

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

# Metodi analitici

# per le acque

## notiziario

ISSN: 0392-1425

Anno 10 - N. 1

Gennaio-Marzo 1990

- Misure di clorofilla e adenosin-trifosfato per la stima della biomassa e loro significato ecologico (A. Zoppini e R. Pagnotta).
- Metodo ufficiale IRSA (D-011) per la determinazione del fosforo
- Indice generale del manuale sui «Metodi analitici per le acque»
- Indice generale del manuale sui «Metodi di analisi per acque di mare»
  
- *Chlorophyll and ATP measurements for the assessment of biomass and their ecological significance (A. Zoppini and R. Pagnotta)*
- *IRSA Method (D-011) for the determination of phosphorous*
- *«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

ISSN: 0365-1425

Gennaio-Marzo 1990

Anno 10 - N. 1

*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.

## MISURE DI CLOROFILLA E ADENOSIN-TRIFOSFATO PER LA STIMA DELLA BIOMASSA E LORO SIGNIFICATO ECOLOGICO

Zoppini A., Pagnotta R.

Istituto di Ricerca sulle Acque - Roma

### Riassunto

Si descrivono le misure di clorofilla e adenosin-trifosfato (ATP) per la stima della biomassa planctonica e si evidenziano le possibili applicazioni ad indagini sulle caratteristiche trofiche e strutturali degli ecosistemi acquatici.

### Summary

*Measurements for the evaluation of planktonic biomass, chlorophyll and adenosin-triphosphate (ATP), are described and possible applications to research for trophic and structural characteristics of aquatic ecosystems are evidenced.*

### 1. Stima della biomassa

Negli ecosistemi acquatici la stima della biomassa planctonica, riguardante organismi di dimensioni inferiori a 250  $\mu\text{m}$ , è ampiamente utilizzata, unitamente ai parametri fisico-chimici, nelle valutazioni quali-quantitative e previsionali della qualità e del livello trofico dei corpi idrici (OECD, 1982; WHO, 1982; APHA, AWWA, WPCF, 1985).

I parametri più comunemente utilizzati per tali stime sono la clorofilla, che fornisce una indicazione sulla sola biomassa di origine autotrofa, e l'adenosin-trifosfato che esprime la biomassa totale tenendo conto anche di quella eterotrofa.

#### 1.1 La clorofilla

Nel processo di fotosintesi, tipico degli organismi autotrofi, la clorofilla rappresenta il principale costituente per la trasformazione dell'energia luminosa in energia chimica. Le alghe planctoniche contengono inoltre altre forme di clorofilla indicate come clorofilla *b* e *c*. Tali pigmenti sono distribuiti diversamente nei diversi gruppi tassonomici algali che possono essere identificati tramite la stima delle abbondanze relative delle singole clorofille. Ad esempio la divisione delle *Chlorophyta* (alghe verdi) è carat-

terizzata da clorofilla a e b in un rapporto approssimativo di 2:1, mentre la divisione delle *Crysophyta* (a cui appartengono le diatomee) è caratterizzata dalla presenza della clorofilla a e c e quella delle *Cyanophyta* (alghe azzurre) dalla sola clorofilla a.

Le molecole delle clorofille differiscono di poco nella struttura che risulta costituita da un nucleo porfirinico idrosolubile con al centro un atomo di magnesio e da una catena laterale alifatica (fitolo) liposolubile. La clorofilla b differisce dalla a per la sostituzione di un gruppo metile con un formile su uno degli anelli, mentre nella clorofilla c manca la catena del fitolo.

Le clorofille assorbono nello spettro del visibile nella regione del blu e del rosso. Ciò ne consente, dopo un'opportuna estrazione dal campione, la determinazione quantitativa per via spettrofotometrica.

Diverse equazioni sono state proposte per il calcolo della clorofilla utilizzando opportuni coefficienti (Richard e Thompson, 1952; Parsons e Strickland, 1963; SCOR/UNESCO, 1966; Lorenzen, 1967) in relazione ai picchi massimi dello spettro corrispondenti alle diverse lunghezze d'onda. Più recentemente Jeffrey e Humphrey (1975) hanno riesaminato i picchi a cui corrispondevano i massimi di assorbimento delle diverse clorofille nei diversi mezzi d'estrazione ed hanno proposto delle nuove equazioni di calcolo riportate nei più qualificati manuali per i metodi analitici per le acque (APHA, AWWA, WPCF, 1985; Parsons *et al.*, 1984).

In natura possono coesistere sia le clorofille che i loro prodotti di degradazione (feofitine, feoforbide e clorofillide). Questi ultimi assorbono luce nella stessa regione dello spettro delle clorofille. Ne deriva che, se presenti in quantità significativa tali prodotti di degradazione possono essere causa di gravi errori nella misura della concentrazione di clorofilla. La degradazione della molecola della clorofilla avviene attraverso la perdita dell'atomo di magnesio (feofitine) posto nel centro dell'anello porfirinico o attraverso la perdita della catena del fitolo (clorofillide) o di entrambi (feoforbide). Tale degradazione si riproduce *in vitro*, tramite acidificazione dell'estratto, per correggere l'interferenza dovuta alle feofitine e feoforbide. Le specifiche espressioni di calcolo che si usano (Lorenzen, 1967) non prevedono però alcuna correzione per la presenza di clorofillide che, se presente, viene calcolata come clorofilla a.

Dalla stima della clorofilla è possibile risalire al contenuto di sostanza organica utilizzando fattori di correzione che si avvalgono della stretta correlazione esistente tra i due parametri. Usualmente la clorofilla a costituisce l'1-2% del peso secco della sostanza organica anche se tale rapporto è molto variabile nelle specie (Chan, 1978) in funzione della velocità di crescita delle cellule e di diverse condizioni di luce e temperatura. (Caperon e Mayer, 1972; Bannister, 1979; Sournia, 1974; Laws e Wong, 1978; Hunter e Laws, 1981).

## 1.2 L'adenosintrifosfato

Un'altra misura utilizzata nella stima della biomassa è quella dell'adenosin-trifosfato (ATP). L'ATP è un nucleoside polifosfato, costituito da una base (l'adenina) e un glucide (il ribosio), che svolge un ruolo fondamentale nei processi biologici di tutti gli organismi autotrofi ed eterotrofi. Le attività cellulari avvengono a spese dell'energia proveniente, direttamente o indirettamente, dalla idrolisi dei legami anidridici, ricchi di energia, che uniscono tra loro le molecole di acido fosforico.

La determinazione del contenuto di ATP in acque naturali permette la stima quantitativa della biomassa vivente, infatti dopo la morte della cellula l'ATP è rapidamente idrolizzato.

La misura dell'ATP viene effettuata sull'estratto tramite un luminometro, in presenza del complesso enzimatico luciferina-luciferasi. La reazione enzimatica produce luce proporzionalmente alla quantità di nucleotide presente nell'estratto (McElroy *et al.*, 1969).

Il contenuto di ATP nelle cellule è sufficientemente costante tanto che il rapporto tra il contenuto cellulare di carbonio organico e ATP è piuttosto uniforme sia in organismi unicellulari che pluricellulari (fitoplancton, batteri, zooplancton). Il valore medio di tale rapporto in colture di laboratorio è pari a

286 mentre nell'epilimnio di acque oceaniche è stato ottenuto un valore di 265 su alghe, batteri e zooplankton calcolati separatamente (Hamilton e Holm-Hansen, 1967; Holm-Hansen, 1970).

La concentrazione di ATP cellulare in colture algali è costante sia in condizioni di luce che al buio. Peraltro, improvvise variazioni di luce determinano rapide variazioni del livello di ATP che viene però ristabilito in qualche minuto.

In particolari condizioni di carenza di nutrienti o di luce, tali concentrazioni possono essere alterate ponendo dei limiti nella interpretazione delle misure (Cavari, 1976; Hendzel e Healey, 1984).

## 2. Applicazioni

I due parametri possono, sia singolarmente che utilizzati insieme, fornire utili indicazioni sulle caratteristiche trofiche e/o di qualità dei corpi idrici.

Particolari concentrazioni di clorofilla *a* sono associate a diversi livelli trofici nei laghi e di produttività in mare (Tab. 1).

Tab. 1 - Concentrazioni di clorofilla *a* corrispondenti a diverse condizioni di trofia e produttività (WHO, 1982)

Clorofilla <i>a</i> (mg/m <sup>3</sup> )		
LAGHI	eutrofia	5-140
	mesotrofia	1-15
	oligotrofia	0.3-2.5
MARE	Aree poco prod.	<1
	Aree produttive	1-30
	Aree molto prod.	>30

In acque marine costiere valori medi di ATP inferiori a 0,25 mg/m<sup>3</sup> sono indicativi di acque non influenzate da apporti antropici o fenomeni di upwelling. (Holm-Hansen e Booth, 1966; Laborde e Minas, 1974). Valori più elevati, corrispondenti a qualche mg/m<sup>3</sup> di ATP, indicano viceversa zone ad elevata trofia poste in vicinanza di immissioni contenenti elevate quantità di organismi eterotrofi.

L'utilizzo contemporaneo delle due stime consente però una migliore valutazione circa il significato ecologico dei due parametri.

Nelle zone di mare prospicenti la foce del Tevere l'utilizzo dei due parametri ha consentito l'individuazione di zone relativamente differenti dal punto di vista trofico (Chiaudani e Pagnotta, 1980). Gli stessi Autori (1978) hanno inoltre ottenuto correlazioni lineari, con coefficienti altamente significativi, tra il rapporto ATP/clorofilla e diversi indici chimici di qualità delle acque fluviali. In particolare, hanno messo in luce una stretta corrispondenza tra i valori ottenuti dal rapporto ATP/clorofilla e lo stato di qualità

delle acque del fiume misurato con altri parametri (Tab. 2).

Tab. 2 - Classificazione delle acque lotiche in base a COD, concentrazione di ammoniaca e ossigeno disciolto e corrispondenti valori del rapporto ATP/clorofilla (Chl) x 100 misurati nel Tevere

Classi di qualità	COD/(mg/l)	NH <sub>3</sub> (mgN/l)	O <sub>2</sub> (mg/l)	ATP/Chlx100
I	<12	<0.3	>8	<10
II	<20	<0.8	>5	10-20
III	>20	>0.8	<5	>20

In colture algali, in assenza di fattori limitanti, è stato riscontrato un rapporto ATP/clorofilla (x100) inferiore a 10 (Brezonik *et al.*, 1975). Poiché in ambienti non inquinati o debolmente inquinati si ha una prevalenza di organismi autotrofi, valori inferiori a 10 possono essere considerati rappresentativi di tali condizioni. Valori superiori a 20 possono invece essere considerati caratteristici di associazioni eterotrofiche; valori compresi tra 10 e 20 indicano situazioni intermedie.

In conclusione si è voluta mettere in evidenza la possibilità di utilizzare alcuni parametri di tipo biochimico nella valutazione delle caratteristiche di qualità dei corpi idrici.

Ovviamente tali metodologie non possono totalmente sostituirsi a quelle chimiche più tradizionali, ma possono utilmente integrarle fornendo elementi per l'interpretazione dei fenomeni e dei meccanismi che regolano il comportamento degli ecosistemi acquatici.

#### Bibliografia

- APHA, AWWA, WPCF (1985): *Standard methods for the examination of water and wastewater* 16th ed., Washington D.C., APHA.
- BANNISTER T.T. (1979): «Quantitative description of steady state, nutrient-saturated algal growth, including adaptation», *Limnol. Oceanogr.*, **24**, 76-96.
- BREZONIK P.L., BROWNE F.X., FOX J.L. (1975): «Application of ATP to plankton biomass and bioassay study», *Water Res.*, **9**, 155-162.
- CAPERON J., MEYER J. (1972): «Nitrogen-limited growth of marine phytoplankton», *Deep-sea Res.*, **19**, 602-632.
- CAVARI B. (1976): «ATP in lake Kinneret: indicator of microbial biomass or of phosphorus deficiency?», *Limnol Oceanogr.*, **21**, 231-236.
- CHAN A.T. (1978): «Comparative physiological study of marine diatoms and dinoflagellates in relation to irradiance and cell size I. Growth under continuous light», *J. Phycol.*, **14**, 396-402.
- CHIAUDANI G., PAGNOTTA R. (1978): «Ratio ATP/Chlorophyll as an index of rivers' water quality»

*Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **20**, 1897-1901.

CHIAUDANI G., PAGNOTTA R. (1980): «Applicazione di misure di ATP per la stima delle biomasse nelle acque costiere antistanti la Foce del Tevere» *Atti del III Congresso A.I.O.L.*, 119-127.

HAMILTON R.D., HOLM-HANSEN O. (1967): «Adenosine Triphosphate content of marine bacteria» *Limnol. Ocean.*, **12**, 319-324.

HENDZEL L.L., HEALEY F.P. (1984): «Extraction of algal ATP and interpretation of measurements», *Can. J. Fish. Aq. Sci.*, **41**, 1601-1608.

HOLM-HANSEN O., BOOTH C.R. (1966): «The measurement of ATP in the ocean and its ecological significance», *Limnol. Oceanogr.*, **11**, 510-519.

HOLM-HANSEN O. (1970): «ATP-levels in algal cells as influenced by environmental conditions», *Plant. Cell. Physiol.*, **11**, 689-700.

HUNTER L.B., LAWS E.A. (1981): «ATP and chlorophyll *a* as estimators of phytoplankton carbon biomass», *Limnol. Oceanogr.*, **26**, 944-956.

JEFFREY S.W., HUMPHREY G.F. (1975): «New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c* and *c*<sub>2</sub> in algae phytoplankton and higher plants», *Biochem. Physiol. Pflanzen (BPP)*, **167**, 191-194.

LABORDE P.L., MINAS H.J. (1974): «Influence des conditions hivernales sur les productions phyto- et zooplanctoniques en Mediterranee Nord-Occidentale. IV. Distribution verticale des taux d'adenosine triphosphate de production primaire» *Mar. Biol.*, **25**, 203-212.

LAWS E.A., WONG D.C. (1978): «Studies of carbon and nitrogen metabolism by three marine phytoplankton species in nitrate limited continuous culture», *J. Phycol.*, **14**, 406-416.

LORENZEN C.J. (1967): «Determination of chlorophyll and pheopigments spectrophotometric equation», *Limnol. Oceanogr.*, **12**, 343-346.

McELROY W.D., SELIGER H.H., WHITE E.H. (1969): «Mechanism of bioluminescence, chemiluminescence and enzyme function in the oxidation of firefly luciferin», *Photochem. Photobiol.*, **10**, 153-170.

OECD (1982): *Eutrophisation des eaux, methodes de surveillance, d'evaluation et de lutte*, Paris Cedex-France, Pergamon Press.

PARSONS T.R., MAITA Y., LALLI C.M. (1984): *A manual of chemical and biological methods for seawater analysis*, Pergamon Press, Oxford.

PARSONS T.R., STRIKLAND J.D.H. (1963): «Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids», *J. Mar. Res.*, **21**, 155-163.

RICHARDS F.A., THOMPSON T.F. (1952): «The estimation and characterization of plankton populations by pigment analyses. II. A spectrophotometric method for the estimation of plankton pigments», *J. Mar. Res.*, **11**, 156-172.

SCOR/UNESCO (1966): *Monograph on oceanographic methodology. I. Determination of photosynthetic pigments in sea water*. United Nations Educ., Sci. Cult. Org., Paris.

SOURNIA A. (1974): «Circadian periodicities in natural populations of marine phytoplankton», *Adv. Mar. Biol.*, **12**, 325-389.

WHO (1982): *Examination of water for pollution control, Biological, bacteriological and virological examination*. M.J. Suess Ed., Pergamon Press.

**METODO UFFICIALE I.R.S.A. (D-011) PER LA DETERMINAZIONE DEL FOSFORO****Segnalazione di accorgimenti da seguire nella conduzione del metodo**

Nella fase di mineralizzazione acida condotta con l'ausilio di persolfato di potassio in stufa termostata sono stati lamentati diversi inconvenienti, quali la rottura o l'esplosione delle beute.

Per evitare questo rischio si consiglia di operare in uno dei seguenti modi:

- a) utilizzare beute di vetro pyrex spesso e attendere un tempo sufficiente al raffreddamento delle beute prima di aprire la stufa termostata.
- b) utilizzare recipienti in teflon oppure, e questa è la soluzione consigliata, effettuare la mineralizzazione in autoclave. Tale apparecchiatura è ormai disponibile in commercio a costi accettabili e in varie dimensioni così da soddisfare le esigenze dei diversi laboratori.

In occasione della ristampa del metodo tali accorgimenti saranno introdotti nel testo ufficiale.

## 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	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
<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
570.1	Clorofilla	1990
<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.

