effetto in corrispondenza delle diverse concentrazioni testate.

Tra i diversi metodi statistici proposti trova ampia diffusione l'analisi dei probits (Lison 1961, Finney 1971) che, operando su valori percentuali di sopravvivenza è in grado di fornire la stima della concen-

trazione di tossico che produce un effetto su una determinata percentuale di organismi, unitamente all'intervallo di confidenza di tale stima. I probits (probability units) sono valori trasformati delle percentuali di sopravvivenza con il valore centrale di 5 corrispondente ad una sopravvivenza del 50% e valori maggiori o minori di 5 a seconda che la percentuale sia superiore o inferiore a tale valore. Il calcolo viene effettuato dopo averne normalizzato la distribuzione attraverso la trasformazione in logaritmo delle concentrazioni di tossico saggiate.

Per elaborare le percentuali di sopravvivenza volute (1%, 50% od altre) a partire da quelle misurate sperimentalmente non è possibile effettuare la semplice analisi della regressione lineare perché i valori sperimentali non hanno tutti la stessa varianza, che invece dipende dal valore della percentuale, con il massimo quando la percentuale è del 50% e valori sempre più bassi all'avvicinarsi dei valori estremi pari a 0% e 100%. È necessario perciò attribuire ad ogni percentuale trasformata in probit un appropriato peso che è uguale al reciproco della sua varianza e che non può essere calcolato direttamente dai valori osservati ma attraverso un processo iterativo per approssimazioni successive.

Questa operazione è nella pratica estremamente complessa e laboriosa se effettuata manualmente. Sono stati perciò proposti nel passato metodi semplificati, basati su approssimazioni grafiche o su procedimenti di calcolo più rapidi che utilizzano tabelle e nomogrammi (Litchfield e Wilcoxon, 1949; Marchetti, 1979) la cui esecuzione è comunque relativamente laboriosa, con una precisione di risposta in alcuni casi dipendente dall'abilità dell'operatore.

L'attuale diffusione degli elaboratori, del tipo Personal Computers, permette invece l'esecuzione integrale dell'analisi dei probits in modo rapido ed esatto e soprattutto standardizzabile mediante l'impiego di uno stesso programma di calcolo da parte di tutti gli utenti.

Si è proceduto pertanto alla stesura in linguaggio RM/Fortran di due programmi, denominati PROB-FIS e PROBALG, che permettono, partendo dai risultati di un saggio di tossicità, di stimare rispettivamente LC ed EC ai livelli di effetto 1% e 50%, unitamente ai limiti di confidenza al 95% di probabilità associati alle stime.

PROBFIS è dedicato all'elaborazione di dati di mortalità ottenuti da un saggio condotto con animali, crostacei o pesci ad esempio, mentre PROBALG è applicato all'elaborazione dei risultati di saggi di crescita legale.

Ambedue i programmi sono stati ottenuti traducendo e modificando le versioni proposte da Horning e Weber, 1985, originariamente scritte in Fortran Plus IV e che prevedevano la stima delle sole LC1 ed EC1.

Moduli eseguibili dei programmi, che possono funzionare su qualsiasi macchina operante in ambiente MS-DOS versione 3.0 o successiva, possono essere direttamente richiesti all'Istituto di Ricerca Sulle Acque, specificando il tipo di supporto magnetico necessario (dischetti da 5,25 o 3,5 pollici).

Nel seguito, oltre ad illustrare il tipo di input richiesto dai programmi e un esempio dei risultati, ne vengono riportati integralmente i listati.

I programmi prevedono l'introduzione dei dati sia da tastiera che mediante un file dati che deve essere costruito in precedenza e di cui si fornisce un esempio nel seguito.

I risultati possono essere visualizzati su video, inviati ad una stampante o memorizzati in un file il cui nome, richiesto durante l'esecuzione del programma, non dovrà corrispondere a quello di un altro file già esistente.

**PROBFIS**

Permette di stimare la concentrazione letale (LC1 e LC50) nei tests di tossicità condotti con crostacei o pesci.

I dati richiesti dal programma sono, nell'ordine:

- numero di concentrazioni testate;
- numero di organismi morti nel controllo;
- numero di organismi nel controllo;

e per ogni concentrazione:

- valore della concentrazione;
- numero di organismi morti;
- numero di organismi trattati.

Per l'inserimento dei dati mediante file questo deve essere predisposto come nell'esempio che segue:

5			numero di concentrazioni
0	10		morti e n. trattati per il controllo;
0.12	0	10	concentrazione, morti e n. trattati per le successive concentrazioni.
0.16	1	10	
0.20	4	10	
0.40	7	10	
0.50	9	10	

CONCENTRAZIONE	NUMERO DI ORGANISMI TRATTATI	NUMERO DI ORGANISMI MORTI	NUMERO DI ORGANISMI VIVI
0.12	10	0	10
0.16	10	1	9
0.20	10	4	6
0.40	10	7	3
0.50	10	9	1

NOTA: Se LC è il valore di concentrazione letale, il valore deve essere fornito con almeno cinque trattamenti di un valore minimo per esposizione. La stessa procedura vale per i limiti di confidenza. Se è necessario, il valore di LC50 deve essere fornito con un numero di organismi vivi.

Esempio dei risultati dell'analisi dei Probit effettuata con i dati ottenuti in un saggio di tossicità con *Daphnia magna*:

CONCENTRAZIONE	LOG(CONC)	N.TRATTATI	N. MORTI	
			osservati	attesi
0.12	-0.9208	10.	0.	0.72
0.16	-0.7959	10.	1.	1.73
0.20	-0.6990	10.	4.	2.95
0.40	-0.3979	10.	7.	7.64
0.50	-0.3010	10.	9.	8.69
	Controllo	10.	0.	0.00

PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE  $Y = a + bX$ :

(Y = probits ponderati; X = log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	7.5871	es = 0.9578
Pendenza (b) =	4.6320	
Media delle X =	-0.6051	
Media delle Y =	4.7842	
CHI quadro =	1.6409	

ALTRI PARAMETRI STATISTICI:

Numero di punti =	5	
Gradi di libertà =	3	
Mortalità naturale =	0.0000	es = 0.0001
Numero di cicli =	1	

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		Inferiore	superiore
LC1	0.869	0.0406	0.1234
LC50	0.2764	0.2240	0.3557

NOTA:

Se LC è al di fuori del range di conc. analizzate, il valore deve essere preso con estrema cautela trattandosi di un valore stimato per estrapolazione. La stessa avvertenza vale per i limiti di confidenza. Se è necessaria altra assistenza, rivolgersi ad un esperto di statistica.

Listato del programma "Probfis", scritto in RM/Fortran, per l'analisi dei Probits in saggi di tossicità con animali.

```

PROGRAM PROBFIS
CHARACTER*12 NAME1,NAME2
CHARACTER*4 LC(2)
IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
DIMENSION FMT(13),SG(20),SAVER(20),SAVEN(20),VEC(13)
DIMENSION EXPY(20),A998(20),A999(20),X14(20),TO5(18)
DIMENSION BIGP(20),CHISQ(18),OBSY(20),ENP(20)
DIMENSION X(20),EN(20),R(20),SMALP(20)
COMMON OBSY,X,A,BNEW,BIGC,N,ILOG
DIMENSION OP(1),OY(2)
DATA OP,OY/0.01,2.6737,5./
DATA LC/LC1',LC50'/
DATA TO5,CHISQ/12.706,4.303,3.182,2.776,2.571,
* 2.447,2.365,2.306,2.262,2.228,2.201,2.179,2.160,
* 2.145,2.131,2.120,2.110,2.101,3.841,5.991,7.815,
* 9.488,11.07,12.592,14.067,15.507,16.919,18.307,
* 19.675,21.026,22.362,23.685,24.996,26.296,27.587,
* 28.869/
MIN=5
100 PRINT* ' ANALISI DEI PROBIT USATA PER CALCOLARE LA LC'
PRINT* '
PRINT* ' NUMERO MASSIMO DI PUNTI = 20.'
PRINT* '
PRINT* ' A.Puddu, Istituto di Ricerca Sulle Acque - CNR'
PRINT* ' Via Reno 1 - 00198 Roma, Tel. 06/8841451'
PRINT* ' Marzo 1989'
PRINT* '
128 WRITE(*,130)
130 FORMAT(' Inserimento dei dati da TASTIERA (1) o da FILE (2) ?/
+'(battere 1, 2 oppure CTRL+C per abbandonare) //,
+15X,'====> ')
READ(*,*)L1
IF(L1.EQ.1)GO TO 140
WRITE(*,132)
132 FORMAT(' Inserisci il nome (NAME1) del file di dati di ingresso',
+//,15X,'====> ')
READ(*,133)NAME1
133 FORMAT(A12)
OPEN(13,FILE=NAME1,STATUS='OLD')
140 WRITE(*,134)
134 FORMAT(' Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2) ',
+'oppure FILE (3) ?//,15X,'====> ')
READ(*,*)L2
IF(L2-2)135,136,137
135 OPEN(16,FILE='CON')
GO TO 145
136 OPEN(16,FILE='PRN')
GO TO 145
137 WRITE(*,138)
138 FORMAT(' Inserisci il nome (NAME2) del file per i risultati',
+//,15X,'====> ')
READ(*,133)NAME2
OPEN(16,FILE=NAME2,STATUS='NEW')
145 IF(L1-2)150,160,100
150 WRITE(*,2)
2 FORMAT('/', NUMERO DI CONCENTRAZIONI (escluso il controllo) = ')
READ(*,*)N
1 WRITE(*,4)
4 FORMAT(' NUMERO MORTI NEL CONTROLLO = ')
READ(*,*)DEAD
WRITE(*,5)
5 FORMAT(' NUMERO ORGANISMI NEL CONTROLLO = ')
READ(*,*)CNTRL
IND=0
GO TO 200
192 GO TO 9999

```

```

200 ILOG=1
    GO TO 260
230 DO 250 J=1,N
    EN(J)=SAVEN(J)
    R(J)=SAVER(J)
250 X(J)=DLOG10(X(J))
    IND=2
    ILOG=2
260 ICYCL=-1
    B=0.D0
    K=N-2
    IF(CNTRL)280,280,270
270 SMALC=DEAD/CNTRL
    BIGC=SMALC+0.0000001D0
    GO TO 290
280 SMALC=(-1.D0)
    BIGC=0.D0
290 GO TO (300,320) ILOG
300 PRINT*,'
    PRINT*,' ==> INIZIA A INSERIRE I DATI DALLA CONC. INFERIORE'
    PRINT*,'
    DO 310 J=1,N
    WRITE(*,311)
311 FORMAT(' CONCENTRAZIONE = ')
    READ(*,*)X(J)
    X14(J)=X(J)
    WRITE(*,313)
313 FORMAT(' NUMERO MORTI = ')
    READ(*,*)R(J)
    WRITE(*,316)
316 FORMAT(' NUMERO TRATTATI = ')
    READ(*,*)EN(J)
    PRINT*,'
    SAVEN(J)=EN(J)
    SAVER(J)=R(J)
310 CONTINUE
    IF((CNTRL.LE.0).OR.(ICYCL.GE.0))GO TO 320
    ANUM=0.0D0
    DENOM=0.0D0
    DO 315 I=1,N
    IF(R(I)/EN(I).GE.2.D0*SMALC)GO TO 315
    ANUM=ANUM+R(I)
    DENOM=DENOM+EN(I)
315 CONTINUE
    IF(DENOM.EQ.0)GO TO 320
    BIGC=(ANUM+DEAD)/(DENOM+CNTRL)
320 IF(IND.LT.1)GO TO 290
    GO TO 333
160 READ(13,*)N
    READ(13,*)DEAD,CNTRL
    IND=0
201 ILOG=1
    GO TO 261
231 DO 251 J=1,N
    EN(J)=SAVEN(J)
    R(J)=SAVER(J)
251 X(J)=DLOG10(X(J))
    IND=2
    ILOG=2
261 ICYCL=-1
    B=0.D0
    K=N-2
    IF(CNTRL)281,281,271
271 SMALC=DEAD/CNTRL
    BIGC=SMALC+0.0000001D0
    GO TO 291
281 SMALC=(-1.D0)
    BIGC=0.D0
291 GO TO (301,303) ILOG
301 DO 302 J=1,N
    READ(13,*)X(J),R(J),EN(J)
    X14(J)=X(J)

```

```

SAVEN(J)=EN(J)
SAVER(J)=R(J)
302 CONTINUE
IF((CNTRL.LE.0).OR.(ICYCL.GE.0))GO TO 303
ANUM=0.0D0
DENOM=0.0D0
DO 304 I=1,N
IF(R(I)/EN(I).GE.2.D0*SMALC)GO TO 304
ANUM=ANUM+R(I)
DENOM=DENOM+EN(I)
304 CONTINUE
IF(DENOM.EQ.0)GO TO 303
BIGC=(ANUM+DEAD)/(DENOM+CNTRL)
303 IF(IND.LT.1)GO TO 231
GO TO 333
333 DO 400 I=1,N
SMALP(I)=(R(I)/EN(I)-BIGC)/(1.D0-BIGC)
6 FORMAT(I3)
IF(ICYCL)350,390,390
350 IF(SMALP(I).LE.0.D0)GO TO 330
IF(SMALP(I).GE.1.D0)GO TO 340
GO TO 380
330 SMALP(I)=0.0001D0
GO TO 380
340 SMALP(I)=.9999D0
380 OBSY(I)=PROBIT(SMALP(I))
GO TO 400
390 OBSY(I)=EXPY(I)
400 CONTINUE
SWN=0.D0
SWNX=0.D0
SWNY=0.D0
SWNXX=0.D0
SWNXY=0.D0
SWNYY=0.D0
SWNT=0.D0
SWNXT=0.D0
SWNTT=0.D0
SWNTY=0.D0
DO 470 I=1,N
ED=OBSY(I)-5.D0
IF(DABS(ED)-18.D0) 401,401,402
401 Z=.39894220401433D0*DEXP(-(ED*ED*.5D0))
GO TO 403
402 Z=.1D-15
403 IF (ICYCL) 410,420,420
410 BIGP (I)=SMALP(I)
GO TO 440
420 AH=DABS(ED*DSQRT(.5D0))
IF(AH.LT.30.D0) GO TO 430
AI=.5D0
GO TO 431
430 AI=((0.0000430638D0*AH+0.0002765672D0)*AH+0.0001520143D0)*AH+0.009
+2705272D0
AI=.5D0-.5D0/(((AI*AH+.0422820123D0)*AH+.0705230784D0)*AH+1.D0)**1
+6
431 BIGP(I)=.5D0+DSIGN(AI,ED)
440 EXPY(I)=OBSY(I)+(SMALP(I)-BIGP(I))/Z
WNP=EN(I)/(BIGP(I)+BIGC/(1.D0-BIGC))
TP=(1.D0-BIGP(I))
IF((BIGP(I).LT.1.D0).AND.(DABS(ED).LE.13.D0)) GO TO 441
WN=0.D0
GO TO 442
441 WN=WNP*Z*Z/TP
442 EX=X(I)
EXWN=EX*WN
PRBT=EXPY(I)
SWN = SWN + WN
YWN=PRBT*WN
SWNYY=SWNYY+PRBT*YWN
SWNX=SWNX+EXWN
SWNY=SWNY+YWN

```

```

SWNXX=SWNXX+EX*EXWN
SWNXY=SWNXY+EX*YWN
IF (ICYCL) 470,450,450
450 IF(SMALC)470,460,460
460 CONTINUE
TWN=WNP*Z
SWNT=SWNT+TWN
SWNXT=SWNXT+EX*TWN
SWNTT=SWNTT+WNP*TP
SWNTY=SWNTY+TWN*PRBT
470 CONTINUE
IF(SWN.EQ.0.D0) GO TO 520
AVGX=SWNX/SWN
AVGY=SWNY/SWN
AVGT=SWNT/SWN
SWNXX=SWNXX-SWNX*AVGX
SWNXY=SWNXY-SWNX*AVGY
SWNYY=SWNYY-SWNY*AVGY
IF((SWNXX.EQ.0).OR.(SWNXY.EQ.0)) GO TO 520
BNEW=SWNXY/SWNXX
BB=BNEW
A=AVGY-BNEW*AVGX
IF(SMALC) 471,472,472
471 REGSS=BNEW*SWNXY
C11=1.D0/SWNXX
C12=0.D0
C22=0.D0
472 IF (ICYCL) 480,500,500
480 DO 490 I=1,N
490 EXPY(I)=A+BNEW*X(I)
B=BNEW
ICYCL=ICYCL+1
GO TO 320
500 IF(SMALC) 520,510,510
510 SWNXT=SWNXT-SWNX*AVGT
CNST=SMALC-BIGC
SWNTY=SWNTY-SWNT*AVGY+((CNST/BIGC)*CNTRL)
SWNTT=SWNTT-SWNT*AVGT+(1.D0-BIGC)/BIGC*CNTRL
SWNYY=SWNYY+CNTRL*CNST/BIGC*CNST/(1.D0-BIGC)
C11=1.D0/(SWNXX-SWNXT/SWNTT*SWNXT)
C12=1.D0/(SWNXT-SWNTT/SWNXT*SWNXX)
C22=1.D0/(SWNTT-SWNXT/SWNXX*SWNXT)
BNEW=C11*SWNXY+C12*SWNTY
512 DOOMC=C12*SWNXY+C22*SWNTY
A=AVGY-BNEW*AVGX-DOOMC*AVGT
BIGC=BIGC+DOOMC*(1.D0-BIGC)
REGSS=BNEW*SWNXY+DOOMC*SWNTY
520 DO 530 I=1,N
530 EXPY(I)=A+BNEW*X(I)
ICYCL=ICYCL+1
TEST=BNEW-B
XSQ=SWNYY-REGSS
IF(TEST)540,550,550
540 TEST=-TEST
550 IF(ICYCL-100)560,580,580
560 IF(SMALC)561,565,565
561 IF(TEST.LE.00001D0) GO TO 610
GO TO 570
565 IF((TEST.LE..01D0).OR.(DABS(BNEW-BB).LT..005D0)) GO TO 610
570 B=BNEW
GO TO 320
580 TEST=BNEW-B
590 WRITE(16,600)TEST
600 FORMAT('SONO STATI COMPLETATI 100 CICLI. B(100) - B(99) = ',F14.7)
610 L=0
IF(K.EQ.0) GO TO 820
IF(XSQ.GE.CHISQ(K)) GO TO 650
U=1.96
645 GO TO 820
650 WRITE(16,660)XSQ
U=TO5(K)
660 FORMAT (' STIMA DI CHI QUADRO OTTENUTA PER SOTTRAZIONE = ',F10.5)

```

```

670 DO 680 I=1,N
680 ENP(I)=EN(I)*(BIGP(I)*(1.D0-BIGC)+BIGC)
820 FK=K
   IF(K.EQ.0) GO TO 850
   HET=XSQ/FK
   FEXP=TO5(K)*TO5(K)
   FCAL=REGSS/HET
   IF(FCAL-FEXP)830,830,850
830 WRITE(16,840)
840 FORMAT('REGRESSIONE NON SIGNIFICATIVA',/)
850 G=U*U*C11/BNEW/BNEW
   DO 920 J=1,N
   EXPY(J)=BIGP(J)*(1.D0-BIGC)+BIGC
   ENP(J)=SAVEN(J)*EXPY(J)
   OBSY(J)=(SAVER(J)/SAVEN(J)-BIGC)/(1.D0-BIGC)
   IF(OBSY(J).LE.0.D0) GO TO 860
   IF(OBSY(J).GE.1.D0) GO TO 870
   OBSY(J)=PROBIT(OBSY(J))
   GO TO 920
860 OBSY(J)=1.D0
   GO TO 920
870 OBSY(J)=8.D0
920 BIGP(J)=SAVER(J)-ENP(J)
   WRITE(16,933)
933 FORMAT(/,70('='),/)
   IF(ILOG.EQ.2)WRITE(16,930)(X14(J),X(J),SAVEN(J),
+SAVER(J),ENP(J),J=1,N)
930 FORMAT(5X,'CONCENTRAZIONE',3X,'LOG(CONC)',4X,'N.TRATTATI',10X,
+'N.MORTI',/,49X,'osservati',4X,'attesi',/,
+(8X,F6.2,7X,F8.4,7X,F6.0,8X,F6.0,3X,F8.2))
   SEB=DSQRT(C11)
   SEC=(1.D0-BIGC)*DSQRT(C22)
   IF(SMALC.LT.0.D0)GO TO 940
   TEST=CNTRL*BIGC
   B=DEAD-TEST
   WRITE(16,935)CNTRL,DEAD,TEST
935 FORMAT(/,17X,'Controllo',10X,F6.0,8X,F6.0,3X,F8.2)
   WRITE(16,933)
   WRITE(16,1020)
1020 FORMAT(6X,'PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE Y=a+bx :',/)
   WRITE(16,1025)
1025 FORMAT(6X,'(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati) :',/)
   WRITE(16,1080)A
1080 FORMAT(6X,' Intercetta (a) =',F12.4)
   WRITE(16,1070)BNEW,SEB
1070 FORMAT(6X,' Pendenza (b) =',F12.4,3X,'es =',F6.4)
   WRITE(16,1040)AVGX
1040 FORMAT(6X,' Media delle X =',F12.4)
   WRITE(16,1030)AVGY
1030 FORMAT(6X,' Media delle Y =',F12.4)
   WRITE(16,1090)XSQ
1090 FORMAT(6X,' CHI quadro =',F12.4/)
   IF(XSQ.GE.CHISQ(K))WRITE(16,1095)
1095 FORMAT(/,," CHI quadro significativo. Il fattore di eterogene',
+'ità',/, ' non è utilizzato. Usare molta cautela",/)
   WRITE(16,950)
950 FORMAT(/,6X,'ALTRI PARAMETRI STATISTICI :',/)
   WRITE(16,970)N
970 FORMAT(6X,' Numero di punti =',I6)
   WRITE(16,980)K
980 FORMAT(6X,' Gradi di libertà =',I6)
   WRITE(16,1060)BIGC,SEC
1060 FORMAT(6X,' Mortalità naturale =',F12.4,3X,'es =',F6.4)
   WRITE(16,1010)ICYCL
1010 FORMAT(6X,' Numero di cicli =',I6,/)
940 IF(L.GT.0)WRITE(16,945)
945 FORMAT(/,48X,'"=atteso <5',/,49X,'"=atteso >N-5')
   WRITE(16,933)
1105 WRITE(16,1100)
1100 FORMAT(5X,'END POINT',6X,'CONCENTRAZIONE',12X,
+'LIMITI FIDUCIALI (95%)')
   WRITE(16,987)

```

```

987 FORMAT(42X,'inferiore    superiore',/)
M=0
1108 M=M+1
ONE=G/(1.D0-G)
THREE=U/(BNEW*(1.D0-G))
FIVE=G*(1.D0/SWN+AVGT*AVGT*(C22-C12*C12/C11))
EM=(OY(M)-A)/BNEW
IF(THREE.LE.0.D0) GO TO 1150
1110 EMLSX=EM-AVGX
TWO=EMLSX-AVGT*C12/C11
FOUR=1.D0/SWN+AVGT*AVGT*C22-2.D0*EMLSX*AVGT*C12+EMLSX*EMLSX*C11
PART2=EM+ONE*TWO
PART3=THREE*DSQRT(FOUR-FIVE)
XLL=PART2-PART3
XUL=PART2+PART3
GO TO (1130,1120),ILOG
1120 EM=DEXP(2.302585D0*EM)
XLL=DEXP(2.302585D0*XLL)
XUL=DEXP(2.302585D0*XUL)
1130 IF(EM.GT.X14(N))A999(J)=OP(1)*100
IF(EM.LT.X14(1))A999(J)=OP(1)*100
WRITE(16,1140)LC(M),EM,XLL,XUL
1140 FORMAT(7X,A4,2X,F16.4,12X,F8.4,9X,F8.4)
IF(M.EQ.1)GO TO 1108
GO TO 1190
1150 GO TO (1170,1160) ILOG
1160 EM=DEXP(2.302585D0*EM)
1170 WRITE(16,1180) LC(M),OP(1)*100,EM
1180 FORMAT(7X,A4,2X,F3.0,F16.4,8X,'NON CALCOLABILE')
IF(M.EQ.1)GO TO 1108
1190 WRITE(16,933)
WRITE(16,1192)
1192 FORMAT(//,'NOTA: Se LC è al di fuori del range di conc. ',
+'analizzate.',/, 'il valore deve essere preso con estrema cautela',
+' trattandosi',/, 'di un valore stimato per estrapolazione.',/,
+'La stessa avvertenza vale per i limiti di confidenza. ')
WRITE(16,1193)
1193 FORMAT('Se è necessaria altra assistenza, rivolgersi',
+' ad un esperto',/, 'di statistica. ')
CLOSE(13,STATUS='KEEP')
9999 STOP
END
REAL FUNCTION PROBIT(PROP)
IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
TEMP=DMIN1(PROP,1.-PROP)
TEMP=SQRT(-2.*DLOG(TEMP))
TEMP=TEMP*(2.515517+TEMP*(0.802853+TEMP*(0.010328)))/
+(1.+TEMP*(1.432788+TEMP*(0.189269+TEMP*(0.001308)))
PROBIT=5.+SIGN(TEMP,(PROP-0.5))
RETURN
END

```

### PROBALG

Permette di stimare l'effetto di inibizione della crescita (EC1 o EC50) in saggi algali.

I dati richiesti dal programma sono, nell'ordine:

- numero di concentrazioni testate;
- numero di repliche per il controllo, che sarà uguale a quello delle concentrazioni;
- numero di cellule per le successive repliche del controllo;

e, per ogni concentrazione:

- valore della concentrazione;
- numero di cellule per ogni replica.

Per l'inserimento dei dati mediante file deve essere preparato un file che in ogni record contenga un'unica informazione del tipo richiesto, in successione. Es:

5            numero di concentrazioni  
 3            numero di repliche  
 1209        conte per il controllo  
 1180  
 1340  
 5            prima concentrazione  
 1212        conte per la prima concentrazione  
 1186  
 1204  
 10          seconda concentrazione  
 826        conte per la seconda concentrazione  
 628  
 816

e di seguito.

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI CRUCIALI (95%)
EC1	1.00E-01	1.10E-01
EC50	1.00E-01	1.10E-01

NOTA:  
 Se EC è al di fuori del campo di conc. analizzate, il valore deve essere preso con estrema cautela. Se è necessario il valore minimo per interpolazione. La stessa avvertenza vale per i limiti di confidenza. Se è necessario altre avvertenze, rivolgersi ad un esperto di statistica.

Esempio dei risultati dell'analisi dei Probit effettuata con i dati ottenuti in un saggio di tossicità condotto osservando gli effetti del tossico sulla crescita algale:

CONCENTRAZIONE	MEDIA DI 3 CONTE	% EFFETTO
Controllo	1243.00	—
5.00	1200.67	3.41
10.00	756.67	39.13
20.00	440.67	64.55
40.00	140.33	88.71
80.00	44.43	96.43

#### PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE $Y = a + bX$ :

(Y = probits ponderati; X = log(conc) ponderati)

Intercetta (a) =	1.6650	
Pendenza (b) =	2.8363	es = 0.2100
Media delle X =	1.2082	
Media delle Y =	5.0917	
CHI quadro =	8.1895	

#### ALTRI PARAMETRI STATISTICI:

Numero di punti =	5
Gradi di libertà =	3
Numero di cicli =	9

END POINT	CONCENTRAZIONE	LIMITI FIDUCIALI (95%)	
		Inferiore	superiore
EC1	2.2681	1.1959	3.4151
EC50	14.9914	12.3526	18.0354

#### NOTA:

Se LC è al di fuori del campo di conc. analizzate, il valore deve essere preso con estrema cautela trattandosi di un valore stimato per estrapolazione. La stessa avvertenza vale per i limiti di confidenza. Se è necessaria altra assistenza, rivolgersi ad un esperto di statistica.

Listato del programma "Probalg", scritto in RM/Fortran, per l'analisi dei Probits in saggi di crescita algale:

```

PROGRAM PROBALG
CHARACTER*12 NAME1,NAME2
CHARACTER*4 EC(2)
IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
DIMENSION FMT (13),SAVER(20),SAVEN(20),VEC(13)
DIMENSION EXPY(20),A998(20),A999(20),X14(20),TO5(18)
DIMENSION BIGP(20),CHISQ(18),OBSY(20),ENP(20)
DIMENSION X(20),R7(20),R(20),SMALP(20),OY(2)
DIMENSION SG(20),R1(20),R2(20),P5(20),CONCNT(20)
COMMON OBSY,X,A,BNEW,BIGC,N,ILOG
DATA OY/2.6737.5./
DATA EC/EC1 ',EC50'/
DATA TO5,CHISQ/12.706,4.303,3.182,2.776,2.571,
+2.447,2.365,2.306,2.262,2.228,2.201,2.179,2.160,
+2.145,2.131,2.120,2.110,2.101,3.841,5.991,7.815,
+9.488,11.07,12.592,14.067,15.507,16.919,18.307,
+19.675,21.026,22.362,23.685,24.996,26.296,27.587,
+28.869/
MIN=5
CNT=0
ANUM=0
100 PRINT*,ANALISI DEI PROBIT USATA PER CALCOLARE EC (TEST ALGALI)
PRINT*..
PRINT*.. A.Puddu, Istituto di Ricerca Sulle Acque - CNR'
PRINT*.. Via Reno 1 - 00198 Roma, Tel. 06/8841451'
PRINT*.. Marzo 1989'
PRINT*..
128 WRITE(*,130)
130 FORMAT(' Inserimento dei dati da TASTIERA (1) o da FILE (2) ?'
+'(battere 1, 2 oppure CTRL+C per abbandonare)',//,
+'15X, '====> ')
READ(*,*)L1
IF(L1.EQ.1)GO TO 140
WRITE(*,132)
132 FORMAT(' Inserisci il nome (NAME1) del file di dati di ingresso',
+//,15X, '====> ')
READ(*,133)NAME1
133 FORMAT(A12)
OPEN(13,FILE=NAME1,STATUS='OLD')
140 WRITE(*,134)
134 FORMAT(' Risultati su SCHERMO (1), STAMPANTE (2) ',
+'oppure FILE (3) ?',//,15X, '====> ')
READ(*,*)L2
IF(L2-2)135,136,137
135 OPEN(16,FILE='CON')
GO TO 145
136 OPEN(16,FILE='PRN')
GO TO 145
137 WRITE(*,138)
138 FORMAT(' Inserisci il nome (NAME2) del file per i risultati',
+//,15X, '====> ')
READ(*,133)NAME2
OPEN(16,FILE=NAME2,STATUS='NEW')
145 IF(L1-2)150,160,100
150 WRITE(*,2)
2 FORMAT('/', NUMERO DI CONCENTRAZIONI (escluso il controllo) = ')
READ(*,*)N
WRITE(*,5)
5 FORMAT(' NUMERO DI REPLICHE = ')
READ(*,*)K1
WRITE(*,1)K1
1 FORMAT (' INSERIRE LE',I3,' CONTE PER IL CONTROLLO.',/)
DO 10 J=1,K1
WRITE(*,501)
501 FORMAT(' N. CELLULE CONTROLLO = ',/)
READ(*,*)CONCNT(J)

```

```

CNT=CNT+CONCNT(J)
10 CONTINUE
CNT=CNT/K1
IND=0
200 ILOG=1
GO TO 260
230 IND=2
ILOG=2
260 ICYCL=-1
B=0
K=N-2
SMALC=0
BIGC=.001
GO TO(300,320)ILOG
300 PRINT*, '==> INIZIA A INSERIRE I DATI DALLA CONC. INFERIORE'
DO 310 J=1,N
WRITE(*,311)
311 FORMAT(' CONCENTRAZIONE = ')
READ(*,*)X(J)
X14(J)=X(J)
X(J)=LOG10(X(J))
WRITE(*,314)K1,X14(J)
314 FORMAT(' INSERISCI LE',I3,' CONTE PER LA CONCENTRAZIONE ',F7.2)
DO 313 K=1,K1
WRITE(*,316)
316 FORMAT(' NUMERO CELLULE =')
READ(*,*)R7(K)
R1(J)=R1(J)+R7(K)
313 CONTINUE
R1(J)=R1(J)/K1
R2(J)=R1(J)
310 CONTINUE
DO 231 I=1,N
P5(I)=R1(I)/CNT
R1(I)=1-P5(I)
R(I)=R1(I)
SAVER(I)=R(I)
ANUM=ANUM+R(I)
DENOM=(N+1)*100.
SAVEN(I)=N
231 CONTINUE
CNTRL=100.
BIGC=ANUM/DENOM
320 IF(IND.LT.1)GO TO 230
GO TO 333
160 READ(13,*) N
READ(13,*) K1,
DO 170 J=1,K1
READ(13,*) CONCNT(J)
CNT=CNT+CONCNT(J)
170 CONTINUE
CNT=CNT/K1
IND=0
180 ILOG = 1
GO TO 195
190 IND=2
ILOG = 2
195 ICYCL=-1
B=0
K=N-2
SMALC=0
BIGC=.001
GO TO(197,250)ILOG
197 DO 205 J=1,N
READ(13,*)X(J)
X14(J)=X(J)
X(J)=LOG10(X(J))
DO 213 K=1,K1
READ(13,*)R7(K)
R1(J)=R1(J)+R7(K)
213 CONTINUE
R1(J)=R1(J)/K1

```



```

IF (ICYCL) 470,450,450
450 IF(SMALC)470,460,460
460 CONTINUE
TWN=WNP*Z
SWNT=SWNT+TWN
SWNXT=SWNXT+EX*TWN
SWNTT=SWNTT+WNP*TP
SWNTY=SWNTY+TWN*PRBT
470 CONTINUE
IF(SWN.EQ.0.) GO TO 520
AVGX=SWNX/SWN
AVGY=SWNY/SWN
AVGT=SWNT/SWN
SWNXX=SWNXX-SWNX*AVGX
SWNXY=SWNXY-SWNX*AVGY
SWNYY=SWNYY-SWNX*AVGY
IF((SWNXX.EQ.0).OR.(SWNXY.EQ.0)) GO TO 520
BNEW=SWNXY/SWNXX
BB=BNEW
A=AVGY-BNEW*AVGX
IF(SMALC) 471,472,472
471 REGSS=BNEW*SWNXY
C11=1./SWNXX
C12=0.
C22=0.
472 IF (ICYCL) 480,500,500
480 DO 490 I=1,N
EXPY(I)=A+BNEW*X(I)
490 CONTINUE
B=BNEW
ICYCL=ICYCL+1
GO TO 320
500 IF(SMALC) 520,510,510
510 SWNXT=SWNXT-SWNX*AVGT
CNST=SMALC-BIGC
SWNTY=SWNTY-SWNT*AVGY+((CNST/BIGC)*CNTRL)
SWNTT=SWNTT-SWNT*AVGT+(1.-BIGC)/BIGC*CNTRL
SWNYY=SWNYY+CNTRL*CNST/BIGC*CNST/(1.-BIGC)
C11=1./(SWNXX-SWNXT/SWNTT*SWNXT)
C12=1./(SWNXT-SWNTT/SWNXT*SWNXX)
C22=1./(SWNTT-SWNXT/SWNXX*SWNXT)
BNEW=C11*SWNXY+C12*SWNTY
512 DOOMC=C12*SWNXY+C22*SWNTY
A=AVGY-BNEW*AVGX-DOOMC*AVGT
BIGC=BIGC+DOOMC*(1.-BIGC)
REGSS=BNEW*SWNXY+DOOMC*SWNTY
520 DO 530 I=1,N
530 EXPY(I)=A+BNEW*X(I)
ICYCL=ICYCL+1
TEST=BNEW-B
XSQ=SWNYY-REGSS
IF(TEST)540,550,550
540 TEST=-TEST
550 IF(ICYCL-100)560,580,580
560 IF(SMALC)561,565,565
561 IF(TEST.LE.00001) GO TO 610
GO TO 570
565 IF((TEST.LE..00001).OR.(ABS(BNEW-BB).LT..00000005)) GO TO 610
570 B=BNEW
GO TO 320
580 TEST=BNEW-B
590 WRITE(16,600)TEST
600 FORMAT('SONO STATI COMPLETATI 100 CICLI. B(100) - B(99) = ',F14.7)
610 L=0
IF(K.EQ.0) GO TO 820
IF(XSQ.GE.CHISQ(K)) GO TO 650
U=1.96
645 WRITE(16,646)
646 FORMAT(' CHI QUADRO NON SIGNIFICATIVO.:/)
GO TO 820
660 FORMAT ('NOTA: VALORI DI CHI QUADRO OTTENUTI PER SOTTRAZIONE./)
650 WRITE(16,660)

```

```

U=TO5(K)
670 DO 680 I=1,N
680 ENP(I)=100.*(BIGP(I)*(1.-BIGC)+BIGC)
820 FK=K
    IF(K.EQ.0) GO TO 850
    HET=XSQ/FK
    FEXP=TO5(K)*TO5(K)
    FCAL=REGSS/HET
    IF(FCAL-FEXP)830,830,850
830 WRITE(16,840)
840 FORMAT('REGRESSIONE NON SIGNIFICATIVA',/)
850 G=U*U*C11/BNEW/BNEW
    DO 920 J=1,N
    EXPY(J)=BIGP(J)
    ENP(J)=N*EXPY(J)
    OBSY(J)=R1(J)
    IF(OBSY(J).LE.0.) GO TO 860
    IF(OBSY(J).GE.1.) GO TO 870
    OBSY(J)=PROBIT(OBSY(J))
    GO TO 920
860 OBSY(J)=1.
    GO TO 920
870 OBSY(J)=8.
920 BIGP(J)=R1(J)-ENP(J)
    WRITE(16,933)
933 FORMAT(/,70('=',),/)
    WRITE(16,929)K1
929 FORMAT(5X,'CONCENTRAZIONE',8X,'MEDIA DI',I3,
+' CONTE',7X,'% EFFETTO',/)
    WRITE(16,930)CNT
930 FORMAT(8X,'Controllo',12X,F10.2,16X,'-')
    WRITE(16,931)(X14(J),R2(J),R1(J)*100.,J=1,N)
931 FORMAT(6X,F8.2,15X,F10.2,14X,F5.2)
    SEB=SQRT(C11)
    IF(SMALC.LT.0)GO TO 932
    TEST=0.
    B=DEAD-TEST
932 WRITE(16,933)
    WRITE(16,1020)
1020 FORMAT(6X,'PARAMETRI STATISTICI DELLA REGRESSIONE Y=a+bx',/)
    WRITE(16,1025)
1025 FORMAT(6X,'(Y= probits ponderati; X= log(conc) ponderati)',/)
    WRITE(16,1080)A
1080 FORMAT(6X,' Intercetta (a) =',F12.4)
    WRITE(16,1070)BNEW,SEB
1070 FORMAT(6X,' Pendenza (b) =',F12.4,3X,'es =',F6.4)
    WRITE(16,1040)AVGX
1040 FORMAT(6X,' Media delle X =',F12.4)
    WRITE(16,1030)AVGY
1030 FORMAT(6X,' Media delle Y =',F12.4)
    WRITE(16,1090)XSQ
1090 FORMAT(6X,' CHI quadro =',F12.4/)
    WRITE(16,950)
950 FORMAT(/,6X,'ALTRI PARAMETRI STATISTICI',/)
    WRITE(16,970)N
970 FORMAT(6X,' Numero di punti =',I6)
    WRITE(16,980)K
980 FORMAT(6X,' Gradi di liberta =',I6)
940 WRITE(16,1010)ICYCL
1010 FORMAT(6X,' Numero di cicli =',I6//)
    WRITE(16,933)
1105 WRITE(16,1100)
1100 FORMAT(5X,'END POINT',6X,'CONCENTRAZIONE',12X,
+'LIMITI FIDUCIALI (95%)')
    WRITE(16,987)
987 FORMAT(41X,'inferiore superiore',/)
    M=0
1108 M=M+1
    OP=0.01
    ONE=G/(1.-G)
    THREE=U/(BNEW*(1.-G))
    FIVE=G*(1./SWN+AVGT*AVGT*(C22-C12*C12/C11))

```

```

J=1
EM=(OY(M)-A)/BNEW
IF(THREE.LE 0.) GO TO 1150
1110 EMLSX=EM-AVGX
TWO=EMLSX-AVGT*C12/C11
FOUR=1./SWN+AVGT*AVGT*C22-2.*EMLSX*AVGT*C12+EMLSX*EMLSX*C11
PART2=EM+ONE*TWO
PART3=THREE*SQRT(FOUR-FIVE)
XLL=PART2-PART3
XUL=PART2+PART3
GO TO (1130,1120),ILOG
1120 EM=EXP(2.302585*EM)
XLL=EXP(2.302585*XLL)
XUL=EXP(2.302585*XUL)
1130 IF(EM.GT.X14(N))A999(J)=OP*100
IF(EM.LT.X14(1))A998(J)=OP*100
WRITE(16,1140) EC(M),EM,XLL,XUL
1140 FORMAT(7X,A4,2X,F16.4,12X,F8.4,9X,F8.4)
IF (M.EQ.1) GO TO 1108
GO TO 1190
1150 GO TO (1170,1160),ILOG
1160 EM=EXP(2.302585*EM)
1170 WRITE(16,1180) EC(M),EM
1180 FORMAT(9X,A4,2X,F16.4,8X,'NON CALCOLABILE')
IF (M.EQ.1) GO TO 1108
1190 WRITE(16,933)
WRITE(16,1192)
1192 FORMAT(///,'NOTA: Se LC è al di fuori del campo di conc. ',
+ 'analizzate',/,', il valore deve essere preso con estrema cautela',
+ ' trattandosi',/,', di un valore stimato per estrapolazione.',/,
+ 'La stessa avvertenza vale per i limiti di confidenza.')
WRITE(16,1193)
1193 FORMAT('Se è necessaria altra assistenza, rivolgersi',
+ ' ad un esperto',/,', di statistica.')
CLOSE(13,STATUS='KEEP')
9999 STOP
END
REAL FUNCTION PROBIT(PROP)
IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
TEMP=DMIN1(PROP,1.-PROP)
TEMP=SQRT(-2.*DLOG(TEMP))
TEMP=TEMP-(2.515517+TEMP*(0.802853+TEMP*0.010328))/
+(1.+TEMP*(1.432788+TEMP*(0.189269+TEMP*0.001308)))
PROBIT=5.+SIGN(TEMP,(PROP-0.5))
RETURN
END

```

**Bibliografia**

FINNEY D.J.(1971): Probit analysis (New York, Cambridge Press), pp. 268.

HORNING W.B. & WEBER C.I. (1985): «Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms», U.S. Environ. Prot. Ag., Rep. EPA/600/4-85/014, Cincinnati, pp. 173.

LISON L. (1961): Statistica applicata alla biologia sperimentale (Milano, Editrice Ambrosiana), pp. 369.

LITCHFIELD J.T. & WILCOXON F. (1949): «A simplified method of evaluating dose-effect experiments», *J. Pharm. and Exp. Therap.*, **96**, 99-113.

MARCHETTI R. (1979): «Saggio di tossicità con animali acquatici», *Quad. Ist. Ric. Acque*, **11** (3).

**RUBRICA SULLA PROTEZIONE AMBIENTALE****METODO RAPIDO PER LA DETERMINAZIONE DELLA RICHIESTA CHIMICA DI OSSIGENO (COD)****Tullio La Noce***Istituto di Ricerca sulle Acque CNR - Roma*

In una nota tecnica apparsa recentemente su *Water Research* (Vol. 23, n. 8, pp. 1068-1071, 1989), W.F. Jardim e J.R. Rohwedder sottopongono alla comunità scientifica un nuovo metodo semplificato per la determinazione, in tempi brevi (ca. 7 min.) e con risparmio di reattivi, del COD.

Fermo restando l'impiego dei soliti reattivi (acido solforico, solfato di mercurio e soluzione di dicromato), la novità essenziale consiste nel sistema di riscaldamento costituito da un digestore a microonde, normalmente un forno a microonde commerciale con piastraforma girevole.

Con questo accorgimento, i tempi per l'ossidazione completa di campioni aventi sino a 1000 mg di  $O_2$  l<sup>-1</sup> di COD si riducono notevolmente, a circa 7 min., rispetto ai 60 richiesti dal metodo convenzionale a riflusso.

La digestione dei campioni acquosi, in particolare, viene operata in contenitori di teflon con tappo a vite, aventi uno spessore di 5 mm ed un volume intorno a 60 ml. Per l'analisi occorrono piccoli volumi di campioni, dell'ordine di 200-1000  $\mu$ l se si adoperano per il prelievo pipette a pistone tipo Gilson o dell'ordine di 10-100  $\mu$ l per pipette a pistone tipo Eppendorf.

Gli AA. presentano una tabella comparativa dei vari risultati ottenuti sia con il metodo classico che con il presente modificato e concludono affermando che la digestione a microonde può essere considerata come un metodo alternativo a quello a riflusso.

Inoltre sostanze resistenti all'ossidazione nelle condizioni del metodo convenzionale possono essere maggiormente aggredite, e quindi dare valori più alti di COD, con il nuovo metodo caratterizzato da condizioni più drastiche di temperatura e pressione.

La comunità scientifica, pertanto, è invitata a fare esperienza con questo metodo, con le matrici più varie, e a segnalare l'opportunità e la convenienza di pubblicare lo stesso nella collana dei metodi ufficiali analitici per le acque, curata dall'Istituto di Ricerca sulle Acque.

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

Codice	Metodo	Anno di pubbl. su volume	Anno di pubbl. su scheda
<b>Sezione A - (Parte generale)</b>			
• 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	—
<b>Sezione B - (Determinazione di parametri fisici e chimico fisici)</b>			
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	—
<b>Sezione C - (Determinazione di metalli e di specie metalliche)</b>			
C-001	Alluminio	1972	1988
C-002	Argento	1972	—
C-003	Arsenico	1972	1983
C-004	Bario	1972	1980
C-005	Berillio	1972	—
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
<b>Sezione D - (Determinazione di sostanze e parametri inorganici non metallici)</b>			
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
<b>Sezione E - (Determinazione di sostanze e parametri organici)</b>			
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
<b>Sezione F - (Determinazione di parametri biologici e microbiologici)</b>			
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
—	<b>Indicazioni generali</b>	
—	Fattori di conversione e di calcolo	
—	Campionamento	
<b>100</b>	<b>Caratteristiche chimico- fisiche</b>	
110	Trasparenza	1984
120	Temperatura	
130	Colore	
140	Salinità	1983
150	Materiale in sospensione	1984
160	pH	
170	Ossigeno disciolto	
<b>200</b>	<b>Specie metalliche</b>	
210	Alluminio	
215	Argento	
220	Arsenico	
225	Cadmio	1983
230.3	Cromo	1984
235	Ferro	1983
240	Manganese	
245	Mercurio	
250	Nichel	1983
255	Piombo	1983
260	Rame	1983
265	Selenio	1983
270	Zinco	
<b>300</b>	<b>Specie inorganiche non metalliche</b>	
310	Azoto ammoniacale	1984
315	Azoto nitroso	
320	Azoto nitrico	
325	Azoto totale	
330	Fosforo ortofosfato solubile	1982
340	Fosforo totale	1982
350	Silice	1983
<b>400</b>	<b>Composti organici</b>	
410	Fenoli	
420	Oli minerali	1984
430	Tensioattivi anionici	
440	Composti organo-alogenati	
440.1	Pesticidi clorurati	1986
<b>500</b>	<b>Saggi biologici e microbiologici</b>	
510	Coliformi totali	1983
520	Coliformi fecali	1983
530	Streptococchi fecali	1983
540	Salmonelle	1984
550	Enterovirus	
560	Adenosintrifosfato (ATP)	1988
<b>600</b>	<b>Prove di tossicità</b>	
610	Saggio di ittiotossicità	

(\*) 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.

