

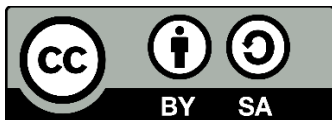
**Contaminants Emergents i Prioritaris:
Aportacions de la Recerca Científica als
Plans de Gestió Fluvial**

**Contaminantes Emergentes y
Prioritarios: Aportaciones de la
Investigación Científica a los Planes
de Gestión de Cuenca**

**Emerging and Priority Pollutants:
Bringing Science into River
Management Plans**

Varis autors





Aquesta obra està subjecta a la llicència Reconeixement-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-SA 4.0). Sempre que se'n citi l'autoria podeu reproduir-la, distribuir-la, comunicar-la públicament i transformar-la o adaptar-la. Si la transformeu o adapteu l'obra resultant l'heu de difondre amb la mateixa llicència que l'obra original. La llicència completa es pot consultar a <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/deed.ca>.

© **dels textos:** els autors corresponents

Edita: Universitat de Girona i Institut Català de Recerca de l'Aigua

ISBN: 978-84-8458-311-0

Girona, març de 2010

**Contaminants Emergents i Prioritaris:
Aportacions de la Recerca Científica
Plans de Gestió Fluvial**

ÍNDEX

Pròleg

Comité científic i organitzador

Programa científic

Resums

Llista de participants

Pròleg

Els canvis constants que pateix el medi aquàtic, i l'aportació creixent de contaminants emergents, posen en evidència la necessitat de desenvolupar un nou marc conceptual i metodològic per tal de relacionar la contaminació química amb els efectes que aquesta provoca en els ecosistemes. Per tal d'establir relacions de causalitat entre la contaminació i la pèrdua de qualitat ecològica ocasionada, caldrà completar les anàlisis dels contaminants prioritaris, amb l'avaluació de nous contaminants. Aquest coneixement, és imprescindible per definir correctament els riscos ambientals.

La xarxa de formació d'investigadors Marie Curie KEYBIOEFFECTS, avarca un ampli ventall de disciplines científiques. Pretén avaluar els efectes causats per contaminants prioritaris i emergents per tal de completar els buits existents en els estudis de seguiment de la qualitat ecològica i l'avaluació dels riscos ambientals. Les línies d'investigació inclouen la identificació de contaminants claus i dels seus productes de degradació, l'estudi de la influència de les condicions ambientals en la biodisponibilitat dels compostos tòxics, l'avaluació dels efectes causats a nivell d'organisme, població, comunitat i ecosistema. Així com la realització d'assajos de toxicitat en condicions experimentals; i el desenvolupament de models matemàtics que ens permetin predir aquests efectes. Els resultats obtinguts s'inclouran també en unes guies pels gestors de l'aigua.

Les jornades pretenen posar en contacte investigadors especialitzats en diferents àrees, amb els representants de l'administració i les autoritats de l'aigua per tal d'aportar diferents perspectives sobre un objectiu comú: la millora de la qualitat dels rius Europeus, segons les directrius de la Directiva Marc de l'Aigua.

Les Jornades "Contaminants Emergents i Prioritaris: Aportacions de la Recerca Científica als Plans de Gestió Fluvial" han estat organitzades per la Universitat de Girona, l'Agència Catalana de l'Aigua, l'empresa "United Research Services" (Barcelona) i l'Institut Català de Recerca de l'Aigua.

Esperem que les discussions contribueixin a vincular el coneixement científic i les estratègies de gestió ambiental, i que permetin presentar i discutir noves estratègies per l'avaluació i gestió ambiental dels rius Europeus.

El comitè científic

Comitès científic i organitzador

Comité científic

Damià Barceló

Departament de Química Ambiental, Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Espanya

Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Spain

i
Institut Català de Recerca de l'Aigua (ICRA) - Girona, Spain
Catalan Institute for Water Research (ICRA) - Girona, Espanya
dbcqam@cid.csic.es

Roberta Carafa

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Roberta_Carafa@URSCorp.com

Anita Geiszinger

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Spain

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Espanya
anita.geiszinger@udg.es

Antoni Ginebreda

Departament de Química Ambiental, Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Espanya

Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Spain
agmqam@cid.csic.es

Helena Guasch

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain
helena.guasch@udg.es

Antoni Munné

Agència Catalana de l'Aigua (ACA) - Barcelona, Espanya
Catalan Water Agency (ACA) - Barcelona, Spain
anmunne@gencat.cat

Montserrat Real

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Montserrat_Real@URSCorp.com

Sergi Sabater

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain

i
Institut Català de Recerca de l'Aigua (ICRA) - Girona, Espanya
Catalan Institute for Water Research (ICRA) - Girona, Spain
sergi.sabater@udg.es

Comité organitzador

Roberta Carafa

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Roberta_Carafa@URSCorp.com

Natàlia Corcoll

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain
natalia.corcoll@udg.edu

Anita Geiszinger

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Spain

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Espanya
anita.geiszinger@udg.es

Antoni Ginebreda

Departament de Química Ambiental, Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Espanya

Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Spain
agmqam@cid.csic.es

Helena Guasch

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain
helena.guasch@udg.es

Antoni Munné

Agència Catalana de l'Aigua (ACA) - Barcelona, Espanya
Catalan Water Agency (ACA) - Barcelona, Spain
anmunne@gencat.cat

Montserrat Real

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Montserrat_Real@URSCorp.com

Contaminants Emergents i Prioritaris: Aportacions de la Recerca Científica als Plans de Gestió Fluvial

Emerging and Priority Pollutants: Bringing Science into
River Management Plans

Girona, 25-26 Març 2010
ICRA, Girona, Espanya

Dijous, 25 de març del 2010

8:30-9:30	Inscripcions i benvinguda als assistents
9:30-13:00	Posada al dia sobre la recerca relativa a contaminants emergents i prioritaris al medi ambient: incidències i detecció precoç dels efectes
13:00-14:00	Dinar
14:00-15:00	Sessió de pòsters
15:00-18:00	Posada al dia sobre la recerca relativa a contaminants emergents i prioritaris: efectes a l'ecosistema i recomanacions per a futures polítiques hídriques
21:00-22:30	Sopar conjunt a Girona

Divendres, 26 de març del 2010

9:00-9:15	Sinopsi de les contribucions de la recerca
9:15-12:15	Consideracions generals sobre els plans de gestió
12:15-13:15	Taula rodona i debat obert
13:15-13:45	Clausura
13:45-14:45	Dinar

Dijous, 25 de març
Matí

8:30-9:15 Inscripcions

9:15-9:30 Benvinguda als assistents (Drs.Barceló D. i Guasch H.)

9:30-13:00 Posada al dia sobre la recerca relativa a contaminants emergents i prioritaris al medi ambient: incidències i detecció precoç dels efectes

- 9:30-9:50 Identificació de mutàgens en rius europeus. Bougeard C., Gallampois C., Kormos J.L., Simon E., Brack W., Lamoree M. i Ternes T.A.

- 9:50-10:10 Organismes aquàtics com a bioindicadors a diferents escales. Agbo S., Moeller A., Shinn C. i Slootweg T.

10:15-10:45 Pausa - cafè

- 10:45-11:15 Contaminants prioritaris i emergents en el medi ambient: recomanacions per la estratègia de mostreig i les tècniques d'anàlisi corresponents. Barceló D. i López de Alda M.

- 11:15-11:45. Cerca de nous contaminants: "Effect Directed Analysis" i la seva aplicació pels estudis de seguiment. Brack W., Balaam J., Bandow N., Barceló D., Brix R., Lamoree M., Leonards P., Lübcke-von Varel U., Machala M., Thomas K. i Weiss J.

- 11:45-12:15 Contaminants emergents i prioritaris: el paper de WWTP pel sanejament i la significació dels productes de transformació. Kormos J.L., Schulz M., Wick, A. i Ternes, T. A.

- 12:15-12:45 Aplicabilitat i limitacions en l'ús dels biomarcadors. Segner H. i Möller A.M.

13:00-14:00 Dinar

Dijous, 25 de març
Tarda

14:00-15:00 Sessió de pòsters
15:00-18:00 Posada al dia sobre la recerca relativa a contaminants emergents i prioritaris: efectes a l'ecosistema i recomanacions per a futures polítiques hídriques

- 15:00-15:20 Ús de les comunitats del biofilm per avaluar els riscos ecològics dels contaminants en els ecosistemes aquàtics. **Bonnineau C., Sans-Piché F., Proia L., Lubarsky H., Geiszinger A., Romaní AM., Schmitt-Jansen M., Gerbersdorf S. i Guasch H.**
- 15:20-15:40 Millores en el mostreig de dades per tal d'obtenir una millor diagnosi de l'ecosistema. **Faggiano L., Guénard G., Gevrey M. i Lek S.**
- 15:40-16:30 Sessió plenària. Ecotoxicologia en ecosistemes fluvials: des dels assajos estandarditzats amb monocultius fins a la manipulació de l'ecosistema. **Clements W.**

16:30-17:00 Pausa - Cafè

- 17:00-17:30 Aproximacions actuals utilitzades per l'avaluació de la integritat ecològica: índexs biològics *versus* estudis ecotoxicològics a nivell de comunitat. **Sabater S. i Muñoz I.**
- 17:30-18:00 Recomanacions pel Disseny dels Programes de Seguiment de la qualitat de l'Aigua basades en Mètodes Complementaris recentment desenvolupats. **Carafa R., Real M., Munné A., Ginebreda A. i Guasch H.**

21:00-22:30 Sopar conjunt a Girona

Contaminants Emergents i Prioritaris: Aportacions de la Recerca Científica als Plans de Gestió Fluvial

Divendres, 26 de març

9:00-9:15

Sinopsi de les contribucions de la recerca

9:15-13:45

Consideracions generals sobre els plans de gestió

- 9:15-9:45 Contaminants prioritaris a França: aplicació de la directiva 2008/105/CE. Rebillard J.P., Allonier-Fernandes A.S., Riou C., Halkett C., Pelte T., Verlhac A. i Demouliere R.
- 9:45-10:15 Establiment del bon estat ecològic de l'aigua a Espanya. Aplicació de la directiva 2008/105/CE. Puig A.

- 10:15-10:45 Mètodes d'anàlisi de contaminants emergents i prioritaris: problemes en l'establiment d'estàndards de qualitat. Caixach J.

10:45-11:15 Pausa - cafè

- 11:15-11:45 Seguiment de substàncies prioritàries i relacionades en els rius de Catalunya, en el marc de l'aplicació de la WFD: presentació de resultats i avaluació de risc. Ginebreda A., Munné A., Carafa R. i Tirapu LI.
- 11:45-12:15 Control de substàncies perilloses en la conca del riu Ebre. Cortés S.

12:15-13:15

Taula rodona i debat obert

Moderador: Ginebreda A.

Membres: Brack W., Munné A., Puig A., Rebillard J.P. i Sabater S.

13:15-13:45

Clausura (Drs. Munné A. i Guasch H.)

13:45-14:45

Dinar

Resums

Presentacions orals

Posada al dia sobre la recerca relativa a contaminants emergents i prioritaris al medi ambient: incidències i detecció precoç dels efectes

1. Identificació de mutàgens en rius europeus. **Bougeard C., Gallampois C., Kormos J.L., Simon E., Brack W., Lamoree M. i Ternes T.A.**
2. Organismes aquàtics com a bioindicadors a diferents escales. **Agbo S., Möller A., Shinn C. i Sootweg T.**
3. Contaminants prioritaris i emergents en el medi ambient: recomanacions per la estratègia de mostreig i les tècniques d'anàlisi corresponents. **Barceló D. i López de Alda M.**
4. Cerca de nous contaminants: "Effect Directed Analysis" i la seva aplicació pels estudis de seguiment. **Brack W., Balaam J., Bandow N., Barceló D., Brix R., Lamoree M., Leonards P., Lübcke-von Varel U., Machala M., Thomas K. i Weiss J.**
5. Contaminants emergents i prioritaris: el paper de WWTP pel sanejament i la significació dels productes de transformació. **Kormos J.L., Schulz M., Wick, A. i Ternes, T.A.**
6. Aplicabilitat i limitacions en l'ús dels biomarcadors. **Segner H. i Möller A.M.**

Posada al dia sobre la recerca relativa a contaminants emergents i prioritaris: efectes a l'ecosistema i recomanacions per a futures polítiques hídriques

7. Ús de les comunitats del biofilm per avaluar els riscos ecològics dels contaminants en els ecosistemes aquàtics. **Bonnineau C., Sans-Piché F., Proia L., Lubarsky H., Geiszinger A., Romaní A.M., Schmitt-Jansen M., Gerbersdorf S. i Guasch H.**
8. Milliores en el mostreig de dades per tal d'obtenir una millor diagnòsi de l'ecosistema. **Faggiano L., Guénard G., Gevrey M. i Lek S.**
9. *Sessió plenària.* Ecotoxicologia en ecosistemes fluvials: des dels assajos estandarditzats amb monocultius fins a la manipulació de l'ecosistema. **Clements W.**
10. Aproximacions actuals utilitzades per l'avaluació de la integritat ecològica: índexs biològics versus estudis ecotoxicològics a nivell de comunitat. **Sabater S. i Muñoz I.**
11. Recomnacions pel Disseny dels Programes de Seguiment de la qualitat de l'Aigua basades en Mètodes Complementaris recentment desenvolupats. **Carafa R., Real M., Munné A., Ginebreda A. i Guasch H.**

Consideracions generals sobre els plans de gestió

12. Contaminants prioritaris a França: aplicació de la directiva 2008/105/CE. **Rebillard J.P., Allonier-Fernandes A.S., Riou C., Halkett C., Pelte T., Verlhac A. i Demouliere R.**
13. Establiment del bon estat ecològic de l'aigua a Espanya. Aplicació de la directiva 2008/105/CE. **Puig A.**
14. Mètodes d'anàlisi de contaminants emergents i prioritaris: problemes en l'establiment d'estàndards de qualitat. **Caixach J.**
15. Seguiment de substàncies prioritàries i relacionades en els rius de Catalunya, en el marc de l'aplicació de la WFD: presentació de resultats i avaluació de risc. **Ginebreda A., Munné A., Carafa R. i Tirapu Ll.**
16. Control de substàncies perilloses en la conca del riu Ebre. **Cortés S.**

Resums

Presentacions de pòsters

1. Relació entre les variacions espaciotemporals en la contaminació per diuron i la tolerància induïda en biofilms als rius. **Pesce S., Margoum C. i Montuelle B.**
2. Les respostes dels biomarcadors múltiples de macroinvertebrats bentònics com a eina de diagnòstic de l'estat ecològic de rius contaminats. **Damasio J., Puértolas L., Prat N., Rieradevall M., Soares A.M.V.M. i Barata C.**
3. Patrons estructurals de les comunitats de diatomees en rius sotmesos a contaminació per metalls pesants de diferents països i conseqüències de cara al biocontrol. **Morin S., Cordonier A., Duong T.T., Lavoie I., Tornés E., Bonet B., Corcoll N., Faggiano L., Guasch H., Sabater S. i Coste M.**
4. Gradients de pesticides als rius: estudi de camp basat en peixos. **Shinn C., Grenouillet G. i Lek S.**
5. Anàlisi EDA d'una cadena alimentària bentònica per cribratge de genotoxicitat. **Simon E., Lamoree M., Leonards P., Hamers T., Reifferscheid G., Spira D., Rudoll R. i Boer J.**
6. Anàlisi EDA de sediments d'un riu europeu per identificar-hi els compostos alteradors d'andrògens. **Weiss J., Hamers T., van der Linden S., Leonards P. i Lamoree M.**
7. Identificació dels compostos alteradors d'andrògens en sediments fluvials sotmesos a anàlisi EDA amb LTQ-Orbitrap. **Weiss J., Leonards P., Stroomberg G., de Boer R. i Lamoree M.**
8. Biodegradació de compostos farmacèutics durant el tractament de les aigües residuals i avaluació de la proteòmica per dilucidar la via metabòlica. **Collado N., Osuna B., Comas J., Rodríguez-Roda I. i Sipma J.**
9. Absorció i efectes del pentacloronaftalè 1, 2, 3, 5 i 7 en una cadena alimentària aquàtica: del sediment, a través d'organismes bentònics (*Lumbriculus variegatus*), fins a la truita irisada (*Oncorhynchus mykiss*). **Slootweg T., Dömötöróvá M., Fabišiková A., Igumnova E., Mayer P., Möller A., Nikiforov V., Schmidt J., Smith K. i Liebig M.**
10. L'ús d'una nova sèrie de biomarcadors dels biofilms fluvials per l'avaluació dels efectes dels metalls: contribució a l'aplicació de la Directiva Marc de l'aigua. **Bonet B., Corcoll N., Morin S. i Guasch H.**
11. Predicció dels efectes de substàncies tòxiques en la diversitat funcional d'espècies de peixos nord-americanes. **Faggiano L., de Zwar D., Dyer S., Lek S. i Gevrey M.**
12. Anàlisi del destí ambiental dels contaminants emergents i prioritaris: identificació dels productes de transformació. **Kormos J.L., Schulz M. i Ternes T. A.**
13. Avaluació de la toxicitat de l'aigua dels rius catalans a partir de la distribució de sensibilitats de les espècies i de xarxes neuronals artificials. **Carafa R., Faggiano L., Real M., Munné A., Ginebreda A., Guasch H., Flo M. i Tirapu LI.**
14. La sensibilitat dels índexs biòtics als microcontaminants dels rius. Comparació de mètriques a partir de les diatomees i els macroinvertebrats. **Blanco S. i Bécares E.**

Identificació de mutàgens en rius europeus

Bougeard C.¹, Gallampois C.¹, Kormos J. L.², Simon E.³, Brack W.¹, Lamoree M.³
i Ternes T.A.²

1. Department of Effect-Directed Analysis, Centre for Environmental Research, UFZ, Leipzig, Germany

2. Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

3. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit (VU), Amsterdam, The Netherlands

Contacte: cynthia.bougeard@ufz.de

El mitjà més efectiu per entendre la relació causa-efecte dels contaminants químics als ecosistemes fluvials europeus és la identificació dels agents tòxics clau i la seva biodisponibilitat, destí, transport i efectes biològics. A KEYBIOEFFECTS s'han establert diversos enfocaments per tal d'identificar els contaminants ambientals clau, tot i que la complexitat de la contaminació ambiental dificulta la identificació dels agents tòxics desconeguts. Per aquest motiu, relacionar la presència d'un compost o una mescla complexa de compostos amb l'impacte biològic o amb els efectes observats al medi natural representa un gran repte. Per identificar els compostos tòxics en mescles ambientals complexes es va optar per l'anàlisi EDA (Effect-Directed Analysis) i la combinació de bioassajos, fraccionament i anàlisis químiques.

L'objectiu de l'estudi d'EDA que aquí presentem era la identificació dels mutàgens, principalment compostos poliaromàtics amb un mínim de tres anells fusionats. El mètode de l'EDA es basa en l'ús d'un mostrejador passiu específic, un sistema Blue Rayon (BR) capaç d'absorbir els compostos químics aromàtics planars, un mètode de fraccionament en tres passos i un mètode de LC/MS/MS d'alta resolució. Els mètodes de fraccionament i d'anàlisi es van desenvolupar amb 50 estàndards seleccionats a partir de la planarietat, la mutagenicitat, la lipofilitat, la polaritat, etc. El primer pas, la separació dels compostos presents a la mostra, es va basar en el seu comportament a l'aigua (neutre, bàsic o àcid). L'extracte de BR es va fraccionar en compostos àcids, bàsics i neutres amb bombes d'intercanvi d'ions. Els dos passos següents del fraccionament es van dur a terme a través de la separació amb HPLC, mitjançant dues fases estàtiques diferents (fenil-hexil i C18 polimèric). Per a l'anàlisi de les fraccions mutagèniques, es va utilitzar una Orbitrap LC/MS/MS d'alta resolució (ThermoFisher), equipada amb una font de ionització per electroesprai per als compostos més polars i una font de ionització química a pressió atmosfèrica per als compostos menys polars. Per determinar la mutagenicitat, es va aplicar la prova de fluctuació AMES usant la *Salmonella* TA98.

Tot i que l'EDA s'ha aplicat amb èxit en la identificació dels agents tòxics, la prova del procediment de mutagenicitat pot conduir a una interpretació errònia dels resultats. Es considera que els compostos orgànics hidrofòbics es perden per sorció a les plaques de plàstic que s'utilitzen pel cultiu de cèl·lules i als bacteris, cosa que provoca una sobreestimació de la concentració que genera mutagenicitat. Per fer front a aquest problema, en aquest cas es va aplicar una dosificació passiva basada en el fraccionament dels mutàgens en juntes tòriques de silicona, fet que ens va permetre disposar d'una concentració definida i en dissolució lliure constant. Experiments previs utilitzant una nova configuració de SPME en plaques de 24 pous combinades amb GC-MS van posar de manifest una difusió del compost similar amb bacteris i sense. Per tant, es van dur a terme proves paral·leles en què el primer lot d'experiments

havia de permetre determinar la mutagenicitat a partir d'agents tòxics carregats en juntes tòriques de silicona, mentre que el segon lot havia de servir per quantificar la concentració en dissolució lliure disponible a la prova mutagènica, injectant a la LC/MS tot el pou que contenia les juntes tòriques de silicona i l'aigua bidestil·lada.

Organismes aquàtics com a bioindicadors a diferents escales

Agbo S.¹, Möller A.², Shinn C.³ i Slootweg T.⁴

1. University of Eastern Finland, Faculty of Biosciences, Joensuu, Finland

2. Centre for Fish and Wildlife Health, University of Berne, Berne, Switzerland

3. Laboratoire Evolution et Diversité Biologique (EDB), CNRS, Université Paul Sabatier, Toulouse, France

4. ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörsheim, Germany

Contacte: Stanley.Agbo@joensuu.fi

Introducció

Per mantenir i restablir la qualitat ecològica d'un sistema fluvial, primer cal entendre com funciona. Si podem relacionar els efectes adversos observats sobre el terreny amb els factors d'estrès de l'ecosistema que els provoquen, serà més senzill prendre mesures correctores efectives. Tanmateix, establir aquest tipus de relacions causa-efecte sobre el terreny és molt complicat, a causa de la complexitat de l'ecosistema, que pot rebre la influència d'una gran varietat de factors (per exemple, els paràmetres físics i químics, els canvis en l'hàbitat i la presència de contaminants). En el marc del projecte Keybioeffects, s'estan duent a terme diferents tipus d'investigació per tal de descobrir les relacions causa-efecte dels contaminants en diversos nivells. En aquesta presentació, ens volem centrar en els peixos i els invertebrats aquàtics com a bioindicadors de l'estrès tòxic. En els subprojectes de Keybioeffects, es van estudiar els efectes sobre els peixos i els invertebrats aquàtics en diversos nivells:

- Escala poblacional: mitjançant un control d'investigació sobre el terreny i l'observació de diverses característiques dels peixos.
- Escala individual:
 - Estudiant la bioacumulació i els efectes de les substàncies orgàniques sobre els invertebrats aquàtics en relació a les condicions abiòtiques.
 - Estudiant la biodisponibilitat i els efectes (relacionats amb contaminants específics) sobre els peixos en sistemes de laboratori.
- Escala molecular: estudiant el mecanisme immunotòxic dels contaminants sobre els peixos.

La investigació de tipus mecanicista dels efectes dels contaminants sobre els peixos és important perquè ens permet conèixer millor la interacció dels contaminants amb els peixos de l'entorn i de quina manera és possible que aquests contaminants actuïn. Gràcies a aquesta informació, podem començar a establir una relació causa-efecte i decidir les mesures que ens poden ajudar a minimitzar els efectes sobre el terreny.

Els nostres objectius són, en primer lloc, mostrar la contribució que aquest tipus d'estudis poden realitzar i, en segon lloc, explicar com la combinació dels resultats obtinguts en diversos estudis pot aportar un valor afegit en la gestió de la qualitat ecològica dels sistemes fluvials.

Vinculació de diversos nivells

La figura 1 és un esquema que mostra els vincles existents entre els diversos nivells.

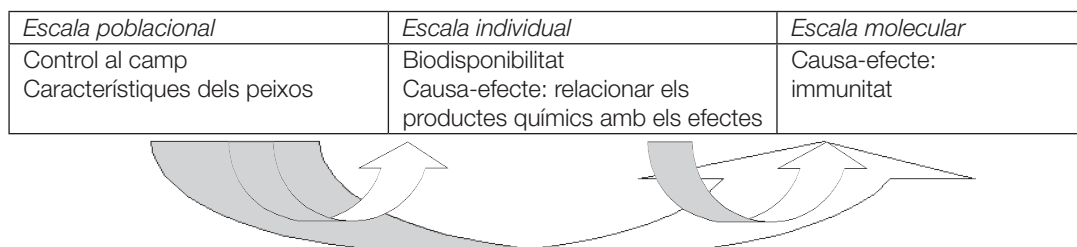


Figura 1. Relació entre els nivells de la investigació sobre peixos.

Atès que és impossible comprovar quins efectes té cadascuna de les substàncies químiques, podem resequir la seqüència descendent representada a la figura 2, que comença amb el seguiment de l'estat químic i biològic d'un sistema fluvial. Si observem efectes adversos en les poblacions de peixos, cal moure el focus d'estudi a l'escala individual i investigar la biodisponibilitat de substàncies químiques concretes i els seus efectes sobre els peixos i els invertebrats. Per descobrir com actua exactament cada substància química, cal passar a una escala molecular i examinar-ne el mecanisme de toxicitat. Aquesta seqüència descendent, des dels efectes sobre la població fins als efectes a escala molecular, permet relacionar de manera més concreta els efectes amb les seves causes específiques. La informació obtinguda permetrà decidir més correctament quines mesures correctores aplicar al sistema fluvial.

Com a exemple d'aquesta seqüència descendent, imaginem-nos que durant el control al camp observem que els peixos tenen paràsits, cosa que pot indicar una supressió del seu sistema immunitari. A nivell molecular, investigarem el mecanisme de toxicitat de les substàncies químiques detectades al riu per tal d'establir una correlació entre els seus efectes sobre el sistema immunitari i els efectes adversos sobre la població. En aquest cas, farem servir cèl·lules de peixos per investigar de quina manera responen els seus teixits a la toxina.

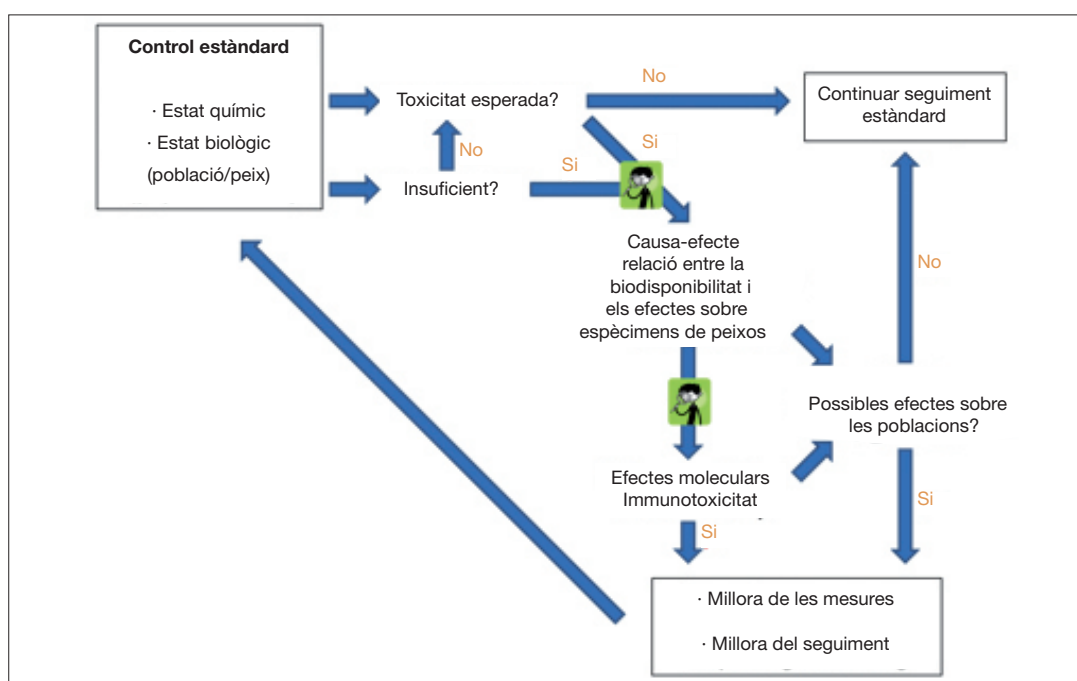


Figura 2. Diagrama de decisions sobre la gestió de l'aigua.

Un altre exemple és la relació dels efectes tòxics sobre els peixos amb la bioacumulació d'agents tòxics en invertebrats aquàtics. Tenint en compte l'abundància, el patró d'alimentació i el potencial de bioacumulació dels invertebrats aquàtics, la seva posició a la cadena alimentària predisposa els peixos i altres espècies als riscos químics derivats de l'alimentació, la qual cosa pot traduir-se en l'acumulació de substàncies químiques potencialment perjudicials en els teixits dels peixos.

Conclusió

- La investigació en diverses escales permet descobrir les relacions causa-efecte de les substàncies químiques presents al medi ambient.
- Per avaluar, millorar i gestionar l'estat ecològic d'un sistema fluvial, es pot emprar una seqüència d'anàlisi descendent que va des de l'observació d'efectes en els peixos o en la població fins a l'escala molecular, en què s'investiga com actua una substància química determinada.
- A l'hora de determinar els riscos potencials de les substàncies químiques, es pot aprofitar la sensibilitat de les espècies més petites d'invertebrats aquàtics.

Agraïment: aquests estudis s'han dut a terme en el marc del projecte KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT 2006-035695), finançat per les Accions Marie Curie del 6è. Programa Marc.

Contaminants prioritaris i emergents en el medi ambient: recomanacions d'estratègies de mostreig i procediments analítics

Barceló D.^{1,2} i López de Alda M.¹

1. Departament de Química Ambiental. Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC)
C/ Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, Espanya
2. Institut Català de Recerca de l'Aigua - ICRA. Parc Científic i Tecnològic de la Universitat de Girona
C/Emili Grahit, 101, Edifici H2O, E-17003 Girona, Espanya

Contacte: dbcqam@cid.csic.es

La investigació de la presència de contaminants prioritaris i emergents en el medi ambient és d'obligat compliment en el primer cas (en alguns compartiments ambientals), i necessari en el segon, per a poder prevenir i controlar la contaminació i protegir la salut humana i ambiental de possibles efectes adversos ocasionats per l'exposició a aquests compostos. La seva anàlisi requereix, en general, l'ús de mètodes molt sensibles i selectius que permetin la seva determinació a les molt baixes concentracions a les quals es troben en el medi ambient, i/o als nivells fixats coma estàndards de qualitat.

En les últimes dècades la instrumentació analítica ha experimentat un gran desenvolupament que s'ha traduït en mètodes més eficaços i fiables amb millors paràmetres de qualitat. Aquesta presentació aborda amb exemples les últimes tendències en l'aplicació d'aquesta instrumentació a la presa de mostra, extracció i anàlisi de contaminants prioritaris i emergents en el medi ambient.

La presa de mostra és el primer i, sovint, el més important pas en l'anàlisi de contaminants ambientals, al que, no obstant això, a vegades, no se li presta l'atenció deguda. La major part dels estudis ambientals es basen en l'anàlisi de mostres discretes, i en menor mesura, mostres integrades. En les últimes dècades, altres estratègies de presa de mostra més avançades, com per exemple, els sistemes de mostreig passiu, que combinen en un sol pas presa de mostra, i separació i preconcentració de l'analit, estan sent desenvolupades i implementades amb el doble objectiu de, d'una banda, estalviar temps i, per un altre, guanyar en informació.

Les tècniques d'extracció també han millorat considerablement al llarg dels anys. Exemples de tècniques d'extracció avançades aplicades a l'anàlisi ambiental de contaminants prioritaris i emergents són l'extracció amb líquids pressuritzats (PLE), aplicada a matrius sòlides, i l'extracció en fase sòlida on-line per a mostres d'aigua. Aquestes tècniques ofereixen avantatges importants en comparació de les tècniques tradicionals, sobretot, en termes de temps i cost de l'anàlisi, i també de consum de dissolvents i reactius.

Per a l'anàlisi, la cromatografia de gasos (GC) i la de líquids (LC), ambdues acoblades a espectrometria de masses (MS) o espectrometria de masses en tàndem (MS/MS), són les tècniques més utilitzades. GC-MS és la tècnica d'elecció per a l'anàlisi de compostos volàtils apolars i termolàbils, i la més usada en l'anàlisi de contaminants prioritaris, tals com hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs), difenil èters polibromats (PBDEs), bifenils policlorats (PCBs), o dioxins.

La majoria dels contaminants emergents, no obstant això, són compostos polars l'anàlisi dels quals requereix l'ús de LC-MS. Avui, les diverses tècniques de LC-MS/MS disponibles, amb analitzadors de tipus triple quadrupol (QqQ), quadrupol-trampa iònica lineal (Q-LIT), i

quadrupol-temps de vol (Q-TOF), permeten mesurar nivells molt baixos dels contaminants, en el rang fins i tot de pg/L o pg/g, en matrius complexes, com ara aigües residuals, amb gran selectivitat. No obstant això, la principal limitació d'aquestes tècniques és la possible existència d'efectes de matriu que interfereixin el senyal de l'analit i condueixen a resultats inexactes. Hi ha diverses estratègies per a tractar de solucionar aquest problema, de les quals una de les més convenientes és l'ús de compostos marcats isotòpicament coma estàndards interns per a la quantificació. Aquestes tècniques de LC-MS/MS, les possibilitats que ofereixen en la identificació de contaminants desconeguts, recomanacions d'operació per a assegurar una identificació inequívoca dels analits, l'ús de dilució isotòpica per a compensar possibles efectes de matriu, etc., s'il·lustren amb exemples de la investigació de contaminants emergents, tals com fàrmacs, drogues, etc., en mostres ambientals.

Cerca de nous contaminants: “Effect Directed Analysis” i la seva aplicació als estudis de seguiment

Brack W.¹, Balaam J.², Bandow N.¹, Barceló D.^{3,4}, Brix R.⁴, Lamoree M.⁵, Leonards P.⁵, Lübbcke-von Varel U.¹, Machala M.⁶, Thomas K.⁷ i Weiss J.¹

1. Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ), Germany
2. Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science (CEFAS), United Kingdom
3. Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC), Spain
4. Catalan Institute for Water Research (ICRA), Spain
5. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands
6. Veterinay Research Institute, Czech Republic
7. Norsk Institutt for vannforsk (NIVA), Norway

Contacte: werner.brack@ufz.de

L'avaluació de les masses d'aigua europees a partir de la Directiva marc de l'aigua de la UE fa èmfasi en el seu estat ecològic, tenint en compte els elements de la qualitat biològica (BQE) dels peixos, macroinvertebrats, organismes fitobentònics, fitoplàncton i macròfits, mentre que l'estat químic se centra en la concentració dels 33(+8) contaminants prioritaris actuals de l'aigua i dels sediments. El projecte MODELKEY demostra amb proves sòlides que aquests contaminants prioritaris expliquen només una petita part dels efectes mesurables a les masses d'aigua europees. Hi ha molts altres agents tòxics clau que poden afectar l'estat ecològic de rius i llacs.

Atès que la Comissió Europea és molt conscient d'aquest problema, s'ha proposat de revisar la llista de substàncies prioritàries a partir de dos enfocaments: un enfocament basat en el control i un altre basat en el modelatge de l'exposició, utilitzant volums de producció i patrons d'ús. Tot i que aquesta revisió suposarà un avenç important, caldrà afrontar possibles problemes, com ara els compostos que no estan subjectes a control, les poques dades disponibles i el gran nombre de productes derivats i de transformació. Per tant, a fi i efecte de complir els requisits de la Directiva marc de l'aigua i protegir els recursos hídrics d'Europa, suggerim la possibilitat d'incorporar un altre enfocament, basat en proves de camp recollides aigües avall de punts d'origen importants per al conjunt d'una conca (grans ciutats, complexos industrials, zones d'agricultura intensiva, etc.), en dipòsits integradors (embassaments, estuaris, ports, etc.) i en llocs d'interès especial (abstracció d'aigua de boca, ecosistemes amb valor específic, zones de dragatge, etc.). L'enfocament més interessant per detectar els agents tòxics clau específics de les masses d'aigua a partir de proves de camp és l'anàlisi EDA (Effect-Directed Analysis). Aquest sistema utilitza mostres d'aigua, sediments o biota recollides en punts d'interès específic i n'avalua els efectes, si és possible aplicant un ampli ventall d'identificadors toxicològics importants per als ecosistemes i per a la salut humana. A continuació, les mostres tòxiques es fraccionen per reduir la complexitat de les mescules ambientals i es duen a terme bioassajos amb les fraccions obtingudes per tal d'identificar les que tenen més risc potencial i, per tant, la prioritat més alta. Les fraccions de risc se sotmeten a una anàlisi química diana i no-diana. La dilucidació de l'estructura dels elements desconeguts aplicant tècniques de GC-MS i LC-MS juntament amb les eines informàtiques més modernes, representa un dels reptes més importants. Finalment, cal confirmar que els compostos identificats temptativament tenen una incidència significativa en l'efecte mesurat. Amb MODELKEY, l'enfocament EDA ha avançat considerablement i s'ha aplicat a diversos

punts d'interès de tres conques fluvials. A més dels assajos clàssics *in vivo* corresponents als BQE de la Directiva marc de l'aigua, es van aplicar diferents sistemes d'assajos *in vitro* a un ampli espectre d'indicadors endocrins, com l'estrogenicitat, l'androgenicitat, els efectes mediats pel receptor Ah, l'alteració de les hormones tiroïdals, la mutagenicitat i l'activitat antibiòtica. L'anàlisi EDA va fer un èmfasi especial en els sediments, donat el seu paper en l'acumulació de diferents agents tòxics. Tot i que els contaminants orgànics clàssics persistents no polars encara tenen importància en les masses d'aigua avaluades per MODELKEY, l'EDA va posar de manifest de manera clara l'elevat potencial advers que les fraccions polars tenen sobre la major part d'indicadors. La tendència es va fer encara més palesa quan als estudis d'EDA es va valorar la biodisponibilitat. Els compostos derivats de productes cosmètics, com el triclosan biocida i diferents compostos de mesc, van ser els agents tòxics clau identificats als sediments. Altres exemples en serien els compostos d'esteroides, el tris(2-cloroisopropílic) fosfat retardant de flama i diferents nitro-HAP. Una primera comparació dels agents tòxics identificats mitjançant l'enfocament basat en l'EDA, amb els intents de prioritització basats en el control i la modelització, ens indica que l'enfocament basat en proves de camp permet incorporar agents tòxics potencials nous, cosa que caldria tenir en compte a l'hora de realitzar el control i la prioritització. A més del seu valor per a la prioritització, l'EDA és una eina molt potent per al control d'investigació en el context de la Directiva marc de l'aigua en aquells punts de mostreig en què els indicadors facin pensar (per exemple, si l'índex d'espècies en risc, SPEAR, és baix) que els agents tòxics són la causa del mal estat ecològic, però les anàlisis no permetin justificar els efectes mesurats.

Contaminants emergents i prioritaris: el paper de WWTP per al sanejament i la importància dels productes de transformació

Kormos J.L., Schulz M., Wick A. i Ternes T.A.

Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

Contacte: Ternes@bafg.de

La presència de contaminants emergents (és a dir, compostos farmacèutics, productes d'higiene personal i cosmètica, compostos de perfluorats o retardants de flama bromats) al medi ambient està molt ben documentada a la bibliografia especialitzada. Aquests contaminants s'han detectat en diverses matrius ambientals fins a baixes concentracions, de µg/l, tant a Europa com a Nord-amèrica i Àsia. Els diversos estudis duts a terme han conclòs que l'origen principal d'aquests contaminants emergents que penetren al medi aquàtic són els abocaments de les plantes de tractament d'aigües residuals (WWTP). També poden ser conseqüència d'abocaments industrials, d'abocaments il·legals, de filtracions d'abocadors i d'abocaments d'aigües residuals hospitalàries.

Durant els darrers anys, la recerca s'ha centrat en mirar d'optimitzar i desenvolupar tecnologies de tractament d'aigües residuals capaces d'eliminar satisfactòriament aquests compostos emergents i evitar la proliferació de la contaminació al medi aquàtic.

Per limitar o impedir que aquests compostos penetrin a les aigües superficials i als aqüífers, s'ha estudiat l'aplicació de tecnologies de membrana (membranes de nanofiltració), filtres de sorció (GAC, PAC), oxidació química (ozó, UV/H₂O₂), paràmetres operatius (edat dels llots, temps de retenció hidràulica) i també els tractaments biològics (bioreactors, bacteris nitrificants). Tanmateix, fins ara molt pocs estudis s'han dedicat a estudiar els efectes que aquests tractaments tenen en la composició dels efluent abocats als ecosistemes aquàtics.

La formació i la identificació dels productes de transformació (TP) dels contaminants emergents és un camp de recerca relativament nou, que mira d'entendre una mica millor les implicacions dels processos de tractament que s'apliquen. En la majoria de casos, l'eliminació d'un compost no indica necessàriament que s'hagi produït mineralització, sinó que, molt probablement, el compost original s'hagi transformat en cert grau, generant aquesta transformació possibles canvis en la seva funcionalitat i la toxicitat. Els estudis han analitzat la biotransformació d'una selecció de compostos farmacèutics (mitjans de contrast iodats per raigs X i opiàtics), com també l'oxidació química de determinats microcontaminants. Els resultats il·lustren clarament que els productes de transformació dels compostos farmacèutics seleccionats es formen a escala laboratori i que es detecten els mateixos TP que les plantes de tractament d'aigües residuals i als medis aquàtics.

Aquesta presentació parlarà de l'aplicació de diferents tractaments d'aigües residuals, de l'eficiència en l'eliminació de determinats microcontaminants polars (compostos farmacèutics) i també de la formació de TP després de l'aplicació d'alguns processos de tractament.

Aplicabilitat i limitacions en l'ús dels biomarcadors

Segner H. i Möller A.M.

Centre for Fish and Wildlife Health
University of Bern
PO Box 8466
CH-3001 Bern
Switzerland

Contacte: helmut.segner@itpa.unibe.ch

Un biomarcador es pot definir com un canvi biològic en resposta a l'exposició a compostos químics ambientals i/o als seus possibles efectes. En teoria, qualsevol resposta que vagi dels canvis moleculars fins als ecològics es pot emprar com a biomarcador. Tanmateix, a la pràctica el terme "biomarcador" es limita a les respostes moleculars, bioquímiques, cel·lulars i fisiològiques dels organismes, ja que les respostes d'un nivell més alt sovint s'anomenen "bioindicadors" o "indicadors ecològics". Alguns exemples de biomarcadors utilitzats en el control dels organismes aquàtics són els enzims i els productes de biotransformació, les proteïnes de l'estrès, les metal·lotioneïnes, els paràmetres immunològics, els paràmetres endocrins, els paràmetres genotòxics i les alteracions histopatològiques. Cal tenir en compte que, arran del desenvolupament de les tecnologies toxicogenòmiques, és possible que apareguin nous biomarcadors.

Atès que els biomarcadors indiquen si un organisme està exposat a compostos químics tòxics i si això pot tenir relació amb efectes adversos per a la salut, aquests biomarcadors poden servir per relacionar l'estat químic i ecològic dels hàbitats aquàtics, tal com exigeix, per exemple, la Directiva marc de l'aigua. El principal punt fort dels biomarcadors és la seva utilitat com a eina de diagnòstic a l'hora d'establir relacions causa-efecte. En canvi es troba en discussió, la capacitat predictiva dels biomarcadors, és a dir, la seva capacitat de pronosticar els canvis ecològics.

Els biomarcadors representen les respostes integrades dels organismes biològics. Així, un dels seus avantatges és que mostren l'impacte acumulat de tots els compostos químics als quals està sotmès l'organisme. En canvi, l'inconvenient dels biomarcadors és que la seva resposta no només rep la influència de l'exposició química, sinó també de diferents factors químics, biològics i físics, com ara l'estat reproductiu de l'organisme o la temperatura ambiental. Aquesta regulació múltiple de les respostes dels biomarcadors s'ha de valorar amb molta cura a l'hora de dissenyar programes de control, per tal de poder diferenciar entre la influència dels estressors químics i la de la resta de factors.

La presentació se centrarà en l'abast i les limitacions dels usos de biomarcadors de cara al control i l'avaluació de l'estat dels hàbitats aquàtics.

Ús de les comunitats del biofilm per avaluar els riscos ecològics dels contaminants en els ecosistemes aquàtics

Bonnineau C.¹, Sans-Piché F.², Proia L.¹, Lubarsky H.³, Geiszinger A.¹, Romaní A.M.¹, Schmitt-Jansen M.², Gerbersdorf S.³ i Guasch H.¹

1. Institute of Aquatic Ecology, University of Girona, Spain

2. Dep. of Bioanalytical Ecotoxicology, Centre for Environmental Research (UFZ), Leipzig, Germany

3. Institute of Hydraulics, Faculty of Civil Engineering and Environmental Science, University of Stuttgart, Germany

Contacte: chloe.bonnineau@udg.edu

D'acord amb la Directiva marc de l'aigua, l'any 2015 totes les masses d'aigua han d'haver assolit un bon estat ecològic. Segons la directiva esmentada, el biofilm és un dels elements de qualitat biològica que cal sotmetre a control per avaluar la qualitat de les aigües superficials. Els biofilms són comunitats vives que creixen sobre el sediment (fitobentos) o sobre d'altres superfícies (perífiton). Aquestes comunitats estan formades per algues, bacteris, protozous i fongs, estan envoltats per una matriu extracel·lular de polímers segregats per microbis. Les pautes de seguiment dels biofilms se centren en elements estructurals de la comunitat autotròfica, que s'analitzen mitjançant l'ús d'eines ben contrastades: la determinació dels tàxons, l'abundància i altres índexs relacionats. Tanmateix, també cal tenir en compte la resposta funcional de les comunitats, atès que duen a terme funcions crucials per als ecosistemes. És per això que el projecte Keybioeffects ha desenvolupat diverses eines concebudes per avaluar les respostes funcionals de les comunitats dels biofilms.

1. Com s'investiga la complexitat dels biofilms?

Les comunitats dels biofilms, que poden estar situades en diversos nivells de l'ecosistema aquàtic, fan d'intermediari entre el flux d'aigua i la llera/sediments del riu. A causa de la seva omnipresència i la seva importància com a productors principals en els fluxos de nutrients i les cascades tròfiques, **els biofilms són indicadors fiables de la salut integrada d'un ecosistema**. Es més, els biofilms tenen una gran riquesa d'espècies, entre les quals hi ha una quantitat considerable d'espècies sensibles i amb capacitat discriminant, la qual cosa, combinada amb el poc temps que triguen a generar-se, els converteix en un **sistema eficaç d'alerta precoç** de les alteracions de l'ecosistema [1, 2]. Els nostres grups han estudiat els diversos nivells de complexitat en les fases de la colonització del biofilm, des de les monocultures i les monocultures mixtes fins als biofilms naturals en microcosmos, mesocosmos i canals artificials, o bé en rieres o rius. Per investigar la complexitat biològica dels biofilms, hem desenvolupat eines enfocades als **diversos nivells**

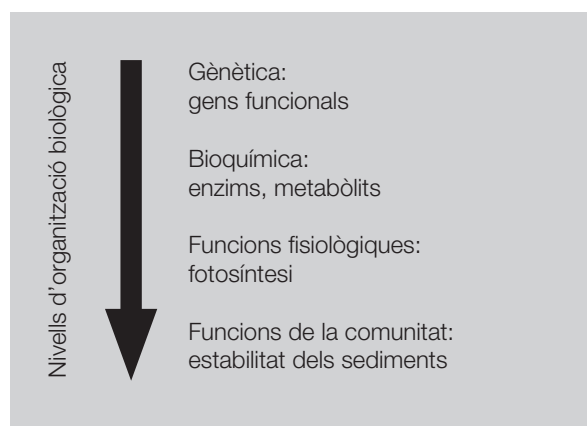


Figura 1: nivells d'organització biològica integrats en el desenvolupament de les eines. A cada nivell s'indica un exemple de criteri d'avaluació.

d'organització biològica, des de les respostes genètiques fins a les funcions de l'ecosistema (Fig. 1). El que cerquem en aquesta recerca no són respostes estructurals, sinó més aviat respostes funcionals i integrades.

2. Exemples d'investigacions concretes:

Els nostres grups estan treballant per desenvolupar, optimitzar i validar aquestes eines (Fig. 1). Actualment s'estan comprovant les respostes als canvis abiòtics i la pressió tòxica per investigar el potencial de les eines a l'hora d'avaluar el risc dels compostos químics presents a l'entorn.

2.1 *Interaccions entre els factors ambientals i els contaminants*

Es van fer créixer biofilms en mesocosmos amb diverses intensitats de llum i tot seguit es van exposar durant sis hores a diferents herbicides. En general, es va observar que la llum amb la qual s'havien desenvolupat els biofilms en condicionava les respostes als herbicides. Arran de les anàlisis de les respostes dels enzims antioxidants es va arribar a la conclusió que, per combatre l'estrès oxidant, els biofilms feien servir enzims diferents en funció de la llum amb què s'havien desenvolupat.

2.2 *Contaminants emergents: avaluació de la toxicitat dels β -blocadors en biofilms fluvials [3]*

Mitjançant un biomarcador que incloïa diversos nivells d'organització biològica, es va avaluar la toxicitat de tres β -blocadors que s'han detectat en rangs de ng/l al riu Llobregat. Després de 24 hores d'exposició en microcosmos, es va comprovar la resposta dels marcadors. Segons els resultats, el β -blocador més tòxic era el propranolol, que afectava considerablement l'eficiència fotosintètica dels biofilms. Tot i que s'esperava que els β -blocadors actuessin de manera semblant en els organismes clau, amb l'enfocament adoptat es va demostrar que cada blocador afectava de manera diferent cada nivell del biofilm i que poden tenir efectes adversos un cop combinats.

2.3 *Polsos de contaminació del triclosan i el diuron*

Es van fer servir biofilms fluvials per avaluar els riscos ecològics associats a l'entrada de polsos del bactericida triclosan (TCS) i l'herbicida diuron (DIU). El TCS va inhibir directament la captació de fosfats, va augmentar la mortalitat dels bacteris i va afectar indirectament les diatomees. És possible que la inhibició de la captació de fosfats redueixi la capacitat d'autodepuració de l'ecosistema fluvial. El DIU va afectar sobretot el nivell algal del biofilm: després d'haver estat exposat a l'herbicida, en va disminuir l'eficiència fotosintètica i la mortalitat de les diatomees va augmentar. Aquests resultats confirmen que cadascun d'aquests dos productes actua de manera diferent a nivell de la comunitat del biofilm incrementant el risc a nivell ecosistèmic que suposa la seva presència al riu.

2.4 *Metabolòmica per entendre la toxicitat de la prometrina sobre els biofilms*

Es va dur a terme una investigació per avaluar fins a quin punt la tecnologia metabolòmica és adequada per estudiar el perifiton incubat en microcosmos. Durant la incubació es van exposar diversos microcosmos a l'herbicida prometrina llavors, fent servir un "protocol metabolòmic" optimitzat, es van extreure els perfils metabòlics del perifiton. Tot i que es va observar que els perfils metabòlics de la comunitat havien canviat arran de la seva exposició a la prometrina, és necessari encara reduir la variabilitat no desitjada.

2.5 Components clau per a la bioestabilització dels sediments

El triclosan, un contaminant antropogènic habitual i persistent en els hàbitats aquàtics, va afectar considerablement la comunitat bacteriana que hi estava directament exposada en una concentració de 2-100 µg/l. Per la seva banda, el TCS va inhibir considerablement el potencial d'estabilització dels bacteris, una funció ecosistèmica important en l'hàbitat aquàtic [4,5]. Aquestes dues variables van presentar una correlació negativa. L'exposició al TCS va tenir un impacte considerable en el nombre de cèl·lules bacterianes i el creixement bacterià, la qual cosa va afectar la secreció d'EPS i, per tant, també l'estabilitat dels sediments.

3. Perspectives de l'ús de biofilms per avaluar la toxicitat i dur a terme controls d'investigació

3.1 Avaluació de la toxicitat

Els biofilms són comunitats complexes que integren, durant períodes prolongats, efectes directes i indirectes de les substàncies tòxiques, per la qual cosa són molt interessants a l'hora d'avaluar la toxicitat. Per desenvolupar bioassajos de laboratori cal dur a terme una certa **estandardització dels procediments de colonització i avaluació de la toxicitat**. El tipus de substrats, la colonització i el temps d'exposició i els biomarcadors fiables i adequats poden variar en funció de l'hàbitat i de la comunitat que s'estudii (rieres, llacs, sediments, etc.). Així, aquesta uniformització pot ser útil per **comparar els paràmetres ecotoxicològics obtinguts per a les diferents comunitats en diversos laboratoris**.

3.2 Control d'investigació: el biofilm com a indicador sentinella de la salut de l'hàbitat

El control d'investigació es pot centrar en el desenvolupament de sistemes d'alerta precoç. Tenint en compte que és possible que es produeixin respostes funcionals abans no es donin efectes estructurals visibles, les eines desenvolupades en el marc de Keybioeffects poden ser útils per dur a terme controls d'investigació. Abans de fer servir aquestes eines de manera rutinària, cal adaptar-les i optimitzar-les per als treballs de camp, per això, recomanem un enfocament que combini el treball de camp i el de laboratori.

Les eines desenvolupades en el laboratori per tal de identificar nous paràmetres (per exemple, els gens, els enzims o els metabòlits) i funcions de la comunitat (per exemple, productors principals mitjançant la fotosíntesi o estabilitat dels sediments) es poden aplicar a situacions concretes de treball de camp. Més endavant, els resultats obtinguts al camp es poden optimitzar i validar al laboratori. En darrer lloc, la combinació de les eines considerades més adequades podria servir per generar un conjunt d'eines de biomarcadors vàlid per al control d'investigació, per exemple quan es desconeixen les fonts de la contaminació.

Referències

- [1] Sabater, S., Admiraal, W., 2005. Periphyton as Biological Indicators in Managed Aquatic Ecosystems. In Periphyton: Ecology, exploitation and management, 159-178. CABI Publishing. M.E. Azim, M.C.J. Verdegem, van A.A. Dam, M.C.M. Beveridge.
- [2] Sabater S., Guasch H., Ricart M., Romani A., Vidal G., Klünder Ch. & Schmitt-Jansen M., 2007. Monitoring the effect of chemicals on biological communities: the biofilm as an interface. Anal Bioanal Chem 387, 1425-1434.
- [3] Bonnineau, C., Guasch, H., Proia, L., Ricart, M., Geiszinger, A., Romani, A.M., Sabater, S. 2010. Fluvial biofilms: A pertinent tool to assess β -blockers toxicity. Aquat.Toxicol. 96, 225-233
- [4] Gerbersdorf, S.U., Manz, W., and Paterson, D.M., 2008: The engineering potential of natural benthic bacterial assemblages in terms of the erosion resistance of sediments. FEMS Microbiology Ecology 66, 282-294.
- [5] Gerbersdorf, S.U., Bittner, R., Lubarsky H., Manz, W., and Paterson, D.M., 2009: "Microbial assemblages as ecosystem engineers of sediment stability". JSS, Journal of Soils and Sediments 9, 640-652.

Agraïments. Aquest estudi ha estat finançat per dos projectes europeus: MODELKEY (SSPI-CT-2003-511237-2), KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT-2006-035695).

Millores en la presa de dades per tal d'obtenir una millor diagnòsi de l'ecosistema

Faggiano L.¹, Guénard G.², Gevrey M.² i Lek S.²

1. Insitute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona, Spain
2. University Paul-Sabatier, CNRS-EDB (UMR 5174), Toulouse, France

contacte: leslie.faggiano@udg.edu

L'ús del sòl, la contaminació i el canvi climàtic tenen un impacte profund en els sistemes d'aigua dolça. En virtut de la Directiva marc de l'aigua (DMA) de la UE, tots els estats membres s'han compromès a aconseguir que les seves aigües superficials assoleixin el bon estat ecològic l'any 2015. La DMA vol fomentar el desenvolupament d'eines que permetin avaluar de manera fiable l'estat químic i ecològic de les masses d'aigua i crear estàndards comuns per a la gestió de les aigües superficials i subterrànies. En aquest sentit, per tal de garantir la protecció a llarg termini dels recursos hídrics, caldrà aturar la contaminació i millorar l'estat dels ecosistemes. Malgrat els esforços de la comunitat científica, avui dia encara és difícil definir amb precisió què hem d'entendre per "mala qualitat de l'aigua" i identificar de manera fiable les causes de la seva degradació. En la majoria de casos, la mala qualitat de l'aigua no és conseqüència d'un sol factor d'estrès, sinó que acostuma a ser fruit de diversos factors que conformen sinèrgies o s'entorpeixen mútuament (per exemple, la contaminació química, l'alteració de l'hàbitat o els canvis climàtics). A més, aquests factors solen formar part de processos espacials i temporals que es produeixen a diferents escales. Per tal de complir i superar els objectius de la DMA, obtenir avaluacions geogràfiques dels impactes biològics i identificar els factors d'estrès de manera fiable cal disposar d'informació espacial i temporal.

Les diverses agències de l'aigua europees existents nivell nacional—organismes encarregats d'aplicar la DMA— han proposat diversos programes de seguiment, en la major part dels casos basats en inventaris biològics o en mesures de la contaminació química, com per exemple la detecció de pesticides i substàncies prioritàries en els ecosistemes d'aigua dolça. Tanmateix, aquestes agències no van acordar entre elles els punts de mostreig, per la qual cosa les activitats de seguiment es duen a terme en punts de mostreig diferents. A tall d'exemple, a la conca de l'Adur-Garona (sud-oest de França) les dades sobre pesticides (recollides per l'agència de l'aigua francesa en 130 punts de mostreig) i la dades de peixos (recollides per l'agència de pesca francesa en 140 punts de mostreig) estaven massa allunyades geogràficament (10,5 quilòmetres de mitjana) per poder establir correspondències. La conseqüència d'aquesta situació és, per investigar possibles relacions causa-efecte entre els factors químics i les respostes de la comunitat biòtica, només es pot emprar una petita part de la informació obtinguda de la fusió de dades provinents de les diverses agències.

Les avaluacions de bases de dades espacials, que formen part de les avaluacions diagnòstiques exploratòries, tenen per objectiu arribar a comprendre les relacions espacials quantitatives existents entre les variables mediambientals (explicatives) i biològiques (respostes). Aquesta línia d'estudi s'està potenciant actualment atès que els resultats poden servir per orientar estudis de seguiment específics i per establir els objectius prioritàris de gestió d'aigües a nivell regional i locals [1]. Relacionar l'estat biològic, les característiques de l'hàbitat (inclosos els riscs de barreja) i l'abundància d'espècies ens permet distingir entre causes naturals i causes

antropogèniques de la degradació dels ecosistemes. Els mètodes emprats poden abastar des d'anàlisis de correlació senzilles a complexes tècniques d'anàlisi multivariable [2-5]. A tall d'exemple, la metodologia anomenada "gràfic circular d'efecte i causa probable" (EPC, per les seves sigles en anglès) permet associar les contribucions probables de diversos factors

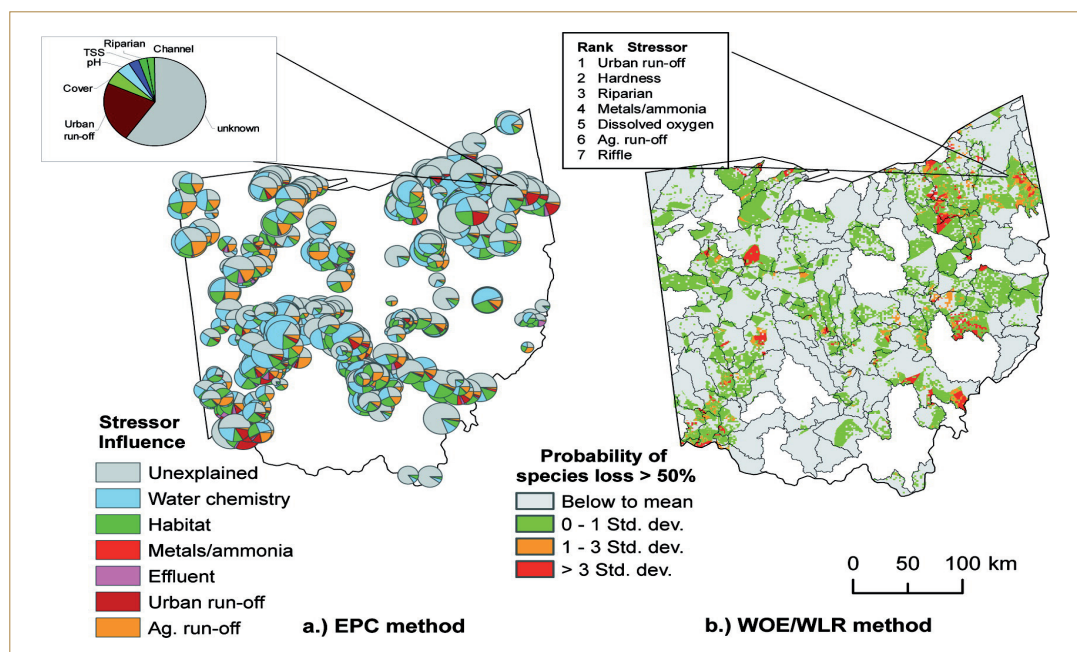


Figura 1. Resultats del mapatge SIG d'Ohio: (a) Gràfic circular i mapa del model d'efectes i causes probables. (b) Mapa rasteritzat interactiu basat en el model de ponderació d'evidència segons el SIG/regressió logística ponderada. En cada mapa es mostra un exemple de consulta sobre la influència d'un factor d'estrès en una ubicació del riu Mahoning (Kapo et al., 2008).

d'estrès a la pèrdua d'espècies. La mida dels gràfics representa la magnitud del deteriorament local (vegeu figura 1a de Kapo *et al.*, 2008). Una altra metodologia és la ponderació de proves segons el SIG/regressió logística ponderada [6-7]. En aquest cas, es fan servir les relacions entre diversos punts de formació coneguts i els patrons geogràfics de dues variables o més per tal de predir la presència de punts de referència desconeguts i per determinar la influència relativa individual de les variables (vegeu figura 1b de Kapo *et al.*, 2008).

Avui dia, a Europa hi ha poques bases de dades que permetin dur a terme aquest tipus d'anàlisi (incloent variables químiques, biològiques i relacionades amb l'hàbitat). Per tal de millorar el diagnòstic dels ecosistemes i complir la DMA, les parts implicades han de cercar solucions per millorar la comunicació entre agències. En aquest sentit, una solució podria ser la creació de comitès interagències, com per exemple un comitè geològic que inclogui les agències responsables dels inventaris biològics i del seguiment químic, que s'encarregaria de que aquestes dues activitats es duguessin a terme fent servir un conjunt de punts estandaritzat. Aquest tipus de col·laboració ja s'ha iniciat a la conca de l'Adur-Garona i se n'espera un avenç important de cara als propers anys.

Referències:

- [1] de Zwart D., Dyer S. D., Posthuma L., and Hawkins C. P. Predictive models attribute effects on fish assemblages to toxicity and habitat alteration. *Ecological Applications*, 2006, 16(4) :1295–1310.
- [2] Burton, G. A., Jr., Dyer, S. D., Cormier, S. M., Suter, G. W., and Doroward-King, E. J. Identifying Watershed Stressors Using Database Evaluations Linked with Field and Laboratory Studies: A Case Example. In *Ecological Variability: Separating Natural from Anthropogenic Causes of Ecosystem Impairment*; Baird, D. J., and Burton, G. A., eds. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC): Brussels, 2001
- [3] Dyer, S. D., White-Hull, C., Wang, X., Johnson, T., Carr, G. Determining the influence of habitat and chemical factors on instream biotic integrity for a Southern Ohio watershed *Journal of Aquatic Ecosystem Stress Recovery*, 1998, 6:91-110.
- [4] Norton, S. B., Cormier, S. M., Smith, M., Jones, R. C., Berigan, M. S. Predicting levels of stress from biological assessment data: empirical models from the Eastern Cornbelt Plains, Ohio, USA *Environ. Toxicological Chemistry*, 2002, 21:1168-1175.
- [5] Kapo, K. E., Burton, G. A. A GIS-based weights-of-evidence approach for diagnosing aquatic ecosystem impairment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25:2237-2249.
- [6] Agterberg, F. P.; Bonham Carter, G. F.; Cheng, Q.; Wright, D. F. Weights of Evidence Modeling and Weighted Logistic Regression for Mineral Potential Mapping. In *Computers in Geology, 25 Years of Progress*; Davis, J. C.; Herzfeld, U. C., Eds.; Oxford University Press: Oxford, UK, 1993; pp 13– 32.
- [7] Sawatzky, D. L.; Raines, G. L.; Bonham-Carter, G. F.; Looney, C. G. ArcSDM2: Arcmap Extension for Spatial Data Modelling Using Weights of Evidence, Logistic Regression, Fuzzy Logic and Neural Network Analysis.
- [8] Kapo, K., Burton G. A., de Zwart, D., Posthuma, L and Dyer, S. D. Quantitative Lines of Evidence for Screening-Level Diagnostic Assessment of Regional Fish Community Impacts: A Comparison of Spatial Database Evaluation Methods. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42 (24) : 9412–9418.

Agraïments. Treball finançat pel projecte KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT-2006-035695).

Ecotoxicologia en sistemes fluvials: des dels assajos estandarditzats amb monocultius fins a la manipulació de l'ecosistema

William H. Clements

Department of Fish, Wildlife and Conservation Biology
Colorado State University
Fort Collins, CO 80523, USA

Contacte: willc@warnercnr.colostate.edu

El control biològic de les comunitats aquàtiques s'utilitza habitualment per avaluar l'impacte dels estressors físics i químics sobre la integritat ecològica. Un dels punts de partida bàsics d'aquest tipus d'avaluacions és que els patrons de composició de la comunitat observats als punts contaminats reflecteixen la presència de factors d'estrès concrets. Ara bé, les diferències entre els punts de referència i els punts contaminats responen a nombrosos factors, que van més enllà dels estressors físics i químics, la qual cosa fa que demostrar l'existència d'una relació de causalitat en un estudi descriptiu sigui extremadament complicat. Per exemple, els estudis descriptius poden posar de manifest que la composició de la comunitat de dos punts és diferent, però sovint no són capaços d'atribuir les diferències a una causa concreta. Tot i que s'han proposat enfocaments desenvolupats en el camp de l'epidemiologia humana (Hill, 1965) per establir relacions causals més sòlides a les bioavaluacions de cursos d'aigua (Suter, 1993), segons alguns investigadors cap tècnica és tan efectiva com la manipulació experimental (Lubchenco i Real, 1991).

La relació entre l'enfocament descriptiu i l'enfocament experimental en l'àmbit de l'ecotoxicologia es pot descriure com un contínuum en dos eixos, dels quals un reflecteix el grau de control i reproducció experimental i l'altre, la rellevància ecològica del sistema d'assaig. Els enfocaments experimentals tradicionals utilitzats en toxicologia aquàtica, com ara els bioassajos de laboratori amb una sola espècie, són la base que solen fer servir els responsables de la regulació mediambiental (Cairns, 1986). Aquests experiments, que són habituals per detectar els efectes de les substàncies químiques i establir criteris químics, permeten controlar de manera estricta les variables de confusió i són fàcils de reproduir. No obstant això, les proves de toxicitat de laboratori no són realistes des del punt de vista ecològic i no expliquen els efectes indirectes que tenen lloc a les comunitats naturals. Per la seva banda, els estudis purament descriptius (com ara, el biocontrol rutinari) no es poden reproduir en sentit estricte i tampoc no permeten assignar aleatòriament els tractaments a les unitats experimentals. El resultat és que les diferències entre els punts de referència i els punts contaminats no poden atribuir-se directament a cap factor d'estrès concret.

S'han desenvolupat enfocaments més sofisticats —com ara experiments amb microcosmos i mesocosmos— per avaluar les respostes en nivells superiors de l'organització biològica (per exemple, les comunitats i els ecosistemes), però pràcticament mai no es fan servir en contextos normatius. Al meu parer, la prioritització tradicional dels enfocaments reduccionistes (com, per exemple, les proves de toxicitat a una sola espècie) ha impedit l'aplicació d'aquests enfocaments experimentals, més realistes des del punt de vista ecològic. Dur a terme experiments a una escala espaciotemporal rellevant des del punt de vista ecològic als nivells superiors de l'organització biològica (poblacions, comunitats, ecosistemes) és

complicat, motiu pel qual alguns investigadors han qüestionat la validesa dels estudis a petita escala (Carpenter, 1996). Si volem que els enfocaments experimentals tinguin un paper més important en l'ecotoxicologia, els investigadors han fer front als problemes relacionats amb l'escala espaciotemporal i dissenyar estudis més realistes des de la perspectiva ecològica.

A més d'avaluar els efectes a l'escala espaciotemporal adient, els ecotoxicòlegs cada vegada són més conscients de la necessitat de fer servir un ampli ventall de criteris de valoració significatius des del punt de vista ecològic. Als nivells inferiors d'organització solen produir-se respostes a un contaminant concret (per exemple, la inducció de metal·lotioneïna i l'exposició a metalls pesants) que, en general, tenen una base mecanicista coneguda, però encara no s'ha aconseguit descriure les conseqüències ecològiques de la majoria de respostes bioquímiques, fisiològiques i individuals de les poblacions i les comunitats. Malgrat que les respostes als nivells més elevats de l'organització biològica són més rellevants des de la perspectiva ecològica, també són menys específiques i no tenen una base mecanicista. Per això, alguns investigadors són partidaris d'integrar els mesuraments en tots els nivells de l'organització biològica quan avaluen els efectes dels estressors (Clements, 2000). Els experiments en microcosmos i mesocosmos solen incloure l'exposició de sistemes complexos i, per tant, són una bona oportunitat per investigar les respostes als estressors als diferents nivells de l'organització biològica.

La transició des d'enfocaments purament descriptius a d'altres d'experimentals i la capacitat de posar a prova hipòtesis a través d'experiments controlats sol considerar-se un senyal de maduresa científica (Popper, 1972). Tot i que aquesta transició ja està en procés al camp de l'ecotoxicologia, hi ha encara dubtes importants al voltant de les escales espaciotemporals i els nivells de l'organització biològica adients. En aquesta presentació, descriuré els punts forts i els punts febles dels enfocaments experimentals en diferents escales espacials i temporals dins l'àmbit de l'ecotoxicologia. A partir de dades recollides durant un experiment natural dut a terme durant 20 anys en un rierol contaminat amb metalls, explicaré de quina manera poden integrar-se els resultats dels enfocaments descriptius i experimentals per posar de manifest relacions causa-efecte entre els factors d'estrès i les respostes ecològiques. A més a més, faré servir els resultats d'una manipulació *in situ* duta a terme a gran escala en 12 rierols diferents per demostrar els efectes dels factors d'estrès que han d'investigar-se en el marc del canvi global. L'objectiu de la presentació és demostrar de quina manera poden utilitzar-se els resultats dels estudis descriptius i experimentals per establir relacions causals i identificar concentracions segures de contaminants prioritaris i emergents en ecosistemes aquàtics.

Literature Cited

- Cairns, J.Jr. 1986. The myth of the most sensitive species. *BioScience* 36: 670-672.
- Carpenter, S.R. 1996. Microcosm experiments have limited relevance for community and ecosystem ecology. *Ecology* 77: 677-680.
- Clements, W.H. 2000. Integrating effects of contaminants across levels of biological organization: an overview. *J. Aquat. Eco. Stress Recov.* 7: 113-116.
- Hill, A.B. 1965. The environment and disease: association or causation. *Proceed. Royal Soc. Medicine* 58: 295-300.
- Lubchenco, J. and L.A. Real. 1991. Manipulative experiments as tests of ecological theory. *In Foundations of ecology. Edited by L.A. Real and J.H. Brown.* Chicago University Press, Chicago, pp. 715-733.
- Popper, K.R. 1972. *The Logic of Scientific Discovery*, 3rd edition. Hutchinson, London, England.
- Suter, G.W. 1993. *Ecological Risk Assessment*. Lewis Publ., Chelsea, MI.

Aproximacions actuals utilitzades per l'avaluació de la integritat ecològica: índexs biològics versus estudis ecotoxicològics a nivell de comunitat

Sabater S.^{1,2} i Muñoz I.³

1. Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona, Campus Montilivi, 17071 Girona
2. Catalan Institute for Water Research (ICRA), Scientific and Technologic Park of the University of Girona, 17003 Girona, Spain.
3. Department of Ecology, University of Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, Spain.

Contacte: sergi.sabater@udg.edu or imunoz@ub.edu

Per tal de complir la Directiva marc de l'aigua (DMA), els estats membres i la comunitat científica han de reflexionar sobre la protecció i la gestió dels sistemes d'aigua dolça. D'acord amb la directiva, per determinar l'estat ecològic de les masses d'aigua cal tenir en compte no només les pressions a les quals estan sotmesos els diferents grups biòtics, sinó també la desviació de la comunitat respecte de les seves condicions inalterades.

Sovint es fa difícil establir relacions causa-efecte entre les característiques químiques de l'aigua dels rius i les comunitats biològiques. A més, és possible que la degradació de l'estat ecològic estigui provocada per altres factors d'estrès. Les mètriques més habituals — basades en les estructures de les comunitats, per exemple els índexs biòtics — no reflecteixen els efectes combinats dels factors d'estrès, cal tenir en compte, a més, que aquests efectes varien d'un nivell biològic a un altre. A l'hora d'avaluar la rellevància dels diversos factors d'estrès, en l'anàlisi cal incloure diversos paràmetres i emprar anàlisis estadístics multivariants a fi i efecte de confirmar tant el paper de cada factor d'estrès com el de les interaccions entre ells.

En el marc del projecte MODELKEY s'han plantejat diversos enfocaments d'experimentació, observació i modelatge destinats a valorar tant el potencial com les limitacions de l'avaluació conjunta de diversos factors d'estrès. Fent servir les eines disponibles, s'han pogut analitzar les dades a diversos nivells (com ara la comunitat, els compostos químics i els descriptors de toxicitat) per tal d'avaluar l'impacte dels contaminants clau en l'estructura i la biodiversitat de la comunitat. El Llobregat és un dels rius que s'han examinat en el marc del projecte. La conca del Llobregat destaca per les grans fluctuacions del cabal, fruit de la influència del clima mediterrani. La capçalera del riu es caracteritza pel desenvolupament d'activitats agrícoles, mentre que en el curs mitjà i inferior es percep l'impacte de la indústria i les aglomeracions urbanes. La conca del Llobregat té més de cinc milions d'habitants i la contaminació química hi va acompanyada de salinitat, enriquiment de nutrients, degradació de l'hàbitat i extracció d'aigua. En diversos punts del curs inferior del riu, les anàlisis químiques han posat de manifest la presència de contaminants prioritaris i emergents, com per exemple pesticides (Ricart *et al.* 2009), compostos farmacèutics (Muñoz *et al.* 2009) i compostos alquilfenols (Petrovic *et al.*, 2002).

A la primavera i la tardor del 2005 i el 2006, es van prendre simultàniament diverses mostres químiques i biològiques al curs inferior del riu Llobregat. A continuació, es van fer servir tècniques estadístiques d'anàlisi multivariant per mirar d'establir quina era la millor correspondència entre els patrons entre mostres d'una comunitat i els patrons de les variables

ambientals associades a aquestes mostres. Els resultats suggereixen que hi ha diversos factors que afecten les comunitats estudiades:

Les variables físiques i químiques (principalment la temperatura i la concentració de sulfats) expliquen l'alt percentatge de variabilitat de les activitats exoenzimàtiques del nivell bacterià del biofilm.

La presència i la concentració dels pesticides, i també la disponibilitat dels nutrients, estaven relacionades amb els canvis en la biomassa, la composició de la comunitat i l'eficiència fotosintètica de les algues del biofilm.

L'abundància de biomassa a la comunitat de macroinvertebrats estava relacionada amb la concentració de determinats agents farmacèutics (principalment antiinflamatoris)

Tot i que aquests resultats no han permès trobar proves de relacions causa-efecte, els experiments ecotoxicològics duts a terme al laboratori confirmen parcialment els resultats obtinguts en el treball de camp. La combinació d'aquests dos enfocaments pot ser determinant per esbrinar quins són els factors responsables dels canvis que es produeixen en les comunitats biològiques. Els estudis de camp poden ser útils per descobrir la correlació espacial i temporal del factor d'estrès i els seus efectes en els gradients, mentre que els experiments amb les comunitats duts a terme al laboratori són necessaris per examinar les hipòtesis derivades dels estudis de camp. La combinació entre el coneixement dels patrons de l'estudi de camp i les activitats dutes a terme al laboratori pot ser útil tant per orientar les activitats de control posteriors com per identificar els tàxons clau i emprar-los com a indicadors ecològics de factors d'estrès concrets (o predominants), en cas que hi hagi diversos factors d'estrès. És possible que aquesta via tingui també utilitat a l'hora de prendre decisions de gestió de riscos en el futur.

Recomanacions

Proposem diverses mesures i recomanacions per millorar l'avaluació i la gestió de les conques fluvials:

Una presa de mostres simultània en el temps i l'espai que tingui en compte paràmetres físics, químics i biològics.

La realització de cribratges generals a les conques dels rius per tal de detectar nous components i determinar si són tòxics per a la comunitat, amb l'objectiu de seleccionar els components a incloure en el control rutinari.

L'ús del modelatge per fer estimacions dels impactes dels diversos factors d'estrès a les comunitats biològiques, tant localment com al nivell de la conca.

Referències

- Muñoz, I., López-Doval, J.C., Ricart, M., Villagrasa, M., Brix, R., Geszinger, A., Ginebreda, A., Guasch, H., López de Alda, M., Romani, A.M., Sabater, S., Barceló, D. 2009. Bridging levels of pharmaceuticals in river water with biological community structure in the Llobregat river basin (NE Spain). *Environmental Toxicology and Chemistry* 28 (12):2706-2714.
- Petrovic M, Solé M, López de Alda MJ, Barceló D. 2002. Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. *Environ Toxicol Chem* 21: 2146-2156.
- Ricart, M., Guasch, H., Barceló, D., Brix, R., Conceição, M.H., Geszinger, A., López de Alda, M., López-Doval, J.C., Muñoz, I., Postigo, C., Romani, A.M., Villagrasa, M., Sabater, S., 2009. Primary and complex stressors in polluted Mediterranean rivers: pesticide effects on biological communities. *Journal of hydrology*, DOI: 10.1016/j.jhydrol.2009.08.014

Recomanacions per al disseny de programes de seguiment de la qualitat de l'aigua basades en mètodes complementaris desenvolupats recentment

Carafa R.¹, Real M.¹, Munné A.², Ginebreda A.³ i Guasch H.⁴

1. URSCorp, C/ Urgell 143, 4^a planta, 08036 Barcelona, Spain

2. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

3. Department of Environmental Chemistry, IDAEA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

4. Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona, Campus Montilivi s/n - Facultat de Ciències, 17071 Girona, Spain

Contacte: Roberta_Carafa@URSCorp.com

Introducció

D'acord amb els principis de la Directiva marc de l'aigua de la Unió Europea, els aspectes que cal tenir més en compte a l'hora d'avaluar l'estat químic de les masses d'aigua europees són: la identificació dels principals agents tòxics, la quantificació de la influència de les condicions mediambientals sobre la biodisponibilitat d'aquests agents i l'anàlisi dels seus efectes en mesclades de diferents nivells de l'ecosistema.

Els organismes regionals amb competències en la matèria han de complementar els sistemes habituals de control amb eines més sostenibles, tant pel que fa a la reducció del cost i de l'impacte ambiental com a l'augment de la fiabilitat i l'eficiència en la identificació de les fonts de contaminació. Aquestes eines de control incipients (com el biocontrol o els biomarcadors, entre d'altres) ofereixen una imatge més completa de l'estat general de l'ecosistema, ja que permeten relacionar l'estat químic amb l'estat ecològic.

La integració del control tant de l'exposició i com dels seus efectes permetrà dissenyar programes de control més efectius, a més de posar les bases per elaborar una estratègia de control de la contaminació basada en riscos.

Aquest estudi forma part del projecte europeu Keybioeffects, inclòs a la xarxa de formació Marie Curie, que pretén millorar el coneixement dels problemes relacionats amb la preservació de la biodiversitat i la contaminació de l'aigua dels rius europeus, per després transmetre'l a diferents agents implicats. Així, hi ha en procés de desenvolupament un document d'orientació basat en casos concrets, que vol servir d'ajuda a les agències de l'aigua a l'hora d'avaluar l'estat químic i ecològic en relació amb els contaminants prioritaris i emergents.

Eines de suport a la presa de decisions i priorització

La reducció de la freqüència de mostreig es pot justificar fent servir sensors com a eines de cribratge (per exemple, sistemes de detecció precoç). L'ús del mostreig en les anàlisis químiques es pot subordinar a la resposta d'un sensor, quan la seva lectura sobrepassa un determinat llindar.

Un bon exemple d'aquest funcionament és la utilització de biofilms fluvials o biomarcadors de peixos com a bioindicadors d'alteracions mediambientals a l'ecosistema aquàtic. Aquests sistemes continus en temps real proporcionen una avaluació i detecció ràpida de la variació temporal en la qualitat de l'aigua. Aquests mètodes permeten detectar el desequilibri biològic

i la toxicitat potencial en una fase inicial, a més d'avaluar l'acció conjunta de diversos estressors (com ara factors ambientals i la concentració d'agents tòxics), la qual cosa obre la porta a reconèixer interaccions i efectes imprevistos.

La identificació de zones problemàtiques, com també d'espais sense problemes, és possible mitjançant l'ús de tècniques avançades de modelatge, per exemple a l'hora d'agrupar masses d'aigua per fer-ne un control.

Els models predictius i de diagnòstic aplicats a les dades de control i d'emissió existents poden servir per predir l'impacte dels principals contaminants emergents en la biodiversitat dels ecosistemes d'aigua dolça.

Aquests models poden predir els factors d'estrès que han contribuït al deteriorament de les comunitats biòtiques, com també oferir una anàlisi predictiva dels efectes més probables d'agents tòxics concrets o combinats sobre la biodiversitat.

En concret, proposem una avaluació dels riscos basada en la distribució de les sensibilitats de les espècies (SSD) i diverses xarxes neuronals artificials (ANN) per analitzar grans conjunts de dades i identificar patrons de diversitat espacial de la toxicitat química.

Eines de control

Pel que fa als programes de control de la qualitat de l'aigua, cal un gran esforç d'harmonització dels mètodes a escala europea, sobretot en el cas de les conques fluvials internacionals. Una bona cobertura espacial i la regularitat en els mostreigs són factors crucials per elaborar un mapa de l'evolució de la contaminació al llarg del temps i l'espai. D'aquesta manera, es podran aplicar eines de modelatge i, per tant, identificar millor els espais crítics que necessiten més atenció per reduir la contaminació.

Els instruments de mostreig passiu ofereixen una avaluació representativa de la qualitat de l'aigua en un conca fluvial que presenti fluctuacions ràpides de les concentracions de contaminants i permeten integrar la concentració de contaminants durant tot el període de mostreig. A més a més, són útils per concentrar compostos que presenten nivells ambientals baixos i poden utilitzar-se quan el període de mostreig és curt (unes hores) o simplement per a mostreigs d'aigua puntuals. Les tècniques de mostreig, extracció i neteja són senzilles, així com també el transport i l'emmagatzematge de les mostres.

A la Directiva, la Comissió Europea destaca la importància dels sediments i la biota en el procés de distribució i bioacumulació de compostos tòxics, motiu pel qual obliga els estats membres a elaborar un programa de control de la qualitat que tingui en compte aquests dos factors.

Es proposen nous mètodes per a la neteja i l'extracció d'agents tòxics dels sediments i els peixos.

També sembla important tenir en compte la biodisponibilitat i exposicions de l'aigua a concentracions d'agents tòxics rellevants: els sistemes d'extracció amb separació (per exemple, SPME) o els models de biodisponibilitat poden ajudar a fer estimacions de la separació dels agents tòxics a l'aigua i també dels riscos tòxics associats.

Un ús continuat d'aquestes tècniques permetrà determinar les tendències a llarg termini en les càrregues d'agents tòxics.

Eines de recerca

En el cas del deteriorament de la biota, i quan la causa del deteriorament és desconeguda (bon estat químic segons les substàncies prioritàries), es poden combinar els mètodes de control amb bioassajos *in vitro* i mètodes de fraccionament i d'aïllament químic. En aquests

moments, s'estan desenvolupant nous mètodes de mostreig, fraccionament i anàlisi que permetin cribrar i identificar contaminants emergents desconeguts en una mescla complexa de mostres ambientals complexes i també per identificar els contaminants amb efectes perjudicials sobre la biota, com ara mutagenicitat, carcinogenicitat, la disrupció endocrina i els trastorns de desenvolupament (per exemple, Brack, 2003).

Un altre recurs per identificar l'estrès tòxic quan la resposta dels bioassajos és ambigua o poc conclouent són les tècniques del camp de la metabolòmica, concebudes per entendre i comparar els processos fisiològics en condicions naturals o d'estrès.

Es recomanen eines de recerca específiques per resoldre problemes relacionats amb la bioacumulació, amb les vies de degradació i amb la capacitat de captació i d'estabilitat dels sediments.

Referències

Brack, W., 2003. Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures? *Anal Bioanal Chem* 377:397–407.

Contaminants prioritaris a França: aplicació de la Directiva 2008/105/CE

Rebillard J.P.¹, Allonier Fernades A.S.², Riou C.³, Halkett C.⁴ Pelte T.⁵,
Verlhac A.⁶ i Demouliere R.⁷

1. Agence de l'eau Adour-Garonne, France.
2. Agence de l'eau Seine Normandie, France.
3. Agence de l'eau Rhin Meuse, France.
4. Agence de l'eau Artois Picardie, France.
5. Agence de l'eau Rhône Méditerranée et Corse, France.
6. Agence de l'eau Loire Bretagne, France.
7. Ministère de l'écologie, de l'énergie, du développement durable et de la mer, France.

Contacte: jean-pierre.rebillard@eau-adour-garonne.fr

A França, els organismes que s'encarreguen del control de l'estat químic de l'aigua són les agències de l'aigua.

Per tal d'avaluar l'estat químic de les masses d'aigua, es fa un seguiment de 41 substàncies prioritàries o prioritàries perilloses (vegeu l'annex X de la Directiva marc de l'aigua).

La directiva europea anomenada de "substàncies prioritàries" defineix les Normes de Qualitat Ambiental (NQA) d'aquestes molècules (concentració màxima acceptable i concentració mitjana anual).

L'objectiu és comparar aquestes normes amb les mitjanes i les màximes observades.

L'any 2007 es van prendre mostres d'aquestes 41 substàncies amb dues periodicitats diferents:

- Un cop al mes als rius.
- Quatre vegades l'any als estanys.

S'han extret mostres de totes les estacions d'aigua de la xarxa de control.

Tanmateix, només disposem de dades corresponents a una quarta part del territori francès (aproximadament 2.400 estacions per a unes 9.300 masses d'aigua).

D'acord amb el decret de 17 de març de 2007, que explica el contingut del pla director SDAGE (eina de planificació de la gestió hídrica), en aquests 2.400 punts s'ha determinat l'estat químic de les masses d'aigua dolça superficials. El Ministeri de Medi Ambient, Energia, Desenvolupament Sostenible i Mar (MEDDM, per les sigles en francès) va decidir limitar el nombre de masses d'aigua sense avaluació del seu estat químic, motiu pel qual cada agència de l'aigua assigna un estat químic fent servir els seus mètodes. Aquests mètodes es poden resumir en dos: I) avaluació de les pressions i impactes i, II) qualitat idèntica de la massa d'aigua principal i dels seus afluents.

Establiment del bon estat ecològic de l'aigua a Espanya. Aplicació de la Directiva 2008/105/CE

Puig A.

Dirección General del Agua. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino.
Plaza San Juan de la Cruz, s/n. 28071-MADRID, Espanya

Contacte: apinfante@mma.es

L'aprovació l'any 2000 de la Directiva marc de l'aigua va marcar un abans i un després en el desenvolupament de la política de l'aigua i, molt especialment, en la protecció de les aigües de les substàncies perilloses. La nova directiva incorpora les obligacions que estableix la legislació anterior i hi afegeix nous requisits. L'estratègia per combatre la contaminació de les aigües amb substàncies perilloses es desenvolupa sobretot a l'article 16 ("Estratègies per combatre la contaminació de les aigües") i s'ha d'aplicar d'acord amb els requisits que estableix l'article 10 ("Plantejament combinat respecte a les fonts puntuals i difuses").

L'article 16 estipula que la protecció de les aigües contra les substàncies prioritàries s'ha d'aplicar en dos grans fronts. D'una banda, cal actuar sobre les fonts de les emissions, tot implantant mesures orientades a la reducció o a l'eliminació total dels abocaments d'aquestes substàncies al medi aquàtic. D'altra banda, cal actuar sobre el medi receptor, de manera que es compleixin sempre la norma de qualitat ambiental. Aquesta norma marca un llindar de concentració ambiental per sota del qual la presència d'una substància no comporta efectes adversos per al medi aquàtic.

Aquesta estratègia gira al voltant de tres grans eixos. D'entrada, cal seleccionar les substàncies rellevants, és a dir, les substàncies perilloses que suposen un risc per al medi ambient o, indirectament, per a la salut humana. Tot seguit, caldrà desplegar mesures de reducció de la contaminació per a cadascuna de les substàncies seleccionades i, finalment, calcular la norma de qualitat ambiental del medi aquàtic.

El desenvolupament de l'estratègia que estipula l'article 16 es concreta mitjançant l'aprovació de dos instruments legislatius propis. El primer és la Decisió núm. 2455/2001/CE, de 20 de novembre de 2001, que aprova la llista de substàncies prioritàries en l'àmbit de la política de l'aigua i que recull l'annex X de la Directiva marc de l'aigua. El segon, materialitzat després d'anys d'intenses negociacions, fou la Directiva 2008/105/CE, de 16 de desembre de 2008, sobre normes de qualitat ambiental (NQA) en l'àmbit de la política de l'aigua, que modifica i deroga les directives 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE i 86/280/CEE del Consell.

Aquesta darrera directiva estableix una NQA per a cada substància en aigües continentals, costaneres i de transició. A més a més, també hi ha una NQA aplicable a la biota per al mercuri, l'hexaclorobenzè i l'hexaclorobutadiè. La NQA s'expressa a través d'una mitjana anual i d'una concentració màxima permesa. En el cas dels compostos orgànics, els valors de la NQA van des dels 0,2 ng/L del tributilestany fins als 0,5 ng/L en difenilèters bromats o als 2,5 µg/L del triclorometà. Pel que fa als metalls, els valors van des dels 0,05 µg/L del mercuri fins als 20 µg/L del níquel. Es deixa en mans de cada estat membre la definició de les NQA dels sediments i la biota en determinades categories de masses d'aigua. Els valors estipulats en aquestes matrius han de tenir el mateix grau de protecció que els que

es defineixen en el cas de les aigües, una possibilitat que té una importància especial en el cas de les substàncies altament hidròfugues, com ara els cloroalcans o els pentabromodifenilèters. També pot ser interessant per al control de les aigües costaneres, en què les matrius que normalment s'utilitzen per mesurar els efectes de la contaminació són els musclos o els sediments.

De manera paral·lela, la Directiva obliga a fer un seguiment de la tendència en el contingut dels contaminants dels sediments o la biota. Concretament, cal controlar de prop les substàncies que tenen més tendència a acumular-se en aquestes matrius, com ara els metalls, els hidrocarburs aromàtics policíclics o les substàncies organoclorades. En aquest cas, cal vigilar que la concentració d'aquestes substàncies no augmenti amb el temps.

Val la pena subratllar que la Comissió treballa actualment per modificar la relació de substàncies prioritàries amb la intenció d'afegir-n'hi de noves. De moment, la llista inicial comprèn 42 substàncies obtingudes arran d'un nou procés de priorització, entre les quals hi figuren els contaminants recollits a l'annex III de la Directiva de NQA, tant els més coneguts, com els PCB o les dioxines, com altres de menys habituals a les xarxes de control, com ara EDTA, PFO, glifosat, AMPA o bisfenol A. També s'hi han afegit contaminants nous, alguns d'emergents, com ara el triclorfon, el diclorvós, l'ibuprofè, l'irgarol o la carbamazepina, entre d'altres.

Els controls analítics s'han de fer d'acord amb els requisits que estableix la Directiva 2009/90/CE de la Comissió de 31 de juliol de 2009, que marca les especificacions tècniques de l'anàlisi química i del seguiment de l'estat de les aigües, sediments i éssers vius, a més de normes pensades per corroborar la qualitat dels resultats analítics.

Aquest marc legislatiu, complex i abundant, marca les pautes a partir de les quals es desenvolupa l'estratègia sobre substàncies prioritàries a l'Estat espanyol. A més a més, els mateixos principis s'apliquen a l'hora de protegir les aigües d'altres tipus de substàncies, és a dir, substàncies preferents prioritzades a escala estatal i contaminants rellevants de cada demarcació hidrogràfica. Així, de la mateixa manera que es considera que l'estat químic de les aigües superficials és bo si es compleixen les NQA de la Directiva 2008/105/CE, l'estat ecològic (amb relació als contaminants) també és bo si es compleixen les NQA de les substàncies preferents que fixa el Reial Decret 995/2000, de 2 de juny, per a les aigües continentals i les seccions B i C de l'annex I i l'annex II del Reial Decret 258/1989, de 10 de març, sobre abocaments de substàncies perilloses de la terra al mar. En el cas d'alguns contaminants, cal complir les NQA calculades d'acord amb les disposicions de l'annex V de la Directiva marc de l'aigua i aprovades en el context de cada pla hidrològic.

Des del Ministeri de Medi Ambient i Medi Rural i Marí, la Direcció General de l'Aigua, juntament amb la Direcció General de Sostenibilitat de la Costa i el Mar, treballen en l'elaboració del text que ha de transposar la Directiva. Aquest mateix estament també valora la possibilitat de fixar NQA de referència per als sediments i la biota.

Mètodes d'anàlisi de contaminants emergents i prioritaris: problemes en l'establiment d'estàndards de qualitat

Caixach J.

Mass Spectrometry Laboratory & Organic Pollutants in Aquatic Environment.
Institute of Environment Assessment & Water Research .
IDAEA- CSIC

Contacte: Josep.Caixach@cid.csic.es

La Directiva marc de l'aigua (DMA) (2000/60/CE) regula la contaminació química de les masses d'aigua europees a través de la Decisió 2455/2001/CE, que aprova la llista de substàncies prioritàries i l'establiment de Normes de Qualitat Ambiental a escala europea mitjançant la Directiva de desenvolupament 2008/105/CE. Pel que fa als contaminants específics de les conques fluvials, la DMA estableix l'obligació d'identificar els contaminants rellevants a les menors escales espacials possibles, com també d'adaptar els valors límit adients a l'àmbit estatal. La Directiva d'aigües subterrànies (2006/118/CE) garanteix la protecció de les aigües subterrànies contra la contaminació i el deteriorament. Per aconseguir-ho, els estats membres han de crear programes de control de la qualitat de l'aigua que incloguin un ampli ventall de contaminants amb l'objectiu de poder identificar els possibles riscos, els temes prioritàris i els punts que requereixen un pla d'actuació.

La Directiva de desenvolupament de la DMA 2008/105/CE, relativa a les Normes de Qualitat Ambiental a les polítiques hídriques, regula la contaminació per substàncies químiques en aigües europees. En un esborrany de la Directiva de la Comissió relativa al control analític de la qualitat es proposen criteris d'interpretació.

El centre de recerca JRC IES ha estat sempre col·laborant en l'elaboració de la Directiva de desenvolupament de la DMA COM(2006)398, relativa a les Normes de Qualitat Ambiental, primer des de la presidència del grup de treball d'Anàlisi i Seguiment de Substàncies Prioritàries (2003-2004), més endavant des de la copresidència de l'elaboració de l'esborrany del Document guia sobre aigües superficials en el marc de l'Activitat de Control Químic (2005-2006) i, actualment, des de la copresidència de l'Activitat de Control Químic del període 2007-2009.

Un dels principals objectius dels controls químics que es realitzen actualment és avaluar els mètodes que hi ha disponibles per tal de comprovar el seu grau de compliment de la DMA. És cabdal que totes les metodologies satisfacin els requisits de control químic establerts a la DMA, per exemple a l'hora de proporcionar dades de concentració amb la precisió suficient que permeti avaluar el compliment de la Directiva. Una bona referència a tenir en compte pel que fa a les disposicions general de la DMA és el Document guia núm. 7 "Control d'acord amb la Directiva marc de l'aigua", mentre que en el cas de les qüestions relacionades amb la regulació de les aigües subterrànies cal consultar el Document guia núm. 15 de l'Estratègia Comuna d'Implementació de la DMA, "Control de les aigües subterrànies", com també el document guia núm. 19 d'aquesta estratègia, "Control químic de les aigües superficials".

A l'esborrany de la Directiva de la Comissió on s'adopten especificacions tècniques per al control químic i la qualitat dels resultats analítics, d'acord amb la Directiva 2000/60/CE, del Parlament Europeu i del Consell, es presenta una proposta de criteris d'interpretació de les mesures analítiques obtingudes amb els mètodes de control químic. A l'esborrany s'estableix

que, per complir la DMA, el límit de quantificació ha de ser $\leq 30\%$ al que s'estipula a les Normes de Qualitat Ambiental (Directiva 2009/90/CE).

En general, les metodologies que es fan servir per analitzar els contaminants orgànics presents a l'aigua estan consolidades i es basen GC/MS (o en GC/HRMS) i en LC-MS (o en LC-MS/MS). Tanmateix, els valors d'algunes de les Normes de Qualitat Ambiental proposades són molt baixos (per exemple, el de l'endosulfan [Σ : 5-0,5 ng/l], el de PBDE [Σ : 0,5-0,2 ng/l] i el d'alguns HAP [Σ : 2 ng/l]). Els límits de quantificació d'aquests valors han de situar-se en nivells de ng/l (ppt) o inferiors.

A més cal tenir en compte que, per detectar les baixes concentracions de contaminants que s'inclouen als exercicis d'intercalibració entre laboratoris en el marc de l'Anàlisi de Control Químic, cal un tipus d'instrumental sofisticat (GC-HRMS, GC-MS/MS o LC-MS/MS), que en aquests moments no és a l'abast dels laboratoris convencionals.

D'altra banda, per analitzar els contaminants orgànics anomenats "emergents" (per exemple, els PFOS, els fàrmacs, els productes farmacèutics, la NDMA, etc.) també fa falta un tipus d'instrumental sofisticat (MS/MS i HRMS). En definitiva, actualment els mètodes encara no s'han verificat totalment, no existeixen materials de referència i hi ha disponibles pocs exercicis d'intercalibració entre laboratoris. D'això, es desprèn que actualment és impossible fer comparacions rigoroses.

En aquest context, és imprescindible desenvolupar metodologies fiables i sòlides que compleixin els estàndards de QA/QC.

Referències

Comparison of Monitoring Approaches for Selected Priority Pollutants in Surface Water, CMA on-site 2 ; G Hanke et al ; JRC-IES, 2009.

Focal Point: Emerging Contaminants and Water Analysis (W.Giger) , *Anal Chem* 2008.

Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues. S. Richardson; *ES&T*, 40 (33) , 2008.

Seguiment de substàncies prioritàries i relacionades als rius de Catalunya, en el marc de l'aplicació de la WFD: presentació de resultats i avaluació de risc

Ginebreda A.¹, Munné A.², Carafa R.³ i Tirapu LL.²

1. Department of Environmental Chemistry, ID/EA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

2. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

3. URSCorp, C/ Urgell 143, 4^a planta, 08036 Barcelona, Spain

Contacte: agmqam@cid.csic.es or anmunne@gencat.cat

Resum

Les dades obtingudes arran de les campanyes de control de substàncies prioritàries, substàncies prioritàries perilloses i altres substàncies relacionades als rius de Catalunya, dutes a terme per l'Agència Catalana de l'Aigua entre 2008 i 2009 en el marc d'aplicació de la Directiva marc de l'aigua, es poden presentar i interpretar des d'una doble perspectiva:

a) Component normatiu

Els resultats de l'estudi de les substàncies prioritàries i les substàncies prioritàries perilloses s'han avaluat segons els criteris de la Directiva 2008/105/CE. En el cas dels compostos que queden fora d'aquesta directiva, s'han analitzat, quan ha estat possible, d'acord amb les legislacions locals aplicables, com ara el RD 995/2000 i el RD 140/2003.

A més a més, s'han revisat les dades disponibles sobre inventaris d'emissions, obtingudes en aplicació de la normativa de l'E-PRTR a plantes de tractament d'aigües residuals de més de 100.000 hab/eq. Així mateix, aquestes dades s'han revisat i relacionat temptativament amb els valors dels rius.

b) Avaluació de riscos

S'ha plantejat una possible avaluació dels riscos ecotoxicològics emprant tècniques avançades de modelatge seqüencial a un subconjunt seleccionat a partir de les dades dels controls de qualitat químics (232 punts de mostreig i 60 contaminants).

Les dades sobre la concentració de contaminants a l'aigua es van tractar prèviament amb l'objectiu de calcular la fracció biodisponible, en funció de les propietats de la substància i de les condicions ambientals locals. Els valors obtinguts es van fer servir per predir l'impacte potencial de les substàncies tòxiques sobre la biota aquàtica en mescles complexes i també per identificar punts problemàtics. L'avaluació de l'exposició amb la distribució de sensibilitats de les espècies (Species Sensitivity Distribution, SSD) i les normes de toxicitat de la mescla es van utilitzar per determinar la fracció afectada potencialment per substàncies diverses (Potentially Affected Fraction, msPAF).

Per entendre i visualitzar la distribució espacial del risc tòxic, s'han valorat diferents tècniques de representació, com ara els mapes autoorganitzats (Self Organising Maps, SOM), derivats de les xarxes neuronals artificials, l'anàlisi de conglomerats o l'anàlisi de components principals (Principal Component Analysis, PCA).

En aquest procés, s'han identificat els punts problemàtics i els patrons de contaminació, fet que ha aportat informació molt útil per tal que els gestors de recursos hídrics puguin avaluar els riscos químics de les conques fluvials.

Control de substàncies perilloses a la conca de l'Ebre

Cortés S.

Área de Calidad de Aguas
Confederación Hidrográfica del Ebro, Spain

Contacte: scortes@chebro.es

La Directiva marc de l'aigua 2000/60/CE (DMA) i les directives que figuren al seu annex IX, com també la Directiva 2006/11/CE (versió codificada de la Directiva 76/464/CEE), obliguen els estats membres a crear estacions de vigilància per controlar la contaminació del medi aquàtic (aigua, sediments i biota) per substàncies perilloses aigües avall dels seus punts d'emissió.

Atès que les substàncies classificades com a perilloses poden ser d'origen industrial (puntual) i/o agrícola (difús), no es poden aplicar uns mateixos criteris per a totes les substàncies a l'hora de dissenyar la xarxa de vigilància, sinó que cal fer una diferència entre els plaguicides i la resta. Per això, la Confederació Hidrogràfica de l'Ebre ha establert dues xarxes amb punts de control, freqüències de mostreig, paràmetres de mesurament i matrius d'anàlisi diferents:

- La Xarxa de Control de Plaguicides (RCP), pensada per controlar la contaminació d'origen agrícola/difús.
- La Xarxa de Control de Substàncies Perilloses (RCSP), per controlar la contaminació d'origen principalment industrial/puntual.

L'objectiu de la Xarxa de Control de Plaguicides és vigilar la contaminació provocada pels plaguicides que pertanyen a la Llista I, Llista II Preferents i Llista de Substàncies Prioritàries, aigües avall de les zones principalment agrícoles i, molt especialment, vetllar pel compliment de les normes de qualitat (NQA) que estipula la legislació vigent.

La Xarxa de Control de Substàncies Perilloses de la Confederació Hidrogràfica de l'Ebre (CHE) funciona des de l'any 1992. L'objectiu d'aquesta xarxa és controlar la concentració de les substàncies perilloses (substàncies prioritàries, substàncies de la Llista I i substàncies de la Llista II Preferents) aigües avall dels principals focus d'emissions. Aquest control obliga a recollir mostres d'aigua, de sediments i de peixos. Pel que fa a l'aigua, s'apliquen les Normes de Qualitat Ambiental (Directiva 2008/105/CEE i Reial Decret 995/2000), mentre que en el cas dels sediments i els peixos l'objectiu és que les concentracions en aquestes matrius no registrin un augment significatiu amb el temps (principi bàsic de millora continuada o *standstill*).

La taula 1 presenta el nombre d'estacions que actualment integren aquestes xarxes de control, com també les matrius analitzades i les freqüències de mostreig.

Taula 1: Característiques de la RCSP i la RCP

	Nombre estacions	Matrius analitzades	Freqüència de mostreig
XCSP	18	Aigua	12/any
		Sediments	1/any
		Peixos	1/any
XCP	22	Aigua	5/any

La Xarxa de Control de Plaguicides controla fins a 37 substàncies diferents, mentre que la RCSP es fixa en 47 contaminants en total.

Els resultats obtinguts a la Xarxa de Control de Substàncies Perilloses durant la campanya de 2008 indiquen que els punts on hi ha més contaminació d'origen industrial són les estacions del Gállego a Jabarrella, de l'Ebre a Ascó, del Cinca a Monzó, del Zadorra a Vitòria-Trespuentes, de l'Ebre a Tortosa i del Huerva a Saragossa-Fuente de la Junquera.

Els contaminants detectats en concentracions importants en algunes de les anàlisis fetes l'any 2008 en cadascuna de les matrius analitzades a la RCSP són els següents:

- **Aigua:** seleni, níquel, mercuri i diclorometà.
- **Sediments:** níquel, crom, zinc, cadmi, DDT, benzo(b)fluorantè, benzo(a)pirè, benzo(g,h,i)perilè i benzo(z)fluorantè.
- **Peixos:** DDT, zinc, hexaclorobenzè i mercuri.

De les anàlisis fetes l'any 2008 a la Xarxa de Control de Plaguicides es desprèn que dels 37 plaguicides analitzats, només nou (atrazina, desetilatrazina, clorpirifos, isoproturon, metolaclor, molinat, simazina, terbutilazina i 3,4-dicloroanilina) han superat algun cop el nivell de 0,1 µg/l. A més a més, l'any 2008 només la terbutilazina i la 3,4-dicloroanilina van registrar concentracions superiors a 1 µg/L.

Les estacions que presenten un nivell de plaguicides més alts són les del Flumen a Sariñena, l'Alcanadre a Ontinyena, l'Arba de Luesia a Tauste i el Clamor Amarga a Zaidín.

Relació entre les variacions espaciotemporals en la contaminació per diuron i la tolerància induïda en biofilms als rius

Pesce S., Margoum C. i Montuelle B.

Cemagref, UR MAEP, 3 bis quai Chauveau, CP220, 69336 Lyon Cedex 09, France

Contacte: bernard.montuelle@cemagref.fr

Els biofilms presenten un gran potencial com a indicadors precoços d'alerta en el control dels rius. A l'hora de valorar els efectes dels agents tòxics en les comunitats microbianes naturals, és especialment important fer una distinció entre aquests efectes i els derivats d'altres paràmetres ambientals. Els enfocaments basats en la tolerància induïda per la contaminació en comunitats (PICT) ofereixen la possibilitat d'aïllar parcialment els efectes dels agents tòxics individuals d'un ecosistema complex estudiant els canvis en la sensibilitat de les comunitats. Per tal de comprovar la validesa de la metodologia PICT en l'avaluació de riscos, l'estudi es va centrar a analitzar si els nivells de tolerància al diuron induïts en comunitats de biofilms fotoautotròfiques eren proporcionals al seu nivell previ d'exposició *in situ* a aquest mateix herbicida. El projecte va dur a terme un estudi de camp durant 9 mesos en dos punts d'un mateix riu afectat per contaminació crònica de diuron. A partir de bioassajos en fotosíntesi de curta durada, es van estimar mensualment les variacions espaciotemporals de la capacitat de tolerància al diuron de les comunitats fotoautotròfiques. Tot i que es va observar una possible influència de tres variables ambientals covariants (nitrats, conductivitat i temperatura) en els processos induïts de tolerància al diuron, les anàlisis estadístiques van demostrar clarament que el principal factor a l'hora d'explicar la variació en la sensibilitat al diuron era el nivell d'exposició al diuron durant els períodes de colonització dels biofilms. En aquest sentit, es va constatar una correlació exponencial important entre els valors d' EC_{50} i les concentracions de diuron *in situ*, cosa que confirmaria que el mètode PICT pot constituir una eina important per al control dels rius, com a complement d'altres mètodes actuals basats en bioindicadors.

Les respostes dels biomarcadors múltiples de macroinvertebrats bentònics com a eina de diagnòsi de l'estat ecològic de rius contaminats

Damasio J.^{1,2}, Puértolas L.³, Prat N.³, Rieradevall M.³, Soares A.M.V.M.² i Barata C.¹

1. Department de Química Ambiental, (IDAEA-CSIC). Jordi Girona, 18-26, 08034, Barcelona (Espanya)

2. CESAM & Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

3. Department d'Ecologia (UB), Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, (Espanya)

Contacte: cbmqam@cid.csic.es

Els índexs biològics basats en les espècies de macroinvertebrats bentònics s'utilitzen actualment arreu del món per a mesurar la qualitat de les aigües fluvials a partir de criteris ecològics. Aquests índexs determinen l'estat ecològic global de la comunitat biòtica, però no detecten els efectes específics dels contaminants de l'aigua en concentracions rellevants des d'una perspectiva ambiental. En aquest cas, presentem dades experimentals sobre les respostes bioquímiques d'espècimens transplantats i altres recollits al camp de dos tàxons (*Echinogammarus sp.* i *Hydropsyche exocellata*) en espais amb diferents nivells de contaminació. L'estudi es va dur a terme a les conques fluvials dels rius Llobregat, Besòs i Ebre. Per a valorar els efectes d'un ampli ventall de fonts contaminants, com ara glifosats, productes farmacèutics, compostos organoclorats i mercuri, es va aplicar un enfocament basat en biomarcadors múltiples, que va implicar l'ús de fins a deu marcadors diferents. Les respostes biològiques van anar des de la biotransformació fins als enzims antioxidants i als marcadors de danys en teixits. Els resultats obtinguts van permetre observar: (1) una bona repetibilitat de les respostes dels biomarcadors en les diferents localitats al llarg del temps, (2) una activitat de biotransformació i dels enzims antioxidants superior en les localitats contaminades i en les espècies tolerants, (3) unes respostes més elevades dels organismes recollits als camp en comparació amb els transplantats i (4) la viabilitat dels biomarcadors per diferenciar i, així, identificar les principals fonts de contaminants que afecten la biota fluvial. A més a més, com en el cas dels índexs biològics, les respostes dels biomarcadors registrades en poblacions situades en localitats de referència i en localitats contaminades també van permetre discriminar graus de contaminació diferents. Per tant, els resultats indiquen que les respostes dels biomarcadors múltiples de les espècies bentòniques de macroinvertebrats aporten més informació útil i complementària que no pas les respostes obtingudes amb índexs biòtics i que, a més, són necessàries per a caracteritzar l'estat ecològic dels ecosistemes fluvials mediterranis. Aquest fet és especialment interessant en localitats amb una contaminació moderada, en què els factors estressors ja afecten les comunitats, tot i que no amb prou intensitat com perquè els índexs biòtics ho detectin. Les respostes dels biomarcadors múltiples, per tant, actuen com a senyals d'alerta que ens avisen que, si no es produeixen canvis en l'actual tendència vers l'augment dels contaminants, l'estat ecològic de les localitats amb una contaminació moderada podria empitjorar en un futur. Aquest estudi va comptar amb el finançament dels projectes espanyols **CGL2008-01898** i **CGL2007-64551/HID** i del programa ECOSTRIMED de la Diputació de Barcelona (www.ecostrimed.net).

Patrons estructurals de les comunitats de diatomees en rius sotmesos a contaminació per metalls pesants de diferents països i conseqüències de cara al biocontrol

Morin S.¹, Cordonier A.², Duong T.T.³, Lavoie I.⁴, Tornés E.⁵, Bonet B.⁶, Corcoll N.⁶, Faggiano, L.⁶, Guasch H.⁶, Sabater S.^{5,6} i CosteM.¹

1. Cemagref, UR REBX, France
2. Service de l'écologie de l'eau, Switzerland
3. Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam
4. INRS CETE, Canada
5. ICRA, Spain
6. Universitat de Girona, Spain

Contacte: Soizic.Morin@cemagref.fr

A partir d'estudis de camp desenvolupats en diferents països (França, Espanya, Suïssa, Canadà i Vietnam) es va crear una gran base de dades de diatomees de riu (amb més de 450 tàxons) corresponents a rius exposats a diferents càrregues de metalls pesants en les seves aigües. Un cop harmonitzada la taxonomia, es van analitzar els patrons de l'estructura de les comunitats de diatomees a partir de 163 mostres, totes recollides en substrats durs.

La biotipologia (és a dir, l'estructuració dels conjunts de dades de diatomees) indica que les espècies estan influïdes tant pel context hidroecoregional com per les càrregues dels metalls. El projecte estudia els paràmetres ambientals més importants estructuralment i utilitza les anàlisis diferencials per determinar la rellevància d'algunes espècies concretes (com ara l'*Eolimna minima* o l'*Achnanthydium minutissimum*), com també les formes teratològiques per al biocontrol de la contaminació per metalls pesants.

Gradients de pesticides als rius: estudi de camp basat en peixos

Shinn C., Grenouillet G. i Lek S.

Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, CNRS/Univ. Paul Sabatier, Toulouse, France

Contacte: candida.shinn@gmail.com

L'any 2015, les aigües superficials de tots els estats membres de la Unió Europea han de tenir un estat químic i ecològic bo o molt bo, tal com estableix l'actual Directiva marc de l'aigua. Per tant, l'abast actual de la contaminació dels entorns aquàtics per activitats antropogèniques exigeix una avaluació activa de l'impacte en els organismes exposats.

Per tal de comprovar si els diferents nivells de pesticides (principalment herbicides) detectats als rius del sud-oest de França afecten les poblacions de peixos, en vam analitzar l'estat sanitari i els trets. La classificació dels punts de mostreig a partir de les concentracions de pesticides es basa en les dades dels estudis anuals duts a terme per l'agència de l'aigua local. Així, s'obtenen diferents classificacions de les localitats mostrejades en funció dels diversos índexs de toxicitat emprats, com ara l'índex msPAF total (fracció [de les espècies] afectades potencialment per diverses substàncies), l'índex msPAF per mode d'acció tòxic i les unitats tòxiques (TU).

Després de la tria *a priori* de les localitats, durant la tardor de 2008 i mitjançant pesca elèctrica, es van recollir exemplars de bagres (*Leuciscus cephalus*) i gobis (*Gobio gobio*). L'objectiu era comprovar si els peixos de localitats contaminades, en comparació amb els de zones més netes, presentaven: un estat nutricional més baix (factor de condició), indicis de deteriorament de la salut (índexs organosomàtics), limitacions de creixement, signes d'estrès químic tòxic (canvis morfomètrics i asimetria fluctuant) i unes concentracions més elevades de pesticides a l'organisme.

Les bagres de les localitats més contaminats (nivells de l'índex msPAF i TU més alts) presentaven uns índexs gonadosomàtics més alts i uns factors de condició més baixos, mentre que l'índex hepatosomàtic no mostrava cap tendència específica al llarg d'aquest gradient. A les bagres dels rius més contaminats es van detectar uns nivells més alts de pesticides i un seguit de canvis histològics hepàtics. Els gobis de les localitats més contaminades presentaven una concentració més baixa de paràsits externs, com també una alçada significativament superior i uns ulls i una aleta dorsal significativament més petits. Aquests resultats s'han d'acabar de desenvolupar i corregir, tenint en compte la diversitat genètica de les poblacions de gobis.

Els resultats i les conclusions del nostre estudi formaran part d'un procés general de presa de decisions relacionades amb la gestió dels recursos hídrics.

Anàlisi d'efecte directe (EDA) d'una cadena alimentària bentònica per cribratge de genotoxicitat

Simon E.¹, Lamoree M.¹, Leonards P.¹, Hamers T.¹, Reifferscheid G.², Spira D.², Rudoll R.²
i de Boer J.¹

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit (VU), De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands

2. Federal Institute of Hydrology (BfG), Am Mainzer Tor 1, D-56068 Koblenz, Germany

Contacte: eszter.simon@ivm.vu.nl

Segons demostren nombrosos estudis, les aigües superficials europees estan contaminades amb compostos químics mutàgens d'acció directa i indirecta (Vahl *et al.* 1997, Keiter *et al.* 2006, Barceló *et al.* 2007, Higley *et al.* 2009, etc.). Per mirar d'identificar d'una manera eficaç els mutàgens i d'avaluar-ne la presència als nostres sistemes d'aigua dolça, l'EDA (Effect Directed Analysis) representa una eina de control interessant en el context dels programes de control de la qualitat de la Directiva marc de l'aigua.

L'EDA es va fer servir per detectar l'activitat genotòxica en mostres biòtiques i abiòtiques que representaven una cadena alimentària bentònica d'un entorn aquàtic.

Les mostres, obtingudes de la zona del delta del Scheldt occidental (Holanda), es van sotmetre a proves de genotoxicitat. Les proves van abastar des dels sediments, les partícules en suspensió (SPM), cucs, gambes, catxels i palaies, un tipus de peix pla. Les mostres abiòtiques (sediments, SPM) i tot l'homogenat de les mostres biòtiques es van extreure i netejar amb una combinació de diàlisi, cromatografia de permeació per gel (GPC) i cromatografia líquida d'alta precisió de fase normal (NP-HPLC). Aquest mètode, amb diverses etapes de tractament de les mostres per eliminar-ne els lípids i altres interferències, ja s'havia desenvolupat i validat prèviament. Els extractes es van sotmetre a la prova de fluctuació AMES per detectar mutacions puntuals i també a l'assaig de Comet, per trobar danys a l'ADN induïts pels compostos químics dels extractes.

El primer cribratge de genotoxicitat dels extractes va posar de manifest una citotoxicitat elevada als bioassajos, malgrat el complex procediment de tractament de les mostres. Per tal d'evitar el possible efecte d'emascament de la citotoxicitat dels indicadors genotòxics, les mostres es van fraccionar encara més en una columna de sílice per eliminar-ne els constituents citotòxics i per facilitar un millor cribratge de la genotoxicitat. Gràcies al nou fraccionament es van detectar efectes genotòxics dèbils en algunes fraccions de les mostres, una reacció previsible tenint en compte l'alta reactivitat de les substàncies genotòxiques en general.

Paraules clau: cadena alimentària, Effect Directed Analysis (EDA), genotoxicitat, bioassajos suborganismics

Anàlisi d'efecte directe (EDA) en sediments d'un riu europeu per identificar-hi els compostos alteradors d'andrògens

Weiss J.¹, Hamers T.¹, van der Linden S.², Leonards P.¹ i Lamoree M.¹

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Faculty of Earth and Life Sciences, VU University, De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands

2. BioDetection Systems B.V., Kruislaan 406, 1098 SM Amsterdam, The Netherlands

Contacte: marja.lamoree@ivm.vu.nl

A la major part d'àrees influenciades per l'activitat antropogènica, les mostres poden contenir una mescla complexa de substàncies amb efectes toxicològics en els organismes, com ara efectes endocrins. Els estudis d'EDA (Effect Directed Analysis) apliquen tècniques de fraccionament basades en bioassajos per tal d'identificar les fraccions que contenen compostos tòxics i, després, dur a terme la caracterització tòxica de la mostra. L'estudi que presentem se centra en una mostra seleccionada després d'un cribratge de toxicitat de diferents sediments fluvials en el marc del projecte Modelkey de la UE (SSPI-CT-2003-511237-2).

La mostra activa seleccionada és originària del riu Schijn, afluent del Scheldt (Bèlgica). El bioassaig emprat per a l'anàlisi és l'assaig de detecció d'andrògens AR-CALUX[®] (Chemically Activated Luciferase gene eXpression), que permet buscar tant respostes agonistes com antagonistes.

L'objectiu de l'estudi EDA és identificar els compostos alteradors d'andrògens responsables de les respostes del bioassaig. Aquest procés consta de diversos passos: bioassajos de l'extracte complet, primera fracció (LC de fase inversa) i segona fracció (LC de fase normal), anàlisi química, identificació dels compostos, confirmació analítica i, finalment, confirmació de toxicitat. En aquest context, exposarem l'aplicació d'estratègies de neteja i fraccionament i l'ús de diverses tècniques d'identificació química analítica, com també les possibilitats d'interpretació dels efectes agonistes i antagonistes a les EDA. Una de les conclusions obtingudes és que un cribratge de l'extracte complet no és suficient per mostrar els efectes androgènics, a causa de la supressió de l'efecte agonista per la presència de compostos antagonistes.

Identificació dels compostos alteradors d'andrògens en sediments fluvials sotmesos a anàlisi d'efecte directe (EDA) amb LTQ-Orbitrap

Weiss J.¹, Leonards P.¹, Stroomberg G.², de Boer R.² i Lamoree M.¹

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Faculty of Earth and Life Sciences, VU University, De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands

2. Rijkswaterstaat, Waterdienst, Zuiderwagenplein 2, 8224 AD Lelystad, The Netherlands

Contacte: marja.lamoree@ivm.vu.nl

Durant les darreres dècades s'ha dedicat molta atenció a la presència de compostos alteradors endocrins al medi ambient. Aquests compostos comprenen des de les hormones naturals i sintètiques fins als compostos químics industrials. En àrees sota la influència de l'activitat antropogènica, les mostres poden contenir una barreja complexa d'aquests compostos. Els estudis d'EDA (Effect Directed Analysis) apliquen tècniques de fraccionament basades en bioassajos per tal d'identificar les fraccions que contenen compostos actius i, així, reduir la complexitat de la matriu de la mostra abans de fer l'anàlisi química de la fracció. La identificació dels agents tòxics clau i la confirmació definitiva de la toxicitat i la identitat són fonamentals perquè els estudis d'EDA siguin satisfactoris.

En aquest estudi, es va dur a terme una EDA en una mostra de sediments del riu Schijn (Bèlgica) i se'n va determinar l'activitat androgènica a través del bioassaig AR-CALUX[®]. L'objectiu era identificar els compostos androgènics, tant agonistes com antagonistes, que tenien efectes sobre les fraccions actives de l'EDA. L'anàlisi química es va fer en un espectròmetre de massa LTQ-Orbitrap. Per al cribratge de les fraccions actives i no actives es va emprar programari comercialitzat al mercat, que va permetre diferenciar els pics d'interès. Es van seguir els criteris següents: (1) relació de > 100 entre la intensitat màxima en les fraccions no actives i actives, (2) presència de les fórmules químiques suggerides extretes de la massa precisa a la base de dades espectral NIST i (3) un número CAS per poder comprar els compostos i fer-hi estudis de confirmació.

Gairebé una quarta part dels pics discriminats es van identificar temptativament (per exemple, esteroides anabòlics, antidepressius, fragàncies de mesc o agents aromatitzants). Els resultats indiquen que l'aplicació d'un instrument de massa de precisió pot ser de gran ajuda a l'hora d'identificar els compostos desconeguts d'un complex.

Biodegradació de compostos farmacèutics durant el tractament de les aigües residuals i avaluació de la proteòmica per dilucidar la via metabòlica

Collado N.¹, Osuna B.¹, Comas J.¹, Rodríguez-Roda I.² i Sipma J.¹

1. Laboratory of Chemical and Environmental Engineering, University of Girona, Science and Technologic Park, Ed. Jaume Casademont, c/Pic de Peguera 15, E17003, Girona, Spain
2. ICRA (Catalan Institute for Water Research), Scientific and Technological Park of the University of Girona, H2O Building, Emili Grahit 101, 17003 Girona, Spain

Contacte: u1055969@correu.udg.edu

Darrerament s'ha estès la consciència amb relació a la presència de compostos farmacèutics a les aigües residuals domèstiques, fet que, combinat amb els riscos potencials vinculats a una possible transferència al medi ambient, fa més necessari que mai conèixer-ne el destí durant el tractament de les aigües residuals. Amb la millora de les eines analítiques s'ha detectat un gran ventall de compostos farmacèutics en aigües residuals domèstiques no tractades, com també als ecosistemes receptors. Tot i que hi ha molta incertesa al voltant dels efectes potencials d'aquests compostos sobre els ecosistemes aquàtics, el principi de precaució farà que, en un futur, segurament s'aprovin legislacions més estrictes en matèria de tractament d'aigües residuals.

Molts estudis han posat de manifest unes eficiències d'eliminació amb moltes fluctuacions en un gran ventall de compostos farmacèutics, fet que s'ha associat sovint a la biodegradació. Tanmateix, fins ara només s'han dilucidat els mecanismes de biodegradació d'uns quants compostos, i sovint en experiments de laboratori, en altes concentracions relatives de compostos. L'estudi dels mecanismes de biodegradació de compostos farmacèutics en concentracions ambientalment significatives presenta molts reptes, arran de les dificultats vinculades a la seva anàlisi. Per tal de conèixer el destí dels compostos farmacèutics en les estacions de tractament d'aigües residuals ens cal conèixer els mecanismes de biodegradació i les limitacions de les taxes de conversió en les vies de biodegradació per poder fer una estimació de l'acumulació potencial dels compostos intermedis.

En aquest projecte ens centrem en la participació de grups tròfics específics de microorganismes i la dilucidació dels mecanismes de biodegradació. El comportament dels compostos farmacèutics seleccionats (carbamazepina, àcid clofibrí, diclofenac, ibuprofen i naproxen) es va estudiar en un reactor SBR de laboratori. Els índexs d'eliminació en diferents condicions operatives d'un compost farmacèutic aporta informació sobre la participació de grups tròfics específics de microorganismes en la seva degradació. Aquests coneixements ens poden ajudar molt a optimitzar el tractament biològic de les aigües residuals per tal d'eliminar-ne simultàniament els grans contaminants i els microcontaminants específics, com ara els compostos farmacèutics, que obliguen a adoptar nous enfocaments en el tractament de les aigües residuals. Tot i que s'han publicat molts informes sobre la biodegradació dels compostos farmacèutics, encara manca molta informació sobre els mecanismes emprats o les vies de biodegradació. Com que aquests contaminants es detecten a nivells de traces, encara són moltes les incerteses que n'envolten la degradació biològica. Per tant, l'ús de tècniques microbiològiques convencionals segurament no serà eficaç per dilucidar-ne els mecanismes de biodegradació. En aquest estudi avaluem l'ús de la identificació de proteïnes

per observar l'expressió diferencial de les proteïnes en diferents condicions de creixement, com ara en presència d'un compost farmacèutic concret o en absència d'aquest compost. La proteòmica, un enfocament relativament nou en la microbiologia ambiental, estudia les propietats de les proteïnes i ens permet identificar les proteïnes clau i els canvis relacionats en determinades condicions específiques. Atès que gairebé tots els enzims implicats en la biodegradació són proteïnes, els canvis en la identificació de les proteïnes es poden vincular a la presència del compost farmacèutic administrat. Les identificacions de les proteïnes s'obtenen separant les proteïnes en dues dimensions, primer segons el punt isoelèctric i després pel pes molecular, mitjançant l'electroforesi amb gel bidimensional. Després, s'analitza la composició dels pèptids de les proteïnes, amb les seves diferents expressions (com ara la presència o l'absència i els canvis significatius en el nivell d'expressió), i es comparen amb les composicions dels pèptids de les proteïnes conegudes en bases de dades de proteïnes consultables en línia. En última instància, la implicació d'enzims específics permet determinar les vies de biodegradació, que en una fase posterior es contrastaran mitjançant l'anàlisi dels intermediaris de la biodegradació.

Absorció i efectes del pentacloronaftalè 1, 2, 3, 5 i 7 en una cadena alimentària aquàtica: del sediment, a través d'organismes bentònics (*Lumbriculus variegatus*), fins a la truita irisada (*Oncorhynchus mykiss*)

Slootweg T.¹, Dömötörövá M.², Fabišiková A.², Igumnova E.³, Mayer P.⁴, Möller A.⁵,
Nikiforov V.³, Schmidt J.¹, Smith K.⁴ i Liebig M.¹

1. ECT Oekotoxikologie GmbH, Böttgerstraße 2-14, 65439 Flörsheim, Germany
2. Slovak Medical University, Department of Toxic Organic Pollutants, Limbova 12, 833 03 Bratislava, Slovakia
3. Saint-Petersburg State University, 198504 St.Petersburg, Universitetskii pr., 26, Russia
4. National Environmental Research Institute, Aarhus University, Department of Environmental Chemistry and Microbiology, Frederiksborgvej 399, DK-4000 Roskilde, Denmark
5. University of Berne, Laenggass-Straße 122, 3012 Bern, Switzerland

Contacte: t.slootweg@ect.de

Resum

Un dels factors estressors més importants dels sistemes fluvials són els contaminants químics. Per això, és fonamental conèixer més a fons la manera com actuen contaminants específics sobre els organismes aquàtics si volem arribar a relacionar els efectes adversos que pateix un sistema fluvial amb les causes correctes. Amb aquesta informació a les mans, les persones responsables de la gestió hidrològica podran adoptar mesures més eficaces per redreçar els sistemes fluvials amb un estat ecològic més deteriorat.

En aquest estudi, ens centrem en els efectes dels tòxics hidrofòbics presents als sediments. Tot i que la connexió amb els sediments redueix la biodisponibilitat, els organismes bentònics que viuen als sediments i se n'alimenten poden bioacumular els tòxics i fer que tornin a estar biodisponibles per als organismes d'un nivell superior de la cadena alimentària, com els peixos. A través de la biomagnificació, les concentracions internes als peixos poden arribar a nivells en què els tòxics els provoquin efectes adversos. Si això afecta, per exemple, la reproducció o el creixement dels peixos, podria tenir conseqüències per al conjunt de la població de peixos. Es va fer el seguiment de l'absorció i els efectes del pentacloronaftalè 1, 2, 3, 5 i 7 (PeCN52) en una cadena alimentària simplificada, formada per tres nivells: sediments – cucs bentònics (*Lumbriculus variegatus*) – truita irisada (*Oncorhynchus mykiss*). El PeCN52 és un congènere del grup dels naftalens policlorats, uns contaminants persistents i de gran distribució: al riu Elba, s'hi han registrat concentracions als sediments de nivells de µg/kg en pes sec (dw).

Primer de tot, es va dur a terme un estudi de bioacumulació, en què els cucs es van exposar durant 28 dies a un sediment amb PeCN52. El factor de bioacumulació que se'n va obtenir, de 35,3 (dw/dw), va demostrar que els cucs, actuant com a font d'alimentació, poden transferir el PeCN52 dels sediments a nivells superiors de la cadena alimentària. Per tant, en un estudi posterior, es van exposar les truites joves a cucs vius contaminats. Els cucs havien estat exposats a aigua amb presència de PeCN52 de solubilitat aquosa, per tal d'obtenir un gran volum de cucs amb una càrrega constant de PeCN52. Les truites es van mantenir separades i es van alimentar cada dia amb cucs. Es van realitzar proves amb quatre nivells de concentració (0 - 9 - 18 i 36 µg/g de menjar). De la ingesta total de PeCN52 a través dels cucs, el 60% es va mesurar 28 dies després als teixits de les truites. Malgrat aquesta bioacumulació elevada,

no es van detectar efectes significatius en la mortalitat, el comportament, el creixement ni l'índex somàtic hepàtic de les truites joves. A través de RT-PCR, es va detectar l'expressió de CYP1A i de la glicoproteïna P -vinculades als mecanismes de defensa dels peixos- al fetge, al cervell i als intestins. L'exposició al PeCN52 es va traduir en una inducció vinculada a la concentració de CYP1A, però no es va detectar cap efecte en l'expressió de la glicoproteïna P. Aquests resultats, i les conclusions observades sobre la transferència dels agents tòxics hidrofòbics en una cadena alimentària, ens permeten establir un model del flux del PeCN52 en una cadena alimentària.

L'ús d'una nova sèrie de biomarcadors dels biofilms fluvials per l'avaluació dels efectes dels metalls: contribució a l'aplicació de la Directiva Marc de l'aigua

Bonet B.¹, Corcoll N.¹, Morin S.² i Guasch H.¹

1. Institut d'Ecologia Aquàtica, Universitat de Girona, Espanya.

2. CEMAGREF, Bordeaux, França

Contacte: berta.bonet@udg.edu

És conegut, que alguns ambients aquàtics pateixen contaminació per metalls pesants degut a diferents fonts. Fins el moment, no hi ha gaires biomarcadors per la detecció de contaminació metàl·lica i la majoria d'índexs biòtics es basen en canvis estructurals a nivell de comunitat, els quals s'espera que integrin les respostes biòtiques al llarg d'un període de temps considerable (des de setmanes fins a mesos en funció del temps de vida de l'organisme investigat). Per tant, és de gran interès desenvolupar nous biomarcadors de toxicitat metàl·lica basats tan en la detecció de respostes agudes com efectes crònics per poder completar l'informació que es té fins el moment. Això milloraria la comprensió de les causes de degradació dels ecosistemes tal com exigeix la Directiva Marc de l'Aigua (DMA; Directiva 2000/60/CE).

En rius i rieres, el biofilm (també conegut com a fitobentos o perifíton) s'ha utilitzat àmpliament com a bioindicador de contaminació degut a la seva capacitat de detectar efectes aguts produïts per substàncies tòxiques, com són els metalls pesants, aportant en ecotoxicologia una aproximació a nivell de comunitat d'elevada rellevància ecològica.

L'objectiu d'aquest estudi va ser investigar la toxicitat dels metalls als biofilms utilitzant paràmetres funcionals (PAM), metabòlics (AEA), així com també estructurals (composició i espècies de diatomees). Per aconseguir aquest objectiu, es va realitzar un experiment de translocació a la Riera d'Osor (NE Catalunya), afluent del riu Ter. Aquest riu presenta elevats nivells de zinc dissolt en aigua (Zn) i ferro (Fe), arribant a valors de 600 µgZn/L i 750 µgFe/L després de la principal contribució de la mina.

Els biofilms van ser translocats des del punt control (no contaminat), a diferents punts contaminats riu avall per avaluar les diferents respostes obtingudes degut a l'efecte del gradient de contaminació metàl·lica al llarg d'una escala temporal (des de hores fins a algunes setmanes).

A més de la variabilitat temporal, es van identificar diversos paràmetres funcionals i metabòlics relacionats amb el gradient de contaminació metàl·lica. Les concentracions de metalls trobades a Osor van afectar el biofilm fluvial provocant respostes fisiològiques transitòries (exposició aguda) i alteracions estructurals i funcionals (exposició crònica). A més, el final de l'experiment (després de cinc setmanes d'exposició), les espècies dominants de diatomees estaven relacionades amb el gradient de metall, mostrant formes teratològiques i un menor biovolum en els llocs contaminats.

Els resultats suggereixen que el PAM i les AEA dels biofilms es poden utilitzar com a instruments de detecció aguda, així com també com a biomarcadors d'adaptació en rius contaminats per metalls, completant així la informació proporcionada pels estudis de diatomees (incloent els aspectes taxonòmics i les característiques morfològiques).

Predicció dels efectes de substàncies tòxiques en la diversitat funcional d'espècies de peixos nord-americanes

Faggiano L.¹, de Zwart D.², Dyer S.³, Lek S.⁴ i Gevrey M.⁴

1. University of Girona, Spain
2. RIVM, Bilthoven, The Netherlands
3. Procter & Gamble, Cincinnati, Ohio, USA
4. University of Toulouse, France

Contacte: leslie.faggiano@udg.edu

L'objectiu d'aquest estudi era valorar els efectes dels compostos químics i les mescles en la diversitat funcional de cinquanta-set espècies autòctones de peixos extrets de 2.000 localitats de mostreig d'una àrea geogràfica molt extensa, l'estat nord-americà d'Ohio. L'enfocament de la diversitat funcional ofereix més possibilitats que l'enfocament taxonòmic tradicional per a la predicció quantitativa dels grups d'organismes representats en diferents gradients d'alteració ambiental d'origen humà. Les abundants dades obtingudes es van fer servir per calibrar la presència de trets "biològics", com ara l'ecologia tròfica, l'estratègia reproductiva, la locomoció/morfologia, la longitud corporal, i trets "ecològics", com ara les preferències de substrats, la geomorfologia i les dimensions del curs. En aquest estudi es van utilitzar dos algorismes diferents de xarxes neuronals artificials: un mapa autoorganitzatiu (SOM) i un perceptró multicapa (MLP). El SOM es va aplicar per determinar els tipus trets de les distintes associacions de peixos, mentre que el MLP va permetre predir les associacions de peixos utilitzant diferents predictors, com ara la coberta del sòl, les característiques del macrohàbitat, la química de l'aigua clàssica i l'exposició a una gran varietat de compostos químics i als riscos potencials associats. Els resultats fan pensar que la funció d'una comunitat de peixos està determinada per les diferències a gran escala en els hàbitats, cosa que reforça les conclusions d'estudis anteriors. A més a més, posa de manifest la relació significativa entre els trets de les associacions de peixos i l'exposició química i els riscos associats, cosa que demostra que aquest factor d'estrès específic pot actuar com un filtre a l'hora de seleccionar els tipus particulars de trets i d'associacions de peixos.

Anàlisi del destí ambiental dels contaminants emergents i prioritaris: identificació dels productes de transformació

Kormos J.L., Schulz M. i Ternes T.A.

Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

Contacte: kormos@bafg.de

Durant els darrers anys, l'activitat investigadora s'ha centrat en el desenvolupament de mètodes analítics fiables i amb prou sensibilitat per detectar la presència de contaminants orgànics (com ara compostos farmacèutics, productes cosmètics, biocides, plastificants, compostos de perfluorats, etc.) en diferents matrius ambientals. Tanmateix, encara hi ha un gran desconeixement amb relació al destí d'aquests contaminants emergents i prioritaris a les conques hidrogràfiques.

Els estudis sobre el destí aporten informació molt valuosa sobre la capacitat de separació i el potencial de degradació dels compostos analitzats. A més a més, permeten conèixer les reaccions del compost en diferents processos de tractament i, alhora, els possibles mecanismes d'eliminació. Estudis anteriors han analitzat l'eficiència d'eliminació de diversos processos de tractament convencionals i avançats per evitar la penetració d'aquests compostos als entorns aquàtics i en l'abastament d'aigua potable. Tanmateix, són molt pocs els estudis que han analitzat quins compostos es formen després de l'aplicació de diversos tractaments (biològics o químics), si no s'aconsegueix una eliminació completa, i si aquests productes desconeguts es poden considerar amenaces per a la salut dels ecosistemes.

Aquest estudi, realitzat en el marc del projecte KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT-2006-035695), investiga -mitjançant contrast per raigs X iodats (ICM)- la biotransformació d'un grup de contaminants detectats habitualment als efluent de les estacions depuradores d'aigües residuals, a les aigües superficials i als aqüífers. Concretament, l'estudi va utilitzar un enfocament pensat per dilucidar les estructures químiques dels productes de biotransformació dels ICM en sistemes seqüencials aigua-sòl i aigua-sediment aeròbics. Aquest enfocament seqüencial va permetre identificar fins a 34 TP (productes de transformació) de tres ICM no iònics (iohexol, iomeprol i iopamidol) en els esmentats sistemes. El mètode es basava en l'ús de HPLC-UV semipreparativa, espectrometria de massa (MS) de trampa de ions en tàndem/lineal LC ESI i NMR.

El desenvolupament d'un mètode de MS en tàndem amb LC-ESI, combinat amb les tècniques de SPE, va permetre detectar els nous TP identificats en mostres ambientals reals. S'han detectat concentracions de TP fins a la franja baixa de µg/L a les aigües superficials. Encara no sabem quin pes tenen aquests productes de biotransformació en el medi ambient, però aquest enfocament representa un pas decisiu per mirar d'identificar quins compostos clau desconeguts poden ser els responsables dels efectes observats en els ecosistemes aquàtics i terrestres.

Avaluació de la toxicitat de l'aigua dels rius catalans a partir de la distribució de sensibilitats de les espècies i de xarxes neuronals artificials

Carafa R.¹, Faggiano L.², Real M.¹, Munné A.³, Ginebreda A.⁴, Guasch H.², Flo M.³
i Tirapu L.³

1. URS, C/ Urgell 143, 4^a planta, 08036 Barcelona, Spain

2. Institut d'Ecologia Aquàtica, Universitat de Girona, Campus Montilivi s/n, 17071 Girona, Spain

3. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

4. Departament de Química Ambiental, IDÆA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

Contacte: Roberta_Carafa@URSCorp.com

D'acord amb el que estipula la Directiva marc de l'aigua de la Unió Europea, l'Agència Catalana de l'Aigua realitza el seguiment de control de l'estat ecològic i químic de les conques fluvials catalanes, segons el calendari estipulat per la Directiva.

La gran quantitat de dades recollides i les complexes relacions que s'estableixen entre les variables estudiades dificulten la interpretació de la informació a l'hora de determinar l'impacte tòxic, sobretot tenint en compte que fins i tot contaminants amb una concentració molt baixa poden contribuir a la toxicitat total d'una mescla.

Totes les dades relatives als controls químics duts a terme entre els anys 2007 i 2008 (232 estacions de mostreig i 60 contaminants) s'han analitzat amb tècniques avançades de modelatge seqüencial.

Les dades sobre la concentració de contaminants a l'aigua es van tractar prèviament per calcular la fracció biodisponible, en funció de les propietats de la substància i les condicions ambientals locals.

Els valors obtinguts es van fer servir per predir l'impacte potencial de les substàncies tòxiques sobre la biota aquàtica en mescles complexes i també per identificar punts problemàtics. Es va utilitzar l'avaluació de l'exposició amb la distribució de sensibilitats de les espècies (SSD) i les normes de toxicitat de la mescla per determinar la fracció d'espècies afectada potencialment per diverses substàncies (msPAF).

Per entendre i visualitzar la distribució espacial del risc tòxic, es va aplicar als resultats d'aquests models el mètode dels mapes autoorganitzats (SOM), un algoritme no supervisat d'un model de xarxes neuronals artificials.

A més a més, es va utilitzar l'anàlisi de components principals (PCA) amb els resultats de les xarxes neuronals per identificar les variables amb més pes en els patrons de contaminació.

Per acabar, es van relacionar i correlacionar els impactes tòxics predits sobre la biota amb índexs de qualitat biòtica (IBMWP, IPS) i diverses variables fisicoquímiques.

S'han identificat els punts problemàtics i els patrons de contaminació per així poder oferir eines d'interpretació als gestors de conca pel que fa a l'avaluació dels riscos a escala de conca.

Paraules clau: toxicitat aquàtica – avaluació de riscos – distribució de sensibilitats de les espècies – xarxes neuronals artificials

La sensibilitat dels índexs biòtics als microcontaminants dels rius. Comparació de mètriques a partir de les diatomees i els macroinvertebrats

Blanco S.^{1,2} i Bécares E.¹

1. Department of Environmental Management and Biodiversity, University of León. E-24071 León, Spain.

2. The Institute of the Environment. University of León. La Serna, 58. E-24007 León, Spain.

Contacte: ebecm@unileon.es

Molts estudis de camp han demostrat que la presència d'agents tòxics es tradueix en uns canvis previsibles en les comunitats bentòniques fluvials. Els índexs biòtics basats en macroinvertebrats i diatomees s'empren molt sovint per diagnosticar la qualitat ecològica dels cursos d'aigua, tot i que ben poques obres n'analitzen l'efectivitat com a biomonitoris de les concentracions de microcontaminants. Aquest informe presenta els resultats d'un estudi biològic fet a 188 punts de la conca del riu Duero. A l'estudi es van calcular 19 índexs de diatomees i 6 de macroinvertebrats i es van comparar amb la concentració de 37 contaminants diferents a través d'anàlisis de correlació. Més de la meitat de les variables químiques analitzades van presentar una correlació significativa amb com a mínim un índex biòtic. Concretament, els coeficients de correlació més alts es van observar en l'índex de diatomees de Sládeček i en algunes famílies de macroinvertebrats. Els mètodes basats en els macroinvertebrats permeten detectar millor els biocides, mentre que els índexs de diatomees presenten unes correlacions més marcades amb elements potencialment tòxics, com ara els metalls pesants. Tots els índexs biòtics i, sobretot, els índexs de diatomees es van mostrar especialment sensibles a la concentració de greixos, olis i tricloroetè, mentre que els compostos aniònics i derivats del nitrogen van presentar els valors de correlació més baixos. Els resultats posen de manifest que tant els índexs de macroinvertebrats com de diatomees es poden considerar uns mètodes eficaços per al control dels agents tòxics als rius.

Lista de participants

- ACUÑA Vicenç, "Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain" (vicenc.acuna@icra.cat)
- AGBO Stanley, "University of Eastern Finland - Joensuu, Finland" (Stanley.Agbo@joensuu.fi)
- AGUIRRE JIMENEZ Maria, "CEDEX – Madrid, Spain" (maria.aguirre@cedex.es)
- ALONSO GARCIA Ana Maria, "CEDEX – Madrid, Spain" (ana.m.alonso@cedex.es)
- ANTICÓ Enriqueta, "University of Girona (UdG) – Girona, Spain" (enriqueta.antico@udg.edu)
- ARANDA MARES José Luís, "IPROMA, S. L.- Castellón, Spain" (jlaranda@iproma.com)
- BARATA Carlos, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain" (cbmqam@cid.csic.es)
- BARCELÓ Damià, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, and Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain" (dbcqam@cid.csic.es)
- BARTOLOMÉ Arantxa, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain" (arantxa.bartolome@cid.csic.es)
- BECARES Eloy, "University of Leon – León, Spain" (ebecm@unileon.es)
- BONET Berta, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (berta.bonet@udg.edu)
- BONNINEAU Chloé, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (chloe.bonnineau@udg.edu)
- BRACK Werner, "Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) – Leipzig, Germany" (werner.brack@ufz.de)
- CAIXACH Josep, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain" (Josep.Caixach@cid.csic.es)
- CARAFA Roberta, "United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain" (roberta_carafa@urscorp.com)
- CLEMENTS William H., "Department of Fish, Wildlife and Conservation Biology - Colorado State University, United States of America" (willc@warnernr.colostate.edu)
- COLLADO Neus, "Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain" (neuscoal@hotmail.com)
- CORCOLL Natàlia, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (natalia.corcoll@udg.edu)
- CORTÉS Susana, "Confederación Hidrográfica del Ebro (CHE) – Zaragoza, Spain" (scortes@chebro.es)
- COVADONGA Alonso, "CEDEX – Madrid, Spain" (covadonga.alonso@cedex.es)
- FAGGIANO Leslie, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (leslie.faggiano@udg.edu)
- FERNÁNDEZ ROCHA Susana, "Confederación Hidrográfica del Júcar – Spain"
- FERNÁNDEZ-CARRIL Domingo Alberto, "Confederación Hidrográfica del Guadiana – Badajoz, Spain" (dfernandez@chguadiana.es)
- FLAQUER Carles, "Museu de Granollers de Ciències Naturals – Granollers, Spain" (carlesflaquer@yahoo.com)
- GALLAMPOIS Christine, "Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) – Leipzig, Germany" (christine.gallampois@ufz.de)
- GARCIA-BERTHOU Emili, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (emili.garcia@udg.edu)
- GEISZINGER Anita, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (anita.geiszinger@udg.es)
- GEVREY Muriel, "Centre National de la Recherche (CNRS) and Université Paul-Sabatier (UPS) – Toulouse, France" (gevrey@cict.fr)
- GIMENO NAVARRO Eduardo, "RED CONTROL S.L. – Paterna, Spain" (egimeno@redcontrol.com)
- GINEBREDÀ Antoni, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain" (agmqam@cid.csic.es)
- GROS CALVO Meritxell, "Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain" (mgros@icra.cat)
- GUASCH Helena, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (helena.guasch@udg.es)
- GUENARD Guillaume, "Centre National de la Recherche (CNRS) and Université Paul-Sabatier (UPS) – Toulouse, France" (guenardg@cict.fr)
- KORMOS Jennifer, "Federal Institute of Hydrology – Koblenz, Germany (Kormos@bafg.de)
- LAMOREE Marja, "Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit Amsterdam – Amsterdam, The Netherlands" (marja.lamoree@ivm.vu.nl)
- LÓPEZ DOVAL Julio, "University of Barcelona (UB) – Barcelona, Spain" (jlopezdoval@ub.edu)
- LUBARSKY Helen, "Institute of Hydraulic Engineering - Stuttgart, Germany" (hb243@st-andrews.ac.uk)
- MARTÍNEZ ROSER Lorena, "IPROMA, S. L. – Castellón, Spain" (lmartinez@iproma.com)
- MÖLLER Anja-Maria, "University of Bern – Bern, Switzerland" (anja.moeller@itpa.unibe.ch)
- MORIN Soizic, "Cemagref UR REBX – Bordeaux, France" (soizic.morin@cemagref.fr)
- MUNNÉ Antoni, "Agència Catalana de l'Aigua (ACA) – Barcelona, Spain" (anmunne@gencat.cat)
- MUÑOZ Isabel, "University of Barcelona (UB) – Barcelona, Spain" (imuno@ub.edu)
- PLANAS Carles, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain" (cppeco@cid.csic.es)

Lista de participants

- POUSO Ángeles, "Eurofins Analytico – Barcelona, Spain" (a.pouso@analytico.com)
- PROIA Lorenzo, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (lorenzo.proia@udg.edu)
- PUIG Alejandra, "Dirección General del Agua, Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino – Madrid, Spain" (apinfante@mma.es)
- PUIG Xavier, "Galanthus - Girona, Spain" (xavierpuig@asgalanthus.org)
- REAL Montserrat, "United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain" (Montserrat_Real@URSCorp.com)
- REBILLARD Jean Pierre, "Agence de l'eau Adour-Garonne – Toulouse, France" (jean-pierre.rebillard@eau-adour-garonne.fr)
- RICART Marta, "Catalan Institute for Water Research (ICRA) - Girona, Spain" (mricart@icra.cat)
- RODRÍGUEZ-MOZAR Sara, "Catalan Institute for Water Research (ICRA), - Girona, Spain" (srodriguez@icra.cat)
- ROMANÍ Anna, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (anna.romani@udg.es)
- SABATER Sergi, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - and Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain" (sergi.sabater@udg.edu)
- SALAVAT Aida, "NOVOTEC Consultores – Barcelona, Spain" (asalvat@gencat.cat)
- SANS-PICHÉ Frédéric, "Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) – Leipzig, Germany" (frederic.sans-piche@ufz.de)
- SEGNER Helmut, "Centre for Fish and Wildlife Health-University of Bern – Bern, Switzerland" (helmut.segner@itpa.unibe.ch)
- SHINN Cándida, "Centre National de la Recherche (CNRS) and Université Paul-Sabatier (UPS) – Toulouse, France" (candida.shinn@gmail.com)
- SIMON Eszter, "Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit Amsterdam – Amsterdam, The Netherlands" (eszter.simon@ivm.vu.nl)
- SLOOTWEG Tineke, "ECT Oekotoxikologie GmbH – Flörsheim, Germany" (t.slootweg@ect.de)
- TLILI Ahmed, "Cemagref Lyon – Lyon, France" (ahmed.tlili@cemagref.fr)
- TORÁN BUSUTIL Manuel, "Confederación Hidrográfica del Júcar – Spain"
- URREA Gemma, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (gemmaurrea@gmail.com)
- VIDAL Gemma, "Agència Catalana de l'Aigua (ACA) – Girona, Spain" (gmVidal@gmail.com)
- VILA ESCALÉ Mireia, "Diputació de Barcelona-OTAT – Barcelona, Spain" (vilaem@diba.cat)

**Contaminantes Emergentes y Prioritarios:
Aportaciones de la Investigación Científica
a los Planes de Gestión de Cuenca**

ÍNDICE

Prólogo

Comité científico y organizador

Programa científico

Resúmenes

Lista de participantes

Prólogo

La multitud de alteraciones que sufren los medios acuáticos y el aporte creciente de contaminantes emergentes, ponen en relieve la necesidad de desarrollar un nuevo marco conceptual y metodológico que permita relacionar la contaminación química con los efectos que ésta provoca en los ecosistemas. El establecimiento de relaciones de causalidad entre la contaminación y la pérdida de calidad ecológica ocasionada, deberá de incluir tanto el análisis de contaminantes prioritarios y como el de los contaminantes emergentes. Este conocimiento es fundamental para la correcta evaluación de los riesgos ambientales.

La red de formación de investigadores Marie Curie KEYBIOEFFECTS, abarca in amplio espectro de disciplinas científicas. Pretende evaluar los efectos causados por los contaminantes prioritarios y emergentes, y así completar los lagunas existentes en el monitoreo de la calidad ecológica de los sistemas fluviales y en la evaluación de los riesgos ambientales. Las líneas de investigación incluyen la identificación de contaminantes clave y sus productos de degradación, el estudio de la influencia de las condiciones ambientales en la biodisponibilidad de los compuestos tóxicos; los efectos provocados a nivel de organismo, población, comunidad y ecosistema, así como la realización de ensayos de toxicidad en condiciones experimentales y el desarrollo de modelos matemáticos que permitan predecir sus efectos. Los resultados científicos obtenidos serán utilizados también para la elaboración de unas guías para los organismos gestores del agua.

Las jornadas pretenden poner en contacto a investigadores especializados en diferentes áreas, con representantes de la administración y las autoridades del agua con el fin de aportar distintas perspectivas respecto a un objetivo común: la mejora de la calidad de los ríos Europeos según a las directrices de la Normativa Marco del Agua.

Las jornadas “Contaminantes Emergentes y Prioritarios: Aportaciones de la Investigación Científica a los Planes de Gestión Fluvial” han sido organizadas por la “Universitat de Girona”, la Agencia Catalana del Agua”, la empresa “United Research Services” (Barcelona, Spain) y el Instituto Catalán de Investigación del Agua. Esperamos que las discusiones contribuyan a vincular el conocimiento científico y las estrategias de gestión ambiental, i que permitan presentar y discutir nuevas estrategias para la evaluación y gestión ambiental de los ríos Europeos.

El comité científico

Comité científico y organizador

Comité científico

Damià Barceló

Departament de Química Ambiental, Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Espanya

Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Spain

y
Institut Català de Recerca de l'Aigua (ICRA) - Girona, Spain
Catalan Institute for Water Research (ICRA) - Girona, Espanya
dbcqam@cid.csic.es

Roberta Carafa

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Roberta_Carafa@URSCorp.com

Anita Geiszinger

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Spain

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Espanya
anita.geiszinger@udg.es

Antoni Ginebreda

Departament de Química Ambiental, Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Espanya

Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Spain
agmqam@cid.csic.es

Helena Guasch

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain
helena.guasch@udg.es

Antoni Munné

Agència Catalana de l'Aigua (ACA) - Barcelona, Espanya
Catalan Water Agency (ACA) - Barcelona, Spain
anmunne@gencat.cat

Montserrat Real

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Montserrat_Real@URSCorp.com

Sergi Sabater

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain

y
Institut Català de Recerca de l'Aigua (ICRA) - Girona, Espanya
Catalan Institute for Water Research (ICRA) - Girona, Spain
sergi.sabater@udg.es

Comité organizador

Roberta Carafa

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Roberta_Carafa@URSCorp.com

Natàlia Corcoll

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain
natalia.corcoll@udg.edu

Anita Geiszinger

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Spain

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Espanya
anita.geiszinger@udg.es

Antoni Ginebreda

Departament de Química Ambiental, Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Espanya

Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Spain
agmqam@cid.csic.es

Helena Guasch

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain
helena.guasch@udg.es

Antoni Munné

Agència Catalana de l'Aigua (ACA) - Barcelona, Espanya
Catalan Water Agency (ACA) - Barcelona, Spain
anmunne@gencat.cat

Montserrat Real

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Montserrat_Real@URSCorp.com

Contaminantes Emergentes y Prioritarios: Aportaciones de la Investigación Científica a los Planes de Gestión de Cuenca

Emerging and Priority Pollutants: Bringing Science into
River Management Plans

Girona, 25-26 March 2010
ICRA, Girona, España

Jueves 25 de marzo del 2010

- 8:30-9:30 Inscripciones y bienvenida a los asistentes
9:30-13:00 Puesta al día sobre la investigación acerca de
contaminantes emergentes y prioritarios en el
medio ambiente: incidencias y detección precoz de
sus efectos
- 13:00-14:00 Almuerzo
14:00-15:00 Sesión de pósteres
15:00-18:00 Puesta al día sobre la investigación acerca de
contaminantes emergentes y prioritarios en el
medio ambiente: efectos en el ecosistema y
recomendaciones para futuras políticas hídricas
- 21:00-22:30 Cena conjunta en Girona

Viernes 26 de Marzo del 2010

- 9:00-9:15 Sinopsis de las contribuciones de la investigación
9:15-12:15 Consideraciones generales sobre los planes de
gestión
12:15-13:15 Mesa redonda y debate abierto
13:15-13:45 Clausura
13:45-14:45 Almuerzo

Resúmenes

Presentaciones orales

Puesta al día sobre la investigación acerca de contaminantes emergentes y prioritarios en el medio ambiente: incidencias y detección precoz de sus efectos:

1. Identificación de mutágenos en ríos europeos. **Bougeard C., Gallampois C., Kormos J.L., Simon E., Brack W., Lamoree M. y Ternes T.A.**
2. Organismos acuáticos como bioindicadores a distintas escalas. **Agbo S., Möller A., Shinn C. y Slootweg T.**
3. Contaminantes prioritarios y emergentes en el medio ambiente: recomendaciones para la estrategia de muestreo y las técnicas de análisis correspondientes. **Barceló D. y López de Alda M.**
4. Búsqueda de nuevos contaminantes: "Effect Directed Analysis" y su aplicación para el monitoreo. **Brack W., Balaam J., Bandow N., Barceló D., Brix R., Lamoree M., Leonards P., Lübcke-von Varel U., Machala M., Thomas K. y Weiss J.**
5. Contaminantes emergentes y prioritarios: el papel de WWTP para el saneamiento y la significación de los productos de transformación. **Kormos J.L., Schulz M., Wick, A. y Ternes, T.A.**
6. Aplicabilidad y limitaciones en el uso de los biomarcadores. **Segner H. y Möller A.M.**

Puesta al día sobre la investigación acerca de contaminantes emergentes y prioritarios en el medio ambiente: efectos en el ecosistema y recomendaciones para futuras políticas hídricas

7. Uso de las comunidades del biofilm para evaluar los riesgos ecológicos de los contaminantes en los ecosistemas acuáticos. **Bonnineau C., Sans-Piché F., Proia L., Lubarsky H., Geiszinger A., Romaní A.M., Schmitt-Jansen M., Gerbersdorf S. y Guasch H.**
8. Mejoras en el muestreo de datos para un diagnóstico del ecosistema más ajustado. **Faggiano L., Guénard G., Gevrey M. y Lek S.**
9. Sesión plenaria. Ecotoxicología en ecosistemas fluviales: des de ensayos estandarizados con monocultivos hasta la manipulación del ecosistema. **Clements W.**
10. Aproximaciones actuales utilizadas para la evaluación de la integridad ecológica: índices biológicos versus estudios ecotoxicológicos a nivel de comunidad. **Sabater S. y Muñoz I.**
11. Recomendaciones para el Diseño de Programas de Seguimiento de la Calidad del Agua basadas en Métodos Complementarios recientemente desarrollados. **Carafa R., Real M., Munné A., Ginebreda A. y Guasch H.**

Consideraciones generales sobre los planes de gestión

12. Contaminantes prioritarios en Francia: aplicación de la directiva 2008/105/CE. **Rebillard J.P., Allonier-Fernandes A.S., Riou C., Halkett C., Pelte T., Verlhac A. y Demouliere R.**
13. Implantación del buen estado ecológico del agua en España. Aplicación de la directiva 2008/105/CE. **Puig A.**
14. Métodos de análisis de contaminantes emergentes y prioritarios: problemas en el establecimiento de estándares de calidad. **Caixach J.**
15. Seguimiento de sustancias prioritarias y relacionadas en los ríos de Catalunya, en el marco de la aplicación de la WFD: presentación de los resultados i evaluación de riesgo. **Ginebreda A., Munné A., Carafa R. y Tirapu Ll.**
16. Control de sustancias peligrosas en la cuenca del río Ebro. **Cortés S.**

Presentaciones de pósters

1. Relación entre las variaciones espaciotemporales en la contaminación por diurón y la tolerancia inducida en biofilms en ríos. **Pesce S., Margoum C. y Montuelle B.**
2. Las respuestas de los biomarcadores múltiples de macroinvertebrados bentónicos como herramienta de diagnóstico del estado ecológico de los ríos contaminados. **Damasio J., Puértolas L., Prat N., Rieradevall M., Soares A.M.V.M. y Barata C.**
3. Patrones estructurales de las comunidades de diatomeas en ríos sometidos a una contaminación por metales pesados de diferentes países y consecuencias para el biocontrol. **Morin S., Cordonier A., Duong T.T., Lavoie I., Tornés E., Bonet B., Corcoll N., Faggiano L., Guasch H., Sabater S. y Coste M.**
4. Gradientes de pesticidas en los ríos: estudio de campo basado en peces. **Shinn C., Grenouillet G. y Lek S.**
5. Análisis EDA de una cadena alimentaria bentónica por cribado de genotoxicidad. **Simon E., Lamoree M., Leonards P., Hamers T., Reifferscheid G., Spira D., Rudoll R. y Boer J.**
6. Análisis EDA de sedimentos de un río europeo para identificar los compuestos alteradores de andrógenos. **Weiss J., Hamers T., van der Linden S., Leonards P. y Lamoree M.**
7. Identificación de los compuestos alteradores de andrógenos en sedimentos fluviales sometidos a análisis EDA con LTQ-Orbitrap. **Weiss J., Leonards P., Stroomberg G., de Boer R. y Lamoree M.**
8. Biodegradación de compuestos farmacéuticos en el tratamiento de aguas residuales y evaluación de la proteómica para dilucidar las vías metabólicas. **Collado N., Osuna B., Comas J., Rodríguez-Roda I. y Sipma J.**
9. Absorción y efectos del pentacloronaftaleno 1, 2, 3, 5 y 7 en una cadena alimentaria acuática: del sedimento, a través de organismos bentónicos (*Lumbriculus variegatus*), hasta la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). **Slootweg T., Dömötörvá M., Fabišiková A., Igunnova E., Mayer P., Möller A., Nikiforov V., Schmidt J., Smith K. y Liebig M.**
10. El uso de una nueva serie de biomarcadores de los biofilms fluviales para evaluar los efectos de los metales: contribución a la aplicación de la Directiva marco del agua. **Bonet B., Corcoll N., Morin S. y Guasch H.**
11. Predicción de los efectos de sustancias tóxicas en la diversidad funcional de especies de peces norteamericanas. **Faggiano L., de Zwar D., Dyer S., Lek S. y Gevrey M.**
12. Análisis del destino ambiental de los contaminantes emergentes y prioritarios: identificación de los productos de transformación. **Kormos J.L., Schulz M. y Ternes T.A.**
13. Evaluación de la toxicidad del agua de los ríos catalanes a partir de la distribución de sensibilidades de las especies y de redes neuronales artificiales. **Carafa R., Faggiano L., Real M., Munné A., Ginebreda A., Guasch H., Flo M. y Tirapu LI.**
14. La sensibilidad de los índices bióticos a los microcontaminantes de los ríos. Comparación de métricas a partir de las diatomeas y los macroinvertebrados. **Blanco S. y Bécares E.**

Identificación de mutágenos en ríos europeos

Bougeard C.¹, Gallampois C.¹, Kormos J. L.², Simon E.³, Brack W.¹, Lamoree M.³
y Ternes T. A.²

1. Department of Effect-Directed Analysis, Centre for Environmental Research, UFZ, Leipzig, Germany

2. Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

3. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit (VU), Amsterdam, The Netherlands

Contacto: cynthia.bougeard@ufz.de

La forma más eficaz para comprender la relación causa-efecto de los contaminantes químicos en los ecosistemas fluviales europeos pasa por la identificación de los agentes tóxicos clave y su biodisponibilidad, destino, transporte y efectos biológicos. En KEYBIOEFFECTS se han establecido varios enfoques con el objetivo de identificar los contaminantes ambientales clave, aunque la complejidad de la contaminación ambiental a menudo dificulta la identificación de agentes tóxicos desconocidos. Por consiguiente, relacionar la presencia de un compuesto o una mezcla compleja de compuestos con el impacto biológico o con los efectos observados en el medio natural constituye un auténtico desafío. Para realizar la identificación de los compuestos tóxicos en mezclas ambientales complejas, se optó por el análisis EDA (Effect-Directed Analysis) y la combinación de bioensayos, fraccionamiento y análisis químicos.

El objetivo del estudio de EDA que aquí presentamos era la identificación de los mutágenos, principalmente compuestos poliaromáticos con un mínimo de tres anillos fusionados. El método del EDA se basa en el uso de un muestreador pasivo específico, un sistema Blue Rayon (BR) capaz de absorber los compuestos químicos aromáticos planares, un método de fraccionamiento de tres pasos y un método de LC/MS/MS de alta resolución. Los métodos de fraccionamiento y análisis se desarrollaron con 50 estándares seleccionados en función de la planaridad, la mutagenicidad, la lipofiliidad, la polaridad, etc. El primer paso, la separación de los compuestos de la muestra, se basó en su comportamiento en el agua (neutro, básico o ácido). El extracto de BR se fraccionó en compuestos ácidos, básicos y neutros mediante bombas de intercambio de iones. Los dos siguientes pasos del fraccionamiento se realizaron mediante la separación con HPLC, en dos fases estáticas diferentes (fenil-hexil y C18 polimérico). Para el análisis de las fracciones mutagénicas se utilizó una Orbitrap LC/MS/MS de alta resolución (ThermoFisher), equipada con una fuente de ionización por electroespray para los compuestos más polares y una fuente de ionización química a presión para los compuestos menos polares. Para determinar la mutagenicidad se aplicó una prueba de fluctuación AMES con la *Salmonella* TA98.

Aunque el EDA se ha aplicado con buenos resultados en la identificación de los agentes tóxicos, la prueba del procedimiento de mutagenicidad puede desembocar en una interpretación errónea de los resultados. Se considera que los compuestos orgánicos hidrofóbicos se pierden por sorción en las placas de plástico que se utilizan para el cultivo de células y en las bacterias, lo que provoca una sobreestimación de la concentración real que ejerce mutagenicidad. Para abordar este problema, en este caso aplicamos una dosificación pasiva basada en el fraccionamiento de los mutágenos en juntas tóricas de silicona, lo que nos permitió disponer de una concentración definida y en disolución libre constante. Experimentos previos utilizando una nueva configuración de SPME en placas de 24 pozos

combinadas con GC-MS revelaron una difusión del compuesto similar con y sin bacterias. Por tanto, se realizaron pruebas paralelas en las que el primer lote de experimentos permitiría determinar la mutagenicidad a partir de agentes tóxicos cargados en juntas tóricas de silicona y el segundo lote serviría para cuantificar la concentración en disolución libre disponible en la prueba mutagénica, inyectando en la LC/MS el pozo con las juntas tóricas de silicona y el agua bidestilada.

Organismos acuáticos como bioindicadores a distintas escalas

Agbo S.¹, Möller A.², Shinn C.³ y Slootweg T.⁴

1. University of Eastern Finland, Faculty of Biosciences, Joensuu, Finland

2. Centre for Fish and Wildlife Health, University of Berne, Berne, Switzerland

3. Laboratoire Evolution et Diversité Biologique (EDB), CNRS, Université Paul Sabatier, Toulouse, France

4. ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörsheim, Germany

Contacto: Stanley.Agbo@joensuu.fi

1. Introducción

Para mantener y restablecer la calidad ecológica en un sistema fluvial, hay que entender su funcionamiento. Si se pueden relacionar los efectos adversos observados sobre el terreno con los factores de estrés del ecosistema que los provocan podrán tomarse medidas efectivas. Establecer este tipo de relaciones causa-efecto sobre el terreno resulta realmente complicado a causa de la complejidad del ecosistema, que puede verse influido por una gran variedad de factores (por ejemplo, los parámetros físicos y químicos, los cambios en el hábitat y la presencia de contaminantes). En el marco del proyecto Keybioeffects se están realizando varios tipos de investigación para descubrir las relaciones causa-efecto de los contaminantes en varios niveles. En esta presentación queremos centrarnos en los peces y los invertebrados acuáticos como bioindicadores del estrés tóxico. En los subproyectos de Keybioeffects se estudiaron los efectos sobre los peces y los invertebrados acuáticos en varios niveles:

- Población: a través de un control de investigación sobre el terreno y la observación de varias características de los peces.
- Individual:
 - Estudiando la bioacumulación y los efectos de las sustancias orgánicas sobre los invertebrados acuáticos en relación con las condiciones abióticas.
 - Estudiando la biodisponibilidad y los efectos (relacionados con contaminantes específicos) sobre los peces en sistemas de laboratorio.
- Molecular: estudiando el mecanismo inmunotóxico de los contaminantes en los peces.

La investigación mecanicista de los efectos de los contaminantes sobre los peces es importante porque nos permite conocer mejor de qué modo interactúan los contaminantes con los peces del entorno y como es posible que actúen. Gracias a esta información podemos empezar a establecer una relación causa-efecto y determinar qué medidas podemos adoptar para minimizar los efectos sobre el terreno.

Nuestros objetivos son, en primer lugar, mostrar la contribución de este tipo de estudios y, en segundo lugar, explicar por qué combinar los resultados de los estudios aporta valor añadido en la gestión de la calidad ecológica de los sistemas fluviales.

2. Vinculación de varios niveles

La figura 1 consiste en un esquema que muestra los vínculos existentes entre los distintos niveles.

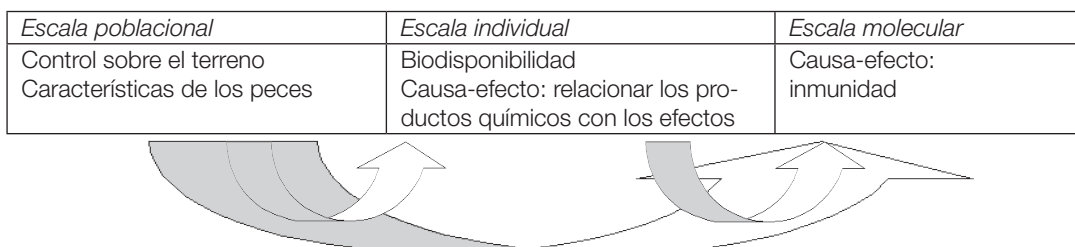


Figura 1. Relación entre los niveles de la investigación en peces

Dado que resulta imposible comprobar qué efectos específicos tiene cada sustancia química, es posible seguir la secuencia descendente representada en la figura 2, que empieza con el control del estado químico y biológico de un sistema fluvial. Si se observan efectos adversos en las poblaciones de peces, hay que pasar al nivel individual e investigar la biodisponibilidad de sustancias químicas concretas y sus efectos sobre los invertebrados y los peces. Para descubrir cómo actúa concretamente la sustancia química correspondiente, el estudio pasa al nivel molecular y examina el mecanismo de toxicidad de dicha sustancia. Esta secuencia descendente desde los efectos sobre la población hasta los efectos a nivel molecular permite relacionar de un modo más concreto los efectos con las causas específicas. La información obtenida de este modo nos permitirá tomar decisiones adecuadas sobre las medidas que hay que tomar respecto al sistema fluvial.

A modo de ejemplo de secuencia descendente, supongamos que durante el seguimiento sobre el terreno se observa que los peces presentan parásitos, lo cual puede indicar que han dejado de ser inmunes. A nivel molecular se investiga el mecanismo de toxicidad de las sustancias químicas detectadas en el río para establecer una correlación entre sus efectos sobre la inmunidad y los efectos adversos sobre la población. En este caso, se utilizan células de peces para investigar cómo responden los tejidos a la toxina.

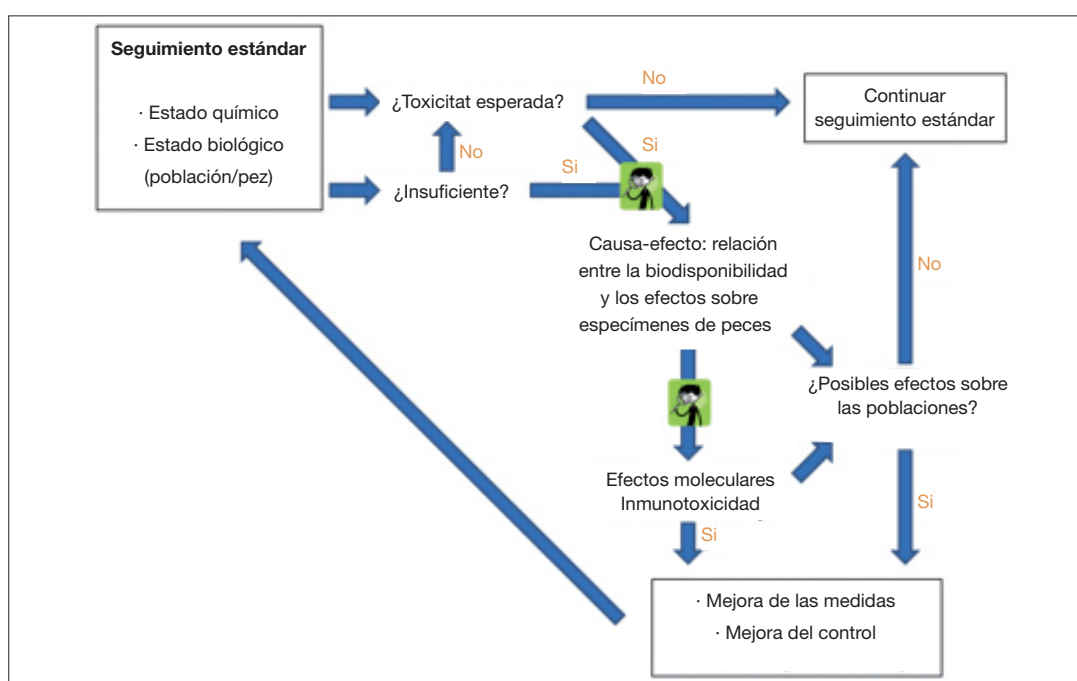


Figura 2. Diagrama de decisiones sobre la gestión del agua.

Otro ejemplo es la vinculación de los efectos tóxicos sobre los peces con la bioacumulación de agentes tóxicos en invertebrados acuáticos. Teniendo en cuenta la abundancia, el patrón de alimentación y el potencial de bioacumulación de los invertebrados acuáticos, su posición en la cadena alimentaria predispone a los peces y otras especies a los riesgos químicos derivados de la alimentación que pueden desembocar en la acumulación de sustancias químicas potencialmente dañinas en los tejidos de los peces.

Conclusión

- La investigación en varios niveles permite descubrir las relaciones causa-efecto de las sustancias químicas presentes en el medio ambiente.
- Para evaluar, mejorar y gestionar el estado ecológico de un sistema fluvial se puede utilizar una secuencia descendiente de análisis que va de la observación de efectos en los peces o en la población a la escala molecular, en la que se investiga de qué modo actúa una sustancia química determinada.
- A la hora de determinar los riesgos potenciales de las sustancias químicas puede aprovecharse la sensibilidad de las especies de invertebrados acuáticos de menor tamaño.

Agradecimiento: estos estudios fueron realizados en el marco del proyecto KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT 2006-035695), financiado por las Acciones Marie Curie del 6º Programa Marco.

Contaminantes prioritarios y emergentes en el medio ambiente: recomendaciones de estrategias de muestreo y procedimientos analíticos

Barceló D.^{1,2} y López de Alda M.¹

1. Departamento de Química Ambiental. Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua (IDAEA-CSIC)
C/ Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, España
2. Instituto Catalán de Investigación del Agua- ICRA. Parque Científico y Tecnológico de la Universidad de Girona
C/Emili Grahit, 101, Edificio H2O, E-17003 Girona, España

Contacto: dbcqam@cid.csic.es

La investigación de la presencia de contaminantes prioritarios y emergentes en el medio ambiente es de obligado cumplimiento en el primer caso (en algunos compartimentos ambientales), y necesario en el segundo, para poder prevenir y controlar la contaminación y proteger la salud humana y medioambiental de posibles efectos adversos ocasionados por la exposición a estos compuestos. Su análisis requiere, en general, el empleo de métodos muy sensibles y selectivos que permitan la determinación de los mismos a las muy bajas concentraciones a las que se encuentran en el medio ambiente, y/o a los niveles fijados como estándares de calidad.

En las últimas décadas la instrumentación analítica ha experimentado un gran desarrollo que se ha traducido en métodos más eficaces y fiables con mejores parámetros de calidad. Esta presentación aborda con ejemplos las últimas tendencias en la aplicación de esta instrumentación a la toma de muestra, extracción y análisis de contaminantes prioritarios y emergentes en el medio ambiente.

La toma de muestra es el primer y, a menudo, el más importante paso en el análisis de contaminantes ambientales, al que, no obstante, en ocasiones, no se le presta la atención debida. La mayor parte de los estudios ambientales se basan en el análisis de muestras discretas, y en menor medida, muestras integradas. En las últimas décadas, otras estrategias de toma de muestra más avanzadas, como, por ejemplo, los sistemas de muestreo pasivo, que combinan en un solo paso toma de muestra, y separación y preconcentración del analito, están siendo desarrolladas e implementadas con el doble objetivo de, por un lado, ahorrar tiempo y, por otro, ganar en información.

Las técnicas de extracción también han mejorado considerablemente a lo largo de los años. Ejemplos de técnicas de extracción avanzadas aplicadas al análisis ambiental de contaminantes prioritarios y emergentes son la extracción con líquidos presurizados (PLE), aplicada a matrices sólidas, y la extracción en fase sólida on-line para muestras de agua. Estas técnicas ofrecen importantes ventajas con respecto a las técnicas tradicionales, sobre todo, en términos de tiempo y coste del análisis, y también de consumo de disolventes y reactivos.

Para el análisis, la cromatografía de gases (GC) y la de líquidos (LC), ambas acopladas a espectrometría de masas (MS) o espectrometría de masas en tándem (M/MS), son las técnicas más utilizadas. GC-MS es la técnica de elección para el análisis de compuestos volátiles apolares y termolábiles, y la más usada en el análisis de contaminantes prioritarios, tales como hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), difenil éteres polibromados (PBDEs), bifenilos policlorados (PCBs), o dioxinas.

La mayoría de los contaminantes emergentes, no obstante, son compuestos polares cuyo

análisis requiere el empleo de LC-MS. Hoy en día, las diversas técnicas de LC-MS/MS disponibles, con analizadores de tipo triple cuadrupolo (QqQ), cuadrupolo-trampa iónica lineal (Q-LIT), y cuadrupolo-tiempo de vuelo (Q-TOF), permiten medir niveles muy bajos de los contaminantes, en el rango incluso de pg/L o pg/g, en matrices complejas, como aguas residuales, con gran selectividad. No obstante, la principal limitación de estas técnicas es la posible existencia de efectos de matriz que interfieran la señal del analito y conduzcan a resultados inexactos. Hay varias estrategias para tratar de solucionar este problema, de las cuales una de las más convenientes es el uso de compuestos marcados isotópicamente como estándares internos para la cuantificación. Estas técnicas de LC-MS/MS, las posibilidades que ofrecen en la identificación de contaminantes desconocidos, recomendaciones de operación para asegurar una identificación inequívoca de los analitos, el uso de dilución isotópica para compensar posibles efectos de matriz, etc., se ilustran con ejemplos de la investigación de contaminantes emergentes, tales como fármacos, drogas, etc., en muestras ambientales.

Búsqueda de nuevos contaminantes: “Effect Directed Analysis” y su aplicación para el monitoreo

Brack W.¹, Balaam J.², Bandow N.¹, Barceló D.^{3,4}, Brix R.⁴, Lamoree M.⁵, Leonards P.⁵, Lübbcke-von Varel U.¹, Machala M.⁶, Thomas K.⁷ y Weiss J.¹

1. Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ), Germany
2. Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science (CEFAS), United Kingdom
3. Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC), Spain
4. Catalan Institute for Water Research (ICRA), Spain
5. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands
6. Veterinay Research Institute, Czech Republic
7. Norsk Institutt for vannforsk (NIVA), Norway

Contacto: werner.brack@ufz.de

La evaluación de las masas de agua europeas de conformidad con la Directiva Marco del Agua de la UE analiza su estado ecológico a la luz de los elementos de la calidad biológica (BQE) de los peces, macroinvertebrados, fitoplancton y macrófitos, mientras que el estado químico se centra en la concentración de los 33(+8) contaminantes prioritarios actuales del agua y los sedimentos. El proyecto MODELKEY demuestra con pruebas sólidas que estos contaminantes prioritarios permiten explicar solo una mínima parte de los efectos medibles en las masas de agua europeas. Sin embargo, hay muchos otros agentes tóxicos con capacidad para influir en el estado ecológico de ríos y lagos.

Dado que la Comisión Europea es muy consciente de este problema, se ha fijado el cometido de revisar la lista de sustancias prioritarias atendiendo a dos enfoques: un enfoque basado en el control y otro basado en la modelización de la exposición, utilizando volúmenes de producción y patrones de uso. Aunque esta revisión implicará un importante avance, requerirá también afrontar posibles obstáculos, como por ejemplo los compuestos no sujetos a control, la escasez de datos disponibles y el gran número de productos derivados y de transformación. Por tanto, a los efectos de cumplir con los requisitos de la Directiva Marco del Agua y salvaguardar los recursos hídricos europeos, planteamos la posibilidad de incorporar otro enfoque, basado en pruebas de campo recogidas agua abajo de puntos de origen importantes para el conjunto de una cuenca (grandes ciudades, complejos industriales, zonas de agricultura intensiva, etc.) en depósitos integradores (embalses, estuarios, puertos, etc.) y en puntos de interés especial (abstracción de agua potable, ecosistemas con valor específico, zonas de drenaje, etc.). El enfoque más interesante para detectar los agentes tóxicos clave específicos de las masas de agua mediante pruebas de campo es el análisis EDA (Effect-Directed Analysis). Este sistema utiliza muestras de agua, sedimentos o biota recogidas en puntos de interés específico y evalúa sus efectos, en la medida de lo posible aplicando un amplio abanico de identificadores toxicológicos importantes para los ecosistemas y para la salud humana. Acto seguido, las muestras tóxicas se fraccionan para reducir la complejidad de las mezclas ambientales y se realizan bioensayos con las fracciones obtenidas para identificar las que acumulan un mayor potencial de riesgo y, por tanto, tienen más prioridad. Las fracciones de riesgo se someten a un análisis químico de objetivos y no objetivos. La dilucidación de la estructura de los elementos desconocidos aplicando técnicas de GC-MS y LC-MS, además de las herramientas informáticas más modernas, constituye uno de los puntos más complejos. Por último, solo queda confirmar que los compuestos identificados tentativamente

tienen una contribución significativa sobre el efecto medido. Con MODELKEY, el enfoque EDA ha experimentado un notable avance y se ha aplicado a varios puntos de interés de tres cuencas fluviales. Además de los ensayos clásicos *in vivo* correspondientes a los BQE de la Directiva Marco del Agua, se aplicaron diferentes sistemas de ensayos *in vitro* a un amplio abanico de indicadores endocrinos, como la estrogenicidad, la androgenicidad, los efectos mediados por el receptor Ah, la alteración de las hormonas tiroideas, la mutagenicidad y la actividad antibiótica. El EDA hizo especial énfasis en los sedimentos, a causa de su potencial de acumulación de diferentes agentes tóxicos. Aunque los contaminantes orgánicos clásicos persistentes no polares poseen todavía su importancia en las masas de agua evaluadas por MODELKEY, el EDA puso de relieve de una forma clara el elevado potencial dañino de las fracciones polares en la mayor parte de los indicadores. Dicha tendencia quedó todavía más demostrada al valorar la biodisponibilidad en los estudios de EDA. Los compuestos derivados de productos cosméticos y de higiene personal, como el triclosán biocida y varios compuestos de almizcle, fueron los principales agentes tóxicos identificados en los sedimentos. Otros ejemplos serían los compuestos de esteroides, el tris(2-cloroisopropílico)fosfato retardante de llama y diferentes nitro-HAP. Una primera comparación de los agentes tóxicos identificados mediante el enfoque basado en EDA, con intentos de priorización basados en el control y la modelización, indica que el enfoque basado en pruebas de campo permite incorporar nuevos agentes tóxicos potenciales, lo que debería tenerse en cuenta al realizar el control y la priorización. Además de su valor para la priorización, el EDA constituye una herramienta muy potente para el control de investigación en el contexto de la Directiva Marco del Agua en puntos en los que los indicadores dejen entrever (si el índice de especies en riesgo SPEAR es bajo) que los agentes tóxicos son los causantes del mal estado ecológico, aunque los análisis de objetivos no permitan justificar los efectos medidos.

Contaminantes emergentes y prioritarios: el papel de las WWTP para el saneamiento y la significación de los productos de transformación

Kormos J. L., Schulz M., Wick A. y Ternes T. A.

Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

Contacto: Ternes@bafg.de

La presencia de contaminantes emergentes (esto es, compuestos farmacéuticos, productos de higiene personal y cosmética, compuestos de perfluorados o retardantes de llama bromados) en el medio ambiente está ampliamente documentada en la bibliografía especializada. Dichos contaminantes se han detectado en varias matrices ambientales de la parte baja de $\mu\text{g/l}$, tanto en Europa como en América del Norte y Asia. La conclusión alcanzada es que el origen principal de dichos contaminantes emergentes que penetran en el medio acuático son los vertidos de las plantas de tratamiento de aguas residuales (WWTP). Sin embargo, pueden ser también consecuencia de los vertidos industriales, los vertidos ilegales, las filtraciones de los vertederos y los vertidos de aguas residuales hospitalarias.

A lo largo de los últimos años, los estudios han tratado básicamente de optimizar y desarrollar tecnologías de tratamiento de aguas residuales capaces de eliminar de forma satisfactoria dichos compuestos emergentes y evitar la proliferación de la contaminación en el medio acuático.

Para limitar o impedir que dichos compuestos penetren en las aguas superficiales y en los acuíferos, se ha estudiado la aplicación de tecnologías de membrana (membranas de nanofiltración), filtros de sorción (GAC, PAC), oxidación química (ozono, UV/H₂O₂), parámetros operativos (edad de los lodos, tiempo de retención hidráulica), así como los tratamientos biológicos (biorreactores, bacterias nitrificantes). No obstante, hasta la fecha han sido pocos los estudios que han analizado los efectos de dichos tratamientos sobre la composición de los efluentes vertidos en los ecosistemas acuáticos.

La formación y la identificación de los productos de transformación (TP) de los contaminantes emergentes es un campo de investigación relativamente nuevo, que trata de arrojar un poco de luz sobre las implicaciones de los procesos de tratamiento aplicados. En la mayoría de los casos, la eliminación de un compuesto no indica necesariamente que se haya producido mineralización, sino que, muy probablemente, el compuesto original se haya transformado de algún modo, con posibles cambios en la funcionalidad y la toxicidad. Los estudios han analizado la biotransformación de una selección de compuestos farmacéuticos (medios de contraste yodados por rayos X y opiáceos), así como la oxidación química de determinados microcontaminantes. Los resultados ilustran claramente que los productos de transformación de los compuestos farmacéuticos seleccionados se forman en sistemas de lotes a escala de banco y que se detectan los mismos TP en las plantas de tratamiento de aguas residuales y en los medios acuáticos.

Esta presentación versará sobre la aplicación de distintos tratamientos de aguas residuales, de la eficiencia de eliminación de determinados microcontaminantes polares (compuestos farmacéuticos) y también de la formación de TP tras la aplicación de ciertos procesos de tratamiento.

Aplicabilidad y limitaciones en el uso de los biomarcadores

Segner H. y Möller A.M.

Centre for Fish and Wildlife Health
University of Bern
PO Box 8466
CH-3001 Bern
Switzerland

Contacto: helmut.segner@itpa.unibe.ch

Un biomarcador puede definirse como un cambio biológico en respuesta a la exposición a compuestos químicos ambientales y/o sus posibles efectos. En teoría, cualquier respuesta que vaya desde los cambios moleculares hasta los ecológicos puede servir como biomarcador. Sin embargo, en la práctica el término “biomarcador” se limita a las respuestas moleculares, bioquímicas, celulares y fisiológicas de los organismos, mientras que las respuestas de un nivel superior se designan con el término “bioindicadores” o “indicadores ecológicos”. Algunos ejemplos de biomarcadores empleados en el control de los organismos acuáticos son las enzimas y los productos de biotransformación, las proteínas del estrés, las metalotioneínas, los parámetros inmunológicos, los parámetros endocrinos, los parámetros genotóxicos y las alteraciones histopatológicas. Debe tenerse en cuenta que, con el desarrollo de las tecnologías toxicogenómicas, es probable que aparezcan nuevos biomarcadores.

Dado que los biomarcadores indican si un organismo está expuesto a compuestos químicos tóxicos y si ello puede tener relación con efectos adversos para la salud, estos biomarcadores permiten relacionar el estado químico y ecológico de los hábitats acuáticos, tal como establece, por ejemplo, la Directiva Marco del Agua. La gran ventaja de los biomarcadores reside en su utilidad como herramienta de diagnóstico para establecer relaciones causa-efecto. En cambio es objeto de debate, su capacidad predictiva, esto es, su capacidad de pronosticar cambios ecológicos.

Los biomarcadores constituyen respuestas integradas de los organismos biológicos. Una de sus ventajas, por tanto, es que pueden mostrar el impacto acumulado de todos los compuestos químicos a los que está expuesto el organismo. En cambio, un inconveniente es que la respuesta del biomarcador no solo recibe la influencia de la exposición química, sino también de diferentes factores químicos, biológicos y físicos, como el estado reproductivo del organismo o la temperatura ambiental. Esta regulación múltiple de las respuestas de los biomarcadores debe valorarse con suma atención al diseñar los programas de control, con el objeto de poder distinguir entre la influencia de los factores de estrés y la del resto de factores.

La presentación girará en torno al alcance y las limitaciones del uso de biomarcadores para el control y la evaluación del estado de los hábitats acuáticos.

Uso de las comunidades del biofilm para evaluar los riesgos ecológicos de los contaminantes en los ecosistemas acuáticos

Bonnineau C.¹, Sans-Piché F.², Proia L.¹, Lubarsky H.³, Geiszinger A.¹, Romání A.M.¹, Schmitt-Jansen M.², Gerbersdorf S.³ y Guasch H.¹

1. Institute of Aquatic Ecology, University of Girona, Spain

2. Dep. of Bioanalytical Ecotoxicology, Centre for Environmental Research (UFZ), Leipzig, Germany

3. Institute of Hydraulics, Faculty of Civil Engineering and Environmental Science, University of Stuttgart, Germany

Contacto: chloe.bonnineau@udg.edu

De conformidad con la Directiva Marco del Agua, en 2015 todas las masas de agua deben haber alcanzado un buen estado ecológico. Según la directiva citada, el biofilm es un instrumento que debe someterse a seguimiento para evaluar la calidad de las aguas superficiales. Los biofilms son comunidades vivas que crecen en sedimentos (fitobentos) o en otras superficies (perifiton). Estas comunidades, formadas por algas, bacterias, protozoos y hongos, se encuentran incrustadas en una matriz extracelular de polímeros segregados por microbios. Las pautas para el control de los biofilms se centran en los elementos estructurales de la comunidad autotrófica, utilizando herramientas contrastadas: determinación de los taxones, abundancia e índices relacionados. Sin embargo, también hay que tener en cuenta la respuesta funcional de las comunidades, puesto que llevan a cabo funciones cruciales para los ecosistemas. Por ello, el proyecto Keybioeffects ha desarrollado varias herramientas concebidas para evaluar las respuestas funcionales de las comunidades de los biofilms.

1. ¿Cómo investigar la complejidad de los biofilms?

Las comunidades de los biofilms, que pueden encontrarse en varios niveles del ecosistema acuático, constituyen una interfaz entre el agua que fluye y el cauce o los sedimentos del curso. A causa de su omnipresencia y su importancia como productores principales en los flujos de nutrientes y las cascadas tróficas, los **biofilms constituyen unos indicadores fiables de la salud de un ecosistema integrado**. Es más, los biofilms presentan una gran riqueza de especies, entre las que figura una cantidad fiable de especies sensibles y con capacidad de discriminación, lo cual, combinado con el poco tiempo que tardan en generarse, los convierte en **un eficaz sistema de alerta rápida** de las alteraciones del ecosistema [1, 2]. Nuestros grupos han estudiado los distintos niveles de complejidad en las fases correspondientes de la colonización del biofilm, desde los monocultivos y los monocultivos mixtos

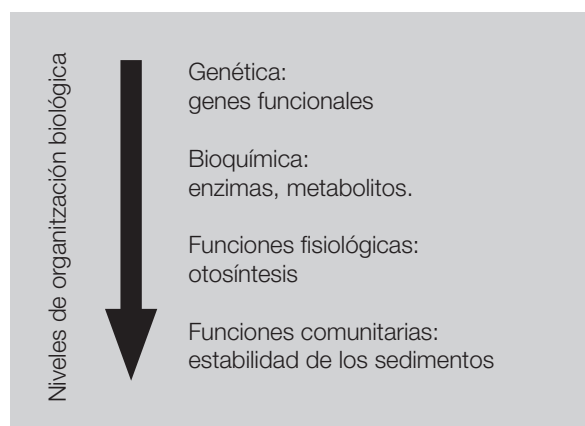


Figura 1: niveles de organización biológica integrados en el desarrollo de las herramientas. En cada nivel se indica un ejemplo de criterio de valoración.

hasta los biofilms naturales en microcosmos, mesocosmos y canales artificiales, o bien en arroyos y ríos. Para investigar la complejidad biológica de los biofilms, hemos desarrollado herramientas que analizan **varios niveles de organización biológica**, desde las respuestas genéticas hasta las funciones del ecosistema (Fig. 1). Lo que buscamos no son respuestas estructurales, sino más bien respuestas funcionales e integradas.

2. Ejemplos de investigaciones concretas:

Nuestros grupos están trabajando para desarrollar, optimizar y validar estas herramientas (Fig. 1). Actualmente se están comprobando las respuestas a los cambios abióticos y la presión tóxica a fin de investigar el potencial de las herramientas a la hora de evaluar el riesgo de los compuestos químicos presentes en el entorno.

2.1 Interacciones entre los factores ambientales y los contaminantes

Se desarrollaron biofilms en mesocosmos bajo luces de distinta intensidad y posteriormente se expusieron durante seis horas a varios herbicidas. En general, se observó que la luz bajo la que se habían desarrollado los biofilms influía en sus respuestas a los herbicidas. Los análisis de las respuestas de las enzimas antioxidantes mostraron que, según la luz bajo la cual se habían desarrollado, los biofilms utilizaban enzimas distintas para combatir el estrés oxidante provocado por los herbicidas.

2.2 Contaminantes emergentes: evaluación de la toxicidad de los betabloqueantes en biofilms fluviales [3]

Utilizando un biomarcador que comprendía varios niveles de organización biológica, se evaluó la toxicidad de tres betabloqueantes detectados en el intervalo ng/L en el río Llobregat (España). Tras 24 horas de exposición en microcosmos, se comprobó la respuesta de los marcadores. Según los resultados, el betabloqueante más tóxico era el propranolol, que afectaba considerablemente a la eficiencia fotosintética de los biofilms. Aunque cabía esperar que los betabloqueantes actuaran de modo parecido en los organismos objetivo, el enfoque que adoptamos demostró que cada uno afectaba de un modo distinto a los niveles de los biofilms y que podían tener efectos adversos una vez mezclados.

2.3 Pulsos de contaminación del triclosán y el diurón

Se utilizaron biofilms fluviales para evaluar los riesgos ecológicos asociados a la entrada de pulsos del bactericida triclosán (TCS) y el herbicida diurón (DIU). El TCS inhibió directamente la penetración de fosfatos, aumentó la mortalidad de las bacterias y afectó de modo indirecto a las diatomeas. Es posible que la inhibición de la penetración de fosfatos reduzca la capacidad de autodepuración del ecosistema fluvial. El DIU afectó sobre todo al nivel algal del biofilm: su eficiencia fotosintética disminuyó y la mortalidad de las diatomeas aumentó tras la exposición al herbicida. Estos resultados confirman que cada uno de estos productos actúa de modo distinto en el nivel de la comunidad del biofilm y ponen de manifiesto el riesgo que suponen para el río en el plano ecosistémico.

2.4 Metabolómica para comprender la toxicidad de la prometrina sobre los biofilms

Se realizó una investigación para evaluar hasta qué punto la tecnología metabolómica es adecuada para estudiar el perifiton incubado en microcosmos. Durante la incubación se expusieron algunos microcosmos al herbicida prometrina y se extrajeron los perfiles metabólicos del perifiton utilizando un “protocolo metabolómico” optimizado. Aunque se observó que tras la exposición a la prometrina se habían producido cambios en los perfiles metabólicos de la comunidad, aún no se ha conseguido reducir la variabilidad no deseada.

2.5 Componentes clave para la bioestabilización de los sedimentos

El triclosán, un contaminante antropogénico habitual y persistente en los hábitats acuáticos, afectó considerablemente al ensamblaje bacteriano expuesto directamente a él en una concentración de 2-100 µg/l. El TCS inhibió considerablemente el potencial de estabilización de las bacterias, una función ecosistémica importante en el hábitat acuático [4,5]. Ambas variables presentaron una correlación negativa. La exposición al TCS tuvo un impacto considerable en la cantidad de células bacterianas y el crecimiento bacteriano, lo cual afectó a la secreción de EPS y, con ello, a la estabilidad de los sedimentos.

3. Perspectivas del uso de biofilms para evaluar la toxicidad y realizar controles de investigación

3.1 Evaluación de la toxicidad

Los biofilms son comunidades complejas que integran, a lo largo de periodos prolongados, efectos directos e indirectos de las sustancias tóxicas, por lo cual resultan sumamente interesantes a la hora de evaluar la toxicidad. Para desarrollar bioensayos de laboratorio es necesaria cierta **estandarización de los procedimientos de colonización y evaluación de la toxicidad**. El tipo de sustratos, la colonización y el tiempo de exposición y los biomarcadores fiables y adecuados pueden variar según el hábitat y la comunidad estudiada (arroyos, lagos, sedimentos, etc.). Esta uniformización podría resultar útil para **comparar los parámetros ecotoxicológicos obtenidos para las distintas comunidades en distintos laboratorios**.

3.2 Control de investigación: el biofilm como indicador centinela de la salud del hábitat

El control de investigación puede centrarse en el desarrollo de sistemas de alerta rápida. Teniendo en cuenta que es posible que se produzcan respuestas funcionales antes de que el efecto estructural se haga visible, las herramientas desarrolladas en el marco de Keybioeffects pueden resultar útiles a la hora de realizar controles de investigación. Antes de utilizar estas herramientas de modo rutinario, hay que adaptarlas y optimizarlas para los contextos *in situ*, para lo cual se recomienda un enfoque que combine el trabajo de campo y el de laboratorio.

Las herramientas desarrolladas en el laboratorio para determinar nuevos parámetros (por ejemplo genes, enzimas o metabolitos) y funciones de la comunidad (por ejemplo, productores principales a través de la fotosíntesis o estabilidad de los sedimentos) pueden aplicarse a situaciones concretas de trabajo de campo. Posteriormente, las muestras tomadas *in situ* pueden seguir optimizándose y validarse en el laboratorio. Por último, la combinación de las herramientas adecuadas podría generar un conjunto de herramientas de biomarcadores válido para el control de investigación, por ejemplo cuando se desconocen las fuentes de la contaminación.

Referencias

- [1] Sabater, S., Admiraal, W., 2005. Periphyton as Biological Indicators in Managed Aquatic Ecosystems. In Periphyton: Ecology, exploitation and management, 159-178. CABI Publishing. M.E. Azim, M.C.J. Verdegem, van A.A. Dam, M.C.M. Beveridge.
- [2] Sabater S., Guasch H., Ricart M., Romani A., Vidal G., Klünder Ch. & Schmitt-Jansen M., 2007. Monitoring the effect of chemicals on biological communities: the biofilm as an interface. *Anal Bioanal Chem* 387, 1425-1434.
- [3] Bonninaeu, C., Guasch, H., Proia, L., Ricart, M., Geiszinger, A., Romani, A.M., Sabater, S. 2010. Fluvial biofilms: A pertinent tool to assess β -blockers toxicity. *Aquat.Toxicol.* 96, 225-233
- [4] Gerbersdorf, S.U., Manz, W., and Paterson, D.M., 2008: The engineering potential of natural benthic bacterial assemblages in terms of the erosion resistance of sediments. *FEMS Microbiology Ecology* 66, 282-294.
- [5] Gerbersdorf, S.U., Bittner, R., Lubarsky H., Manz, W., and Paterson, D.M., 2009: "Microbial assemblages as ecosystem engineers of sediment stability". *JSS, Journal of Soils and Sediments* 9, 640-652.

Mejoras en el muestreo de datos para un diagnóstico del ecosistema más ajustado

Faggiano L.¹, Guénard G.², Gevrey M.² y Lek S.²

1. Insitute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona, Spain
2. University Paul-Sabatier, CNRS-EDB (UMR 5174), Toulouse, France

contacto: leslie.faggiano@udg.edu

El uso del suelo, la contaminación y el cambio climático tienen un impacto profundo sobre los ecosistemas de agua dulce. En virtud de la Directiva Marco del Agua (DMA) de la UE, todos los Estados Miembros se han comprometido a conseguir que las aguas superficiales se encuentren en buen estado ecológico en el año 2015. La DMA pretende fomentar el desarrollo de herramientas para evaluar de modo fiable el estado químico y ecológico de las masas de agua y crear estándares comunes para la gestión de las aguas superficiales y subterráneas. El objetivo es frenar la contaminación y mejorar el estado de los ecosistemas para garantizar la protección a largo plazo de los recursos hídricos. Pese a los esfuerzos realizados por la comunidad científica, sigue resultando difícil definir con precisión qué debemos entender por “mala calidad del agua” e identificar de modo fiable las causas de su deterioro. En la mayoría de casos, la mala calidad del agua no se debe a un solo factor de estrés, sino que suele ser consecuencia de varios factores que conforman sinergias o se entorpecen mutuamente (por ejemplo la contaminación química, la alteración del hábitat o los cambios climáticos). Además, estos factores suelen formar parte de procesos espaciales y temporales que se producen en distintos niveles en el territorio. Para cumplir e incluso superar los objetivos de la DMA, obtener evaluaciones geográficas de los impactos biológicos e identificar los factores de estrés de un modo fiable es necesario contar con información explícita desde el punto de vista espacial y temporal.

Las agencias nacionales del agua europeas —los organismos encargados de aplicar la DMA— han propuesto varios programas de control, en la mayoría de casos basados en inventarios biológicos o en procesos de medición de la contaminación química, como por ejemplo la detección de pesticidas y sustancias prioritarias en los ecosistemas de agua dulce. Sin embargo, dichas agencias no acordaron entre sí los puntos de muestreo, por lo cual las actividades de control se realizan en ubicaciones distintas. A modo de ejemplo, en la cuenca del Adur-Garona (suroeste de Francia) la información sobre pesticidas (recogida por la agencia del agua francesa en 130 puntos de muestreo) y la información sobre peces (recogida por la agencia de pesca francesa en 140 puntos de muestreo) estaban demasiado alejadas geográficamente (10,5 kilómetros de media) para establecer correspondencias efectivas. El resultado de este tipo de situaciones es que solo una pequeña parte de la información obtenida tras la fusión de datos procedentes de distintas agencias puede utilizarse para investigar posibles relaciones causa-efecto entre los factores químicos y las respuestas de la comunidad biótica.

Las evaluaciones de bases de datos espaciales, que forman parte de las evaluaciones diagnósticas de cribado, tienen como objetivo desarrollar una comprensión científica de las relaciones espaciales cuantitativas existentes entre las variables medioambientales (explicativas) y biológicas (respuestas). Este tipo de actividades cada vez está más solicitado, puesto que sus resultados pueden utilizarse como orientación para la realización de estudios

de control específicos y el establecimiento de prioridades en los objetivos de gestión de divisorias de aguas regionales y locales [1]. Relacionar el estado biológico, las características del hábitat (incluidos los riesgos de mezclas) y la abundancia de especies nos permite distinguir entre causas naturales y causas antropogénicas en el deterioro de los ecosistemas.

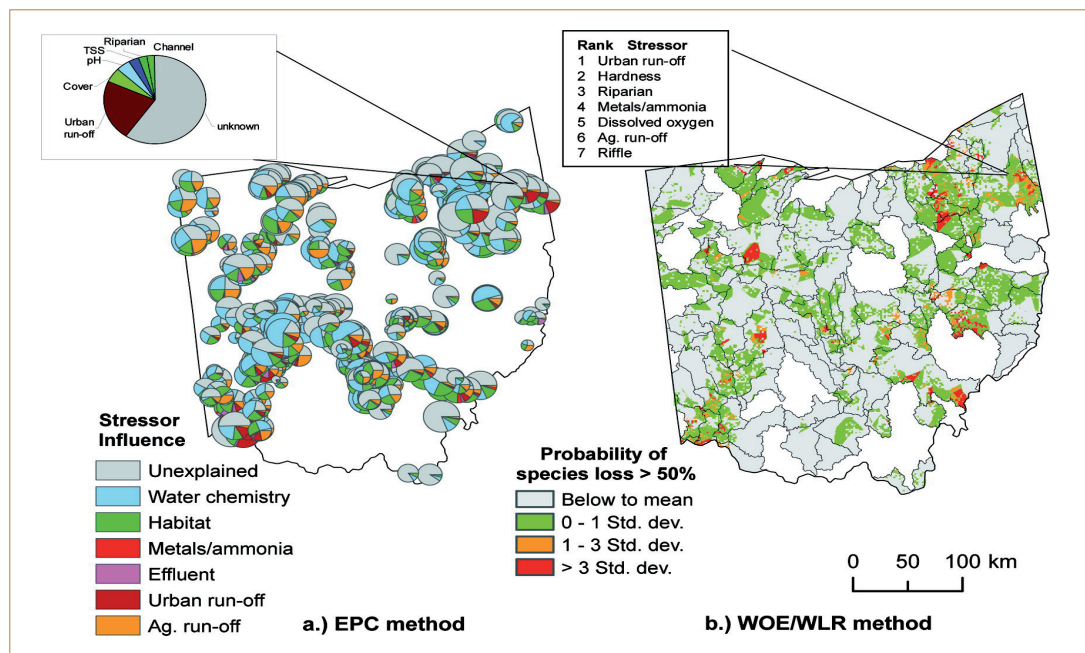


Figura 1. Resultados del mapeado SIG de Ohio: (a) Gráfico circular y mapa del modelo de efectos y causas probables. (b) Mapa rasterizado interactivo basado en el modelo de ponderación de evidencia según SIG/regresión logística ponderada. En cada uno de los mapas se muestra un ejemplo de consulta sobre la influencia de un factor de estrés en una ubicación del río Mahoning (Kapo et al., 2008).

Los métodos utilizados pueden ir de análisis de correlación sencillos a complejas técnicas de análisis multivariante [2-5]. A modo de ejemplo, la metodología denominada “gráfico circular de efecto y causa probable” (EPC, por sus siglas en inglés) permite asociar las contribuciones probables de varios factores de estrés a la pérdida de especies. El tamaño de los gráficos representa la magnitud del deterioro local (véase figura 1a de Kapo *et al.*, 2008). Otra metodología es la ponderación de pruebas según SIG/regresión logística ponderada [6-7], en la que se utilizan las relaciones entre varios puntos de formación conocidos y los patrones geográficos de dos o más variables para predecir la presencia de puntos de interés desconocidos y determinar la influencia relativa de variables concretas (véase figura 1b de Kapo *et al.*, 2008).

Hasta la fecha, en Europa existen pocas bases de datos que permitan realizar este tipo de análisis (incluidas las variables químicas, biológicas y relacionadas con el hábitat). A fin de mejorar el diagnóstico de los ecosistemas y cumplir con la DMA, las partes implicadas deben buscar soluciones para mejorar la comunicación entre agencias. En este sentido, una solución podría ser la creación de comités interagencias, como por ejemplo un comité geológico que incluya a las agencias responsables de los inventarios biológicos y el control químico que se encargue de que ambas actividades se realicen utilizando un conjunto de puntos estándar.

Este tipo de colaboración ya se ha iniciado en la cuenca del Adur-Garona y se espera una gran mejora de cara a los próximos años.

Referencias:

- [1] de Zwart D., Dyer S. D., Posthuma L., and Hawkins C. P. Predictive models attribute effects on fish assemblages to toxicity and habitat alteration. *Ecological Applications*, 2006, 16(4) :1295–1310.
- [2] Burton, G. A., Jr., Dyer, S. D., Cormier, S. M., Suter, G. W., and Dorowd-King, E. J. Identifying Watershed Stressors Using Database Evaluations Linked with Field and Laboratory Studies: A Case Example. In *Ecological Variability: Separating Natural from Anthropogenic Causes of Ecosystem Impairment*; Baird, D. J., and Burton, G. A., eds. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC): Brussels, 2001
- [3] Dyer, S. D., White-Hull, C., Wang, X., Johnson, T., Carr, G. Determining the influence of habitat and chemical factors on instream biotic integrity for a Southern Ohio watershed *Journal of Aquatic Ecosystem Stress Recovery*, 1998, 6:91-110.
- [4] Norton, S. B., Cormier, S. M., Smith, M., Jones, R. C., Berigan, M. S. Predicting levels of stress from biological assessment data: empirical models from the Eastern Cornbelt Plains, Ohio, USA *Environ. Toxicological Chemistry*, 2002, 21:1168-1175.
- [5] Kapo, K. E., Burton, G. A. A GIS-based weights-of-evidence approach for diagnosing aquatic ecosystem impairment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25:2237-2249.
- [6] Agterberg, F. P.; Bonham Carter, G. F.; Cheng, Q.; Wright, D. F. Weights of Evidence Modeling and Weighted Logistic Regression for Mineral Potential Mapping. In *Computers in Geology, 25 Years of Progress*; Davis, J. C.; Herzfeld, U. C., Eds.; Oxford University Press: Oxford, UK, 1993; pp 13– 32.
- [7] Sawatzky, D. L.; Raines, G. L.; Bonham-Carter, G. F.; Looney, C. G. ArcSDM2: Arcmap Extension for Spatial Data Modelling Using Weights of Evidence, Logistic Regression, Fuzzy Logic and Neural Network Analysis.
- [8] Kapo, K., Burton G. A., de Zwart, D., Posthuma, L and Dyer, S. D. Quantitative Lines of Evidence for Screening-Level Diagnostic Assessment of Regional Fish Community Impacts: A Comparison of Spatial Database Evaluation Methods. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42 (24) : 9412–9418.

Agradecimientos. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto europeo KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT-2006-035695).

Ecotoxicología en ecosistemas fluviales: desde ensayos estandarizados con monocultivos hasta la manipulación del ecosistema

William H. Clements

Department of Fish, Wildlife and Conservation Biology
Colorado State University
Fort Collins, CO 80523, USA

Contacto: willc@warnercnr.colostate.edu

El control biológico de las comunidades acuáticas se emplea rutinariamente para evaluar el impacto de los factores de estrés físicos y químicos en la integridad ecológica. Uno de los puntos de partida básicos de este tipo de evaluaciones es que los patrones de composición de la comunidad observados en los puntos contaminados reflejan la presencia de factores de estrés concretos. Sin embargo, las diferencias entre los puntos de referencia y los puntos contaminados se deben a numerosos factores, que van más allá de los factores de estrés físicos y químicos, por lo que demostrar la existencia de una relación de causalidad en un estudio descriptivo constituye una tarea sumamente compleja. A modo de ejemplo, los estudios descriptivos pueden mostrar que la composición de la comunidad de dos puntos es distinta, pero con frecuencia no son capaces de señalar la causa concreta de las diferencias. Aunque se han propuesto enfoques desarrollados en el ámbito de la epidemiología humana (Hill, 1965) para trazar relaciones causales más sólidas en las bioevaluaciones de cursos de agua (Suter, 1993), según algunos investigadores ninguna técnica resulta tan efectiva como la manipulación experimental (Lubchenco y Real, 1991).

La relación entre el enfoque descriptivo y el enfoque experimental en el ámbito de la ecotoxicología puede describirse como un continuo a lo largo de dos ejes, de los cuales uno refleja el grado de control y reproducción experimental y el otro, la relevancia ecológica del sistema de ensayo correspondiente. Los enfoques experimentales tradicionales utilizados en toxicología acuática, como por ejemplo los bioensayos de laboratorio con una sola especie, son la base en la que suelen sustentarse los responsables de la regulación medioambiental (Cairns, 1986). Estos experimentos, que se utilizan de modo rutinario para detectar los efectos de las sustancias químicas y establecer criterios químicos, permiten controlar de un modo estricto las variables de confusión y son fáciles de reproducir. Sin embargo, las pruebas de toxicidad realizadas en el laboratorio no son realistas desde el punto de vista ecológico y no explican los efectos indirectos que se producen en las comunidades naturales. Por su parte, los estudios puramente descriptivos (por ejemplo, el biocontrol rutinario) no se pueden reproducir en sentido estricto y en ellos no se asignan aleatoriamente los tratamientos a las unidades experimentales. El resultado es que las diferencias entre los puntos de referencia y los puntos contaminados no pueden atribuirse directamente a ningún factor de estrés concreto.

Se han desarrollado enfoques más sofisticados —como experimentos con microcosmos y mesocosmos— para evaluar las respuestas en niveles superiores de la organización biológica (por ejemplo, las comunidades y los ecosistemas), pero dichos enfoques no se suelen utilizar en un contexto normativo. Mi opinión es que tradicionalmente ha existido una preferencia por los enfoques reduccionistas (como por ejemplo las pruebas de toxicidad a una sola especie) que ha impedido la aplicación de estos enfoques experimentales, más realistas desde el punto

de vista ecológico. Realizar experimentos a una escala espacio-temporal relevante desde el punto de vista ecológico en los niveles superiores de la organización biológica (poblaciones, comunidades, ecosistemas) es una tarea compleja, por lo que algunos investigadores han puesto en tela de juicio la validez de los estudios a pequeña escala (Carpenter, 1996). Para que los enfoques experimentales desempeñen un papel más importante en la ecotoxicología, los investigadores deben despejar las dudas existentes en torno a la escala espacio-temporal y diseñar estudios más realistas desde el punto de vista ecológico.

Además de evaluar los efectos en la escala espacio-temporal adecuada, los ecotoxicólogos son cada vez más conscientes de la necesidad de utilizar una amplia variedad de criterios de valoración significativos desde el punto de vista ecológico. En los niveles inferiores de organización suelen producirse respuestas a un contaminante concreto (por ejemplo, la inducción de metalotioneína y la exposición a metales pesados) que, en general, tienen una base mecanicista conocida, pero todavía no se ha conseguido describir las consecuencias ecológicas de la mayoría de respuestas bioquímicas, fisiológicas e individuales para las poblaciones y las comunidades. Aunque las respuestas en los niveles más elevados de la organización biológica son más relevantes desde el punto de vista ecológico, también resultan menos específicas y carecen de una base mecanicista. Por este motivo, algunos investigadores son partidarios de integrar las mediciones en todos los niveles de la organización biológica al evaluar los efectos de los factores de estrés (Clements, 2000). Los experimentos en microcosmos y mesocosmos suelen comprender la exposición de sistemas complejos, por lo cual proporcionan interesantes oportunidades para investigar las respuestas a los factores de estrés en los distintos niveles de la organización biológica.

La transición desde enfoques puramente descriptivos hasta otros experimentales y la capacidad de poner a prueba hipótesis a través de experimentos controlados suele considerarse una señal de madurez científica (Popper, 1972). Aunque en el ámbito de la ecotoxicología se está produciendo la transición indicada, existen dudas considerables en torno a las escalas espacio-temporales y los niveles de la organización biológica adecuados. En esta presentación describiré los puntos fuertes y débiles de los enfoques experimentales en distintas escalas espaciales y temporales en el ámbito de la ecotoxicología. Utilizando datos recabados durante un experimento natural realizado a lo largo de 20 años en un arroyo contaminado con metales, explicaré de qué modo los resultados de los enfoques descriptivos y experimentales pueden integrarse para mostrar las relaciones causa-efecto existentes entre los factores de estrés y las respuestas ecológicas. Asimismo, utilizaré los resultados de una manipulación *in situ* realizada a gran escala en 12 arroyos distintos a fin de demostrar que los efectos de los factores de estrés deben investigarse en el marco del cambio global. El objetivo de la presentación es mostrar de qué modo pueden utilizarse los resultados de los estudios descriptivos y experimentales para establecer relaciones causales e identificar concentraciones seguras de contaminantes prioritarios y emergentes en ecosistemas acuáticos.

Referencias

- Cairns, J.Jr. 1986. The myth of the most sensitive species. *BioScience* 36: 670-672.
- Carpenter, S.R. 1996. Microcosm experiments have limited relevance for community and ecosystem ecology. *Ecology* 77: 677-680.
- Clements, W.H. 2000. Integrating effects of contaminants across levels of biological organization: an overview. *J. Aquat. Eco. Stress Recov.* 7: 113-116.
- Hill, A.B. 1965. The environment and disease: association or causation. *Proceed. Royal Soc. Medicine* 58: 295-300.
- Lubchenco, J. and L.A. Real. 1991. Manipulative experiments as tests of ecological theory. *In Foundations of ecology. Edited by L.A. Real and J.H. Brown.* Chicago University Press, Chicago, pp. 715-733.
- Popper, K.R. 1972. *The Logic of Scientific Discovery*, 3rd edition. Hutchinson, London, England.
- Suter, G.W. 1993. *Ecological Risk Assessment*. Lewis Publ., Chelsea, MI.

Aproximaciones actuales utilizadas para la evaluación de la integridad ecológica: índices biológicos versus estudios ecotoxicológicos a nivel de comunidad

Sabater S.^{1,2} y Muñoz I.³

1. Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona, Campus Montilivi, 17071 Girona
2. Catalan Institute for Water Research (ICRA), Scientific and Technologic Park of the University of Girona, 17003 Girona, Spain.
3. Department of Ecology, University of Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, Spain.

Contacto: sergi.sabater@udg.edu or imunoz@ub.edu

Para cumplir la Directiva Marco del Agua (DMA), los estados miembros y la comunidad científica deben reflexionar sobre la protección y la gestión de los sistemas de agua dulce. De conformidad con la Directiva, para determinar el estado ecológico de las masas de agua hay que tener en cuenta no sólo las presiones a las que se encuentran sometidos los distintos grupos bióticos sino también la desviación de la comunidad respecto a sus condiciones inalteradas.

Con frecuencia resulta difícil establecer relaciones causa-efecto entre las características químicas del agua de los ríos y las comunidades biológicas. Además, es posible que la degradación del estado ecológico se deba a otros factores de estrés. Las métricas más habituales—basadas en las estructuras de las comunidades, como, por ejemplo, los índices bióticos—no reflejan los efectos combinados de los factores de estrés y, además, debe tenerse en cuenta que dichos efectos varían de un nivel biológico a otro. Para evaluar la relevancia de varios factores de estrés el análisis debe incluir diferentes parámetros y utilizar análisis estadísticos multivariantes a fin de confirmar tanto el papel que desempeña cada factor de estrés como las interacciones entre ellos.

En el marco del proyecto MODELKEY se han desplegado varios enfoques de experimentación, observación y modelización destinados a valorar el potencial y las limitaciones de la evaluación conjunta de múltiples factores de estrés. Utilizando las herramientas disponibles, se han podido analizar los datos a varios niveles (incluidos la comunidad, los compuestos químicos y los descriptores de toxicidad) a fin de evaluar el impacto de los contaminantes clave en la estructura y la biodiversidad de la comunidad. El Llobregat es uno de los ríos examinados por el proyecto. Su cuenca se caracteriza por la existencia de grandes fluctuaciones en el caudal, consecuencia de la influencia del clima mediterráneo. La cabecera del río se caracteriza por el desarrollo de actividades agrícolas, mientras que en el curso intermedio e inferior se observa el impacto de la industria y de las aglomeraciones urbanas. En la cuenca del río Llobregat viven más de cinco millones de personas, y la contaminación química va acompañada de salinidad, enriquecimiento de nutrientes, deterioro del hábitat y abstracción de agua. En varios puntos del curso inferior del río los análisis químicos han revelado la presencia de contaminantes prioritarios y emergentes, como, por ejemplo, pesticidas (Ricart *et al.* 2009), compuestos farmacéuticos (Muñoz *et al.* 2009) y compuestos alquilfenoles (Petrovic *et al.*, 2002).

En primavera y otoño de 2005 y 2006 se tomaron simultáneamente varias muestras químicas y biológicas en el curso inferior del río Llobregat. Posteriormente se utilizaron

técnicas estadísticas de análisis multivariante para determinar la mejor correspondencia entre los patrones entre muestras de una comunidad y los patrones de variables ambientales asociadas a dichas muestras. Los resultados mostraron que las comunidades estudiadas se ven afectadas por factores diferentes:

- Las variables físicas y químicas (principalmente la temperatura y la concentración de sulfatos) explican el alto porcentaje de variabilidad de las actividades exoenzimáticas del nivel bacteriano del biofilm.
- La presencia y la concentración de los pesticidas, así como la disponibilidad de los nutrientes, estaban relacionados con los cambios en la biomasa, la composición de la comunidad y la eficiencia fotosintética de las algas del biofilm.
- La abundancia de biomasa en la comunidad macroinvertebrada estaba relacionada con la concentración de determinados agentes farmacéuticos (principalmente antiinflamatorios).

Aunque estos resultados no permitieron hallar pruebas de relaciones causa-efecto, los experimentos ecotoxicológicos realizados en el laboratorio confirman parcialmente los resultados obtenidos en el trabajo de campo. La combinación de ambos enfoques puede ser determinante para descubrir cuáles son los factores responsables de los cambios en las comunidades biológicas. Los estudios de campo pueden resultar útiles para encontrar la correlación espacial y temporal del factor de estrés y sus efectos en los gradientes, mientras que los experimentos con las comunidades realizados en el laboratorio son necesarios para examinar las hipótesis derivadas de los estudios de campo. La combinación entre el conocimiento de los patrones del estudio de campo y las actividades de laboratorio puede resultar útil para orientar las posteriores actividades de control, así como para identificar los taxones clave y utilizarlos como indicadores ecológicos de factores de estrés específicos (o predominantes) en caso de que haya múltiples factores de estrés. Puede que esta vía también resulte útil para tomar decisiones de gestión de riesgos en el futuro.

Recomendaciones

Proponemos varias medidas y recomendaciones para mejorar la evaluación y la gestión de las cuencas fluviales:

- Toma de muestras simultánea en el tiempo y el espacio que comprenda parámetros físicos, químicos y biológicos.
- Realización de cribados generales en las cuencas de los ríos a fin de detectar nuevos componentes y determinar su posible toxicidad para la comunidad con vistas a la selección de los componentes que se incluirán en el control rutinario.
- Modelización para realizar estimaciones de los impactos de los distintos factores de estrés en las comunidades biológicas, tanto localmente como a nivel de la cuenca.

Referencias

- Muñoz, I., López-Doval, J.C., Ricart, M., Villagrasa, M., Brix, R., Geszinger, A., Ginebreda, A., Guasch, H., López de Alda, M., Romani, A.M., Sabater, S., Barceló, D. 2009. Bridging levels of pharmaceuticals in river water with biological community structure in the Llobregat river basin (NE Spain). *Environmental Toxicology and Chemistry* 28 (12):2706-2714.
- Petrovic M, Solé M, López de Alda MJ, Barceló D. 2002. Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. *Environ Toxicol Chem* 21: 2146-2156.
- Ricart, M., Guasch, H., Barceló, D., Brix, R., Conceicao, M.H., Geszinger, A., López de Alda, M., López-Doval, J.C., Muñoz, I., Postigo, C., Romani, A.M., Villagrasa, M., Sabater, S., 2009. Primary and complex stressors in polluted Mediterranean rivers: pesticide effects on biological communities. *Journal of hydrology*, DOI: 10.1016/j.jhydrol.2009.08.014

Recomendaciones para el diseño de programas de seguimiento de la calidad del agua basadas en métodos complementarios desarrollados recientemente

Carafa R.¹, Real M.¹, Munné A.², Ginebreda A.³ y Guasch H.⁴

1. URSCorp, C/ Urgell 143, 4ª planta, 08036 Barcelona, Spain

2. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

3. Department of Environmental Chemistry, ID/EA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

4. Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona, Campus Montilivi s/n - Facultat de Ciències, 17071 Girona, Spain

Contacto: Roberta_Carafa@URSCorp.com

Introducción

De conformidad con los principios de la Directiva Marco del Agua de la Unión Europea, los aspectos más importantes al evaluar el estado químico de las masas de agua europeas son: la identificación de los principales agentes tóxicos, la cuantificación de la influencia de las condiciones medioambientales sobre la disponibilidad de dichos agentes y el análisis de sus efectos en mezclas de diferentes niveles del ecosistema.

Los organismos regionales con competencias en la materia deben complementar los sistemas habituales de control con herramientas más sostenibles, tanto en lo que respecta al recorte de los costes y del impacto ambiental como al aumento de la fiabilidad y la eficiencia en la identificación de las fuentes de contaminación. Dichas herramientas incipientes de control (como el biocontrol o los biomarcadores, etc.) ofrecen una imagen más completa del estado general del ecosistema, pues permiten relacionar el estado químico con el estado ecológico.

La integración del control de la exposición y de los efectos abrirá la puerta al diseño de programas de control más rentables, además de sentar las bases para elaborar una estrategia de control de la contaminación basada en riesgos.

El presente estudio forma parte del proyecto europeo Keybioeffects, incluido en la red de formación Marie Curie, que pretende mejorar nuestro conocimiento de los problemas relacionados con la preservación de la biodiversidad y la contaminación del agua de los ríos europeos, para luego transmitirlo a los distintos agentes implicados. Actualmente, se encuentra en fase de desarrollo un documento de orientación basado en casos concretos, concebido como herramienta de apoyo para las agencias del agua al evaluar el estado químico y ecológico en relación con los contaminantes prioritarios y emergentes.

Herramientas de apoyo a la toma de decisiones y priorización

La reducción de la frecuencia de muestreo puede justificarse utilizando sensores como herramientas de cribado (por ejemplo, sistemas de detección precoz). El uso del muestreo en los análisis químicos puede subordinarse a la respuesta de un sensor, cuando supera un determinado umbral.

Un buen ejemplo de dicho funcionamiento es el uso de biofilms fluviales o biomarcadores de peces como bioindicadores de alteraciones medioambientales en el ecosistema acuático.

Dichos sistemas continuos en tiempo real proporcionan una evaluación y detección rápida de la variación temporal en la calidad del agua. Estos métodos permiten detectar el desequilibrio biológico y la toxicidad potencial en una fase inicial, además de evaluar la acción conjunta de varios factores de estrés (como factores ambientales y la concentración de agentes tóxicos), lo que da pie a reconocer interacciones y efectos imprevistos.

La identificación de zonas problemáticas, así como también de espacios sin problemas, es posible mediante el uso de técnicas avanzadas de modelización, por ejemplo al agrupar masas de agua para realizar un control.

Los modelos predictivos y de diagnóstico aplicados a los datos de control y de emisión existentes pueden utilizarse para predecir el impacto de los principales contaminantes emergentes en la biodiversidad de los ecosistemas de agua dulce.

Dichos modelos pueden predecir los factores de estrés que han contribuido al deterioro de las comunidades bióticas, así como ofrecer un análisis predictivo de los efectos más probables de agentes tóxicos concretos o combinados sobre la biodiversidad.

En concreto, proponemos una evaluación de los riesgos basada en la distribución de las sensibilidades de las especies (SSD) y varias redes neuronales artificiales (ANN) para analizar grandes conjuntos de datos e identificar patrones de diversidad espacial de toxicidad química.

Herramientas de control

Con respecto a los programas de control de la calidad del agua, es necesario un gran esfuerzo de armonización de los métodos a escala europea, sobre todo en el caso de las cuencas fluviales internacionales. Una completa cobertura espacial y la regularidad en los muestreos son factores cruciales para elaborar un mapa de la evolución de contaminación a lo largo del tiempo y del espacio. De este modo, podrán aplicarse herramientas de modelización y, por consiguiente, identificar mejor los espacios críticos que necesitan más atención para reducir la contaminación.

Los instrumentos de muestreo pasivos ofrecen una evaluación representativa de la calidad del agua en una cuenca fluvial con fluctuaciones rápidas en las concentraciones de contaminantes y permiten integrar la concentración de contaminantes durante todo el periodo de muestreo. Además, resultan útiles para concentrar compuestos que presentan niveles ambientales bajos y pueden emplearse cuando el periodo de muestreo es corto (unas horas) o simplemente para muestreos de agua puntuales. Las técnicas de muestreo, extracción y limpieza son sencillas, al igual que el transporte y el almacenamiento de las muestras.

En la Directiva, la Comisión Europea subraya la importancia de los sedimentos y la biota en el proceso de distribución y bioacumulación de compuestos tóxicos, razón por la que obliga los estados miembros a elaborar un programa de control de la calidad que tenga en cuenta ambos factores.

Se proponen nuevos métodos para la limpieza y la extracción de agentes tóxicos de los sedimentos y los peces.

Parece también importante tener en cuenta la biodisponibilidad y unas concentraciones de agentes tóxicos de exposición en agua fiables: los sistemas de extracción con separación (por ejemplo, SPME) o los modelos de biodisponibilidad pueden ayudar a realizar estimaciones de la separación de los agentes tóxicos en el agua y también de los riesgos tóxicos asociados.

Un uso continuado de dichas técnicas permite determinar las tendencias a largo plazo en las cargas de agentes tóxicos.

Herramientas de investigación

En caso de deterioro de la biota, y cuando la causa del deterioro sea desconocida (buen estado químico según las sustancias prioritarias), pueden combinarse los métodos de control con bioensayos in vitro y métodos de fraccionamiento y aislamiento químico. Actualmente, se encuentran en proceso de desarrollo nuevos métodos de muestreo, fraccionamiento y análisis para cribar e identificar contaminantes emergentes desconocidos en una mezcla compleja de muestras ambientales complejas y también para identificar los contaminantes con efectos perjudiciales sobre la biota, como mutagenicidad, carcinogenicidad, alteración endocrina y trastornos en el desarrollo (por ejemplo, Brack, 2003).

Otro recurso para identificar el estrés tóxico cuando la respuesta de los bioensayos es ambigua o poco concluyente son las técnicas del campo de la metabolómica, concebidas para entender y comparar los procesos fisiológicos en condiciones naturales o de estrés.

Se recomiendan herramientas de investigación específicas para solucionar problemas relacionados con la bioacumulación, las vías de degradación y las propiedades de capacidad de enlace y estabilidad de los sedimentos.

Referencias

Brack, W., 2003. Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures? *Anal Bioanal Chem* 377:397–407.

Contaminantes prioritarios en Francia: aplicación de la Directiva 2008/105/CE

Rebillard J.P.¹, Allonier Fernades A.S.², Riou C.³, Halkett C.⁴ Pelte T.⁵,
Verlhac A.⁶ y Demouliere R.⁷

1. Agence de l'eau Adour-Garonne, France.
2. Agence de l'eau Seine Normandie, France.
3. Agence de l'eau Rhin Meuse, France.
4. Agence de l'eau Artois Picardie, France.
5. Agence de l'eau Rhône Méditerranée et Corse, France.
6. Agence de l'eau Loire Bretagne, France.
7. Ministère de l'écologie, de l'énergie, du développement durable et de la mer, France.

Contacto: jean-pierre.rebillard@eau-adour-garonne.fr

En Francia, los organismos encargados del control del estado químico del agua son las agencias del agua.

Con el objeto de evaluar el estado químico de las masas de agua se realiza un control de 41 sustancias prioritarias o prioritarias peligrosas (véase el apéndice X de la Directiva Marco del Agua).

Una directiva europea denominada “de sustancias prioritarias” define las Normas de Calidad Ambiental (NCA) para dichas moléculas (concentración máxima aceptable y concentración media anual).

El objetivo es comparar dichas normas con las medias y máximas observadas.

En 2007 se tomaron muestras de estas 41 sustancias con dos periodicidades distintas:

- Una vez al mes en los ríos.
- Cuatro veces al año en los lagos.

Se han extraído muestras de todas las estaciones de agua de la red de control.

Sin embargo, en total solo disponemos de datos de mediciones correspondientes a una cuarta parte del territorio francés (aproximadamente 2.400 estaciones para unas 9.300 masas de agua).

De conformidad con el decreto de 17 de marzo de 2006, que explica el contenido del plan director SDAGE (herramienta de planificación de la gestión hídrica), en estos 2.400 puntos se ha determinado el estado químico de las masas de agua dulce superficiales. El Ministerio de Medio Ambiente, Energía, Desarrollo Sostenible y el Mar (MEDDM, por sus siglas en francés) decidió limitar el número de masas de agua sin estado químico, por lo cual cada agencia del agua asigna un estado químico utilizando sus propios métodos. Dichos métodos pueden resumirse en dos: I) evaluación de las presiones e impactos, y II) idéntica calidad para la masa de agua principal y sus afluentes.

Implantación del buen estado ecológico del agua en España. Aplicación de la directiva 2008/105/CE.

Puig A.

Dirección General del Agua. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino.
Plaza San Juan de la Cruz, s/n. 28071-MADRID, España

Contacto: apinfante@mma.es

La aprobación en el año 2000 de la Directiva Marco de Aguas, supuso un hito en el desarrollo de la política de aguas y en particular de su protección frente a sustancias peligrosas. La nueva directiva incorpora las obligaciones previstas en la legislación anterior, añadiendo nuevas exigencias. La estrategia para combatir la contaminación de las aguas por sustancias peligrosas se desarrolla fundamentalmente en el artículo 16. *Estrategias para combatir la contaminación de las aguas*, y debe implantarse conforme a los requisitos previstos en el artículo 10. *Planteamiento combinado respecto de las fuentes puntuales y difusas de la misma*.

El artículo 16 establece que la protección de las aguas frente a las sustancias prioritarias debe desarrollarse atendiendo a dos grandes frentes. Por un lado, se debe actuar sobre las fuentes de emisión, estableciendo medidas encaminadas bien a reducir, bien a eliminar el vertido de estas las sustancias en el medio acuático. Por el otro lado, es preciso actuar en el medio receptor, de modo que siempre se cumpla la norma de calidad ambiental. Esta norma es un umbral de concentración en el medio por debajo del cual la presencia de una sustancia no genera efectos negativos para el medio acuático.

Los principales cometidos sobre los que se que se desarrolla la estrategia son tres. Inicialmente deben seleccionarse las sustancias relevantes, es decir, las sustancias peligrosas cuya presencia supone un riesgo para el medioambiente o, a través de él, para la salud humana. Seguidamente deberán implantarse las medidas de reducción de la contaminación para cada sustancia seleccionada y, finalmente, calcularse la norma de calidad ambiental en el medio acuático.

El desarrollo de la estrategia prevista en el artículo 16 se concreta en la aprobación de dos actos legislativos derivados. El primero es la Decisión N° 2455/2001/CE de 20 de noviembre de 2001 por la que se aprueba la lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas, y que constituye el Anexo X de la Directiva Marco del Agua. A continuación, y tras varios años de intensa negociación, la Directiva 2008/105/CE de 16 de diciembre de 2008 relativa a las normas de calidad ambiental (en adelante NCA) en el ámbito de la política de aguas, por la que se modifican y derogan las Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE y 86/280/CEE del Consejo.

Esta última Directiva fija una NCA para cada sustancia en aguas continentales, costeras y de transición. Además existe una NCA en biota para el mercurio, hexaclorobenceno y hexaclorobutadieno. La NCA se expresa como media anual y concentración máxima admisible. En compuestos orgánicos, los valores de NCA oscilan desde 0,2 ng/L para el tributilestano ó 0,5 ng/L en difeniléteres bromados hasta 2,5 µg/L para el triclorometano. En metales los valores son de 0,05 µg/L para el mercurio a 20 µg/L para el níquel. Se deja a juicio de los Estado Miembros la definición de NCAs en sedimento y biota para determinadas categorías de masas de aguas. Los valores aprobados en estas matrices deberán tener el mismo grado

de protección que los definidos para aguas. Esta posibilidad es importante para sustancias fuertemente hidrófugas como son los cloroalcanos o los pentabromodifeniléteres. También es interesante para el control de aguas costeras, donde las matrices que suelen capturarse para medir los efectos de contaminación son los mejillones o el sedimento.

Paralelamente, la directiva obliga a vigilar la tendencia en el contenido de los contaminantes en sedimento o biota. En concreto, se deben controlar las sustancias que tienden a acumularse en estas matrices, como son los metales, los hidrocarburos aromáticos policíclicos o las sustancias organocloradas. En este caso se trata de vigilar que la concentración de estas sustancias no aumente con el tiempo.

Es importante señalar que la Comisión está trabajando en la modificación de la relación de sustancias prioritarias con la intención de añadir más. Por el momento está manejando una lista tentativa de 42 sustancias obtenidas tras un nuevo proceso de priorización, entre las que se encuentran los contaminantes incluidos en Anexo III de la Directiva de NCAs, tanto los históricos como PCBs o Dioxinas u otros menos habituales en las redes de control, como EDTA, PFOs, Glifosato, AMPA, Bisfenol A. Se han añadido algunos nuevos, y en algunos casos emergentes como Trichlorfon, Dichlorvos, Ibuprofeno, Irgarol o Carbamazepin entre otros.

Los controles analíticos deberán cumplir los requisitos previstos en la Directiva 2009/90/CE de la Comisión de 31 de julio de 2009 que establece las especificaciones técnicas del análisis químico y del seguimiento del estado de las aguas, sedimentos y seres vivos, así como normas dirigidas a demostrar la calidad de los resultados analíticos.

Todo este marco legislativo complejo y extenso, señala las directrices sobre las que se está desarrollando la estrategia sobre sustancias prioritarias en España. Además, se aplican los mismos principios para proteger a las aguas frente a otro tipo de sustancias, es decir, sobre sustancias preferentes priorizados a nivel estatal y contaminantes relevantes de cada Demarcación Hidrográfica. Así, si por ejemplo existe buen estado químico de las aguas superficiales cuando se cumplen las NCA de la Directiva 2008/105/CE. Análogamente, existe buen estado ecológico –en relación a los contaminantes- si se cumplen las NCA de las sustancias preferentes establecidas en el Real Decreto 995/2000 de 2 de junio para aguas continentales y en las Secciones B y C del Anexo I, y Anexo II del Real Decreto 258/1989, de 10 de marzo, sobre vertidos de sustancias peligrosas desde tierra al mar. Así mismo, para otros contaminantes hay que cumplir con las NCA calculadas con arreglo a las disposiciones del Anexo V de la Directiva Marco del Agua y aprobadas en cada Plan Hidrológico.

Desde el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, la Dirección General del Agua conjuntamente con la Dirección General de Sostenibilidad de la Costa y el Mar están trabajando en la elaboración del texto de transposición de la Directiva. Así mismo tiene previsto estudiar la posibilidad de fijar NCAs de referencia en sedimento y biota.

Métodos de análisis de contaminantes emergentes y prioritarios: problemas en el establecimiento de estándares de calidad

Caixach J.

Mass Spectrometry Laboratory & Organic Pollutants in Aquatic Environment.
Institute of Environment Assessment & Water Research .
IDAEA- CSIC

Contacto: Josep.Caixach@cid.csic.es

La Directiva Marco del Agua (DMA) (2000/60/CE) regula la contaminación química de las masas de agua europeas a través de la Decisión 2455/2001/CE, por la que se aprueba la lista de sustancias prioritarias y el establecimiento de Normas de Calidad Ambiental a escala europea a través de la Directiva de desarrollo 2008/105/CE. En lo relativo a los contaminantes específicos de las cuencas fluviales, la DMA obliga a identificar los contaminantes relevantes a escalas espaciales más reducidas, así como a adaptar los valores límite adecuados en el ámbito estatal. La Directiva de Aguas Subterráneas (2006/118/CE) garantiza la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro. Para ello, los estados miembros deben crear programas de control de la calidad del agua que incluyan una amplia selección de contaminantes para identificar los posibles riesgos, los temas prioritarios y los aspectos sobre los que hay que actuar.

La Directiva de desarrollo de la DMA 2008/105/CE, relativa a las Normas de Calidad Ambiental en las políticas hídricas, regula la contaminación por sustancias químicas en las aguas europeas. En un borrador de Directiva de la Comisión relativa al control analítico de la calidad se proponen indicadores de efectividad.

El centro de investigación JRC IES ha ido acompañando la elaboración de la próxima Directiva de desarrollo de la DMA COM(2006)398, relativa a las Normas de Calidad Ambiental, primero desde la presidencia del grupo de trabajo de Análisis y Control de Sustancias Prioritarias (2003-2004), luego desde la copresidencia de la elaboración del borrador del Documento guía sobre aguas superficiales en el marco de la Actividad de Control Químico (2005-2006) y, actualmente, desde la copresidencia de la Actividad de Control Químico para el periodo 2007-2009.

Uno de los principales objetivos de la actividad de control químico es evaluar los métodos disponibles para comprobar el cumplimiento de la DMA. Es importante que todas las metodologías satisfagan los requisitos de control químico establecidos en la DMA, por ejemplo a la hora de proporcionar datos de concentración con una calidad suficiente para evaluar si se cumple la Directiva. Una buena orientación sobre las disposiciones generales de control de la DMA es el Documento guía n.º 7 “Control de conformidad con la Directiva Marco del Agua”, mientras que para cuestiones relacionadas con la regulación de las aguas subterráneas se aplica el Documento Guía n.º 15 de la Estrategia Común de Implementación de la DMA, “Seguimiento de las aguas subterráneas”, así como al Documento Guía n.º 19 de la estrategia citada, “Control químico de las aguas superficiales”.

En el borrador de Directiva de la Comisión, por la que se adoptan especificaciones técnicas para el control químico y la calidad de los resultados analíticos de conformidad con la Directiva 2000/60/CE, del Parlamento Europeo y el Consejo, se formula una propuesta de

indicadores de efectividad de las mediciones analíticas de los métodos de control químico. En dicho borrador se establece que, para cumplir con la DMA, el límite de cuantificación debe ser $\leq 30\%$ al estipulado en las Normas de Calidad Ambiental (Directiva 2009/90/CE).

En general, las metodologías que se utilizan para analizar los contaminantes orgánicos presentes en el agua están consolidadas y se basan en GC/MS (o en GC/HRMS) y en LC-MS (o en LC-MS/MS). Sin embargo, los valores de algunas de las Normas de Calidad Ambiental propuestas son muy bajos (por ejemplo, el del endosulfán [Σ : 5-0,5 ng/l], el de PBDE [Σ : 0,5-0,2 ng/l] y el de algunos HAP [Σ : 2 ng/l]). Los límites de cuantificación de estos valores deben situarse en niveles de ng/l (ppt) o inferiores.

Para detectar las concentraciones reducidas de contaminantes incluidas en los ejercicios interlaboratorios en el marco del Análisis del Control Químico es necesario utilizar un tipo de instrumental sofisticado (GC-HRMS, GC-MS/MS o LC-MS/MS) que actualmente se encuentra fuera del alcance de los laboratorios convencionales.

Por otra parte, para analizar los contaminantes orgánicos denominados “emergentes” (por ejemplo, los PFOS, los fármacos, los productos farmacéuticos, la NDMA, etc.) también se necesita un tipo de instrumental sofisticado (MS/MS y HRMS). En suma, pues, los métodos no se han comprobado por completo, no existen materiales de referencia y hay pocos ejercicios interlaboratorios disponibles, por lo que, a día de hoy, resulta imposible realizar comparaciones rigurosas.

En este contexto, es imprescindible desarrollar metodologías fiables y sólidas que cumplan los estándares de QA/QC.

Referencias

Comparison of Monitoring Approaches for Selected Priority Pollutants in Surface Water, CMA on-site 2 ; G Hanke et al ; JRC-IES, 2009.

Focal Point: Emerging Contaminants and Water Analysis (W.Giger) , *Anal Chem* 2008.

Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues. S. Richardson; *ES&T*, 40 (33) , 2008.

Seguimiento de sustancias prioritarias y relacionadas en los ríos catalanes, en el marco de aplicación de la WFD: presentación de resultados y evaluación de riesgos

Ginebreda A.¹, Munné A.², Carafa R.³ y Tirapu LL.²

1. Department of Environmental Chemistry, ID/EA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

2. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

3. URSCorp, C/ Urgell 143, 4ª planta, 08036 Barcelona, Spain

Contacto: agmqam@cid.csic.es or anmunne@gencat.cat

Resumen

Los datos recabados en las campañas de control de sustancias prioritarias, sustancias prioritarias peligrosas y otras sustancias relacionadas en los ríos catalanes, organizadas por la Agencia Catalana del Agua entre los años 2008 y 2009 en el contexto de la Directiva Marco del Agua, pueden presentarse e interpretarse con una doble perspectiva:

a) Componente normativo

Los resultados del estudio de las sustancias prioritarias y las sustancias prioritarias peligrosas se han evaluado según los criterios de la Directiva 2008/105/CE. En el caso de los compuestos fuera del alcance de dicha normativa, se han analizado, siempre que ha sido posible, de conformidad con otras legislaciones locales aplicables, como el RD 995/2000 y el RD 140/2003.

Además, se han revisado los datos disponibles sobre inventarios de emisiones, obtenidos en aplicación de la normativa E-PRTR en plantas de tratamiento de aguas residuales de más de 100.000 hab/eq. Asimismo, los datos se han relacionado de forma tentativa con los valores de los ríos.

b) Evaluación de riesgos

Se ha planteado una posible evaluación de los riesgos ecotoxicológicos utilizando técnicas avanzadas de modelización secuencial con un subconjunto del conjunto íntegro de controles de calidad químicos (232 puntos de muestreo y 60 contaminantes).

Los datos sobre la concentración de contaminantes en el agua se trataron previamente para calcular la fracción biodisponible, en función de las propiedades de la sustancia y las condiciones ambientales locales. Los valores recabados se utilizaron para predecir el impacto potencial de las sustancias tóxicas sobre la biota acuática en mezclas complejas y también para identificar puntos problemáticos. Se utilizó la evaluación de la exposición con la distribución de sensibilidades de las especies (SSD) y las normas de toxicidad de la mezcla para determinar la fracción afectada potencialmente por distintas sustancias (msPAF).

Para entender y visualizar la distribución espacial del riesgo tóxico, se han probado distintas técnicas de representación, como los mapas autoorganizados (SOM), derivados de las redes neuronales artificiales, el análisis de conglomerados y el análisis de componentes principales (ACP).

En este proceso, se han identificado los puntos problemáticos y los patrones de contaminación, una información que será de gran utilidad a los gestores de recursos hídricos al evaluar los riesgos químicos de las cuencas fluviales.

Control de sustancias peligrosas en la cuenca del Ebro

Cortés S.

 Área de Calidad de Aguas
 Confederación Hidrográfica del Ebro, Spain

Contacto: scortes@chebro.es

La Directiva Marco de Aguas 2000/60/CE (DMA) y las directivas contempladas en su anexo IX, así como la Directiva 2006/11/CE (versión codificada de la Directiva 76/464/CEE) obligan a los Estados Miembros a establecer estaciones de vigilancia para el control de la contaminación causada en el medio acuático (agua, sedimentos y biota) por sustancias peligrosas aguas abajo de sus puntos de emisión.

Dado que las sustancias denominadas peligrosas pueden ser de origen industrial (puntual) y/o agrícola (difuso) no es posible aplicar los mismos criterios en el diseño de la red de vigilancia para todas las sustancias, sino que se debe diferenciar a los plaguicidas del resto. Por ello, la Confederación Hidrográfica del Ebro ha definido dos redes con distintos puntos de control, frecuencia de muestreo, parámetros de medida y matrices de análisis:

- Red de Control de Plaguicidas (RCP) destinada a controlar la contaminación de origen agrícola/difuso
- Red de Control de Sustancias Peligrosas (RCSP) para el control de la contaminación de origen fundamentalmente industrial/puntual.

El objetivo de la Red de Control de Plaguicidas es vigilar la contaminación causada por los plaguicidas de Lista I, Lista II Preferentes y Lista de Sustancias Prioritarias, aguas abajo de zonas principalmente agrícolas, y en particular comprobar el cumplimiento de las Normas de Calidad (NCAs) establecidas en la legislación vigente..

La Red de Control de Sustancias Peligrosas está implantada en la Confederación Hidrográfica del Ebro (CHE) desde el año 1992. El objetivo de esta red es controlar la concentración de las sustancias peligrosas (Sustancias Prioritarias, sustancias de Lista I y sustancias de Lista II Preferentes) aguas abajo de los principales focos de emisión. El control exige la toma de muestras de agua, de sedimentos y de peces. En agua se han fijado Normas de Calidad Ambiental (Directiva 2008/105/CEE y Real Decreto 995/2000), y en sedimentos y peces el objetivo es que las concentraciones en estas matrices no aumenten significativamente con el tiempo (principio básico de mejora continua o standstill).

En la tabla 1 se indica el número de estaciones que integran actualmente estas redes de control, así como las matrices analizadas y la frecuencia de muestreo.

Tabla 1: Características de la RCSP y de la RCP.

	Nº Estaciones	Matrices analizadas	Frecuencia de muestreo
XCSP	18	Agua	12/año
		Sedimentos	1/año
		Peces	1/año
XCP	22	Agua	5/año

En la Red de Plaguicidas se controlan 37 sustancias distintas y en la Red de Peligrosas un total de 47 contaminantes.

Los resultados obtenidos en la Red de Control de Sustancias Peligrosas en la campaña del 2008 indican que los puntos que presentan una mayor contaminación de origen industrial son las estaciones de Gállego en Jabarrella, Ebro en Ascó, Cinca en Monzón, Zadorra en Vitoria-Trespuentes, Ebro en Tortosa y Huerva en Zaragoza-Fuente de la Junquera.

Los contaminantes que se han encontrado en concentraciones importantes en algunos de los análisis realizados en el año 2008 en cada una de las matrices analizadas en la Red de Peligrosas son los siguientes:

- **Agua:** selenio, níquel, mercurio y diclorometano.
- **Sedimento:** níquel, cromo, zinc, cadmio, DDT`s, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(g,h,i)perileno y benzo(k)fluoranteno.
- **Peces:** DDT`s, zinc, hexaclorobenceno y mercurio.

En los análisis realizados en el año 2008 en la Red de Control de Plaguicidas se ha visto que de los 37 plaguicidas analizados sólo nueve (atrazina, desetilatrazina, clorpirifos, isoproturón, metolacloro, molinato, simazina, terbutilazina y 3,4-dicloroanilina) han superado alguna vez los 0.1 µg/L. Además, en el año 2008 sólo la terbutilazina y la 3,4-dicloroanilina han presentado una concentración superior a 1 µg/L.

Las estaciones que presentan un mayor nivel de plaguicidas son las de Flumen en Sariñena, Alcanadre en Ontiñena, Arba de Luesia en Tauste y Clamor Amarga en Zaidín.

Relación entre las variaciones espaciotemporales en la contaminación por diurón y la tolerancia inducida en biofilms en ríos

Pesce S., Margoum C. y Montuelle B.

Cemagref, UR MAEP, 3 bis quai Chauveau, CP220, 69336 Lyon Cedex 09, France

Contacto: bernard.montuelle@cemagref.fr

Los biofilms presentan un gran potencial como indicadores precoces de situaciones de riesgo en el control de los ríos. Al evaluar los efectos de los agentes tóxicos en las comunidades microbianas naturales, resulta especialmente importante realizar una distinción entre dichos efectos y aquellos derivados de otros parámetros ambientales. Los enfoques basados en la tolerancia inducida por la contaminación en comunidades (PICT) ofrecen la posibilidad de aislar parcialmente los efectos de agentes tóxicos individuales de un ecosistema complejo estudiando los cambios en la sensibilidad de las comunidades. Para comprobar la validez de la metodología PICT en la evaluación de riesgos, el propósito del estudio fue analizar si los niveles de tolerancia al diurón inducida en comunidades de biofilm fotoautótrofas eran proporcionales a su nivel previo de exposición *in situ* a este herbicida. El proyecto llevó a cabo un estudio de campo durante 9 meses en dos puntos de un mismo río afectado por una contaminación crónica de diurón. El estudio realizó estimaciones mensuales, a partir de bioensayos por fotosíntesis de corto alcance, de las variaciones espaciotemporales de la capacidad de tolerancia al diurón en las comunidades fotoautótrofas. Aunque observamos una posible influencia de tres variables ambientales covariantes (nitratos, conductividad y temperatura) en los procesos inducidos de tolerancia al diurón, los análisis estadísticos demostraron sin lugar a dudas que el principal factor que explica la variación en la sensibilidad al diurón era el nivel de exposición al diurón durante los periodos de colonización de los biofilms. En este sentido, se constató una correlación exponencial importante entre los valores de EC50 y las concentraciones de diurón *in situ*, lo que confirmaría que el método PICT puede revelarse como una herramienta importante para controlar la situación de los ríos, actuando como complemento de otros métodos actuales basados en bioindicadores.

Las respuestas de los biomarcadores múltiples de macroinvertebrados bentónicos como herramienta de diagnosis del estado ecológico de los ríos contaminados

Damasio J.^{1,2}, Puértolas L.³, Prat N.³, Rieradevall M.³, Soares A.M.V.M.² i Barata C.¹

1. Department de Química Ambiental, (IDAEA-CSIC). Jordi Girona, 18-26, 08034, Barcelona (Espanya)

2. CESAM & Departamento de Biología, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

3. Department d 'Ecologia (UB), Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, (Espanya)

Contacto: cbmqam@cid.csic.es

Los índices biológicos de las especies de macroinvertebrados bentónicos se emplean actualmente en todo el mundo para medir la calidad de las aguas fluviales a partir de criterios ecológicos. Dichos índices determinan el estado ecológico global de la comunidad biótica, pero no detectan los efectos específicos de los contaminantes del agua en concentraciones relevantes desde un punto de vista ambiental. En este estudio, presentamos los datos experimentales sobre las respuestas bioquímicas de especímenes transplantados y otros recogidos en el campo de dos taxones (*Echinogammarus sp.* e *Hydropsyche exocellata*) en localidades con distintos niveles de contaminación. El estudio se desarrolló en las cuencas fluviales de los ríos Llobregat, Besòs y Ebro. Para evaluar los efectos de un amplio abanico de fuentes de contaminación, como glisofatos, productos farmacéuticos, compuestos organoclorados y mercurio, se utilizó un enfoque basado en biomarcadores múltiples, que implicó el uso de hasta diez marcadores distintos. Las respuestas biológicas oscilaron desde la biotransformación hasta las enzimas antioxidantes y los marcadores de daños en tejidos. Los resultados recabados permitieron constatar: (1) una buena repetibilidad de las respuestas de los marcadores en diferentes localidades a lo largo del tiempo, (2) una actividad superior de biotransformación y de las enzimas antioxidantes en las localidades contaminadas y en las especies tolerantes, (3) respuestas más elevadas de los organismos recogidos en el campo en comparación con los especímenes transplantados y (4) la viabilidad de los biomarcadores para diferenciar y, por consiguiente, identificar las principales fuentes de contaminación que afectan la biota fluvial. Además, como sucede con los índices biológicos, las respuestas de los biomarcadores registradas en poblaciones situadas en localidades de referencia y localidades contaminadas permitieron también discriminar distintos grados de contaminación. Así, pues, los resultados ponen de manifiesto que las respuestas de los biomarcadores múltiples de las especies bentónicas de macroinvertebrados aportan más información útil y complementaria que las respuestas obtenidas con índices bióticos y que, además, son necesarias para caracterizar el estado ecológico de los ecosistemas fluviales mediterráneos. Esta constatación resulta especialmente interesante en localidades con una contaminación moderada, donde los factores de estrés afectan ya las comunidades, aunque no con una intensidad suficiente que permita su detección con índices bióticos. En resumen, las respuestas de los biomarcadores múltiples actúan como señales de advertencia que nos indican que, si no se producen cambios en la tendencia actual de aumento de los contaminantes, el estado ecológico de las localidades con una contaminación moderada puede empeorar en un futuro. Este estudio fue financiado por los proyectos españoles CGL2008-01898 y CGL2007-64551/HID y por el programa ECOSTRIMED de la Diputación de Barcelona (www.ecostrimed.net).

Patrones estructurales de las comunidades de diatomeas en ríos sometidos a una contaminación por metales pesados de diferentes países y consecuencias para el biocontrol

Morin S.¹, Cordonier A.², Duong T.T.³, Lavoie I.⁴, Tornés E.⁵, Bonet B.⁶, Corcoll N.⁶, Faggiano, L.⁶, Guasch H.⁶, Sabater S.^{5,6} y Coste M.¹

1. Cemagref, UR REBX, France
2. Service de l'écologie de l'eau, Switzerland
3. Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam
4. INRS CETE, Canada
5. ICRA, Spain
6. Universitat de Girona, Spain

Contacto: Soizic.Morin@cemagref.fr

A partir de estudios de campo desarrollados en distintos países (Francia, España, Suiza, Canadá y Vietnam), se creó una gran base de datos de diatomeas de río (con más de 450 taxones) correspondientes a ríos expuestos a diferentes cargas de metales pesados en sus aguas. Tras armonizar la taxonomía, se analizaron los patrones de la estructura de las diatomeas a partir de 163 muestras, todas ellas recogidas en sustratos duros.

La biotipología (esto es, la estructuración de los conjuntos de datos de diatomeas) pone de manifiesto que los factores que influyen en las especies son dos: el contexto hidroecorregional y las cargas de los metales. El proyecto estudia los parámetros ambientales más importantes estructuralmente y emplea los análisis diferenciales para determinar la relevancia de algunas especies concretas (como, por ejemplo, la *Eolimna minima* o la *Achnantheidium minutissimum*), así como las formas teratológicas para el control de la contaminación por metales pesados.

Gradientes de pesticidas en los ríos: estudio de campo basado en peces

Shinn C., Grenouillet G. y Lek S.

Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, CNRS/Univ. Paul Sabatier, Toulouse, France

Contacto: candida.shinn@gmail.com

Para el año 2015, las aguas superficiales de todos los estados miembros de la Unión Europea deben presentar un estado químico y ecológico bueno o muy bueno, según estipula la actual Directiva Marco del Agua. Por consiguiente, el alcance actual de la contaminación de los entornos acuáticos causada por actividades antropogénicas exige una evaluación activa del impacto en los organismos expuestos.

Con el objetivo de comprobar si los distintos niveles de pesticidas (básicamente herbicidas) presentes en los ríos del suroeste de Francia afectan a las poblaciones de peces, nos propusimos analizar su estado de salud y sus rasgos. La clasificación de los puntos de muestreo según las concentraciones de pesticidas se basa en los datos de los estudios anuales realizados por la agencia del agua local. Dicho procedimiento da como resultado distintas clasificaciones de las localidades muestreadas en función de los diversos índices de toxicidad empleados, como por ejemplo, msPAF total (fracción [de las especies] afectadas potencialmente por varias sustancias), el índice msPAF por modo de acción tóxico y las unidades tóxicas (TU).

Tras la elección *a priori* de las localidades, durante los meses de otoño de 2008 y mediante pesca eléctrica, se recogieron ejemplares de leuciscos cabezudos (*Leuciscus cephalus*) y gobios (*Gobio gobio*). El objetivo era comprobar si los peces de localidades contaminadas, comparados con los de zonas más limpias, presentaban: un estado nutricional más bajo (factor de condición), indicios de deterioro de la salud (índices organosomáticos), limitaciones de crecimiento, síntomas de estrés químico tóxico (cambios morfométricos y asimetría fluctuante) y concentraciones más elevadas de pesticidas en el organismo.

Los leuciscos cabezudos de los espacios más contaminados (con niveles del índice msPAF y TU más elevados) presentaban unos índices gonadosomáticos más altos y unos factores de condición más bajos, mientras el índice hepatosomático no mostraba una tendencia específica a lo largo de dicho gradiente. En los leuciscos cabezudos de los ríos más contaminados se detectaron unos niveles más altos de pesticidas y numerosos cambios histológicos hepáticos. Los gobios de las localidades más contaminadas presentaban una concentración más baja de parásitos externos, así como una altura significativamente superior y unos ojos y una aleta dorsal significativamente más pequeños. Dichos resultados deben terminar aún de desarrollarse y corregirse teniendo en cuenta la diversidad genética de las poblaciones de gobios.

Los resultados y las conclusiones de nuestro estudio formarán parte de un proceso general de toma de decisiones relacionadas con la gestión de los recursos hídricos.

Análisis de efecto directo (EDA) de una cadena alimentaria bentónica por cribado de genotoxicidad

Simon E.¹, Lamoree M.¹, Leonards P.¹, Hamers T.¹, Reifferscheid G.², Spira D.², Rudoll R.²
y de Boer J.¹

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit (VU), De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam,
The Netherlands

2. Federal Institute of Hydrology (BfG), Am Mainzer Tor 1, D-56068 Koblenz, Germany

Contacto: eszter.simon@ivm.vu.nl

Según revelan numerosos estudios, las aguas superficiales europeas presentan contaminación por compuestos químicos mutágenos de acción directa e indirecta (Vahl *et al.* 1997, Keiter *et al.* 2006, Barceló *et al.* 2007, Higley *et al.* 2009, etc.). Para identificar de una forma eficaz dichos mutágenos y evaluar su presencia en nuestros sistemas de agua dulce, el EDA (Effect Directed Analysis) constituye una herramienta de control de gran interés en el contexto de los programas de control de calidad de la Directiva Marco del Agua.

El EDA se utilizó para detectar la actividad genotóxica en muestras bióticas y abióticas pertenecientes a una cadena alimentaria bentónica de un medio acuático.

Las muestras, extraídas de la zona del delta del Scheldt occidental (Holanda), se sometieron a ensayos de genotoxicidad. Las pruebas abarcaron desde los sedimentos, las partículas en suspensión (SPM), lombrices, gambas, berberechos y solletas. Las muestras abióticas (sedimentos, SPM) y el conjunto homogeneizado de las muestras bióticas se extrajeron y limpiaron utilizando una combinación de diálisis, cromatografía de permeación por gel (GPC) y cromatografía líquida de alta precisión de fase normal (NP-HPLC). Este método, dividido en varias etapas de tratamiento de las muestras para eliminar los lípidos y demás interferencias, ya se había desarrollado y validado con anterioridad. Los extractos se sometieron a la prueba de fluctuación AMES, para detectar mutaciones puntuales, así como al ensayo de Comet, para hallar daños en el ADN inducidos por los compuestos químicos de los extractos.

El primer cribado de genotoxicidad de los extractos reveló una elevada citotoxicidad en los bioensayos, pese al complejo procedimiento de tratamiento de las muestras. Para evitar el posible efecto de enmascaramiento de citotoxicidad sobre los indicadores genotóxicos, las muestras se fraccionaron todavía más mediante una columna de sílice para eliminar sus constituyentes citotóxicos y para facilitar así el cribado de la genotoxicidad. Gracias al nuevo fraccionamiento se pusieron de manifiesto efectos genotóxicos débiles en algunas fracciones de las muestras, una reacción previsible habida cuenta de la elevada reactividad de las sustancias genotóxicas en general.

Palabras clave: cadena alimentaria, Effect Directed Analysis (EDA), genotoxicitat, bioassajos suborganismics

Análisis de efecto directo (EDA) en sedimentos de un río europeo para identificar los compuestos alteradores de andrógenos

Weiss J.¹, Hamers T.¹, van der Linden S.², Leonards P.¹ y Lamoree M.¹

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Faculty of Earth and Life Sciences, VU University, De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands
2. BioDetection Systems B.V., Kruislaan 406, 1098 SM Amsterdam, The Netherlands

Contacto: marja.lamoree@ivm.vu.nl

En la mayoría de zonas sometidas a la influencia de la actividad antropogénica, las muestras pueden contener una mezcla compleja de sustancias con potencial para mostrar efectos toxicológicos en los organismos, como por ejemplo efectos endocrinos. Los estudios basados en el análisis EDA (Effect Directed Analysis) utilizan técnicas de fraccionamiento capaces de identificar las fracciones que contienen compuestos tóxicos para, a continuación, realizar la caracterización tóxica de la muestra. El estudio que presentamos se centra en una muestra seleccionada tras realizar un cribado de toxicidad de diferentes sedimentos fluviales en el marco del proyecto Modelkey de la UE (SSPI-CT-2003-511237-2).

La muestra activa seleccionada tiene su origen en el río Schijn, afluente del Scheldt (Bélgica). El bioensayo utilizado para realizar el análisis es el ensayo de detección de andrógenos AR-CALUX® (Chemically Activated Luciferase gene eXpression), que permite buscar tanto respuestas agonistas como antagonistas.

El objetivo del estudio de EDA es identificar los compuestos alteradores de andrógenos responsables de las respuestas detectadas en el bioensayo. El proceso consta de varios pasos: bioensayos del extracto completo, primera fracción (LC de fase inversa) y segunda fracción (LC de fase normal), análisis químico, identificación de los compuestos, confirmación analítica y, por último, confirmación de toxicidad. En este contexto, se expone la aplicación de estrategias de limpieza y fraccionamiento, el uso de diferentes técnicas de identificación química analítica, así como las posibilidades de interpretación de los efectos agonistas y antagonistas en los EDA. Una de las conclusiones obtenidas fue que el cribado del extracto completo no basta para revelar los efectos androgénicos, como consecuencia de la supresión del efecto agonista por la presencia de compuestos antagonistas.

Identificación de los compuestos alteradores de andrógenos en sedimentos fluviales sometidos a análisis de efecto directo (EDA) con LTQ-Orbitrap

Weiss J.¹, Leonards P.¹, Stroomberg G.², de Boer R.² y Lamoree M.¹

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Faculty of Earth and Life Sciences, VU University, De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands
2. Rijkswaterstaat, Waterdienst, Zuiderwagenplein 2, 8224 AD Lelystad, The Netherlands

Contacto: marja.lamoree@ivm.vu.nl

En las últimas décadas se ha prestado mucha atención a la presencia de compuestos alteradores endocrinos en el medio ambiente. Dichos compuestos van desde las hormonas naturales y sintéticas hasta los compuestos químicos industriales. En zonas sometidas al influjo de la actividad antropogénica, las muestras pueden presentar una mezcla compleja de estos compuestos. Los estudios con EDA (Effect Directed Analysis) aplican técnicas de fraccionamiento basadas en bioensayos para identificar las fracciones que contienen compuestos activos y, de este modo, reducir la complejidad de la matriz de la muestra antes de proceder al análisis químico de la fracción. La identificación de los agentes tóxicos clave y la confirmación definitiva de su toxicidad e identidad son piezas clave para que los estudios con EDA lleguen a buen puerto.

En este estudio, se realizó un EDA en una muestra de sedimentos del río Schijn (Bélgica), cuya actividad antropogénica se determinó a través del bioensayo AR-CALUX®. El cometido era identificar los compuestos androgénicos, tanto agonistas como antagonistas, responsables de los efectos sobre las fracciones activas del EDA. El análisis químico se realizó en un espectrómetro de masa LTQ-Orbitrap. En cuanto al cribado de las fracciones activas y no activas, se utilizó software de libre difusión, que permitió diferenciar los picos de interés. Los criterios aplicados fueron: (1) relación de > 100 entre la intensidad máxima en las fracciones no activas y activas, (2) presencia obligatoria de las fórmulas químicas sugeridas extraídas de la masa concreta en la base de datos espectral NIST y (3) un número CAS para poder adquirir los compuestos y utilizarlos para efectuar los estudios de confirmación.

Alrededor de una cuarta parte de los picos discriminados se identificaron tentativamente (por ejemplo esteroides anabólicos, antidepresivos, fragancias de almizcle y agentes aromatizantes). Los resultados indican que la aplicación de un instrumento de masa de precisión puede ser de gran utilidad para identificar los compuestos desconocidos de un complejo.

Biodegradación de compuestos farmacéuticos en el tratamiento de aguas residuales y evaluación de la proteómica para dilucidar las vías metabólicas

Collado N.¹, Osuna B.¹, Comas J.¹, Rodríguez-Roda I.² y Sipma J.¹

1. Laboratory of Chemical and Environmental Engineering, University of Girona, Science and Technologic Park, Ed. Jaume Casademont, c/Pic de Peguera 15, E17003, Girona, Spain
2. ICRA (Catalan Institute for Water Research), Scientific and Technological Park of the University of Girona, H2O Building, Emili Grahit 101, 17003 Girona, Spain

Contacto: u1055969@correu.udg.edu

En los últimos tiempos ha aumentado la preocupación en torno a la presencia de compuestos farmacéuticos en las aguas residuales domésticas, lo que, combinado con los riesgos potenciales derivados de su posible transferencia al medio ambiente, pone de manifiesto la urgente necesidad de conocer su destino en el proceso de tratamiento de las aguas residuales. Gracias a la mejora de las herramientas analíticas se ha detectado un amplio abanico de compuestos farmacéuticos en aguas residuales domésticas sin tratar, así como en los ecosistemas receptores. Aunque es mucha la incertidumbre que rodea los efectos potenciales de dichos compuestos en los ecosistemas acuáticos, el principio de precaución conducirá, en un futuro, a la probable aprobación de legislaciones más estrictas en materia de tratamiento de aguas residuales.

Numerosos estudios han revelado unas eficiencias de eliminación con grandes fluctuaciones en un amplio abanico de compuestos farmacéuticos, fenómeno que a menudo se ha vinculado a la biodegradación. Sin embargo, hasta la fecha sólo se han dilucidado los mecanismos de eliminación de unos pocos compuestos, y en ocasiones en experimentos de laboratorio y en compuestos con elevadas concentraciones relativas. El estudio de los mecanismos de biodegradación de los compuestos farmacéuticos en concentraciones ambientalmente significativas plantea importantes dificultades en lo tocante a su análisis. Para conocer el destino de los compuestos farmacéuticos en las plantas de tratamiento de aguas residuales debemos conocer mejor los mecanismos de biodegradación y las limitaciones de las tasas de conversión en las vías de biodegradación, lo que nos permitirá realizar una estimación del potencial de acumulación de los compuestos intermedios.

En este proyecto nos centramos en la implicación de grupos tróficos de microorganismos específicos y en la dilucidación de los mecanismos de biodegradación. El comportamiento de los compuestos farmacéuticos (carbamazepina, ácido clofibrico, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno) se estudió en un reactor SBR de laboratorio. Las tasas de eliminación en diferentes condiciones operativas de un compuesto farmacéutico nos aporta información acerca de la intervención de grupos tróficos de microorganismos específicos en su degradación. Estos datos pueden resultar de gran utilidad para la optimización del tratamiento biológico de las aguas residuales y la eliminación simultánea de los contaminantes principales y los microcontaminantes específicos, como los compuestos farmacéuticos, que obligan a adoptar nuevos enfoques en materia de tratamiento de aguas residuales. Aunque son muchos los informes publicados en torno a la biodegradación de los compuestos farmacéuticos, falta todavía mucha información acerca de los mecanismos utilizados o las vías de biodegradación. Teniendo en cuenta que estos contaminantes se detectan en niveles de trazas, no disponemos

de una información completa en lo relativo a su degradación biológica. Por consiguiente, el uso de técnicas microbiológicas convencionales probablemente resulte ineficaz para dilucidar los mecanismos de biodegradación. En este estudio evaluamos el uso de la identificación de proteínas para observar la expresión diferencial de las proteínas en diferentes condiciones de crecimiento, por ejemplo ante la presencia o en ausencia de un compuesto farmacéutico concreto. La proteómica, un planteamiento relativamente reciente de la microbiología ambiental, estudia las propiedades de las proteínas y nos permite identificar las proteínas clave y los cambios asociados en determinadas condiciones específicas. Dado que la práctica totalidad de las enzimas que intervienen en la biodegradación son proteínas, los cambios en la identificación de las proteínas pueden asociarse a la presencia del compuesto farmacéutico administrado. Las identificaciones de las proteínas se obtienen mediante la separación de las proteínas en dos dimensiones, primero según el punto isoeléctrico y después según el peso molecular, en electroforesis por gel bidimensional. Seguidamente, se analiza la composición de los péptidos de las proteínas, en sus diferentes expresiones (por ejemplo, su presencia o su ausencia o los cambios significativos en el nivel de expresión) y se comparan con las composiciones de los péptidos de las proteínas conocidas en bases de datos de proteínas que pueden consultarse en línea. En último término, la intervención de enzimas específicas permite determinar las vías de biodegradación, que en una fase posterior se confirmarán mediante el análisis de los intermediarios de la biodegradación.

Absorción y efectos del pentacloronaftaleno 1, 2, 3, 5 y 7 en una cadena alimentaria acuática: del sedimento, a través de organismos bentónicos (*Lumbriculus variegatus*), hasta la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

Slootweg T.¹, Dömötörövá M.², Fabišiková A.², Igumnova E.³, Mayer P.⁴, Möller A.⁵, Nikiforov V.³, Schmidt J.¹, Smith K.⁴ y Liebig M.¹

1. ECT Oekotoxikologie GmbH, Böttgerstraße 2-14, 65439 Flörsheim, Germany

2. Slovak Medical University, Department of Toxic Organic Pollutants, Limbova 12, 833 03 Bratislava, Slovakia

3. Saint-Petersburg State University, 198504 St.Petersburg, Universitetskii pr., 26, Russia

4. National Environmental Research Institute, Aarhus University, Department of Environmental Chemistry and Microbiology, Frederiksborgvej 399, DK-4000 Roskilde, Denmark

5. University of Berne, Laenggass-Straße 122, 3012 Bern, Switzerland

Contacto: t.slootweg@ect.de

Resumen

Uno de los factores de estrés más importantes de los sistemas fluviales son los contaminantes químicos. Por este motivo, resulta fundamental conocer con mayor profundidad la forma como actúan contaminantes específicos sobre los organismos acuáticos, para luego poder atribuir los efectos adversos que sufre un sistema fluvial a las causas correctas. Con esta información sobre la mesa, las personas responsables de la gestión hidrológica podrán tomar medidas más eficaces para mejorar la situación de los sistemas fluviales con un estado ecológico deteriorado.

En el este estudio, analizamos los efectos de sustancias tóxicas hidrofóbicas presentes en los sedimentos. Aunque la conexión con los sedimentos reduce la biodisponibilidad, los organismos bentónicos que viven en los sedimentos y se alimentan de ellos pueden bioacumular las sustancias tóxicas y hacer que vuelvan a estar biodisponibles para los organismos de un nivel superior de la cadena alimentaria, como los peces. A través de la biomagnificación, las concentraciones internas en los peces pueden alcanzar niveles en que los agentes tóxicos les provoquen efectos adversos. Si ello afectara, por ejemplo, a la reproducción o al crecimiento de los peces, podría tener consecuencias para el conjunto de la población de peces. Realizamos un seguimiento de la absorción y los efectos del pentacloronaftaleno 1, 2, 3, 5 y 7 (PeCN52) en una cadena alimentaria simplificada, formada por tres niveles: sedimentos – lombrices bentónicas (*Lumbriculus variegatus*) – trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). El PeCN52 es un congénere del grupo de los naftalenos policlorados, contaminantes persistentes y de gran distribución: en el río Elba se registraron concentraciones en los sedimentos del orden de µg/kg en peso seco (dw).

Para empezar, se llevó a cabo un estudio de bioacumulación en que las lombrices se expusieron durante 28 días a un sedimento con PeCN52. El factor de bioacumulación que se obtuvo, 35,3 (dw/dw), demostró que las lombrices, al actuar como fuente de alimentación, pueden transferir el PeCN52 de los sedimentos a niveles superiores de la cadena alimentaria. Por ello, en un estudio posterior, se expusieron las truchas jóvenes a lombrices vivas contaminadas. Las lombrices fueron expuestas a agua con presencia de PeCN52 de solubilidad acuosa, con el objetivo de obtener un gran volumen de lombrices con una carga constante de PeCN52. Las truchas se mantuvieron separadas y se alimentaron cada día con lombrices.

Se realizaron ensayos con cuatro niveles de concentración (0 - 9 - 18 y 36 $\mu\text{g/g}$ de comida). De la ingestión total de PeCN52 a través de las lombrices, el 60% se midió 28 días después en los tejidos de las truchas. Pese a la elevada bioacumulación, no se detectaron efectos significativos en la mortalidad, el comportamiento, el crecimiento ni en el índice somático hepático de las truchas jóvenes. A través de RT-PCR, se detectó la expresión de CYP1A y de la glicoproteína P –ambas vinculadas a los mecanismos de defensa de los peces- en el hígado, el cerebro y los intestinos. La exposición al PeCN52 se tradujo en una inducción vinculada a la concentración de CYP1A; sin embargo, no se detectó ningún efecto en la expresión de la glicoproteína P. Dichos resultados, y las conclusiones observadas sobre la transferencia de los agentes tóxicos hidrofóbicos en una cadena alimentaria, nos permiten establecer un modelo del flujo del PeCN52 en una cadena alimentaria.

El uso de una nueva serie de biomarcadores de los biofilms fluviales para evaluar los efectos de los metales: contribución a la aplicación de la Directiva marco del agua

Bonet B.¹, Corcoll N.¹, Morin S.² y Guasch H.¹

1. Instituto de Ecología Acuática, Universidad de Girona, España.

2. CEMAGREF, Bordeaux, França

Contacto: berta.bonet@udg.edu

Es bien conocido que algunos sistemas acuáticos sufren contaminación de metales pesados a través de diferentes tipos de vertidos. Hasta el momento no hay muchos biomarcadores para la detección de contaminación metálica y la mayoría de índices bióticos que se utilizan se basan en cambios estructurales a nivel de comunidad, los cuales se espera que integren las respuestas bióticas a lo largo de un periodo de tiempo considerable (des de semanas hasta meses en función del tiempo de vida del organismo investigado). Por lo tanto es de gran interés desarrollar nuevos biomarcadores de toxicidad metálica basados tanto en la detección de respuestas tempranas como los efectos crónicos para poder completar la información que se tiene hasta ahora. Esto mejoraría la comprensión de las causas de deterioro de los ecosistemas tal y como exige la Directiva Marco del Agua (DMA, Directiva 2000/60/CE).

En ríos y arroyos, el biofilm (también conocido como fitobentos o perifiton) se han usado ampliamente como bioindicador de contaminación debido a su capacidad de detectar efectos agudos producidos por sustancias tóxicas, como son los metales pesados, aportando en ecotoxicología una aproximación a nivel de comunidad de elevada relevancia ecológica.

El objetivo de este estudio fue investigar la toxicidad de los metales en los biofilms usando parámetros funcionales (PAM), metabólicos (AEA) así como también estructurales (composición y especies de diatomeas). Para conseguir este objetivo, se realizó un experimento de translocación en la Riera d'Osor (NE Cataluña), afluente del río Ter, situado en una zona minera. Este río presenta elevados niveles de zinc disuelto (Zn) y hierro (Fe), alcanzando valores de 600 µgZn/L y 750 µgFe/L después del principal vertido de la mina.

Los biofilms fueron translocados des del punto control (no contaminado), a diferentes puntos contaminados río abajo para evaluar las diferentes respuestas debido al efecto del gradiente de contaminación metálica a lo largo de una escala temporal (des de horas hasta algunas semanas de exposición).

Además de la variabilidad temporal, se identificaron varios parámetros funcionales y metabólicos relacionados con el gradiente de contaminación metálica. Las concentraciones de metales encontrados en Osor afectaron el biofilm fluvial provocando respuestas fisiológicas transitorias (exposición aguda) y alteraciones estructurales y funcionales (exposición crónica). Además, al final del experimento (después de 5 semanas de exposición), las especies dominantes de diatomeas también estaban relacionadas con el gradiente de metal, mostrando formas teratológicas y un menor biovolumen en los sitios contaminados.

Los resultados sugieren que el PAM y las AEA de los biofilms se pueden usar como instrumentos de detección temprana, así como también biomarcadores de adaptación en ríos contaminados por metales, completando así la información proporcionada por los estudios de diatomeas (incluyendo los aspectos taxonómicos y las características morfológicas).

Predicción de los efectos de sustancias tóxicas en la diversidad funcional de especies de peces norteamericanas

Faggiano L.¹, de Zwart D.², Dyer S.³, Lek S.⁴ y Gevrey M.⁴

1. University of Girona, Spain

2. RIVM, Bilthoven, The Netherlands

3. Procter & Gamble, Cincinnati, Ohio, USA

4. University of Toulouse, France

Contacto: leslie.faggiano@udg.edu

El objetivo del presente estudio era valorar los efectos de los compuestos químicos y las mezclas en la diversidad funcional de cincuenta y siete especies autóctonas de peces extraídas de 2.000 puntos de muestreo de una vasta zona geográfica, el estado de Ohio, en EE.UU. El enfoque de la diversidad funcional atesora un potencial muy superior al enfoque taxonómico tradicional para la predicción cuantitativa de los grupos de organismos representados en diferentes gradientes de alteración ambiental de origen humano. Los numerosos datos obtenidos se utilizaron para ponderar la presencia de rasgos “biológicos”, como la ecología trófica, la estrategia reproductiva, la locomoción/morfología o la longitud corporal, y rasgos “ecológicos”, como las preferencias de sustratos, la geomorfología y las dimensiones del curso. En el estudio se emplearon dos algoritmos diferentes de redes neuronales artificiales: un mapa autoorganizativo (SOM) y un perceptrón multicapa (MLP). El SOM se aplicó para determinar los tipos de rasgos en las distintas asociaciones de peces, mientras que el MLP permitió predecir asociaciones de peces utilizando diferentes predictores, como la cobertera del suelo, las características del macrohábitat, la química del agua clásica y la exposición a una amplia variedad de compuestos químicos y sus riesgos potenciales. Los resultados dejan entrever que la función de una comunidad de peces viene determinada sobre todo por las diferencias a gran escala en los hábitats, lo que confirma las conclusiones de estudios anteriores. Asimismo, pone de relieve la relación significativa entre los rasgos de las asociaciones de peces y la exposición química y los riesgos asociados, lo que demostraría que este factor de estrés específico puede ejercer de filtro al seleccionar tipos particulares de rasgos y de asociaciones de peces.

Análisis del destino ambiental de los contaminantes emergentes y prioritarios: identificación de los productos de transformación

Kormos J.L., Schulz M. y Ternes T.A.

Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

Contacto: kormos@bafg.de

En los últimos años, la actividad investigadora se ha centrado en el desarrollo de métodos analíticos fiables y lo suficientemente sensibles como para detectar la presencia de los contaminantes orgánicos (como los compuestos farmacéuticos, los productos cosméticos, los biocidas, los plastificantes, los compuestos de perfluorados, etc.) en diferentes matrices ambientales. Sin embargo, son mucho menos conocidos los estudios relativos al destino de dichos contaminantes emergentes y prioritarios en las cuencas hidrográficas.

Los estudios sobre el destino arrojan datos extremadamente valiosos en torno a la capacidad de separación y el potencial de degradación de los compuestos objetivo. Asimismo, permiten conocer las reacciones del compuesto a lo largo de los diferentes procesos de tratamiento, así como los posibles mecanismos de eliminación. Estudios previos han centrado sus esfuerzos en el análisis de diferentes procesos de tratamiento convencionales y avanzados para evitar la penetración de dichos compuestos en los entornos acuáticos y en el suministro de agua potable. Sin embargo, existen muy pocos estudios que analicen los compuestos que se forman tras la aplicación de diferentes tratamientos (biológicos o químicos) si no se obtiene una eliminación completa y si dichos productos desconocidos pueden constituir una amenaza para la salud de los ecosistemas.

Este estudio, realizado en el marco del proyecto KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT-2006-035695), analiza -mediante contraste por rayos X yodados (ICM)- la biotransformación de un grupo de contaminantes detectados habitualmente en los efluentes de las plantas depuradoras de aguas residuales, en las aguas superficiales y en los acuíferos. Concretamente, el estudio aplicó un enfoque pensado para dilucidar las estructuras químicas de los productos de biotransformación de los ICM en sistemas secuenciales de agua-suelo y agua-sedimento aeróbicos. Este enfoque secuencial permitió identificar un total de 34 TP (productos de transformación) de tres ICM no iónicos (iohexol, iomeprol y iopamidol) en dichos sistemas. Este planteamiento se basó en el uso de HPLC-UV semipreparativa, espectrometría de masa (MS) de trampa de iones en tándem/lineal LC ESI y NMR.

El desarrollo de un método MS en tándem con LC-ESI, combinado con las técnicas de SPE, permitió detectar los nuevos TP identificados en muestras ambientales reales. Se han detectado concentraciones de TP hasta el intervalo bajo de $\mu\text{g/L}$ en las aguas superficiales. Desconocemos todavía la trascendencia de estos productos de biotransformación en el medio ambiente, pero este enfoque representa un paso decisivo para tratar de identificar los compuestos clave desconocidos que pueden ser los causantes de los efectos observados en los ecosistemas acuáticos y terrestres.

Evaluación de la toxicidad del agua de los ríos catalanes a partir de la distribución de sensibilidades de las especies y de redes neuronales artificiales

Carafa R.¹, Faggiano L.², Real M.¹, Munné A.³, Ginebreda A.⁴, Guasch H.², Flo M.³
y Tirapu L.³

1. URS, C/ Urgell 143, 4ª planta, 08036 Barcelona, Spain

2. Institut d'Ecologia Aquàtica, Universitat de Girona, Campus Montilivi s/n, 17071 Girona, Spain

3. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

4. Department of Environmental Chemistry, IDAEA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

Contacto: Roberta_Carafa@URSCorp.com

De conformidad con lo que establece la Directiva Marco del Agua, la Agencia Catalana del Agua se encargó de realizar un seguimiento del estado ecológico y químico de las cuencas fluviales catalanas, respetando el calendario estipulado por la Directiva.

La gran cantidad de datos recabados y las complejas relaciones que se establecen entre las variables objeto de análisis dificultan la interpretación de la información al tratar de determinar el impacto tóxico, sobre todo teniendo en cuenta que incluso contaminantes con una concentración muy baja pueden contribuir a la toxicidad total de la mezcla.

Todos los datos relativos a los controles químicos realizados durante los años 2007 y 2008 (232 estaciones de muestreo y 60 contaminantes) se analizaron con técnicas avanzadas de modelización secuencial.

Los datos sobre la concentración de contaminantes se trataron previamente para calcular la fracción biodisponible, según las propiedades de la sustancia y las condiciones ambientales locales.

Los valores obtenidos se utilizaron para predecir el impacto potencial de las sustancias tóxicas sobre la biota acuática en mezclas complejas y también para identificar puntos problemáticos. Se empleó la evaluación de la exposición con la distribución de sensibilidades de las especies (SSD) y las normas de toxicidad de la mezcla para determinar la fracción de especies afectada potencialmente por varias sustancias (msPAF).

Para entender y visualizar la distribución espacial del riesgo tóxico, se aplicó a los resultados de dichos modelos el método de los mapas autoorganizados (SOM), un algoritmo no supervisado de redes neuronales artificiales.

Además, se utilizó el análisis de componentes principales (PCA) con los resultados de las redes neuronales para identificar las variables con mayor peso en los patrones de contaminación.

Por último, se relacionaron y correlacionaron los impactos tóxicos pronosticados sobre la biota con índices de calidad biótica (IBMWP, IPS) y diversas variables fisicoquímicas.

Se identificaron los puntos problemáticos y los patrones de contaminación para poder ofrecer herramientas de interpretación a los gestores de cuenca con respecto a la evaluación de los riesgos a escala de cuenca.

Palabras clave: toxicidad acuática – evaluación de riesgos – distribución de sensibilidades de las especies – redes neuronales artificiales

La sensibilidad de los índices bióticos a los microcontaminantes de los ríos. Comparación de métricas a partir de las diatomeas y los macroinvertebrados

Blanco S.^{1,2} y Bécares E.¹

1. Department of Environmental Management and Biodiversity, University of León. E-24071 León, Spain.

2. The Institute of the Environment. University of León. La Serna, 58. E-24007 León, Spain.

Contacto: ebecm@unileon.es

Son muchos los estudios que han constatado que la presencia de agentes tóxicos implica cambios predecibles en las comunidades bentónicas fluviales. Los índices bióticos basados en macroinvertebrados y diatomeas se utilizan a menudo para diagnosticar la calidad ecológica de los cursos de agua, aunque son pocas las obras que analizan su efectividad como biomonitores de las concentraciones de microcontaminantes. Este informe presenta los resultados de un estudio biológico realizado en 188 puntos de la cuenca del río Duero. En el estudio se calcularon 19 índices de diatomeas y 6 de macroinvertebrados y se compararon con la concentración de 37 contaminantes diferentes mediante análisis de correlación. Más de la mitad de las variables químicas analizadas presentaron una correlación significativa con por lo menos un índice biótico. En particular, los coeficientes de correlación más elevados se detectaron en el índice de diatomeas de Sládeček y en determinadas familias de macroinvertebrados. Los métodos basados en los macroinvertebrados arrojan mejores resultados para la detección de los biocidas, mientras que los índices de diatomeas presentan unas correlaciones más intensas con elementos potencialmente tóxicos, como los metales pesados. Todos los índices bióticos, sobre todo los índices de diatomeas, se mostraron especialmente sensibles a las concentraciones de grasas, aceites y tricloroetano, mientras que los compuestos aniónicos y derivados del nitrógeno presentaron los valores de correlación más bajos. Los resultados revelan que tanto los índices de macroinvertebrados como los de diatomeas pueden considerarse unos métodos eficaces para el control de los agentes tóxicos en los ríos.

Lista de participantes

- ACUÑA Vicenç, "Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain" (vicenc.acuna@icra.cat)
- AGBO Stanley, "University of Eastern Finland - Joensuu, Finland" (Stanley.Agbo@joensuu.fi)
- AGUIRRE JIMENEZ Maria, "CEDEX – Madrid, Spain" (maria.aguirre@cedex.es)
- ALONSO GARCIA Ana Maria, "CEDEX – Madrid, Spain" (ana.m.alonso@cedex.es)
- ANTICÓ Enriqueta, "University of Girona (UdG) – Girona, Spain" (enriqueta.antico@udg.edu)
- ARANDA MARES José Luís, "IPROMA, S. L.- Castellón, Spain" (jlaranda@iproma.com)
- BARATA Carlos, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain" (cbmqam@cid.csic.es)
- BARCELÓ Damià, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, and Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain" (dbcqam@cid.csic.es)
- BARTOLOMÉ Arantxa, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain" (arantxa.bartolome@cid.csic.es)
- BECARES Eloy, "University of Leon – León, Spain" (ebecm@unileon.es)
- BONET Berta, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (berta.bonet@udg.edu)
- BONNINEAU Chloé, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (chloe.bonnineau@udg.edu)
- BRACK Werner, "Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) – Leipzig, Germany" (werner.brack@ufz.de)
- CAIXACH Josep, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain" (Josep.Caixach@cid.csic.es)
- CARAFA Roberta, "United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain" (roberta_carafa@urscorp.com)
- CLEMENTS William H., "Department of Fish, Wildlife and Conservation Biology - Colorado State University, United States of America" (willc@warnernr.colostate.edu)
- COLLADO Neus, "Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain" (neuscoal@hotmail.com)
- CORCOLL Natàlia, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (natalia.corcoll@udg.edu)
- CORTÉS Susana, "Confederación Hidrográfica del Ebro (CHE) – Zaragoza, Spain" (scortes@chebro.es)
- COVADONGA Alonso, "CEDEX – Madrid, Spain" (covadonga.alonso@cedex.es)
- FAGGIANO Leslie, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (leslie.faggiano@udg.edu)
- FERNÁNDEZ ROCHA Susana, "Confederación Hidrográfica del Júcar – Spain"
- FERNÁNDEZ-CARRIL Domingo Alberto, "Confederación Hidrográfica del Guadiana – Badajoz, Spain" (dfernandez@chguadiana.es)
- FLAQUER Carles, "Museu de Granollers de Ciències Naturals – Granollers, Spain" (carlesflaquer@yahoo.com)
- GALLAMPOIS Christine, "Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) – Leipzig, Germany" (christine.gallampois@ufz.de)
- GARCIA-BERTHOU Emili, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (emili.garcia@udg.edu)
- GEISZINGER Anita, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (anita.geiszinger@udg.es)
- GEVREY Muriel, "Centre National de la Recherche (CNRS) and Université Paul-Sabatier (UPS) – Toulouse, France" (gevrey@cict.fr)
- GIMENO NAVARRO Eduardo, "RED CONTROL S.L. – Paterna, Spain" (egimeno@redcontrol.com)
- GINEBREDÀ Antoni, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain" (agmqam@cid.csic.es)
- GROS CALVO Meritxell, "Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain" (mgros@icra.cat)
- GUASCH Helena, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (helena.guasch@udg.es)
- GUENARD Guillaume, "Centre National de la Recherche (CNRS) and Université Paul-Sabatier (UPS) – Toulouse, France" (guenardg@cict.fr)
- KORMOS Jennifer, "Federal Institute of Hydrology – Koblenz, Germany (Kormos@bafg.de)
- LAMOREE Marja, "Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit Amsterdam – Amsterdam, The Netherlands" (marja.lamoree@ivm.vu.nl)
- LÓPEZ DOVAL Julio, "University of Barcelona (UB) – Barcelona, Spain" (jlopezdoval@ub.edu)
- LUBARSKY Helen, "Institute of Hydraulic Engineering - Stuttgart, Germany" (hb243@st-andrews.ac.uk)
- MARTÍNEZ ROSER Lorena, "IPROMA, S. L. – Castellón, Spain" (lmartinez@iproma.com)
- MÖLLER Anja-Maria, "University of Bern – Bern, Switzerland" (anja.moeller@itpa.unibe.ch)
- MORIN Soizic, "Cemagref UR REBX – Bordeaux, France" (soizic.morin@cemagref.fr)
- MUNNÉ Antoni, "Agència Catalana de l'Aigua (ACA) – Barcelona, Spain" (anmunne@gencat.cat)
- MUÑOZ Isabel, "University of Barcelona (UB) – Barcelona, Spain" (imuno@ub.edu)
- PLANAS Carles, "Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain" (cppeco@cid.csic.es)

Lista de participants

- POUOSO Ángeles, "Eurofins Analytico – Barcelona, Spain" (a.pouso@analytico.com)
- PROIA Lorenzo, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (lorenzo.proia@udg.edu)
- PUIG Alejandra, "Dirección General del Agua, Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino – Madrid, Spain" (apinfante@mma.es)
- PUIG Xavier, "Galanthus - Girona, Spain" (xavierpuig@asgalanthus.org)
- REAL Montserrat, "United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain" (Montserrat_Real@URSCorp.com)
- REBILLARD Jean Pierre, "Agence de l'eau Adour-Garonne – Toulouse, France" (jean-pierre.rebillard@eau-adour-garonne.fr)
- RICART Marta, "Catalan Institute for Water Research (ICRA) - Girona, Spain" (mricart@icra.cat)
- RODRÍGUEZ-MOZAR Sara, "Catalan Institute for Water Research (ICRA), - Girona, Spain" (srodriguez@icra.cat)
- ROMANÍ Anna, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (anna.romani@udg.es)
- SABATER Sergi, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - and Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain" (sergi.sabater@udg.edu)
- SALAVAT Aida, "NOVOTEC Consultores – Barcelona, Spain" (asalvat@gencat.cat)
- SANS-PICHÉ Frédéric, "Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) – Leipzig, Germany" (frederic.sans-piche@ufz.de)
- SEGNER Helmut, "Centre for Fish and Wildlife Health-University of Bern – Bern, Switzerland" (helmut.segner@itpa.unibe.ch)
- SHINN Cándida, "Centre National de la Recherche (CNRS) and Université Paul-Sabatier (UPS) – Toulouse, France" (candida.shinn@gmail.com)
- SIMON Eszter, "Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit Amsterdam – Amsterdam, The Netherlands" (eszter.simon@ivm.vu.nl)
- SLOOTWEG Tineke, "ECT Oekotoxikologie GmbH – Flörsheim, Germany" (t.slootweg@ect.de)
- TLILI Ahmed, "Cemagref Lyon – Lyon, France" (ahmed.tlili@cemagref.fr)
- TORÁN BUSUTIL Manuel, "Confederación Hidrográfica del Júcar – Spain"
- URREA Gemma, "Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain" (gemmaurrea@gmail.com)
- VIDAL Gemma, "Agència Catalana de l'Aigua (ACA) – Girona, Spain" (gmVidal@gmail.com)
- VILA ESCALÉ Mireia, "Diputació de Barcelona-OTAT – Barcelona, Spain" (vilaem@diba.cat)

**Emerging and Priority Pollutants:
Bringing Science into River Management Plans**

SUMMARY

Preface

Scientific and Organizing committee

Scientific programme

Abstracts

List of participants

Preface

The enduring changes in the aquatic environment and the increasing input of contaminants require research on novel conceptual and methodological approaches in relating chemical pollution and ecological alterations in ecosystems. Improving environmental risk assessment based on the analysis of priority pollutants or other pre-selected contaminants, and extending the risk evaluation to new pollutants is essential for a better understanding of the causes of ecological quality loss and the cause-effect relationships of pollution.

The Marie Curie Research Training Network KEYBIOEFFECTS covers a wide range of scientific disciplines and aims to evaluate the effects of pollution caused by emerging and priority pollutants. KEYBIOEFFECT provides tools to overcome some gaps in environmental monitoring: the identification of key toxicants and transformation products, the quantification of the influence of environmental conditions on toxicant bioavailability, the assessment of these effects to the organisms, populations, communities and ecosystems, as well as the testing under experimental conditions, and modelling of toxicant effects on biota, aimed to provide guidelines for water quality assessment.

A central concern of this workshop is to bring together scientific experts of various fields and representatives of the administration and water agencies with the intention to exchange expertises from different perspectives aimed to melioration of European rivers' quality, according to the provisions of the Water Framework Directive.

The workshop "Emerging and Priority Pollutants: Bringing science into River Basin Management Plans" has been organized by the University of Girona, the Catalan Water Agency, United Research Services (Barcelona, Spain) and the Catalan Institute for Water Research.

We hope that the discussions will contribute to link scientific knowledge and environmental management strategies, enabling future strategies to assess and manage environmental issues in European river systems.

The Scientific Committee

Scientific and Organizing committee

Scientific committee

Damià Barceló

Departament de Química Ambiental, Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Espanya

Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Spain

and
Institut Català de Recerca de l'Aigua (ICRA) - Girona, Spain
Catalan Institute for Water Research (ICRA) - Girona, Espanya
dbcqam@cid.csic.es

Roberta Carafa

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Roberta_Carafa@URSCorp.com

Anita Geiszinger

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Spain

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Espanya
anita.geiszinger@udg.es

Antoni Ginebreda

Departament de Química Ambiental, Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Espanya

Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Spain
agmqam@cid.csic.es

Helena Guasch

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain
helena.guasch@udg.es

Antoni Munné

Agència Catalana de l'Aigua (ACA) - Barcelona, Espanya
Catalan Water Agency (ACA) - Barcelona, Spain
anmunne@gencat.cat

Montserrat Real

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Montserrat_Real@URSCorp.com

Sergi Sabater

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain
and

Institut Català de Recerca de l'Aigua (ICRA) - Girona, Espanya

Catalan Institute for Water Research (ICRA) - Girona, Spain
sergi.sabater@udg.es

Organizing committee

Roberta Carafa

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Roberta_Carafa@URSCorp.com

Natàlia Corcoll

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain
natalia.corcoll@udg.edu

Anita Geiszinger

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Spain

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Espanya
anita.geiszinger@udg.es

Antoni Ginebreda

Departament de Química Ambiental, Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Espanya

Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) - Barcelona, Spain
agmqam@cid.csic.es

Helena Guasch

Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona (UdG) - Girona, Espanya

Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain
helena.guasch@udg.es

Antoni Munné

Agència Catalana de l'Aigua (ACA) - Barcelona, Espanya
Catalan Water Agency (ACA) - Barcelona, Spain
anmunne@gencat.cat

Montserrat Real

United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain
Montserrat_Real@URSCorp.com

Emerging and Priority Pollutants: Bringing Science into River Management Plans

Girona, 25-26 March 2010
ICRA, Girona, Spain

Thursday 25 March 2010

- | | |
|-------------|--|
| 8:30-9:30 | Inscriptions and Welcome |
| 9:30-13:00 | Research update on priority and Emerging pollutants in the environment: occurrence and early effects detection |
| 13:00-14:00 | Lunch |
| 14:00-15:00 | Poster session |
| 15:00-18:00 | Research update on Priority and Emerging pollutants in the environment: ecosystem effects and recommendation for future water policies |
| 21:00-22:30 | Joint Dinner in Girona |

Friday 26 March 2010

- | | |
|-------------|---------------------------------|
| 9:00-9:15 | Research update synopsis |
| 9:15-12:15 | Management Plans overview |
| 12:15-13:15 | Round Table and open discussion |
| 13:15-13:45 | Closure |
| 13:45-14:45 | Lunch |

Emerging and Priority Pollutants: Bringing Science into River Management Plans

Thursday 25 March
Morning

8:30-9:15

Inscriptions

9:15-9:30

Welcome (Drs. Barceló D. and Guasch H.)

9:30-13:00

Research update on priority and Emerging pollutants in the environment: occurrence and early effects detection

- **9:30-9:50** Identification of mutagens in the European Rivers. **Bougeard C., Gallampois C., Kormos J.L., Simon E., Brack W., Lamoree M. and Ternes T.A.**
- **9:50-10:10** Aquatic organisms as bio-indicator on multiple levels. **Agbo S., Moeller A., Shinn C. and Sloomweg T.**

10:15-10:45 **Coffee -Break**

- **10:45-11:15** Priority and Emerging pollutants in the environment: recommendations concerning sampling strategies and analytical procedures. **Barceló D. and López de Alda M.**
- **11:15-11:45.** Search for key toxicants: Effect Directed Analysis and their applicability for monitoring. **Brack W., Balaam J., Bandow N., Barceló D., Brix R., Lamoree M., Leonards P., Lübcke-von Varel U., Machala M., Thomas K. and Weiss J.**
- **11:45-12:15** Priority and Emerging pollutants: the role of WWTP for sanitation and the significance of transformation products. **Kormos J.L., Schulz M., Wick, A. and Ternes, T. A.**
- **12:15-12:45** Applicability and limitations of biomarkers. **Segner H. and Möller A.M.**

13:00-14:00 **Lunch**

Emerging and Priority Pollutants: Bringing Science into River Management Plans

Thursday 25 March
Afternoon

14:00-15:00 Poster session

15:00-18:00 Research update on Priority and Emerging pollutants in the environment: ecosystem effects and recommendation for future

- 15:00-15:20 The use of biofilm communities to assess ecological risks of pollutants in aquatic ecosystems. **Bonnineau C., Sans-Piché F., Proia L., Lubarsky H., Geiszinger A., Romaní A. M., Schmitt-Jansen M., Gerbersdorf S. and Guasch H.**
- 15:20-15:40 Improving data sampling for better ecosystem diagnostic. **Faggiano L., Guénard G., Gevrey M. and Lek S.**
- 15:40-16:30 **Plenary.** Ecotoxicology in fluvial ecosystems: from standardized single species tests to ecosystem manipulation. **Clements W.**

16:30-17:00 Coffee -Break

- 17:00-17:30 Current approaches used to evaluate ecological integrity: biotic indices versus community ecotoxicology studies. **Sabater S. and Muñoz I.**
- 17:30-18:00 Recommendations in the Design of Water Monitoring Programmes based on newly developed Complementary Methods. **Carafa R., Real M., Munné A., Ginebreda A. and Guasch H.**

21:00-22:30 Joint Dinner in Girona

Emerging and Priority Pollutants: Bringing Science into River Management Plans

Friday 26 March

9:00-9:15 **Research update synopsis**

9:15-13:45 **Management Plans overview**

- **9:15-9:45** Establishment of the good chemical status of fresh surface water in France. Application of the directive 2008/105/CE. **Rebillard J.P, Allonier-Fernandes A.S., Riou C., Halkett C., Pelte T., Verlhac A. and Demouliere R.**
- **9:45-10:15** Establishment of the good chemical status of water in Spain. Application of the directive 2008/105/CE. **Puig A.**
- **10:15-10:45** Methods of analysis of priority and emerging pollutants: problems and establishment of quality standards. **Caixach J.**

10:45-11:15 **Coffee -Break**

- **11:15-11:145** Monitoring of priority and related substances in the rivers of Catalonia, under the application of the WFD: overview of results and risk assessment. **Ginebreda A., Munné A., Carafa R. and Tirapu Ll.**
- **11:45-12:15** Control of hazardous substances in the Ebro River basin. **Cortés S.**

12:15-13:15 **Round Table and open discussion**

Chairman: **Ginebreda A.**

Members: **Brack W., Munné A., Puig A., Rebillard J.P. and Sabater S.**

13:15-13:45 **Closure (Drs. Munné A. and Guasch H.)**

13:45-14:45 **Lunch**

Abstracts

Oral presentations

Research update on Priority and Emerging pollutants in the environment: occurrence and early effects detection

1. Identification of mutagens in the European Rivers. **Bougeard C., Gallampos C., Kormos J.L., Simon E., Brack W., Lamoree M. and Ternes T.A.**
2. Aquatic organisms as bio-indicator on multiple levels. **Agbo S., Möller A., Shinn C. and Slootweg T.**
3. Priority and Emerging pollutants in the environment: recommendations concerning sampling strategies and analytical procedures. **Barceló D. and López de Alda M.**
4. Search for key toxicants: Effect Directed Analysis and their applicability for monitoring. **Brack W., Balaam J., Bandow N., Barceló D., Brix R., Lamoree M., Leonards P., Lübcke-von Varel U., Machala M., Thomas K. and Weiss J.**
5. Priority and Emerging pollutants: the role of WWTP for sanitation and the significance of transformation products. **Kormos J.L. and Ternes T.A.**
6. Applicability and limitations of biomarkers. **Segner H. and Möller A.M.**

Research update on Priority and Emerging pollutants: ecosystem effects and recommendation for future

7. The use of biofilm communities to assess ecological risks of pollutants in aquatic ecosystems. **Bonnineau C., Sans-Piché F., Proia L., Lubarsky H., Geiszinger A., Romaní A.M., Schmitt-Jansen M., Gerbersdorf S. and Guasch H.**
8. Improving data sampling for better ecosystem diagnostic. **Faggiano L., Guénard G., Gevrey M. and Lek S.**
9. *Plenary session.* Ecotoxicology in fluvial ecosystems: from standardized single species tests to ecosystem manipulation. **Clements W.**
10. Current approaches used to evaluate ecological integrity: biotic indices versus community ecotoxicology studies. **Sabater S. and Muñoz I.**
11. Recommendations in the Design of Water Monitoring Programmes based on newly developed Complementary Methods. **Carafa R., Real M., Munné A., Ginebreda A. and Guasch H.**

Management Plans overview

12. Establishment of the good chemical status of fresh surface water in France. Application of the directive 2008/105/CE. **Rebillard J.P., Allonier-Fernandes A.S., Riou C., Halkett C., Pelte T., Verlhac A. and Demouliere R.**
13. Establishment of the good chemical status of water in Spain. Application of the directive 2008/105/CE. **Puig A.**
14. Methods of analysis of priority and emerging pollutants: problems and establishment of quality standards. **Caixach J.**
15. Monitoring of priority and related substances in the rivers of Catalonia, under the application of the WFD: overview of results and risk assessment. **Ginebreda A., Munné A., Carafa R. and Tirapu Ll.**
16. Control of hazardous substances in the Ebro River Basin. **Cortés S.**

Abstracts

Poster presentations

1. Linking SPATIOtemporal variations of diuron contamination to biofilm induced tolerance in a river. **Pesce S., Margoum C. and Montuelle B.**
2. Multi-biomarker responses of benthic macroinvertebrate species to diagnose the ecological status of polluted rivers. **Damasio J., Puértolas L., Prat N., Rieradevall M., Soares A.M.V.M. and Barata C.**
3. Patterns in diatom community structure in rivers submitted to heavy metal inputs in different countries and consequences for biomonitoring. **Morin S., Cordonier A., Duong T.T., Lavoie I., Tornés E., Bonet B., Corcoll N., Faggiano L., Guasch H., Sabater S. and Coste M.**
4. Pesticide gradients in rivers: fish-based investigative field monitoring. **Shinn C., Grenouillet G. and Lek S.**
5. Effect Directed Analysis of a benthic food chain using genotoxicity screening. **Simon E., Lamoree M., Leonards P., Hamers T., Reifferscheid G., Spira D., Rudoll R. and Boer J.**
6. Effect Directed Analysis performed on European river sediment with emphasis on the identification of androgen disrupting compounds. **Weiss J., Hamers T., van der Linden S., Leonards P. and Lamoree M.**
7. Identification of androgen disrupting compounds in effect directed analysed river sediment with an LTQ-Orbitrap. **Weiss J., Leonards P., Stroomberg G., de Boer R. and Lamoree M.**
8. Biodegradation of Pharmaceuticals during Wastewater Treatment and the Evaluation of Proteomics for Metabolic Pathway Elucidation. **Collado N., Osuna B., Comas J., Rodríguez-Roda I. and Sipma J.**
9. Uptake and effects of 1,2,3,5,7-pentachloronaphthalene in an aquatic food chain: from sediment via benthic organisms (*Lumbriculus variegatus*) to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Slotweg T., Dömötöróvá M., Fabišiková A., Igumnova E., Mayer P., Möller A., Nikiforov V., Schmidt J., Smith K. and Liebig M.**
10. The use of a new set of fluvial biofilms biomarkers to assess the effects of metals: contribution to the water framework directive application. **Bonet B., Corcoll N., Morin S. and Guasch H.**
11. Predicting the effects of toxic substances upon functional diversity of North-American fish species. **Faggiano L., de Zwar D., Dyer S., Lek S. and Gevrey M.**
12. Investigating the Environmental Fate of Emerging and Priority Contaminants - Identification of Transformation Products. **Kormos J.L., Schulz M. and Ternes T. A.**
13. Water toxicity assessment in Catalan rivers (NE Spain) using Species Sensitivity Distribution and Artificial Neural Networks. **Carafa R., Faggiano L., Real M., Munné A., Ginebreda A., Guasch H., Flo M. and Tirapu LI.**
14. Are biotic indices sensitive to river micropollutants? A comparison of metrics based on diatoms and macroinvertebrates. **Blanco S. and Bécares E.**

Identification of mutagens in the European rivers

Bougeard C.¹; Gallampois C.¹; Kormos J. L.²; Simon E.³; Brack W.¹;
Lamoree M.³ and Ternes T. A.²

1. Department of Effect-Directed Analysis, Centre for Environmental Research, UFZ, Leipzig, Germany

2. Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

3. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit (VU), Amsterdam, The Netherlands

Email contact: cynthia.bougearsd@ufz.de

Potentially the most effective means of understanding cause-effect relationship of chemical pollutants on European river ecosystems is to identify key toxicants, their bioavailability, fate, transport and biological effects. Within KEYBIOEFFECTS, several approaches have been incorporated to identify the key environmental pollutants. However, the complexity of environmental contamination tends to limit the identification of unknown toxicants. It is a challenge to relate the presence of a compound or a complex mixture of compounds to the biological impact or outcome observed in the natural environment. To identify toxic compounds in complex environmental mixtures, effect-directed analysis (EDA), combining biotesting, fractionation and chemical analysis, was undertaken.

The focus of the EDA study presented here was on the identification of mutagens, which are mainly polyaromatic compounds with at least three fused rings. The EDA method relies on a specific passive sampler, blue rayon (BR) able to adsorb those planar aromatic chemicals, a three step fractionation method and a LC/MS/MS high resolution method. The fractionation and analytical methods were developed with 50 standards chosen regarding their planarity, mutagenicity, lipophilicity, polarity, etc. The first step, the separation of the compounds present in the sample was based on their behaviour in water; they act as neutral, basic or acid. The BR extract was fractionated using ion exchange cartridges into acids, bases and neutral compounds. The two next fractionation steps rely on HPLC separation, using 2 different static phases (Phenyl-hexyl and polymeric C18). The analysis of the mutagenic fractions was performed by a LC/MS/MS high resolution Orbitrap (ThermoFisher) equipped with an electrospray ionisation source for the most polar compounds and an atmospheric pressure chemical ionisation source for less polar compounds. To determine the mutagenicity, the Ames fluctuation test was undertaken using the *Salmonella* TA98.

Although, EDA has been applied successfully to identify toxicants, the test of mutagenicity procedure can lead to a misinterpretation of the results. Hydrophobic organic compounds are thought to be lost by sorption to the plastic cell culture plates and to the bacteria, resulting in an over-estimation of the concentration that actually exerts mutagenicity. To overcome such problem, here, we applied passive dosing based on partitioning of the mutagens from silicone O-rings, hence, providing a defined and constant freely dissolved concentration. Previous experiments using a new SPME set-up on the 24-well plates combining with GC-MS showed similar compound diffusion with and without bacteria. Therefore, parallel tests were made in which the first batch of experiments was aimed to determine the mutagenicity from toxicants loaded on silicone O-rings and the second batch of experiments to quantify the freely dissolved concentration available in the mutagenic test by injecting into LC/MS the whole well containing the silicone O-rings and bidest water.

Aquatic organisms as bio-indicator on multiple levels

Agbo S.¹, Möller A.², Shinn C.³ and Slootweg T.⁴

1. University of Eastern Finland, Faculty of Biosciences, Joensuu, Finland

2. Centre for Fish and Wildlife Health, University of Berne, Berne, Switzerland

3. Laboratoire Evolution et Diversité Biologique (EDB), CNRS, Université Paul Sabatier, Toulouse, France

4. ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörsheim, Germany

Email contact: Stanley.Agbo@joensuu.fi

Introduction

In order to maintain and restore the ecological quality in a river system, it is essential to have a good understanding of the functioning of this system. If adverse effects that are observed in the field can be linked to the responsible stressors in the ecosystem, it will be possible to take effective measures. Considering the complexity of the ecosystem, it is a real challenge to establish those cause-effect relationships in the field, due to the many factors that could influence the ecosystem, like for example physical and chemical parameters, changes in habitat, and the presence of pollutants. In the Keybioeffects project, different types of research are conducted which investigate the cause-effect relationships of pollutants on multiple levels. In this presentation, we would like to focus on fish and aquatic invertebrates as bio-indicators of toxic stress. In the Keybioeffects subprojects, effects on fish as well as on the aquatic invertebrates were studied at different scales:

- Population scale: by investigative field monitoring and observing different fish traits
- Individual scale:
 - by studying bioaccumulation and effects of organic substances in aquatic invertebrates in relation to abiotic conditions
 - by studying uptake (bioavailability) and effects (linked to specific pollutants) on fish in laboratory systems
- Molecular scale: studying immunotoxic mechanism of pollutants in fish

Mechanistic research on effects of pollutants on fish is important since it contributes to our knowledge on the way pollutants interact with fish in the environment and their potential mode of actions. This knowledge does not only enable the establishment of a cause-effect relationship, but also informs us about measures that can be taken to minimize effects in the field.

Our objective is to demonstrate firstly the contribution of the overall outcome of these studies, and secondly how combining the results of the studies has additive value in ecological quality management of river systems.

Linking multiple levels

In figure 1 a scheme is given which demonstrates the links between the different levels.

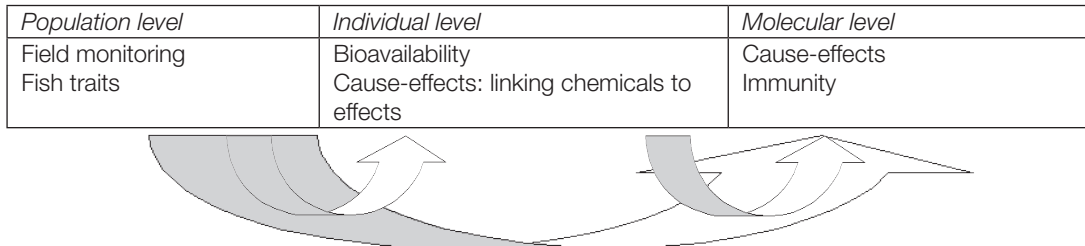


Figure 1. Linking multiple levels of research on fish

Since it is not possible to check for each chemical what specific effects they cause, one option is to follow a downscaling pathway (figure 2), which starts with the monitoring of the chemical and biological status of a river system. When adverse effects on fish populations are observed, the focus shifts to the individual level, leading to investigations on the bioavailability of single chemicals and their effects on invertebrates and fish. To further explore the specific mode of action of the chemical, the study zooms in further to the molecular level and look at the toxicity mechanism of chemicals. By downscaling from effects on the population level to effects on molecular scale, it becomes possible to more specifically link effects to certain causes. The gained knowledge will help to make the right decisions on measures that have to be taken in the river system.

One example of the downscaling pathway is that during field monitoring parasites are observed in fish, which could be a sign of suppressed immunity. At the molecular level the toxicity mechanism of chemicals which are detected in the river are investigated to correlate effects on immunity to adverse effects on the population level. Here, fish cells are used to investigate the tissue-specific response to the toxin.

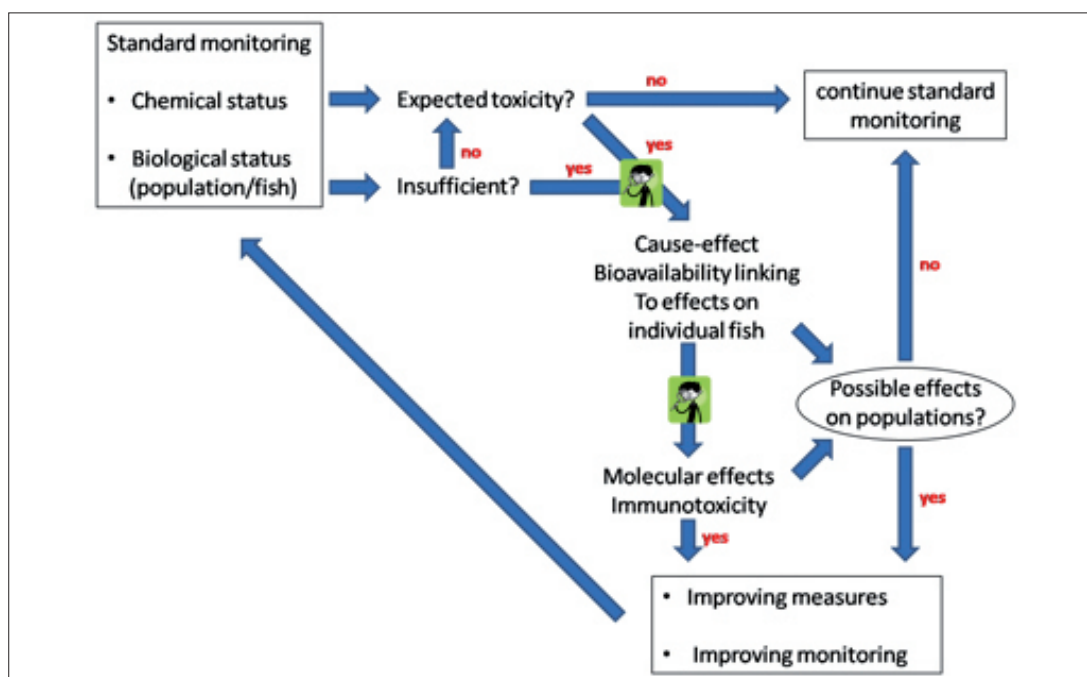


Figure 2. Decision tree for water management

Another example is that toxic effects on fish can be linked to bioaccumulation of toxicants in aquatic invertebrates. Considering the abundance, feeding pattern and the potential of aquatic invertebrates to bioaccumulate toxicants, their position in food chain, predisposes fish and other species to chemical risks that could result from feeding. The end result could be the accumulation of potentially harmful chemicals in fish tissues.

Conclusion

- Research on multiple levels contributes to knowledge on cause-effect relationships of chemicals in the environment
- For assessment, improvement and management of the ecological status of a river system it is possible to perform downscaling from observed effects on fish/population scale to the molecular scale to find out specific mode of actions of a chemical
- The sensitivity of smaller aquatic invertebrate species could be harnessed in determining the potential risks of chemicals.

Acknowledgement. These studies were performed within the KEYBIOEFFECTS project (MRTN-CT 2006-035695) funded by Marie Curie Actions of the 6th Framework Programme.

Priority and emerging pollutants in the environment: recommendations concerning sampling strategies and analytical procedures

Barceló D.^{1,2} and López de Alda M.¹

1. Department of Environmental Chemistry. Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC)
C/ Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, Spain

2. Catalan Institute for Water Research- ICRA. Parc Científic i Tecnològic de la Universitat de Girona
C/ Emili Grahit, 101, Edifici H2O, E-17003 Girona, Spain

Email contact: dbcqam@cid.csic.es

Investigation of the presence of priority and emerging pollutants in the environment is mandatory in the first case (in some environmental compartments) and necessary in the second in order to prevent and control pollution and protect the environment and human health from adverse effects caused by exposure to these compounds. Their analysis requires in general the use of highly sensitive and selective methods for their reliable determination at the very low concentrations at which they are found in the environment and/or at the levels that have to be measured according with the established environmental quality standards.

In the last decades the analytical instrumentation has experienced an impressive progress that has translated in more efficient and reliable methods and improved analytical performance. This presentation addresses with examples the last trends in the application of this instrumentation to the sampling, extraction, and analysis of priority and emerging pollutants in the environment.

Sampling is the first and often the most important step in the analysis of environmental contaminants; however, most frequently, it does not receive the necessary consideration. Most current works rely on the use of discrete, and to a lesser extent, integrated samples. In the last decades, other more advanced sampling strategies such as, for instance, passive sampling, which combines sampling, analyte isolation, and pre-concentration into a single step, are being developed and implemented in an effort to both save money and gain in information.

Extraction techniques have improved considerably through the years. Examples of advanced extraction techniques applied to the environmental analysis of priority and emerging contaminants are pressurized liquid extraction (PLE), applied to solid matrices, and on-line solid-phase extraction for water samples. They offer important advantages with respect to traditional techniques, especially in terms of time and cost of analysis, and also of volume of solvents and reagents used.

For analysis, gas chromatography (GC) and liquid chromatography (LC), both coupled to mass spectrometry (MS) or tandem mass spectrometry (M/MS) detection, are the most used. GC-MS is the technique of choice for analysis of volatile, thermolabile compounds, and the most extensively used in the analysis of priority pollutants, such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polybrominated diphenylethers (PBDEs), polychlorinated biphenyls (PCBs) or dioxins.

Most emerging pollutants, however, are polar compounds whose analysis is better suited by means of LC-MS techniques. Today, the various available LC-MS/MS techniques, with triple quadrupole (QqQ), quadrupole-linear ion trap (Q-LIT), and quadrupole-time of flight (Q-TOF) analysers, make it possible to measure very low levels of pollutants, even at the pg/L

or pg/g range, in complex matrices, such as wastewaters, with great selectivity. However, the main drawback of such techniques is the presence of matrix ionization effects that interfere in the analyte signal and lead to inaccurate results. There are various means to try to overcome this problem; one of the most suitable is the use of isotopically labelled compounds as internal standards for quantification. These various LC-MS/MS techniques, recommendations about the operating conditions to be used to ensure unequivocal identification of the analytes, their capabilities in the identification of known compounds, and the use of isotopic dilution to compensate potential matrix effects, are illustrated with examples of the investigation of emerging contaminants, such as, pharmaceuticals, drugs of abuse, etc. in environmental samples.

Search for key toxicants: Effect Directed Analysis and their applicability for monitoring

Brack W.¹, Balaam J.², Badow N.¹, Barceló D.^{3,4}, Brix R.⁴, Lamoree M.⁵, Leonards P.⁵, Lübcke-von Varel U.¹, Machala M.⁶, Thomas K.⁷ and Weiss J.¹

1. Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ), Germany
2. Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science (CEFAS), United Kingdom
3. Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC), Spain
4. Catalan Institute for Water Research (ICRA), Spain
5. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands
6. Veterinay Research Institute, Czech Republic
7. Norsk Institutt for vannforsk (NIVA), Norway

Email contact: werner.brack@ufz.de

The assessment of European water bodies according to the EU Water Framework Directive is based on the ecological status considering the biological quality elements (BQEs) fish, macro-invertebrates, phytobenthos, phytoplankton and macrophytes while the chemical status focuses on the concentration of presently 33(+8) priority pollutants in water and sediments. MODELKEY provides strong evidence that these priority pollutants explain only minor portions of measurable effects in European water bodies. Many other key toxicants have the potential to affect the ecological status in rivers and lakes.

Since the European commission is aware of that problem the list of priority substances is under review following two approaches: a monitoring-based approach and an approach based on modelling of exposure using production volumes and use patterns. Although this revision will provide significant progress, non-monitored compounds and limited data available as well as the great number of by- and transformation products may significantly hamper these approaches. Thus, to actually fulfill the requirements of the WFD and to protect European water resources we suggest to add another approach based on field-evidences downstream of known sources of potential basin-wide relevance (big cities, industrial complexes, areas of intensive agriculture), at integrative sinks (reservoirs, estuaries, harbours) and at sites of specific concern (e.g. drinking water abstraction, valuable ecosystems, dredging areas). The most promising approach to derive water body specific key toxicants based on field evidences is effect-directed analysis (EDA). This approach uses water, sediment or biota samples from sites of interest. These samples or extracts thereof are subjected to effect assessment ideally applying a broad range of toxicological endpoints that are relevant for ecosystems and for human health. Subsequent fractionation of toxic samples is used to reduce complexity of the environmental mixtures. Biotesting of the derived fractions is applied to identify those with greatest hazard potential and thus highest priority. Hazardous fractions are subjected to chemical target and non-target analysis. Structure elucidation of unknowns using GC-MS and LC-MSn techniques together with modern computer tools is one of the greatest challenges. Finally, tentatively identified compounds need to be confirmed as compounds that significantly contribute to the measured effect. In MODELKEY the EDA approach has been significantly advanced and applied to several sites of interest in three river basins. Together with classical in vivo tests representing members of WFD BQEs several in vitro test systems were applied covering a broad array of endocrine endpoints including estrogenicity, androgenicity, Ah-receptor mediated effects, thyroid hormone disruption but also mutagenicity and antibiotic

activity. A specific focus of EDA was given to sediments because of their potential to accumulate many toxicants. While classical non-polar persistent organic pollutants still are of relevance in the water bodies assessed by MODELKEY, EDA clearly indicated a high potential of polar fractions to affect most endpoints. This tendency was further enhanced when bioavailability was considered in EDA studies. Compounds stemming from personal care products such as the biocide triclosan and different musk compounds were identified as key toxicants in sediments. Other examples include steroid compounds, the flame retardant tris(2-chloroisopropyl)phosphate and different nitro-PAHs. A first comparison of toxicants identified with the EDA-based approach with prioritisation attempts based on monitoring and modelling indicates that our approach based on field evidences adds new potential key toxicants, which should be considered in monitoring and prioritisation. In addition to its value for prioritisation, the EDA approach is a powerful tool for investigative monitoring within the WFD at sites where there are indications for toxicants (e.g. by a low SPecies At Risk (SPEAR) index) as the cause of the insufficient ecological status, while target analytes can not explain measured effects.

Priority and Emerging Pollutants: the Role of WWTPs for Sanitation and the Significance of Transformation Products

Kormos, J. L., Schulz, M., Wick, A. and Ternes, T. A.

Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

Email contact: Ternes@bafg.de

The presence of emerging pollutants (i.e. pharmaceuticals, personal care products, perfluorinated compounds, brominated flame retardants) in the environment has been well described in the literature. These contaminants have been detected in various environmental matrices up to low $\mu\text{g/L}$ range in Europe as well as North America and Asia. It has been concluded that the primary source of these emerging contaminants entering the aquatic environment is through wastewater treatment plant (WWTP) discharges. Additional sources include industrial discharges, illegal disposal, leaching from landfill sites and hospital wastewater discharges.

In recent years, research has focused on trying to optimize and/or develop wastewater treatment technologies to effectively remove these emerging compounds and prevent further contamination of the aquatic environment.

The application of membrane technologies (i.e. nanofiltration membranes), sorption filters (i.e. GAC, PAC), chemical oxidation (i.e. ozone, UV/H₂O₂), operational parameters (i.e. sludge age, hydraulic retention time) as well of biological treatment (i.e. bioreactors, nitrifying bacteria) has been investigated to limit or prevent these compounds from entering surface waters and groundwater. However, limited research has focused on the impacts these treatments have on the composition of the effluent being discharged into aquatic ecosystems.

The formation and identification of transformation products (TPs) of emerging pollutants is a relatively new area of research which attempts to gain a better understanding of the implications of the applied treatment processes. In most cases, the removal of a compound does not necessarily indicate that mineralization has taken place. It is likely that the parent compound has been transformed to some extent, with possible changes to the functionality and toxicity of the compound. Research has investigated the biotransformation of selected pharmaceuticals (i.e. iodinated X-ray contrast media and opiates) as well as the chemical oxidation of selected micropollutants. The results clearly illustrate that transformation products of selected pharmaceuticals are formed in bench-scale batch systems, and the same TPs are detected in WWTPs and the aquatic environment.

This presentation will focus on the application of various wastewater treatments, the removal efficiency of certain polar micropollutants (i.e. pharmaceuticals), as well as the formation of TPs after the application of certain treatment processes.

Applicability and limitations of biomarkers

Segner H. and Möller A. M.

Centre for Fish and Wildlife Health
University of Bern
PO Box 8466
CH-3001 Bern
Switzerland

Email contact: helmut.segner@itpa.unibe.ch

A biomarker is defined as a biological change in response to exposure to and/or effects of environmental chemicals. In principal, any response ranging from molecular up to ecological changes can serve as biomarker. In practice, however, usually the term “biomarker” is restricted to molecular, biochemical, cellular and physiological responses of organisms, whereas higher level response may be designated as “bioindicators” or “ecological indicators”. Examples of biomarkers used in monitoring of aquatic organisms include biotransformation enzymes and products, stress proteins, metallothioneins, immunological parameters, endocrine parameters, genotoxic parameters and histopathological alterations. With the advent of toxicogenomic technologies, new biomarkers may become available.

Since biomarkers signal whether organisms are exposed to toxic chemicals and whether this is associated with adverse health impacts, they have the promise to link chemical and ecological status of aquatic habitats, as it is required, for instance, in the Water Framework Directive. The strength of biomarkers is the use as diagnostic tools in supporting the establishment of cause-effect relationships. However, the prognostic value of biomarkers, i.e. their ability to predict ecological change, is debated.

Biomarkers represent integrative responses of biological organisms. This has the advantage that biomarkers are indicative of the cumulative impact of all chemicals the organisms is exposed to. The disadvantage is that the biomarker response is influenced not only by chemical exposure, but also by a range of other chemical, biological and physical factors, e.g., reproductive status of the organism or environmental temperature. This multiple regulation of biomarker responses needs to be adequately considered in the design of monitoring programs in order to discriminate between the influence of chemical stressors and of other factors.

The presentation will discuss scopes and limitations of biomarker applications for the purposes of the monitoring and status assessment of aquatic habitats.

The use of biofilm communities to assess ecological risks of pollutants in aquatic ecosystems

Bonnineau C.¹, Sans-Piché F.², Proia L.¹, Lubarsky H.³, Geiszinger A.¹, Romaní A. M.¹, Schmitt-Jansen M.², Gerbersdorf S.³ and Guasch H.¹

1. Institute of Aquatic Ecology, University of Girona, Spain

2. Dep. of Bioanalytical Ecotoxicology, Centre for Environmental Research (UFZ), Leipzig, Germany

3. Institute of Hydraulics, Faculty of Civil Engineering and Environmental Science, University of Stuttgart, Germany

Email contact: chloe.bonnineau@udg.edu

Within the European Water Framework directive, a good ecological status has to be reached within all water bodies by 2015. Biofilm is integrated in the WFD as biological quality element to be monitored for quality assessment of surface waters. Biofilms are attached living communities growing on sediments (phytobenthos) or on other surfaces (periphyton). Algae, bacteria, protozoa, and fungi compose these communities, all embedded in an extracellular matrix of microbial secreted polymers. Guidance for monitoring biofilms focuses on structural elements of the autotrophic community using well-established tools: determination of taxa composition, abundance and related indices. However, it is also important to focus on the functional response of these communities as they provide crucial ecosystem functions. Thus, Keybioeffects project concerned the development of different tools to assess these functional responses of biofilm communities.

1. How to investigate biofilms complexity ?

Biofilm communities can be found in a variety of compartments within the aquatic ecosystem, and represent an interface between flowing water and stream bed/sediments. Due to their omnipresence and important role as primary producers in nutrient fluxes and trophic cascades, biofilms are good indicators of an integrated ecosystem health. Furthermore, biofilms are characterized by a high species richness with a reliable amount of sensitive and discriminating species, this feature combined with a short generation time make them pertinent early warning systems of disturbances within the ecosystem [1, 2]. The different levels of complexity have been studied in our groups on appropriate stages of biofilm colonization: from monocultures to mixed monocultures, up to natural biofilms in microcosms, mesocosms and artificial channels or in streams and rivers. To investigate the biological complexity of biofilms, we developed tools targeting different levels of biological organization: from gene responses to ecosystem function (Fig. 1). We focus on functional and integrated responses rather than on structural responses.

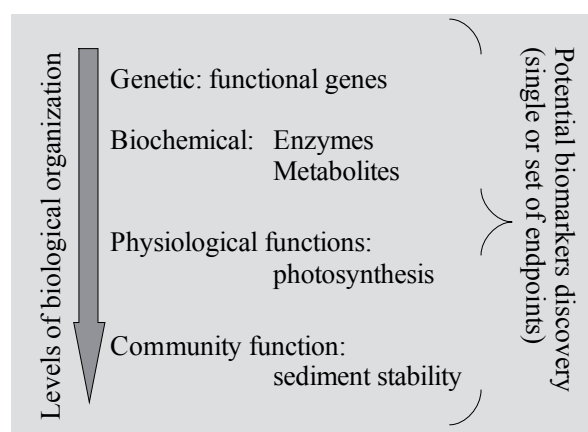


Figure 1. The different levels of biological organization integrated in tool development. At each level an example of endpoint used is indicated

2. Some examples of specific investigation:

Our groups are working on the development, optimisation and validation of these tools (Fig. 1). Responses to abiotic changes and toxicant pressure are being tested in order to investigate the potential of these tools in assessing risk of chemicals in the environment.

2.1 *Interactions between environmental factors and pollutants*

Biofilms were grown in mesocosms under different light intensities and were then exposed to different herbicides for 6h. In general, light history was found to affect biofilms responses to the herbicides. The analyses of antioxidant enzymes responses showed that depending on their light history, biofilms would use different enzymes to cope with oxidative stress due to these herbicides.

2.2 *Emerging contaminants: β -blockers toxicity assessment on fluvial biofilms [3]*

A biomarker approach, encompassing different levels of biological organization, was used to assess toxicity of 3 β -blockers, found in the ng/L range in the Llobregat river (Spain). After 24h of exposure in microcosms, the response of various biomarkers were tested. Propranolol was found to be the most toxic β -blocker, affecting strongly photosynthetic efficiency of biofilms. While the 3 β -blockers are expected to act similarly in target organisms, our approach showed that they affected differently the compartments of the biofilms and may have adverse effects when found in mixture.

2.3 *Pollution pulses of triclosan and diuron*

Fluvial biofilm was used to assess ecological risk associated with entrance of pulses of the bactericide triclosan (TCS) and the herbicide diuron (DIU). TCS directly inhibited phosphate uptake, increased bacteria mortality and indirectly affected diatoms. Phosphate uptake inhibition might determine a reduction of the self-depuration capacity in the river ecosystem. DIU mainly affected algal compartment of biofilm: photosynthetic efficiency decreased and diatoms mortality increased after exposure. These results confirm different modes of action for these 2 products at the biofilm community level and highlight the risk represented by them at river ecosystem level.

2.4 *Metabolomics to understand prometryn toxicity on biofilms*

An investigation has been conducted to assess the suitability of metabolomics technology to study periphyton incubated in microcosms. During the incubation, some microcosms were exposed to the herbicide prometryn. The metabolic profiles of periphyton could be successfully extracted using an optimized "metabolomics protocol". Though changes in the metabolic profiles of the community were observed after exposure to prometryn, the reduction of unwanted variability is still a challenging task.

2.5 *Keycomponents for biostabilization of sediments*

Triclosan, a common and persistent anthropogenic pollutant in aquatic habitats, affected strongly the directly exposed bacterial assemblage within a concentration range of 2 – 100 $\mu\text{g/l}$. The stabilisation potential of the bacteria, an important ecosystem function within the aquatic habitat [4,5], was strongly inhibited by TCS, both variables were negatively correlated. TCS exposure had a clear impact on bacterial cell numbers and bacterial growth that in turn affected the EPS secretion to influence sediment stability.

3. Perspectives for use of biofilms in toxicity assessment and investigative monitoring

3.1 Toxicity assessment

Biofilms, as complex communities, integrate over long periods both direct and indirect effects of toxicants and thus are very interesting for toxicity assessment. To develop laboratory bioassays, some standardization of colonization and toxicity assessment procedures is needed. The type of substrata, the colonization and exposure time, the set of reliable and pertinent biomarkers to use may be determined depending on the habitat and the community studied (small streams, lakes, sediments...). This uniformisation would be helpful to compare ecotoxicological parameters obtained for different communities, in different laboratories.

3.2 Investigative Monitoring: biofilm as a sentinel indicator of habitat health

Investigative monitoring may focus on the development of early warning systems. Since functional responses may occur before a structural effect is visible, the tools developed within Keybioeffects would be pertinent for an investigative monitoring. Before routine usage, these tools need to be adapted and optimized to field situations, therefore a field-lab approach is suggested.

Tools developed in laboratory to screen new parameters (e.g. genes, enzymes, metabolites) and community' functions (e.g. primary producer through photosynthesis or sediment stability) may be applied to specific field situations. Results of field sampling may then be used for further optimization in the lab and for validation. Finally combination of relevant tools should provide a biomarkers toolbox that can be used in investigative monitoring, for instance when pollution sources are unknown.

References

- [1] Sabater, S., Admiraal, W., 2005. Periphyton as Biological Indicators in Managed Aquatic Ecosystems. In Periphyton: Ecology, exploitation and management, 159-178. CABI Publishing. M.E. Azim, M.C.J. Verdegem, van A.A. Dam, M.C.M. Beveridge.
- [2] Sabater S., Guasch H., Ricart M., Romani A., Vidal G., Klünder Ch. & Schmitt-Jansen M., 2007. Monitoring the effect of chemicals on biological communities: the biofilm as an interface. *Anal Bioanal Chem* 387, 1425-1434.
- [3] Bonnineau, C., Guasch, H., Proia, L., Ricart, M., Geiszinger, A., Romani, A.M., Sabater, S. 2010. Fluvial biofilms: A pertinent tool to assess β -blockers toxicity. *Aquat.Toxicol.* 96, 225-233
- [4] Gerbersdorf, S.U., Manz, W., and Paterson, D.M., 2008: The engineering potential of natural benthic bacterial assemblages in terms of the erosion resistance of sediments. *FEMS Microbiology Ecology* 66, 282-294.
- [5] Gerbersdorf, S.U., Bittner, R., Lubarsky H., Manz, W., and Paterson, D.M., 2009: "Microbial assemblages as ecosystem engineers of sediment stability". *JSS, Journal of Soils and Sediments* 9, 640-652.

Acknowledgement. Financial support was provided by 2 EU projects: MODELKEY (SSPI-CT-2003-511237-2), KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT-2006-035695).

Improving data sampling for better ecosystem diagnostic

Faggiano L.¹, Guénard G.², Gevrey M.², and Lek S.²

1. Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona, Spain
2. University Paul-Sabatier, CNRS-EDB (UMR 5174), Toulouse, France

Email contact: leslie.faggiano@udg.edu

Freshwater ecosystems are strongly impacted by land-use, pollution and climate change. The EU Water Framework Directive (WFD) has committed all EU states to reach good ecological condition of surface water by the year 2015. The WFD was meant to promote the development of tools to assess the chemical and ecological status of water bodies reliably and create common standards for surface and groundwater management. In this way pollution should be stemmed and the condition of the ecosystem improved in order to protect the water resources in the long-term. In spite of the efforts made by the scientific community, it remains difficult to correctly define what bad water quality is and to reliably identify the causes of the impairment. In most instances, bad water quality is the consequence of multiple factors acting in synergy or hindering one another (e.g., chemical pollution, habitat alteration or climate changes) rather than the outcome of a single stressor. Furthermore, these multiple factors are themselves interwoven into spatial and temporal processes occurring on different scales within the landscapes. In order to help reach or surpass the goals of the WFD, obtain geographically-oriented assessments of biological impacts, and allow dependable identification of stressors, spatially- and temporally-explicit information is needed.

The European national water agencies, which are in charge of the implementation of the WFD, have proposed several monitoring programs, hinging for most instance on biological inventories or the measurement of chemical pollution such as the detection of pesticides and priority substances in freshwater ecosystems. However, in the absence of prior inter-agencies agreements regarding sampling sites, these monitoring efforts are generally done on different sets of locations. For example, in the Adour-Garonne basin (south-western France), pesticides data (collected by the French Water Agency at 130 sampling sites) and fish data (collected by the French Fishery agency at 140 sampling sites) were too far away from one other (median=10.5 km) to allow reasonable matching. As a consequence, datasets obtained by merging information from different agencies most of the time gather a weak amount of usable data to further investigate possible cause-effect relationships between chemical factors and biotic community responses.

Spatial database evaluations, as part of screening-level diagnostic assessment, aim at establishing scientific understanding of quantitative spatial associations between environmental (explanatory) and biological (response) variables. Such efforts are increasingly in demand as their results provide guidance for targeted follow-on studies and prioritization of regional and local watershed management goals [1]. Linking biological condition, habitat characteristics including mixture risks, and species abundance allowed us to separate natural from anthropogenic causes of ecosystem impairment. Methods may vary from simple correlation analyses to complex multivariate techniques [2-5]. For example, the methodology called Effect and Probable-Cause pie chart (EPC pie diagrams) allow mapping the relative probable contributions of different stressors to the loss of species with pie sizes corresponding to magnitude of local impairment (see figure 1a from Kapo et al., 2008). Moreover, the GIS-

Based Weights of Evidence/Weighted Logistic Regression [6-7] uses relationships between a set of known training points and the map patterns of two or more variables to both predict the occurrence of undiscovered points of interest and determine the relative influence of individual variables (see figure 1b from Kapo et al., 2008).

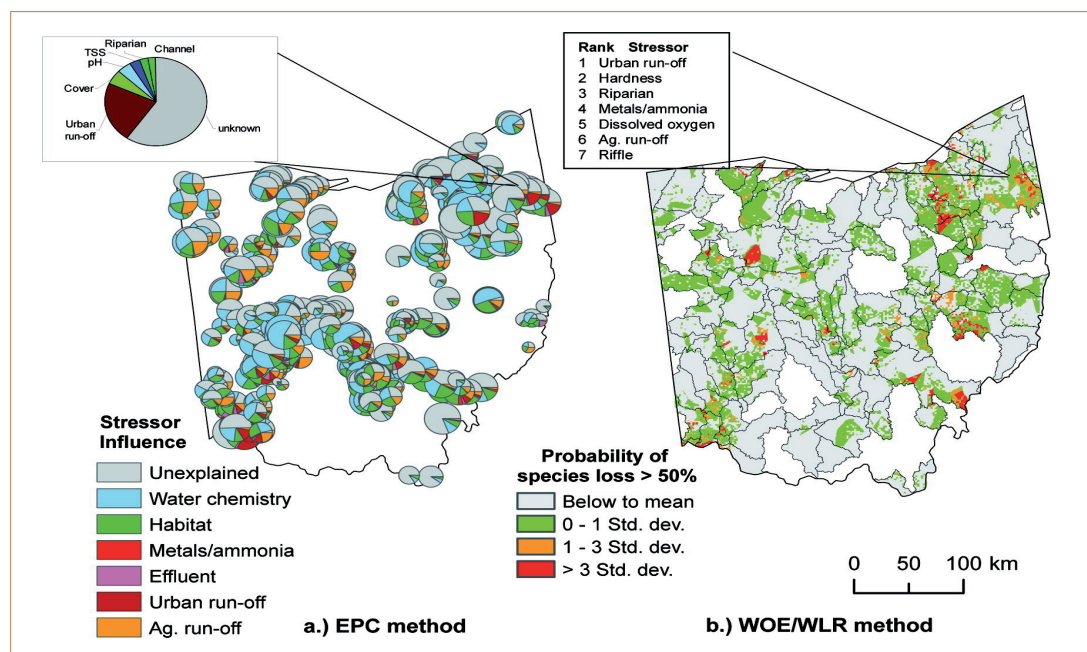


Figure 1. GIS mapping results for Ohio: (a) Pie and slice map from the Effect and Probable Cause (EPC) model. (b) Interactive raster map from the GIS-based Weights of Evidence/Weighted Logistic Regression (WOE/WLR) model. A model query example of stressor influence is shown for a site on the Mahoning River on each model map (from Kapo et al., 2008).

For now on, complete spatial database allowing this kind of analysis (including chemical, biological and habitat variables) remains scarce in Europe. In order to improve ecosystem diagnostic and to comply with the WFD, stakeholder should seek solutions to improve inter-agencies communication. In that regard, a possible solution may be the creation of inter-agency comities. For example, a geo-logistic comity shared by agencies responsible for biological inventories and chemical monitoring may have the responsibility of ensuring that both kinds of work are done within a standard set of sites. This kind of collaboration has started in the Adour-Garonne basin and a great improvement can be hoped in the next few years.

References:

- [1] de Zwart D., Dyer S. D., Posthuma L., and Hawkins C. P. Predictive models attribute effects on fish assemblages to toxicity and habitat alteration. *Ecological Applications*, 2006, 16(4) :1295–1310.
- [2] Burton, G. A., Jr., Dyer, S. D., Cormier, S. M., Suter, G. W., and Doroward-King, E. J. Identifying Watershed Stressors Using Database Evaluations Linked with Field and Laboratory Studies: A Case Example. In *Ecological Variability: Separating Natural from Anthropogenic Causes of Ecosystem Impairment*; Baird, D. J., and Burton, G. A., eds. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC): Brussels, 2001

- [3] Dyer, S. D., White-Hull, C., Wang, X., Johnson, T., Carr, G. Determining the influence of habitat and chemical factors on instream biotic integrity for a Southern Ohio watershed *Journal of Aquatic Ecosystem Stress Recovery*, 1998, 6:91-110.
- [4] Norton, S. B., Cormier, S. M., Smith, M., Jones, R. C., Berigan, M. S. Predicting levels of stress from biological assessment data: empirical models from the Eastern Cornbelt Plains, Ohio, USA *Environ. Toxicological Chemistry*, 2002, 21:1168-1175.
- [5] Kapo, K. E., Burton, G. A. A GIS-based weights-of-evidence approach for diagnosing aquatic ecosystem impairment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25:2237-2249.
- [6] Agterberg, F. P.; Bonham Carter, G. F.; Cheng, Q.; Wright, D. F. Weights of Evidence Modeling and Weighted Logistic Regression for Mineral Potential Mapping. In *Computers in Geology, 25 Years of Progress*; Davis, J. C.; Herzfeld, U. C., Eds.; Oxford University Press: Oxford, UK, 1993; pp 13– 32.
- [7] Sawatzky, D. L.; Raines, G. L.; Bonham-Carter, G. F.; Looney, C. G. ArcSDM2: Arcmap Extension for Spatial Data Modelling Using Weights of Evidence, Logistic Regression, Fuzzy Logic and Neural Network Analysis.
- [8] Kapo, K., Burton G. A., de Zwart, D., Posthuma, L and Dyer, S. D. Quantitative Lines of Evidence for Screening-Level Diagnostic Assessment of Regional Fish Community Impacts: A Comparison of Spatial Database Evaluation Methods. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42 (24) : 9412–9418.

Acknowledgement. Financial support was provided by the EU project keybioeffects (MRTN-CT-2006-035695).

Ecotoxicology in fluvial ecosystems: From standardized single-species tests to ecosystem manipulations

Clements W.H.

Department of Fish, Wildlife and Conservation Biology
Colorado State University
Fort Collins, CO 80523, USA

Email contact: willc@warnercnr.colostate.edu

Biological monitoring of aquatic communities is routinely employed to assess impacts of physical and chemical stressors on ecological integrity. An important assumption of these assessments is that patterns of community composition observed at polluted sites reflect the presence of specific stressors. Because differences between reference and polluted sites result from numerous factors in addition to physical and chemical stressors, demonstrating causation in descriptive studies is challenging. For example, descriptive studies can show that two sites differ in community composition; however, these differences often cannot be attributed to a specific cause. Although approaches developed in human epidemiology (Hill 1965) have been proposed to strengthen causal relationships in stream bioassessments (Suter 1993), some researchers argue there is no substitute for experimental manipulation (Lubchenco and Real 1991).

The relationship between descriptive and experimental approaches in ecotoxicology can be depicted as continua along two axes that reflect the degree of experimental control and replication along one axis and the ecological relevance of a test system along the other axis. Traditional experimental approaches employed in aquatic toxicology, such as single-species laboratory bioassays, are the workhorse of environmental regulators (Cairns 1986). These experiments, which are routinely employed to demonstrate chemical effects and to establish chemical criteria, provide rigorous control over confounding variables and are easily replicated. However, laboratory toxicity tests lack ecological realism and fail to account for indirect effects that occur in natural communities. In contrast, purely descriptive studies (e.g., routine biomonitoring) lack true replication and random assignment of treatments to experimental units. Consequently, differences between reference and impacted sites cannot be directly attributed to a specific stressor.

More sophisticated approaches, such as microcosm and mesocosm experiments, have been developed to assess responses at higher levels of biological organization (e.g., communities and ecosystems), but these approaches are rarely used in a regulatory context. I believe the historical focus on reductionist approaches such as single species toxicity tests has significantly impeded implementation of these ecologically realistic experimental approaches. Conducting experiments at ecologically relevant spatiotemporal scales is difficult at higher levels of biological organization (populations, communities, ecosystems), leading some researchers to question the validity of small scale studies (Carpenter 1996). For experimental approaches to play a more prominent role in ecotoxicology, researchers must address concerns about spatiotemporal scale and design more ecologically realistic studies.

In addition to assessing effects at the appropriate spatiotemporal scale, ecotoxicologists have become increasingly aware of the need to measure a diverse suite of ecologically

significant endpoints. Responses at lower levels of organization are often specific to a particular contaminant (e.g., metallothionein induction and heavy metal exposure) and generally have a well understood mechanistic basis. However, the ecological consequences for populations and communities of most biochemical, physiological, and individual responses have not been characterized. Although responses at higher levels of biological organization are more ecologically relevant, they are less specific and lack a mechanistic basis. Consequently, some researchers advocate integrating measures across levels of biological organization when assessing stressor effects (Clements 2000). Because microcosm and mesocosm experiments typically involve exposure of complex systems, they provide important opportunities to investigate responses to stressors across levels of biological organization.

In summary, the transition from purely descriptive to experimental approaches and the ability to test hypotheses with controlled experiments are generally regarded as evidence of scientific maturation (Popper 1972). Although this transition is currently underway in the field of ecotoxicology, serious questions remain regarding appropriate spatiotemporal scales and levels of biological organization. In this presentation I will describe the strengths and weaknesses of experimental approaches across a range of spatial and temporal scales in ecotoxicology. Using data collected during a 20 year natural experiment conducted in a metal-polluted stream, I will describe how results of descriptive and experimental approaches can be integrated to demonstrate cause-and-effect relationships between stressors and ecological responses. Results of a large-scale field manipulation conducted in 12 separate streams will be used to demonstrate that effects of stressors must be investigated within the context of global change. The goal of the presentation is to demonstrate how results of descriptive and experimental studies can be used to establish causal relationships and to identify safe concentrations of priority and emerging contaminants in aquatic ecosystems.

Literature Cited

- Cairns, J.Jr. 1986. The myth of the most sensitive species. *BioScience* 36: 670-672.
- Carpenter, S.R. 1996. Microcosm experiments have limited relevance for community and ecosystem ecology. *Ecology* 77: 677-680.
- Clements, W.H. 2000. Integrating effects of contaminants across levels of biological organization: an overview. *J. Aquat. Eco. Stress Recov.* 7: 113-116.
- Hill, A.B. 1965. The environment and disease: association or causation. *Proceed. Royal Soc. Medicine* 58: 295-300.
- Lubchenco, J. and L.A. Real. 1991. Manipulative experiments as tests of ecological theory. In *Foundations of ecology. Edited by L.A. Real and J.H. Brown.* Chicago University Press, Chicago, pp. 715-733.
- Popper, K.R. 1972. *The Logic of Scientific Discovery*, 3rd edition. Hutchinson, London, England.
- Suter, G.W. 1993. *Ecological Risk Assessment*. Lewis Publ., Chelsea, MI.

Current approaches used to evaluate ecological integrity: biotic indices versus community ecotoxicology studies

Sabater S.^{1,2} and Muñoz I.³

1. Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona, Campus Montilivi, 17071 Girona
2. Catalan Institute for Water Research (ICRA), Scientific and Technologic Park of the University of Girona, 17003 Girona, Spain.
3. Department of Ecology, University of Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, Spain.

Email contact: sergi.sabater@udg.edu or imunoz@ub.edu

Complying the WFD implies that member states and the scientific community consider the protection and management of entire freshwater systems. To determine the ecological status of water bodies, the WFD considers not only the impact of single pressures on individual biotic groups but the deviation of the community from undisturbed conditions.

It is often difficult to establish relationships that imply causality between the chemical characteristics of river water and biological communities. Moreover, other stressors can be responsible in the impairment of ecological status. Common metrics based on community structure (e.g. biotic indexes) do not account for the combined stressor effects. On the other hand effects differ between biological levels. Assessing the relevance of multiple stressors requires that analysis include multiple parameters and the use of multivariate statistics, as tools to confirm the role of each stressor and stressor interactions.

Within the MODELKEY project a range of experimental, observational and modelling approaches has been deployed to evaluate the potential and limitations of multiple stressor assessment. Tools have allowed to analyse data on multiple levels, including community, chemicals and toxicity descriptors, in order to assess the impact of key pollutants on community structure and biodiversity. The Llobregat river is one of the basins examined by the project. The Llobregat River is characterized by high discharge fluctuations, which reflect the Mediterranean climate. The headwaters of this river are characterized by agricultural activities, and industry and urban agglomeration impact on the middle and lower reaches. More than 5 million people live in this basin and chemical pollution is accompanied by salinity, nutrient enrichment, habitat deterioration and water abstraction. In several sites of the lower part of the river the chemical analyses revealed the presence of priority and emerging contaminants, like pesticides (Ricart et al. 2009), pharmaceuticals (Muñoz et al. 2009) and alkylphenolic compounds (Petrovic et al., 2002).

Simultaneous chemical and biological sampling was carried out along the lower reach of the Llobregat River during spring and autumn of 2005 and 2006. Multivariate statistical techniques were applied to determine the best match between the patterns among-sample of an assemblage and that from environmental variables associated with those samples. Results obtained show that different factors affect the different communities studied.

- Physical and chemical variables, mainly temperature and sulphate concentration explained a high percentage in the variability of the exoenzymatic activities of the bacterial biofilm compartment.

Pesticide occurrence and concentration, as well as nutrient availability, were related with changes in biomass, community composition and photosynthetic efficiency of algae in the biofilm.

The abundance and biomass of macroinvertebrate community were related with the concentration of some pharmaceutical agents (mainly anti-inflammatory).

Though these results were not determinant to find evidences on cause-effect responses, laboratory ecotoxicological experiments partially support results found in the field. The combination of the two approaches may be essential to elucidate which are the factors causing changes in the biological communities. This approach might be useful to find spatial and temporal correlation of stressor and effects along gradients, while community experiments in the laboratory are required to examine hypotheses generated from field studies. Knowledge of field patterns and combined laboratory efforts might help to focus on the subsequent monitoring efforts, as well as on identifying key taxa for their use as ecological indicators of specific (or predominant) stress factors in multistress conditions. This could be a desirable way to go on in future risk management decisions.

Recommendations

Some measures and needs are proposed to improve the assessment and management of river basins:

Simultaneous sampling in time and space including physical, chemical and biological parameters.

General screenings in river basins to detect new compounds and to determine their potential toxicity on community in order to select those to be included in the routine monitoring.

Modelization to estimate impacts of multiple stressor on biological communities, at site and basin scales.

References

- Muñoz, I., López-Doval, J.C., Ricart, M., Villagrasa, M., Brix, R., Geszinger, A., Ginebreda, A., Guasch, H., López de Alda, M., Romani, A.M., Sabater, S., Barceló, D. 2009. Bridging levels of pharmaceuticals in river water with biological community structure in the Llobregat river basin (NE Spain). *Environmental Toxicology and Chemistry* 28 (12):2706-2714.
- Petrovic M, Solé M, López de Alda MJ, Barceló D. 2002. Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. *Environ Toxicol Chem* 21: 2146-2156.
- Ricart, M., Guasch, H., Barceló, D., Brix, R., Conceição, M.H., Geszinger, A., López de Alda, M., López-Doval, J.C., Muñoz, I., Postigo, C., Romani, A.M., Villagrasa, M., Sabater, S., 2009. Primary and complex stressors in polluted Mediterranean rivers: pesticide effects on biological communities. *Journal of hydrology*, DOI: 10.1016/j.jhydrol.2009.08.014

Recommendations in the Design of Water Monitoring Programmes based on newly developed Complementary Methods

Carafa R.¹, Real M.¹, Munné A.², Ginebreda A.³ and Guasch H.⁴

1. URSCorp, C/ Urgell 143, 4^a planta, 08036 Barcelona, Spain

2. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

3. Department of Environmental Chemistry, IDAEA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

4. Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona, Campus Montilivi s/n - Facultat de Ciències, 17071 Girona, Spain

Email contact: Roberta_Carafa@URSCorp.com

Introduction

According to the requirements of the EU Water Framework Directive, crucial aspects for the evaluation of chemical status of European water bodies are: the identification of key toxicants, the quantification of the influence of environmental conditions on their bioavailability, and the assessment of their effects in mixture at different ecosystem levels.

Regional Water Authorities need to complement the traditional monitoring procedures with more sustainable tools in terms of lower cost and lower ecosystem impact, greater robustness and greater efficiency in the identification of pollution sources. These emerging monitoring tools (as biomonitoring, biomarkers, etc.) can provide a better insight on the overall ecosystem status, as they provide a link between chemical and ecological status.

The integration of exposure and effects monitoring will facilitate more cost effective monitoring programmes as well as forming the basis of a risk based pollution control strategy.

The present study is part of the European Project Keybioeffects, a Marie Curie Training Network, aiming to provide a better understanding of problems related to biodiversity conservation and water pollution in European rivers. The knowledge achieved will be transferred to different stakeholders. A case-oriented guidance document is being developed to support the activities of Water Agencies in the evaluation of chemical and ecological status in relation to priority and emerging pollutants.

Prioritization and decision support tools

A justification of a reduction in sampling frequency can be considered using sensors as screening tools e.g., Early Warning Systems. Sampling for chemical analysis can be subordinate to the response of a sensor above a certain threshold.

Good examples are methods that use fluvial biofilms or fish biomarkers as bioindicators of environmental perturbations in the aquatic ecosystem. These real-time continuous systems provide rapid evaluation and detection of temporal variation in water quality. These methods are applicable to detect early stage biological imbalance, and potential toxicity, in addition are able to assess the joint action of several stressors (such as environmental factors and toxicant concentration), recognizing interactions and unexpected effects.

The identification of problem as well as non-problem areas e.g., in the grouping of water bodies for operational monitoring can be achieved using advanced modelling techniques.

Predictive and diagnostic models applied to existing monitoring data and emission data can be used to predict the impact of emerging key contaminants on freshwater ecosystems biodiversity.

These models can predict the stress factors that have contributed to the impairment of biota communities as well as provide a predictive analysis of the more probable effects of individual or mixture of toxicants on biodiversity.

In particular a risk assessment procedure based on Species Sensitivity Distribution SSD and multi Artificial Neural Networks ANNs is proposed for the analysis of large datasets and the identification of patterns of spatial diversity of chemical toxicity.

Monitoring tools

Concerning water monitoring programs, a big effort should be done on harmonisation of methods at European level, especially for international river basins. Spatial coverage and regular sampling time are crucial factors to obtain a regular map of pollution evolution across time and space. This will allow the application of model tools resulting in a better identification of critical sites that need most attention to reduce contamination.

Passive sampling devices are able to give a representative assessment of water quality in a river basin with rapid fluctuations in pollutant concentrations and integrate contaminant concentration over the sampling time. In addition are very useful to concentrate compounds that show low environmental levels and can be used also for short sampling time (few hours) or simply for spot water sampling. The sampling, extraction and cleaning techniques are simple as well as the transportation and storage of samples.

The European Commission in the directive highlights the importance of sediment and biota in the process of distribution and bioaccumulation of toxic compounds and Member States are required to set monitoring program, including sediment and biota.

New methods for cleaning and extraction of toxicants in sediment and fish are proposed.

It appears important also to consider bioavailability and reliable water exposure concentrations of toxicants: partitioning extraction systems (e.g. SPME) or bioavailability models may contribute to estimate partitioning of toxicants in water, and associated toxic risk

The routine use of these techniques allows assessing long term trends in toxicant loads.

Investigation tools

In case of biota impairment and when the reason of the impairment is unknown (good chemical status based on priority substances) monitoring methods can be coupled with in vitro bioassays, fractionation and chemical isolation methods. New sampling, fractionation and analysis methods are developed for the screening and identification of unknown, emerging contaminants in a complex mixture from complex environmental samples and also to identify the pollutants causing adverse effects to biota, including mutagenicity, carcinogenicity, endocrine disruption and developmental effects (e.g. Brack, 2003).

A step forward in toxic stress identification, when bioassay test response is ambiguous or inadequate, can be performed with metabolomics techniques especially designed to understand and compare physiological processes under natural or stressed conditions.

Specific investigation tools are recommended for solving problems related to bioaccumulation, degradation pathways and sediment binding capacity and stability properties.

References

Brack, W., 2003. Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures? *Anal Bioanal Chem* 377:397-407.

Establishment of the good chemical status of fresh surface water in France. Application of the directive 2008/105/CE.

Rebillard J.P.¹, Allonier Fernades A.S.², Riou C.³, Halkett C.⁴ Pelte T.⁵, Verlhac A.⁶ and Demouliere R.⁷

1. Agence de l'eau Adour-Garonne, France.
2. Agence de l'eau Seine Normandie, France.
3. Agence de l'eau Rhin Meuse, France.
4. Agence de l'eau Artois Picardie, France.
- 5 Agence de l'eau Rhône Méditerranée et Corse, France.
6. Agence de l'eau Loire Bretagne, France.
7. Ministère de l'écologie, de l'énergie, du développement durable et de la mer, France.

Email contact: jean-pierre.rebillard@eau-adour-garonne.fr

In France, water chemical status monitoring involved to water agencies.

In order to evaluate the water body chemical status, 41 priority or dangerous priority substances are followed (appendix X, Water Framework Directive).

A european directive named "priority substances" defines Environmental Quality Standards (EQS) for these molecules (maximal acceptable concentration and annual average concentration).

The qualification rule consists in comparing these EQS with the averages and the maxima observed.

In 2007, there were two sample's frequencies for these 41 substances:

- one per month for the river
- four per year for the lake

Every monitoring control network's water stations have been sampled.

That means only ¼ of French territory has got measured data (approximately 2400 stations for about 9300 water bodies).

In reference to the decree (March 17, 2006) which explains the content of SDAGE (tool of planification for water management), the chemical status of fresh surface water bodies has been made on these 2400 sites. The French Department of Environment, Energy, Sustained Development and Sea (MEDDM) decided to limit the number of water body with out chemical status. That why, each water agency assigns chemical status with own methods which can all be summed up in a two methods I) pressure-impact assessment and II) the same quality for the main water body and its tributaries.

Establishment of the good chemical status of water in Spain. Application of the directive 2008/105/CE.

Puig A.

Dirección General del Agua. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino.
Plaza San Juan de la Cruz, s/n. 28071-MADRID.

Email contact: apinfante@mma.es

The approval of the Water Framework Directive in 2000 was a milestone in the development of water policies and, in particular, in the protection of water against hazardous substances. The new Directive includes the obligations set forth in the previous legislation, but adds new requirements. The strategy to fight against the contamination of water with hazardous substances is mainly developed in Article 16. *Strategies to fight against the contamination of water*, and it must be implemented in accordance with the requirements set forth in Article 10. *Combined approach to address the punctual and diffuse contamination sources*.

Article 16 establishes that the protection of water against priority substances must address two main areas. On the one hand, it must act on the contamination sources, establishing measures aimed at reducing or eliminating the discharge of these substances to the aquatic environment. On the other hand, action is required in the recipient environment to make sure that the environmental quality standard is observed at all times. This standard establishes a concentration threshold for the environment, under which the presence of a substance will not generate a negative impact to the aquatic environment.

The strategy is articulated on three main aims. Firstly, the relevant substances must be selected, i.e., the presence of dangerous substances that represent a risk to the environment or, through the natural environment, to the health of persons. Next, the contamination reduction measures must be implemented for each substance selected and, finally, the environmental quality standard must be calculated for the aquatic environment.

The development of the strategy described in Article 16 defines the approval of the two legislation acts derived from such article. The first one is Decision No. 2455/2001/EC, November 20, 2001, for the approval of the list of priority substances in the water policy scope, constituting Appendix X of the Water Framework Directive. The second one, after years of intense negotiations, is Directive 2008/105/EC, December 16, 2008, related to environmental quality standards (hereinafter EQS) in the water policy scope, modifying and derogating Directives 82/176/EC, 83/513/EC, 84/156/EC, 84/491/EC and 86/280/EC of the Council.

The latter establishes an EQS for each substance in continental, coast and transition waters. In addition, there is an EQS in biota for mercury, hexachlorobenzene and hexachlorobutadiene. The EQS is expressed as an annual mean and as the maximum admissible concentration. In the case of organic compounds, the values of the EQS range from 0.2 ng/L for tributylstannane or 0.5 ng/L for brominated diphenylether, to 2.5 µg/L for trichloromethane. In the case of metals, the values range from 0.05 µg/L for mercury, to 20 µg/L for nickel. The Member States will draw up their own definition of the EQSs for sediments and biota in certain water mass categories. The values approved for these matrices must offer the same degree of protection to those defined in waters. This is important in the case of strong water-repellent substances, such as chloroalkanes or pentabromodiphenyl ethers. It is also interesting in the

control of coast waters, where mussels or sediments are the matrices that are usually captured to measure the effects of contamination.

In parallel, the Directive requires the observance of the trends of content of contaminating substances in sediments or biota. In particular, the substances that tend to accumulate in these matrices must be controlled, such as metals, polycyclic aromatic hydrocarbons or chloro-organic substances. In this case, the concentration of these substances must be monitored to make sure that they do not increase in time.

We must highlight that the Commission is working to modify the ratio of priority substances with the aim of adding more substances. It is currently working with an initial list of 42 substances obtained after a new prioritisation process, including the contaminating substances of Appendix III of the EQS Directive, with historical substances, such as PCBs or Dioxins, or other less common substances in control networks, such as EDTA, PFOs, Glyphosate, AMPA and Bisphenol A. New substances have been added, in some cases, emerging substances, such as Trichlorfon, Dichlorvos, Ibuprofen, Irgarol or Carbamazepin, among others.

The analytical controls must comply with the requirements set forth in Directive 2009/90/EC of the Commission, July 31, 2009, which establishes the technical specifications of the chemical analysis and the control of the state of waters, sediments and organisms, as well as the regulations aimed at demonstrating the quality of analytical results.

Such a complex and vast legislation framework establishes the Directives that are developing the strategy for priority substances in Spain. In addition, the same principles are applied to protect waters from other types of substances, i.e., preferential substances prioritised at the State level and the relevant contaminating substances of each River Basin Authority. Therefore, for example, the good chemical condition of surface water is achieved when complying with the EQSs of Directive 2008/105/EC. In parallel, there is a good ecological condition - in relation to contaminating substances - when complying with the EQS of preferential substances established in Royal Decree 995/2000, June 2, for continental waters and Sections B and C of Appendix I and Appendix II of Royal Decree 258/1989, March 10, on the discharge of hazardous substances from land to sea. Likewise, other contaminating substances must comply with the EQS, calculated in accordance with the provisions of Appendix V of the Water Framework Directive, approved in each Hydrological Plan.

The Spanish Ministry of the Natural, Rural and Marine Environment is working with the General Coast and Sea Sustainability Department to prepare the text required to transpose the Directive. Likewise, it is assessing the possibility of establishing reference EQSs for sediments and the biota.

Methods of Analysis of Priority and Emerging Pollutants: Problems and Establishment of Quality Standards

Caixach J.

Mass Spectrometry Laboratory & Organic Pollutants in Aquatic Environment.
Institute of Environment Assessment & Water Research .
IDAEA- CSIC

Email contact: Josep.Caixach@cid.csic.es

The Water Framework Directive (WFD) (2000/60/EC) shall provide regulation for the contamination of European water bodies through chemical pollutants. This is achieved via the Priority Substance List Decision (2455/2001/EC) and establishing of Environmental Quality Standards on European level through the Daughter Directive 2008/105/EC. For river basin specific pollutants the Water Framework Directive provisions include obligations for identification of relevant pollutants at smaller spatial scales and the derivation of appropriate limit values on national level. The Groundwater Directive (2006/118/EC) ensures the protection of groundwater against pollution and deterioration. Therefore, Member States should set-up water monitoring programs covering a wide range of possible contaminants in order to identify risks, priority issues and needs for action.

The WFD daughter Directive 2008/105/EC on Environmental Quality Standards in the Field of Water Policy is regulating the pollution with chemical substances in European waters. The performance criteria are proposed in a draft Commission Directive on Analytical Quality Control.

JRC IES has been accompanying the preparation of the upcoming WFD Daughter Directive COM(2006)398 on Environmental Quality Standards EQS through chairing the workgroup on Analysis and Monitoring of Priority Substances AMPS (2003-2004), co-chairing the drafting of the CMA guidance document for surface waters within the Chemical Monitoring Activity CMA (2005-2006) and is currently co-chairing the Chemical Monitoring Activity in 2007-2009.

The assessment of available methods for WFD compliance checking is among the prime objectives of the chemical monitoring activity. It is important that methodologies fulfil the requirements of the WFD chemical monitoring, e.g. by delivering concentration data of sufficient quality in order to assess compliance with the WFD Directive. Guidance on general WFD monitoring provision is available through the Guidance Document No. 7 "Monitoring under the Water Framework Directive" and for implementation of the ground water through the WFD CIS Guidance Document No. 15 "Guidance on Groundwater Monitoring" and CIS guidance document No 19 on "Chemical Monitoring of Surface Waters".

The method performance criteria for analytical measurements in chemical monitoring have been proposed in the "Draft Commission Directive adopting technical specifications for chemical monitoring and quality of analytical results in accordance with Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council". In that draft document a $LoQ \leq 30\%$ of EQS is required for WFD compliance checking. (Dir 2009/90/CE).

In general, the methodologies for the analysis of organic pollutants in water are well established and are based on GC/MS (or GC/HRMS) and LC-MS (or LC-MS/MS). However, the values of some proposed EQS are very low (For example: Endosulfan (Σ : 5-0.5 ng/L),

PBDEs (Σ : 0.5-0.2 ng/L) and some PAHs (Σ : 2 ng/L)). These values need LoQs in the level of ng/L (ppt) or lower.

Also the low concentration levels of pollutants included in Interlaboratory exercises, in the frame of the Chemical Monitoring Analysis (CMA), require the use of sophisticated instrumentation (GC-HRMS, GC-MS/MS or LC-MS/MS), which is not available at present for routine laboratories.

On the other hand, the analysis of called “emerging” organic pollutants (ex: PFOS, drugs, pharmaceuticals, NDMA , ...) need as well the sophisticated instrumentation (MS/MS & HRMS). The methods have not been yet fully verified and /or do not exist reference materials, and there are not many interlaboratory exercises available. As a result, a rigorous intercomparativity is nowadays not possible.

In this context, the establishment of reliable and robust methodologies which attain the QA/QC standards is essential.

References

Comparison of Monitoring Approaches for Selected Priority Pollutants in Surface Water, CMA on-site 2 ; G Hanke et al ; JRC-IES, **2009**.

Focal Point: Emerging Contaminants and Water Analysis (W.Giger), *Anal Chem* **2008**.

Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues. S. Richardson; *ES&T*, 40 (33) , **2008**.

Monitoring of priority and related substances in the rivers of Catalonia, under the application of the WFD: overview of results and risk assessment

Ginebreda A.¹, Munné A.², Carafa R.³ and Tirapu LI.²

1. Department of Environmental Chemistry, IDÆA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

2. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

3. URSCorp, C/ Urgell 143, 4^a planta, 08036 Barcelona, Spain

Email contact: agmqam@cid.csic.es or anmunne@gencat.cat

Summary

Data obtained along the monitoring campaigns of priority, dangerous priority and other related substances in the rivers of Catalonia, carried out by the Catalan Water Agency during the years 2008 -2009 according to the application of the WFD are presented and interpreted from a double point of view:

a) Regulatory

The results of priority and dangerous priority substances have been evaluated in terms of Directive 2008/105/CE. For those compounds that are not covered by the said directive, they have been examined, when possible, under the light of other applicable local legislation, such as RD 995/2000 and RD 140/2003.

Furthermore, available data of emission inventories, obtained within the application of the E-PRTR regulation to WWTPs of more than 100.000 eq. inhab., have been reviewed and tentatively related to river values.

b) Risk Assessment

An ecotoxicological risk assessment study has been attempted using sequential advanced modelling techniques on a sub-set of the whole dataset of chemical monitoring data (232 sampling stations and 60 pollutants).

Data on concentration of contaminants in water were pre-treated in order to calculate the bioavailable fraction, depending on substance properties and local environmental conditions. The resulting values were used to predict the potential impact on aquatic biota of toxic substances in complex mixtures and to identify hot spots. Exposure assessment with Species Sensitivity Distribution (SSD) and mixture toxicity rules were used to compute the multi-substances Potentially Affected Fraction (msPAF).

In order to understand and visualize the spatial distribution of the toxic risk, several representation techniques, such as Self Organising Maps (SOM) derived from Artificial neural Networks, Cluster Analysis or Principal Component Analysis (PCA), have been explored.

Hot spots and contamination patterns have been identified, thus providing useful information to water managers in order to assess chemical risk at basin scale.

Control of hazardous substances in the Ebro River Basin

Cortés S

 Water Quality Area
 Ebro River Basin Authority, Spain

Email contact: scortes@chebro.es

The Water Framework Directive 2000/60/EC (WFD) and directives included in its Appendix IX, as well as Directive 2006/11/EC (coded version of Directive 76/464/EC) force Member States to establish control stations to monitor the contamination in aquatic environments (water, sediments and biota) caused by hazardous substances downstream of their source points.

The so-called hazardous substances can have an industrial (punctual) and/or agricultural (diffuse) origin and, therefore, it is not possible to apply the same criteria when designing the control network for all substances, i.e., pesticides must be classified separately. Therefore, the Ebro River Basin Authority has defined two networks with different control points, sampling frequencies, measurement parameters and analysis matrices:

Pesticide Control Network (PCN), aimed at controlling the contamination with an agricultural/diffuse origin

Hazardous Substance Control Network (HSCN), aimed at controlling the contamination with mainly industrial/punctual origin.

The purpose of the Pesticide Control Network is to monitor the contamination caused by the pesticides in List I, List II - Preferential and the List of Priority Substances, downstream of the main agricultural areas and, in particular, making sure that they comply with the Environmental Quality Standards (EQS) established in the current legislation.

The Hazardous Substance Control Network has been implemented in the Ebro River Basin Authority (ERBA) since 1992. The purpose of this network is to control the concentration of hazardous substances (Priority substances, substances in List I and substances in List II Preferential) downstream of their main sources. The control procedures require the intake of water, sediment and fish samples. In the case of water, the Environmental Quality Standards have been established (Directive 2008/105/EC and Royal Decree 995/2000) and, in the case of sediments and fish, the aim is to make sure that the concentrations in these matrices do not increase greatly over time (basic principle of improvement or standstill).

Table 1 shows the current number of stations in these control networks, as well as the matrices analysed and sampling frequency.

Table 1. Characteristics of the HSCN and PCN.

	No. of Stations	Matrices analysed	Sampling frequency
HSCN	18	Water	12/year
		Sediments	1/year
		Fish	1/year
PCN	22	Water	5/year

37 different substances are controlled in the Pesticide Network and a total of 47 contaminating substances are controlled in the Hazardous Substance Network.

The results obtained in the Hazardous Substance Control Network during the 2008 campaign indicate that the points with a highest contamination with industrial origin are the stations of Gállego in Jabarrella, Ebro in Ascó, Cinca in Monzón, Zadorra in Vitoria-Trespuestas, Ebro in Tortosa and Huerva in Zaragoza-Fuente de la Junquera.

The most important concentrations of polluting substances in some of the analyses carried out during the year 2008 in each one of the matrices analysed from the Network of Hazardous Substances are as follows:

- **Water:** selenium, nickel, mercury and dichloromethane.
- **Sediment:** nickel, chromium, zinc, cadmium, DDTs, benzo(b)fluoranthene, benzo(a)pyrene, benzo(g,h,i)perylene and benzo(k)fluoranthene.
- **Fish:** DDTs, zinc, hexachlorobenzene and mercury.

The 2008 analyses of the Pesticide Control Network show that only 9 of the 37 pesticides analysed (atrazine, desethylatrazine, chlorpyrifos, isoproturon, metholachlor, molinate, simazine, terbutylazine and 3.4-dichloraniline) have exceeded 0.1 µg/l. In addition, during the year 2008, only terbutylazine and 3.4-dichloraniline had a concentration over 1 µg/l.

The stations with the highest concentrations of pesticides are those of Flumen in Sariñena, Alcanadre in Ontiñena, Arba de Luesia in Tauste and Clamor Amarga in Zaidín.

Linking SPATIOtemporal variations of diuron contamination to biofilm induced tolerance in a river

Pesce S., Margoum C., Montuelle B.

Cemagref, UR MAEP, 3 bis quai Chauveau, CP220, 69336 Lyon Cedex 09, France

Email contact: bernard.montuelle@cemagref.fr

Biofilms represent useful potential early warning indicators for monitoring of rivers. When assessing the effects of toxicants on natural microbial communities, special attention must be given in the distinction between these effects and those resulting from other environmental parameters. Pollution induced community tolerance (PICT) approaches offer possibilities to partially isolate effects of individual toxicants within a complex ecosystem by studying shifts in community sensitivity. To validate the pertinence of PICT methodology for risk assessment, the aim of our study was to investigate if diuron tolerance levels induced in photoautotrophic biofilm communities were proportional to their previous *in situ* exposure level to this herbicide. A field survey was conducted for 9 months at two sites located in a river chronically contaminated by diuron. Spatiotemporal variations of diuron tolerance capacities within photoautotrophic communities were estimated monthly from short-term photosynthesis bioassays. Even if we observed a possible influence of three co-varying environmental variables (nitrates, conductivity and temperature) in diuron tolerance induction processes, statistical analysis clearly demonstrated that the main factor explaining variation in diuron sensitivity was the diuron exposure level during biofilm colonization periods. A remarkable exponential correlation between EC_{50} values and *in situ* diuron concentrations was thus recorded, confirming that PICT can serve as a relevant tool for environmental monitoring of rivers in complement to other existing bioindicator methods.

Multi-biomarker responses of benthic macroinvertebrate species to diagnose the ecological status of polluted rivers.

Damasio J.^{1,2}, Puértolas L.³, Prat N.³, Rieradevall M.³, Soares A.M.V.M² and Barata C.¹

¹Department of Environmental Chemistry, (IDAEA-CSIC)
Jordi Girona, 18-26, 08034, Barcelona (Spain)

² CESAM & Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

³ Department of Ecology (UB), Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, Spain

Email contact: cbrmqam@cid.csic.es

Biological indexes of benthic macroinvertebrate species are currently used world wide to measure river water quality with ecological criteria.. These indexes assign a global ecological status of the biotic community, but do not detect specific effects of water pollutants at environmental relevant concentrations. Here we provide experimental data on biochemical responses of transplanted and field collected individuals of two taxa: *Echinogammarus* sp. and *Hydropsyche exocellata* across a gradient of polluted sites. The study was performed in the Llobregat, the Besòs and the Ebro river basins (NE, Spain). A multi-biomarker approach including up to ten different markers was used to assess effects of a broad range of pollutant sources such as glyphosate, pharmaceuticals, organochlorine compounds and mercury. Biological responses included biotransformation and antioxidant enzymes and markers of tissue damage. The results obtained evidenced the following: (1) a good repeatability of biomarker responses within sites across seasons, (2) greater biotransformation and antioxidant enzyme activities in polluted sites and in tolerant species, (3) a higher responses of field collected relative to transplanted organisms and (4) the feasibility of biomarkers to differentiate and hence identify major pollutant sources affecting river biota. Furthermore, likewise biological indexes, biomarkers responses measured in populations located in reference and contaminated sites were also able to discriminate different degrees of pollution. Therefore, our results indicate that multi-biomarker responses of macroinvertebrate benthic species provide useful and complementary information than those obtained with biotic indices and are necessary to characterize the ecological status of Mediterranean river ecosystems. This is especially interesting in moderately polluted sites, where stressors are already affecting communities but not too strongly to be detected by biotic indexes. Multi-biomarker responses thus can be used as warning signals alerting that if no changes in the increasing trends of pollutants are produced, the ecological status of moderate polluted areas may even decrease in the future. This study was funded by the Spanish projects CGL2008-01898 and CGL2007-64551/HID and the Diputació de Barcelona ECOSTRIMED program (www.ecostrimed.net)

Patterns in diatom community structure in rivers submitted to heavy metal inputs in different countries and consequences for biomonitoring

Morin S.¹, Cordonier A.², Duong T.T.³, Lavoie I.⁴, Tornés E.⁵, Bonet B.⁶, Corcoll N.⁶, Faggiano L.⁶, Guasch H.⁶, Sabater S.^{5,6} and Coste M.¹

1. Cemagref, UR REBX, France

2. Service de l'écologie de l'eau, Switzerland

3. Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

4. INRS CETE, Canada

5. ICRA, Spain

6. Universitat de Girona, Spain

Email contact: Soizic.Morin@cemagref.fr

A large database of river diatoms (comprising more than 450 taxa) was constituted based on field surveys carried out in different countries (France, Spain, Switzerland, Canada, Vietnam), in rivers exposed to various loads of heavy metals in the water. After taxonomy harmonization, the patterns in diatom community structure were investigated for 163 samples, all collected from hard substrates.

The biotypology (*i.e.* structuration of the diatom dataset) indicates that the species are influenced by the hydroecoregional context as well as metal inputs. The most structuring environmental parameters are investigated, and discriminating analyses are used to determine the relevance of some particular species (e.g. *Eolimna minima*, *Achnantheidium minutissimum*) as well as teratological forms for the biomonitoring of heavy metal pollutions.

Pesticide gradients in rivers: fish-based investigative field monitoring

Shinn C., Grenouillet G. and Lek S.

Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, CNRS/Univ. Paul Sabatier, Toulouse, France

Email contact: candida.shinn@gmail.com

By 2015, surface waters of all European member states must reach high or good chemical and ecological status, as stated in the current Water Framework Directive. Thus, the present extent of the contamination of aquatic environments due to anthropogenic activities calls for active assessment of the impact on exposed organisms.

In order to verify whether different levels of pesticides - mostly herbicides - found in rivers in South-West France are affecting fish populations, we had a look at their health status and traits. Classification of sampling sites regarding pesticide concentrations are based on data from annual surveys performed by the local water agency. Different classifications of the sampling sites are obtained according to which toxicity indexes are taken into account (eg. total msPAF, multi-substance Potentially Affected Fraction (of species), msPAF per Toxic Mode of Action, and Toxic Units).

An a priori selection of the sites was followed by electrofishing of chub (*Leuciscus cephalus*) and gudgeon (*Gobio gobio*) in autumn 2008. Our aim was to verify whether fish from polluted sites, in comparison to those from more pristine ones, present: lower nutritional status (condition factor), signs of deteriorated health (organo-somatic indexes), constrained growth, signs of toxic chemical stress (morphometric changes and fluctuating asymmetry), and higher body concentrations of pesticides.

Chubs from more polluted sites (higher msPAF and TU levels) presented higher gonado-somatic indices and lower condition factors, whilst the hepato-somatic index did not reveal any particular tendency along the gradient. Increased levels of pesticides and a number of hepatic histological changes were detected in chubs from more contaminated rivers. Gudgeon from more polluted sites appeared to have less external parasites and present, for example, significantly larger body height and significantly smaller eyes and dorsal fin. These results will be further developed and corrected for gudgeon population genetic diversity.

Results and conclusions from our study will additionally be placed within the framework of a general decision making process for water management.

Effect Directed Analysis of a benthic food chain using genotoxicity screening

Simon E.¹, Lamoree M.¹, Leonards P.¹, Hamers T.¹, Reifferscheid G.², Spira D.², Rudoll R.² and de Boer J.¹

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit (VU), De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands

2. Federal Institute of Hydrology (BfG), Am Mainzer Tor 1, D-56068 Koblenz, Germany

Email contact: eszter.simon@ivm.vu.nl

European surface waters are reported to be contaminated with direct- and indirect-acting mutagenic chemicals in many studies (Vahl et al. 1997, Keiter et al. 2006, Barceló et al. 2007, Higley et al. 2009 etc.). In order to efficiently identify mutagens and assess their presence in our freshwater systems Effect Directed Analysis (EDA) is a promising tool of investigative monitoring in the context of the Water Framework Directive monitoring programs.

EDA was applied to trace genotoxic activity in biotic and abiotic samples representing a benthic food chain from the aquatic environment.

Samples obtained from the Dutch Delta area, the Western Scheldt, were tested for genotoxicity. These included sediment, suspended particulate matter (SPM), worms, shrimps, cockles and a flatfish, the flounder. The abiotic samples (sediment, SPM) and the whole body homogenate of the biotic samples were extracted and cleaned up with a combination of Dialysis, Gel Permeation Chromatography (GPC) and Normal-Phase Liquid Chromatography (NP-HPLC). This stepwise sample treatment method to remove lipids and other interferences was developed and validated earlier. The extracts were tested in the AMES fluctuation test to detect point mutations and in the Comet assay to detect DNA damage induced by the chemicals in the extracts.

The first genotoxicity screening of the extracts revealed high cytotoxicity in the bioassays, despite the elaborate sample treatment procedure. To avoid the potential masking effect of cytotoxicity on the genotoxic endpoints, the samples were further fractionated on a silica column in order to remove cytotoxic constituents of the sample and to enable a proper genotoxicity screening. The additional fractionation then revealed weak genotoxic effects in certain fractions of some of the samples, as could be expected given the high reactivity of genotoxic substances in general.

Keywords: food chain, Effect Directed Analysis (EDA), genotoxicity, suborganismic bioassays

Effect Directed Analysis performed on European river sediment with emphasis on the identification of androgen disrupting compounds

Weiss J.¹, Hamers T.¹, van der Linden S.², Leonards P.¹ and Lamoree M.¹

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Faculty of Earth and Life Sciences, VU University, De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands
2. BioDetection Systems B.V., Kruislaan 406, 1098 SM Amsterdam, The Netherlands

Email contact: marja.lamoree@ivm.vu.nl

In most areas influenced by anthropogenic activity, samples can contain a complex mixture of substances that may exhibit toxicological effects, such as endocrine effects, in organisms. Effect Directed Analysis (EDA) studies employ bioassay-directed fractionation techniques to be able to identify those fractions containing toxic compounds, and hence perform a toxicity characterization of the sample. The study presented here focuses on a sample that was selected after a toxicity screening of a number of river sediments within the Modelkey EU-project (SSPI-CT-2003-511237-2).

The selected active sample originates from the tributary Schijn to the river Scheldt in Belgium. The bioassay used to direct the analysis is the **C**hemically **A**ctivated **L**uciferase gene **eX**pression assay for androgen detection (AR-CALUX[®]), for both agonistic and antagonistic responses.

The aim of this EDA study is to identify androgen-disrupting compounds responsible for the bioassay responses. This is performed in several steps: bioassays on whole extract, first (reversed phase LC) and second fractions (normal phase LC), chemical analysis, identification of compounds, analytical confirmation and finally toxicity confirmation. The application of clean up and fractionation strategies and the use of various analytical chemical identification techniques will be presented, as well as a discussion how to interpret agonistic and antagonistic effects in EDAs. It was shown that a whole extract screening is not sufficient to reveal androgenic effects due to suppression of the agonistic effect by presence of antagonistic compounds.

Identification of androgen disrupting compounds in effect directed analysed river sediment with an LTQ-Orbitrap

Weiss J.¹, Leonards P.¹, Stroomberg G.², de Boer R.² and Lamoree M.¹

¹Institute for Environmental Studies (IVM), Faculty of Earth and Life Sciences, VU University, De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands

²Rijkswaterstaat, Waterdienst, Zuiderwagenplein 2, 8224 AD Lelystad, The Netherlands

Email contact: marja.lamoree@ivm.vu.nl

Attention regarding the presence of endocrine disrupting compounds in the environment has been high the last decades. These compounds range from natural and synthetic hormones to industrial chemicals. In areas influenced by anthropogenic activity, samples can contain a complex mixture of these compounds. Effect Directed Analysis (EDA) studies employ bioassay-directed fractionation techniques to be able to identify fractions containing active compounds, and hence decrease the complexity of the sample matrix before chemical analysis of the fraction. The identification of key toxicants and the final confirmation of toxicity and identity are critical for the success of EDA studies.

In this study an EDA was performed on a sediment sample from the river Schijn in Belgium and the androgenic activity was determined in the AR-CALUX[®] bioassay. The aim was to identify the androgenic compounds, both agonistic and antagonistic, causing effects in the active fractions of the EDA. The chemical analysis was performed on an LTQ-Orbitrap mass spectrometer. Commercially available software was used to sieve the active and the non-active fractions to discriminate the peaks of interest. The criteria were (1) a ratio of >100 between peak intensity in non-active and active fractions, (2) the suggested chemical formulas extracted from the accurate mass should be present in the NIST spectral database, (3) a CAS-number to be able to purchase the compounds for confirmation studies.

Around one fourth of the discriminated peaks were tentatively identified, e.g. anabolic steroids, antidepressants, musk fragrances and flavouring agents. The results suggest that working with an accurate mass instrument is a powerful tool in the task to identify unknown compounds in a complex.

Biodegradation of Pharmaceuticals during Wastewater Treatment and the Evaluation of Proteomics for Metabolic Pathway Elucidation

Collado N.¹, Osuna B.¹, Comas J.¹, Rodríguez-Roda I.² and Sipma J.¹

1. Laboratory of Chemical and Environmental Engineering, University of Girona, Science and Technologic Park, Ed. Jaume Casademont, c/Pic de Peguera 15, E17003, Girona, Spain
2. ICRA (Catalan Institute for Water Research), Scientific and Technological Park of the University of Girona, H2O Building, Emili Grahit 101, 17003 Girona, Spain

Email contact: u1055969@correu.udg.edu

Currently an increasing awareness of the presence of pharmaceuticals in domestic wastewater exists, which coupled with the potential risks associated with their release into the environment ensures the need to gain knowledge on their fate during wastewater treatment. With the improved analytical tools, a wide range of pharmaceuticals have been detected in raw domestic wastewater as well as in receiving ecosystems. Although there exists a great deal of uncertainty concerning the potential effects of these compounds on the aquatic ecosystems, the precautionary principle will likely give rise to more stringent legislations on wastewater treatment in the near future.

Many studies have shown greatly fluctuating elimination efficiencies for a wide range of pharmaceuticals, which have been often ascribed to biodegradation. However, only for a few compounds biodegradation mechanisms have been elucidated so far, and often these mechanisms have been found in lab scale experiments at relative high pharmaceutical concentrations. The study of biodegradation mechanisms of pharmaceuticals at environmental relevant concentrations is highly challenging due to the difficulties of their analysis. Knowledge on the fate of pharmaceuticals in wastewater treatment facilities requires knowledge on the biodegradation mechanisms and rate limiting conversions within the biodegradation pathways to enable the estimation of potential accumulation of intermediates.

In this work we focus on the involvement of specific trophic groups of microorganisms and elucidation of biodegradation mechanisms. The behavior of selected pharmaceuticals, carbamazepine, clofibrac acid, diclofenac, ibuprofen and naproxen, was studied in a lab-scale SBR reactor. Removal rates under different operational conditions of a pharmaceutical gives information on the involvement of specific trophic groups of microorganisms for their degradation. This knowledge could ultimately aid in the optimization of the biological wastewater treatment for the simultaneous removal of the bulk pollutants and specific micropollutants such as pharmaceuticals, which requires new approaches in wastewater treatment. Even though there are many reports on biodegradation of pharmaceuticals, information on the employed mechanisms or biodegradation pathways are largely lacking. Since these pollutants occur at trace levels, their biological degradation remains subject to many uncertainties. As a result, the use of conventional microbiological techniques will likely remain ineffective for the elucidation of biodegradation mechanisms. In this study we evaluate the use of protein fingerprinting, in order to observe the differential expression of proteins under different growth conditions, i.e. in the presence and absence of a specific pharmaceutical. Proteomics, a relatively new approach in environmental microbiology, studies protein properties and permits us to identify key proteins and associated changes

under specific conditions. Since nearly all enzymes involved in biodegradation are proteins, changes in the protein fingerprint can be ascribed to the presence of the administered pharmaceutical. The protein fingerprints are obtained by protein separation in two dimensions, i.e. first by isoelectric point and subsequently by molecular weight, in 2D-gel electrophoresis. Afterwards, the differently expressed proteins, i.e. either their presence or absence as well as significant changes in expression level, are analyzed for their peptide composition and compared with peptide compositions of known proteins in online accessible protein databases. Ultimately, the involvement of specific enzymes enables the determination of biodegradation pathways, which in a later stadium will be affirmed if possible by analysis for biodegradation intermediates.

Uptake and effects of 1,2,3,5,7-pentachloronaphthalene in an aquatic food chain: from sediment via benthic organisms (*Lumbriculus variegatus*) to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Slootweg T.¹, Dömötörövá M.², Fabišiková A.², Igumnova E.³, Mayer P.⁴, Möller A.⁵, Nikiforov V.³, Schmidt J.¹, Smith K.⁴ and Liebig M.¹

1. ECT Oekotoxikologie GmbH, Böttgerstraße 2-14, 65439 Flörsheim, Germany

2. Slovak Medical University, Department of Toxic Organic Pollutants, Limbova 12, 833 03 Bratislava, Slovakia

3. Saint-Petersburg State University, 198504 St.Petersburg, Universitetskii pr., 26, Russia

4. National Environmental Research Institute, Aarhus University, Department of Environmental Chemistry and Microbiology, Frederiksborgvej 399, DK-4000 Roskilde, Denmark

5. University of Berne, Laenggass-Straße 122, 3012 Bern, Switzerland

E-mail contact: t.slootweg@ect.de

One of the many stressors in river systems are chemical pollutants. It is important to learn more about the mode of action of specific pollutants in aquatic organisms to be able to link adverse effects in a river system to the right causes. Having this knowledge will help water managers in taking effective measures to improve a declined ecological status of a river system.

In this study we focus on effects of hydrophobic toxicants which are present in sediment. Although binding to sediment decreases the bioavailability, benthic organisms that live in and feed on sediment, can bioaccumulate those toxicants and make them bioavailable again for organisms higher in the food chain, like fish. By further biomagnification, internal concentrations in the fish can reach levels at which the toxicant causes adverse effects on the individual fish. If for example growth or reproduction of individual fish are affected, this might in the end have consequences for the whole fish population. Uptake and effects of 1,2,3,5,7-pentachloronaphthalene (PeCN52) were followed in a simplified food chain consisting of three compartments: sediment – benthic worms (*Lumbriculus variegatus*) – rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). PeCN52 is a congener of the group of polychlorinated naphthalenes, which are persistent and widely distributed pollutants: in Elbe River sediments concentrations have been measured in the range of µg/kg dry weight (dw).

At first a bioaccumulation study was performed in which worms were exposed for 28 days to sediment spiked with PeCN52. The resulting bioaccumulation factor of 35.3 (dw/dw) demonstrated that worms, when serving as food source, can transfer PeCN52 from sediment to higher levels in the food chain. Therefore, in a following study, juvenile trout were exposed to live contaminated worms. Worms were exposed in water with PeCN52 present at aqueous solubility to produce a large amount of worms with a constant burden of PeCN52. Trout were held individually and fed daily with worms. Four concentration levels (0 - 9 - 18 and 36 µg/g food) were tested. From the total intake of PeCN52 via worms, 60% was measured in trout tissue after 28 days. Despite this high bioaccumulation, no significant effects were found on mortality, behaviour, growth, and liver somatic index of juvenile trout. Expression of CYP1A and P-glycoprotein, both involved in the defence mechanism of fish, were measured in liver, brain and gut of trout through real time RT-PCR. Exposure to PeCN52 resulted in a concentration dependent induction of CYP1A, but no effect was found on P-glycoprotein expression. These results add to our knowledge on transfer of hydrophobic toxicants in a food chain, and make it possible to model the flux of PeCN52 in a food chain.

The use of a new set of fluvial biofilms biomarkers to assess the effects of metals: contribution to the water framework directive application

Bonet B.¹, Corcoll N.¹, Morin M.² and Guasch H.¹

1. Institut of Aquatic Ecology, Universitat de Girona, Spain

2. CEMAGREF, Bordeaux, France

Email contact: berta.bonet@udg.edu

It is well known that some aquatic environments are contaminated by heavy metals from diverse kind of wastes. At present there are not many biomarkers of metal pollution and many of the biotic indices which are in use are mostly based on structural changes occurring at community level which are expected to integrate biotic responses over relatively long periods of time (from weeks to months depending on the life time of the organisms investigated). Thus, it is of great interest to develop new metal toxicity bioindicators focusing on both early responses and chronic effects in order to complete the information provided by the available ones. This will improve our understanding of the causes of ecosystem damage as required by the water framework directive (WFD, 2000/60/EC).

In rivers and streams, the biofilm (also known as phytobenthos or periphyton) has been widely used as bioindicator of pollution due its capacity to detect early effects produced by toxic substances, as are heavy metals, providing an ecotoxicology approach at community level with high ecological relevance.

Metals interfere with the metabolism of organisms at different stages. The pulse amplitude modulation (PAM) fluorometry has been widely used to assess the direct and indirect functional effects of toxicants on photosynthetic organisms. Antioxidant enzyme activities (AEA) have been studied as well, giving to the main conclusions that AEA can be used as "early warning systems" because they have a functional response detectable before than structural changes (i.e. algal biomass or species composition). Moreover, these enzyme activities might also be biomarkers of adaptation, since their activation is expected to contribute to metal detoxification under chronic exposure.

The aim of this study was to investigate metal toxicity on fluvial biofilms using functional (PAM), metabolic (AEA) as well as structural (diatom species composition) endpoints. To reach this goal, a biofilm translocation experiment was performed in the Osor River, a tributary of the Ter river located in a former mining area. This river presents high levels of dissolved zinc (Zn) and iron (Fe) reaching up to 600 µg Zn/L and 750 µg Fe/L after the entrance of a mining source.

Biofilms were translocated from non-polluted to polluted sites in order to evaluate the different responses obtained over a metal concentration gradient at different temporal scales (from hours to several weeks of exposure).

In spite of the high temporal variability observed, we identified several functional and metabolic parameters related with the metal gradient. Metal concentrations found in Osor River affected the fluvial biofilm causing transitory physiological responses (short exposure) and structural and functional alterations (chronic exposure). Moreover, at the end of the experiment (after 5 weeks of exposure), dominant diatom species were also related with

the metal gradient, showing more teratological forms and a smaller biovolume at the metal-polluted sites.

Our results suggest that PAM and AEA of fluvial biofilms can be used as early-warning tools as well as biomarkers of adaptation in metal polluted rivers complementing the information provided by diatom studies (including taxonomical and morphological attributes).

Predicting the effects of toxic substances upon functional diversity of North-American fish species

Faggiano L.¹, de Zwart D.², Dyer S.³, Lek S.⁴ and Gevrey M.⁴

1. University of Girona, Spain

2. RIVM, Bilthoven, The Netherlands

3. Procter & Gamble, Cincinnati, Ohio, USA

4. University of Toulouse, France

Email contact: leslie.faggiano@udg.edu

The aim of this study was to assess the effects of chemicals and mixtures upon the functional diversity of fifty seven native fish species collected at 2000 sampling sites over a broad geographical area, the state of Ohio (USA). The functional diversity approach holds much potential for making quantitative prediction of the representation organismal groups along gradients of environmental alteration caused by humans than the typical taxonomic approach. Abundance data collected were used to weight the occurrence of 'biological' traits, such as trophic ecology, reproductive strategy, locomotion/morphology, body length and 'ecological' traits, such as preferences for substrate, geomorphic and stream size. Two different artificial neural network algorithms were used in this study: a self-organizing map (SOM) and a multilayer perceptron (MLP). A SOM was applied in order to determine trait assemblage types, and a MLP was used to predict assemblages using different predictors, including: landcover, macrohabitat characteristics, classical water chemistry, and exposure and potential risks to a large variety of chemicals. Our results suggest that fish community function is primarily structured by large-scale differences in habitat supporting the findings of previous studies. Moreover, we demonstrate a significant link between fish traits assemblages and chemical exposure and risks showing that this specific stress factor may act as a filter selecting particular trait types and assemblages.

Investigating the Environmental Fate of Emerging and Priority Contaminants - Identification of Transformation Products

Kormos J.L., Schulz M. and Ternes T.A.

Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

Email contact: kormos@bafg.de

In recent years, research has focused on the development of sensitive and reliable analytical methods for detecting the presence of organic contaminants (i.e. pharmaceuticals, personal care products, biocides, plasticizers, perfluorinated compounds, etc.) in various environmental matrices. However, research on the fate of these emerging and priority contaminants in watersheds is largely unknown.

Fate studies provide valuable information about the partitioning capabilities and degradation potential of the target compounds. In addition, how the compound might react during various treatment processes, and therefore potential mechanisms of removal. Previous research has investigated the removal efficiencies of various conventional and advanced treatment processes to limit these compounds from entering the aquatic environment as well as drinking water supplies. However, limited research has investigated what compounds are formed after the application of various treatments (whether biological or chemical) if complete elimination is not obtained, and if these unknown products are considered a threat to ecological health.

Research conducted within the Marie Curie Research Training Network KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT-2006-035695) investigates the biotransformation of a group of contaminants, iodinated X-ray contrast media (ICM), which are commonly detected in WWTP effluents, surface water, and groundwater. In particular, research focused on an approach to elucidate the chemical structures of biotransformation products of ICM in aerobic water-soil and water-river sediment batch systems. This multi-step approach enabled the identification of a total of 34 TPs of three non-ionic ICM (iohexol, iomeprol and iopamidol) in these batch systems. The concept involved the use of semi-preparative HPLC-UV, LC ESI tandem/linear ion trap MS and NMR.

The development of a LC-ESI tandem MS method in combination with SPE techniques allowed for the newly identified TPs to be detected in real environmental samples. Concentrations of the TPs have been detected up to the low $\mu\text{g/L}$ range in surface waters. The significance of these biotransformation products in the environment is still unknown, but the approach is a crucial step in attempting to resolve and identify what key unknown compounds might be responsible for the effects observed in aquatic and terrestrial ecosystems.

Water toxicity assessment in Catalan rivers (NE Spain) using Species Sensitivity Distribution and Artificial Neural Networks

Carafa R.¹, Faggiano L.², Real R.¹, Munné A.³, Ginebreda A.⁴, Guasch H.², Flo M.³ and Tirapu LI.³

1. URS, C/ Urgell 143, 4^a planta, 08036 Barcelona, Spain

2. Institut d'Ecologia Aquàtica, Universitat de Girona, Campus Montilivi s/n, 17071 Girona, Spain

3. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

4. Department of Environmental Chemistry, IDAEA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

Email contact: Roberta_Carafa@URSCorp.com

In compliance with the requirements of the EU Water Framework Directive, monitoring controls of the ecological and chemical status of Catalan river basins have been carried out by the Catalan Water Agency (NE Spain), following the calendar set by the Directive.

The large amount of data collected and the complex relationships among the monitored variables make difficult data interpretation in terms of toxic impact, especially considering that even pollutants at very low concentration might contribute to the total toxicity of a mixture.

The whole dataset of chemical controls carried out during years 2007-2008 (232 sampling stations and 60 pollutants) have been analysed using sequential advanced modelling techniques.

Data on concentration of contaminants in water were pre-treated in order to calculate the bioavailable fraction, depending on substance properties and local environmental conditions.

The resulting values were used to predict the potential impact on aquatic biota of toxic substances in complex mixtures and to identify hot spots. Exposure assessment with Species Sensitivity Distribution (SSD) and mixture toxicity rules were used to compute the multi-substances Potentially Affected Fraction (msPAF).

In order to understand and visualize the spatial distribution of the toxic risk, the Self Organising Maps (SOM) method, an unsupervised algorithm of an artificial neural network model, was applied on the output data of these models.

Principal Component Analysis (PCA) was performed on top of Neural Network results in order to identify main influential variables which account for the pollution trends.

Finally, predicted toxic impacts on biota have been linked and correlated to experimental data on biota quality indexes (IBMWP, IPS) and to other physico-chemical variables.

Hot spots and contamination patterns have been identified in order to give indications to water managers to assess chemical risk on a basin scale.

Keywords: Aquatic toxicity - Risk Assessment- Species Sensitivity Distribution- Artificial Neural Networks

Are biotic indices sensitive to river micropollutants? A comparison of metrics based on diatoms and macroinvertebrates.

Blanco S.^{1,2} and Bécares E.¹

1. Department of Environmental Management and Biodiversity, University of León. E-24071 León, Spain.
2. The Institute of the Environment. University of León. La Serna, 58. E-24007 León, Spain.

Email.contact: ebecm@unileon.es

Many field studies have shown that the presence of toxicants results in predictable changes in river benthic communities. Biotic indices based on macroinvertebrates and diatoms are frequently used to diagnose the ecological quality in watercourses, but few works assess their effectiveness as biomonitors of the concentration of micropollutants. This work reports the results from a biological survey performed in 188 sites in the Duero River Basin (NW Spain). 19 diatom and 6 macroinvertebrate indices were calculated and compared with the concentration of 37 different pollutants by means of correlation analysis. More than a half of the analyzed chemical variables correlated significantly with at least one biotic index. Sládeček's diatom index and the number of macroinvertebrate families exhibited particularly high correlation coefficients. Methods based on macroinvertebrates gave a better performance for the detection of biocides, while diatom indices showed stronger correlations with potentially toxic elements such as heavy metals. All biotic indices and, particularly, diatom indices, were especially sensitive to the concentration of fats and oils and trichloroethene, while anionic and nitrogen-derived compounds achieved the lowest correlation values. Results show that both macroinvertebrate and diatom indices can be reliable methods for the surveillance of river toxicants.

List of participants

- ACUÑA Vicenç, Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain (vicenc.acuna@icra.cat)
- AGBO Stanley, University of Eastern Finland - Joensuu, Finland (Stanley.Agbo@joensuu.fi)
- AGUIRRE JIMENEZ Maria, CEDEX – Madrid, Spain (maria.aguirre@cedex.es)
- ALONSO GARCIA Ana Maria, CEDEX – Madrid, Spain (ana.m.alonso@cedex.es)
- ANTICÓ Enriqueta, University of Girona (UdG) – Girona, Spain (enriqueta.antico@udg.edu)
- ARANDA MARES José Luís, IPROMA, S. L.- Castellón, Spain (jlaranda@iproma.com)
- BARATA Carlos, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain (cbmqam@cid.csic.es)
- BARCELÓ Damià, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC)– Barcelona, and Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain (dbcqam@cid.csic.es)
- BARTOLOMÉ Arantxa, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain (arantxa.bartolome@cid.csic.es)
- BECARES Eloy, University of Leon – León, Spain (ebecm@unileon.es)
- BONET Berta, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain (berta.bonet@udg.edu)
- BONNINEAU Chloé, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain (chloe.bonnineau@udg.edu)
- BRACK Werner, Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) – Leipzig, Germany (werner.brack@ufz.de)
- CAIXACH Josep, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain (Josep.Caixach@cid.csic.es)
- CARAFA Roberta, United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain (roberta_carafa@urscorp.com)
- CLEMENTS William H., Department of Fish, Wildlife and Conservation Biology - Colorado State University, United States of America (willc@warnerncr.colostate.edu)
- COLLADO Neus, Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain (neuscoal@hotmail.com)
- CORCOLL Natàlia, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain (natalia.corcoll@udg.edu)
- CORTÉS Susana, Confederación Hidrográfica del Ebro (CHE) – Zaragoza, Spain (scortes@chebro.es)
- COVADONGA Alonso, CEDEX – Madrid, Spain (covadonga.alonso@cedex.es)
- FAGGIANO Leslie, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain (leslie.faggiano@udg.edu)
- FERNÁNDEZ ROCHA Susana, Confederación Hidrográfica del Júcar - Spain
- FERNÁNDEZ-CARRIL Domingo Alberto, Confederación Hidrográfica del Guadiana – Badajoz, Spain (dfernandez@chguadiana.es)
- FLAQUER Carles, Museu de Granollers de Ciències Naturals – Granollers, Spain (carlesflaquer@yahoo.com)
- GALLAMPOIS Christine, Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) – Leipzig, Germany (christine.gallampois@ufz.de)
- GARCIA-BERTHOU Emili, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain (emili.garcia@udg.edu)
- GEISZINGER Anita, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain (anita.geiszinger@udg.es)
- GEVREY Muriel, Centre National de la Recherche (CNRS) and Université Paul-Sabatier (UPS) – Toulouse, France (gevrey@cict.fr)
- GIMENO NAVARRO Eduardo, RED CONTROL S.L. – Paterna, Spain (egimeno@redcontrol.com)
- GINEBREDÀ Antoni, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain (agmqam@cid.csic.es)
- GROS CALVO Meritxell, Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain (mgros@icra.cat)
- GUASCH Helena, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain (helena.guasch@udg.es)
- GUENARD Guillaume, Centre National de la Recherche (CNRS) and Université Paul-Sabatier (UPS) – Toulouse, France (guenardg@cict.fr)
- KORMOS Jennifer, Federal Institute of Hydrology – Koblenz, Germany (Kormos@bafg.de)
- LAMOREE Marja, Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit Amsterdam – Amsterdam, The Netherlands (marja.lamoree@ivm.vu.nl)
- LÓPEZ DOVAL Julio, University of Barcelona (UB) – Barcelona, Spain (jclopezdoval@ub.edu)
- LUBARSKY Helen, Institute of Hydraulic Engineering - Stuttgart, Germany (hb243@st-andrews.ac.uk)
- MARTÍNEZ ROSER Lorena, IPROMA, S. L. – Castellón, Spain (lmartinez@iproma.com)
- MÖLLER Anja-Maria, University of Bern – Bern, Switzerland (anja.moeller@itpa.unibe.ch)
- MORIN Soizic, Cemagref UR REBX – Bordeaux, France (soizic.morin@cemagref.fr)
- MUNNÉ Antoni, Agència Catalana de l'Aigua (ACA) – Barcelona, Spain (anmunne@gencat.cat)
- MUÑOZ Isabel, University of Barcelona (UB) – Barcelona, Spain (imunoz@ub.edu)
- PLANAS Carles, Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC) – Barcelona, Spain (cppeco@cid.csic.es)

List of participants

- POUISO Ángeles, Eurofins Analytico – Barcelona, Spain (a.pouso@analytico.com)
- PROIA Lorenzo, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain (lorenzo.proia@udg.edu)
- PUIG Alejandra, Dirección General del Agua, Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino – Madrid, Spain (apinfante@mma.es)
- PUIG Xavier, Galanthus - Girona, Spain (xavierpuig@asgalanthus.org)
- REAL Montserrat, United Research Services Corporation (URS Corp) - Barcelona, Spain (Montserrat_Real@URSCorp.com)
- REBILLARD Jean Pierre, Agence de l'eau Adour-Garonne – Toulouse, France (jean-pierre.rebillard@eau-adour-garonne.fr)
- RICART Marta, Catalan Institute for Water Research (ICRA) - Girona, Spain (mricart@icra.cat)
- RODRÍGUEZ-MOZAR Sara, Catalan Institute for Water Research (ICRA), - Girona, Spain (srodriguez@icra.cat)
- ROMANÍ Anna, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain (anna.romani@udg.es)
- SABATER Sergi, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - and Catalan Institute for Water Research (ICRA) – Girona, Spain (sergi.sabater@udg.edu)
- SALAVAT Aida, NOVOTEC Consultores – Barcelona, Spain (asalvat@gencat.cat)
- SANS-PICHÉ Frédéric, Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) – Leipzig, Germany (frederic.sans-piche@ufz.de)
- SEGNER Helmut, Centre for Fish and Wildlife Health-University of Bern – Bern, Switzerland (helmut.segner@itpa.unibe.ch)
- SHINN Cándida, Centre National de la Recherche (CNRS) and Université Paul-Sabatier (UPS) – Toulouse, France (candida.shinn@gmail.com)
- SIMON Eszter, Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit Amsterdam – Amsterdam, The Netherlands (eszter.simon@ivm.vu.nl)
- SLOOTWEG Tineke, ECT Oekotoxikologie GmbH – Flörsheim, Germany (t.slootweg@ect.de)
- TLILI Ahmed, Cemagref Lyon – Lyon, France (ahmed.tlili@cemagref.fr)
- TORÁN BUSUTIL Manuel, Confederación Hidrográfica del Júcar - Spain
- URREA Gemma, Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona (UdG) - Girona, Spain (gemmaurrea@gmail.com)
- VIDAL Gemma, Agència Catalana de l'Aigua (ACA) – Girona, Spain (gmVidal@gmail.com)
- VILA ESCALÉ Mireia, Diputació de Barcelona-OTAT – Barcelona, Spain (vilaem@diba.cat)

Universitat
de Girona