

*Nota de Investigación/Research Note***Ejercicio interlaboratorio de bioensayos marinos para la evaluación de la calidad ambiental de sedimentos costeros. I. Descripción del ejercicio y calidad de los sedimentos****Interlaboratory assessment of marine bioassays to evaluate the environmental quality of coastal sediments in Spain. I. Exercise description and sediment quality**MC Casado-Martínez¹*, JL Buceta², JM Forja¹, TA DelValls¹¹ Departamento de Química Física, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Polígono Río San Pedro s/n, 11510 Puerto Real, Cádiz, España. * E-mail: mcarmen.casado@uca.es² Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas (CEDEX), Ministerio de Fomento, C/ Antonio López 81, 28026 Madrid, España**Resumen**

El presente trabajo resume la organización del ejercicio interlaboratorio para distintos ensayos de toxicidad realizados sobre sedimentos de puertos españoles así como los resultados de la caracterización fisicoquímica de las muestras utilizadas. El ejercicio, que incluyó cuatro bioensayos (un ensayo comercial para la evaluación inicial de la toxicidad de los sedimentos, un ensayo para evaluar la toxicidad de los lixiviados y dos ensayos sobre la fase sólida) se desarrolló en dos fases. En la Fase I se distribuyeron a cada uno de los distintos laboratorios participantes seis muestras de sedimentos dragados en diferentes puertos alrededor de la costa española (Barcelona, Bilbao, Cádiz, Cartagena y Huelva) cuya toxicidad fue evaluada mediante los ensayos seleccionados. La Fase II, que incluyó seis nuevas muestras de sedimento (provenientes de los puertos de Algeciras, Bilbao, Cádiz y Huelva), incluyó sólo dos ensayos para los que se habían identificado distintos factores de confusión durante la primera fase del ejercicio. Los resultados de la caracterización química de las muestras arrojaron, en la mayoría de los sedimentos, altas concentraciones de determinados elementos metálicos, principalmente Cu, Hg y en menor medida As y Cd, y de los compuestos bifenilos policlorados medidos. De acuerdo con las concentraciones encontradas y las guías de calidad de sedimentos usadas en España para la gestión de dragados portuarios, cinco de las seis muestras de sedimentos que se usaron en cada fase del ejercicio se considerarían materiales con concentraciones altas de contaminantes y, por ende, su vertido al mar no sería permitido.

Palabras clave: material de dragado, variabilidad interlaboratorio, contaminación.

Abstract

The results of an interlaboratory assessment made to evaluate the use of different bioassays for sediment quality characterization for a regulatory purpose are presented. The objective of the study was to determine the main differences among sediment bioassays conducted at different laboratories and to evaluate how this can influence dredged material management. The exercise consisted of two parts. During Phase I, six dredged sediment samples from different Spanish ports (Barcelona, Bilbao, Cádiz, Cartagena and Huelva) were distributed to different laboratories where they were applied a screening test for initial toxicity evaluation, a test for elutriates and two solid-phase bioassays. In Phase II, six new sediment samples (from the ports of Algeciras, Bilbao, Cádiz and Huelva) were tested to re-evaluate some bioassays for which different interfering factors were identified during the first phase. The chemical characterization results for Phase I showed high concentrations of some compounds in all the samples except one, which could be considered uncontaminated, while those for Phase II showed high concentrations in most sediments of some metallic compounds, mainly Cu, Hg and As, and to a lesser extent Cd, and of the total polychlorinated biphenyl congeners analyzed. According to Spanish guidelines for dredged material management, only one of the six samples assessed in each phase of the exercise would be suitable for open water disposal.

Key words: sediment, round robin, ring test, toxicity, contamination.

Introducción

La Comisión Europea, siguiendo el ejemplo de otras iniciativas de agencias internacionales para el control de los procesos de dragado, incluyó los materiales resultantes de éstos en la Decisión 2000/532/EC, modificada por la Decisión 2001/

Introduction

In 2000, in accordance with international policies and regulations aimed at controlling the disposal of dredged material, the European Commission included in its Decision 2000/532/EC (modified by Decision 2001/118CE) sediments

118CE, como residuos que pueden ser considerados peligrosos si presentan altas concentraciones de contaminantes químicos. En España, aunque la legislación no incluye aún una directiva para regular la caracterización de los procesos de dragado, se han venido utilizando un conjunto de recomendaciones publicadas en 1994 por distintos organismos y entes relacionados (CEDEX 1994). De forma muy resumida estas recomendaciones incluyen la caracterización de los sedimentos a dragar en los casos en los que no se disponga de información suficiente para autorizar o descartar el vertido libre. Esta caracterización incluye la determinación de algunos parámetros normales del sedimento como el tamaño de grano, el contenido en materia orgánica o la determinación de la contaminación microbiológica, así como la cuantificación de determinados contaminantes de interés en la fracción menor a 63 µm. Los resultados de estos análisis se comparan con las correspondientes guías máximas de calidad de sedimentos, denominadas niveles de acción 1 y 2 (NA 1 y NA2; tabla 1), y los sedimentos son así clasificados en las tres categorías de gestión existentes: categoría I para los materiales con concentraciones inferiores al NA 1, categoría II para los materiales que presentan concentraciones entre NA 1 y el NA 2, y categoría III para los sedimentos con concentraciones superiores a NA 2. De este modo, los materiales de categoría I podrían ser vertidos al mar siguiendo un proceso de autorización normal de vertido, los materiales de categoría III necesitarían de un proceso especial de autorización para su gestión y no podrían ser vertidos al mar, y los materiales de categoría II necesitarían de un proceso de caracterización más exhaustivo para poder descartar posibles efectos adversos en el medio acuático y en consecuencia poder autorizar su vertido al mar.

Varios marcos de evaluación nacionales e internacionales para la gestión de materiales de dragado requieren la tradicional caracterización química y, además, la realización de ensayos de toxicidad para la evaluación de posibles efectos biológicos adversos (Environment Australia 2002, RIKZ 2001). En cualquier caso, y como para cualquier otra técnica analítica, si estas técnicas se quieren incorporar en programas reguladores no sólo se necesitan metodologías estandarizadas, sino que el proceso de validación necesario debe incluir además de esta estandarización el estudio de otras características como la precisión intralaboratorio o la variabilidad interlaboratorio. Esta última se considera una medida de la reproducibilidad del método cuando se realiza en distintos laboratorios siguiendo la misma metodología, con el mismo organismo y sobre las mismas muestras (USEPA 1994). Los principales factores que contribuyen a la variabilidad del método y que deberían tenerse en cuenta para la interpretación práctica de los resultados son: (1) los relacionados con el organismo de ensayo (edad, condición, mantenimiento o sensibilidad), (2) los relacionados con el desarrollo del ensayo (diferencias en el material o en la calidad del agua sobrenadante) y (3) los relacionados con el personal que desarrolla los ensayos, como por ejemplo su experiencia.

from dredging activities among the residues hazardous for disposal at sea if their chemical content of specific compounds is high. In Spain, even though there is no specific law for the characterization of dredged materials, both public and private agencies have enacted specific recommendations (CEDEX 1994) that have been routinely used for dredged material management. Based on these recommendations, dredged material is first analyzed to measure some conventional sediment parameters (e.g., grain size distribution, organic matter content, microbiological contamination) and to quantify some contaminants of concern in the <63-µm fraction. The results of these analyses are then compared against a list of reference values, corresponding to the low and high sediment quality guidelines, named Action Levels 1 and 2 (table 1). Finally, sediments are classified into three different categories: category I for materials with all concentrations lower than Action Level 1 (AL1), category III for materials with all concentrations higher than Action Level 2 (AL2), and category II for materials with concentrations between AL1 and AL2. Category I materials are considered suitable for open water disposal and follow a normal authorization process, category III materials need a special authorization process and are not considered suitable for open water disposal, and category II materials need to be further analyzed for classification into either category I or III.

Several national and international assessment frameworks for dredged material management require laboratory toxicity tests in addition to the traditional chemical characterization (Environment Australia 2002, RIKZ 2001). A standardization of methods is required as part of the validation of any analytical technique if biological tests have to be incorporated into regulatory programs (acceptable interlaboratory variability, intralaboratory precision). Interlaboratory precision (also referred to as round robin or ring tests) indicates

Tabla 1. Niveles de acción (NA) usados para caracterizar material de dragado en España (CEDEX 1994). Las concentraciones están medidas en la fracción de sedimento <63 µm.

Table 1. Action Levels used in Spain for dredged material management (CEDEX 1994). Concentrations in the <63-µm sediment fraction.

Components	Action Level 1 (mg kg ⁻¹ dry weight)	Action Level 2 (mg kg ⁻¹ dry weight)
Hg	0.6	3.0
Cd	1.0	5.0
Pb	120	600
Cu	100	400
As	80	200
Cr	200	1000
Ni	100	400
Zn	500	3000
Σ ₇ -PCBs	0.03	0.1

Para este ejercicio interlaboratorio se incluyeron cuatro bioensayos seleccionados de acuerdo con la experiencia de los laboratorios y con resultados previos en la caracterización de materiales de dragado y/o sedimentos contaminados (DelValls *et al.* 2003). Debido a su estandarización y amplio uso en la evaluación de muestras ambientales, se seleccionó el aparato comercial Microtox® como herramienta para la evaluación inicial de la toxicidad, siguiendo el protocolo para el ensayo sobre fase sólida (SPT). Se incluyeron también el ensayo de supervivencia con crustáceos anfípodos, el ensayo sobre la fase sólida de enterramiento y mortalidad con juveniles de almeja y el ensayo con estadios larvarios de erizo de mar de 48 h de duración sobre el lixiviado de los sedimentos. Los objetivos principales para el desarrollo del ejercicio fueron:

- Determinar las diferencias en las respuestas registradas por los distintos laboratorios, es decir, evaluar la precisión de cada uno de los bioensayos para caracterizar la toxicidad de materiales de dragado cuando los ensayos se realizan por un operador diferente y en laboratorios diferentes.
- Identificar los factores de confusión principales que afectan el desarrollo y la interpretación de los resultados cuando éstos se realizan en laboratorios con y sin experiencia previa en este tipo de bioensayos.
- Discutir las posibles causas de la variabilidad interlaboratorio con la intención de mejorar la estandarización de protocolos y el uso de los bioensayos como herramienta complementaria a las guías químicas para la caracterización de materiales de dragado y su gestión.
- Discutir el uso de las guías biológicas propuestas previamente para considerar las muestras como tóxicas o no tóxicas según cada ensayo.

Organización del ejercicio interlaboratorio

Todos los laboratorios participaron voluntariamente y de acuerdo a su experiencia previa en la aplicación de los ensayos, por lo tanto el número de participantes fue diferente en cada caso. Algunos de los participantes han usado este tipo de ensayos para el análisis rutinario de la toxicidad de sedimentos desde hace varios años pero otros sólo los han incorporado recientemente. Los resultados de cada laboratorio fueron identificados con un número para respetar el anonimato.

Los puertos y las estaciones de muestreo fueron seleccionadas por el CEDEX y la Universidad de Cádiz (DelValls *et al.* 2003). La Universidad de Cádiz distribuyó una alícuota de cada muestra (identificada de la A a F) a los laboratorios participantes y un protocolo donde se describían los parámetros y las condiciones necesarias para el desarrollo de los ensayos de toxicidad. Los cambios introducidos por cada laboratorio al protocolo original recibido se enviaron con los resultados.

Debido a distintos factores de confusión encontrados durante el primer ejercicio (descritos en Casado-Martínez *et al.*

how reproducible a method is when conducted by a large number of laboratories using the same methodology on the same organism and samples (USEPA 1994). The following interfering factors have already been identified and should be taken into account for the practical interpretation of the results: (1) factors related to the test organism (age, condition, handling or sensitivity); (2) factors related to the test set-up (differences in the material or in the quality of the overlying water); and (3) factors related to the technicians conducting the tests.

This interlaboratory exercise included four bioassays selected according to the experience of the laboratories and to previous results for dredged material and/or contaminated sediments (DelValls *et al.* 2003). The commercial solid-phase Microtox® test was chosen as screening tool due to its standardization and wide use in environmental toxicity assessment. The exercise also included a whole sediment survival bioassay using amphipods, a whole sediment burrowing and survival bioassay using juvenile bivalves and a 48-h sea urchin embryonal development bioassay performed on sediment elutriates. The main objectives were:

- To determine the differences in mean responses among laboratories, that is, to assess the precision of each of the bioassays to characterize dredged material toxicity when developed by different operators and laboratories.
- To identify the main interfering factors affecting test results and their interpretation when they are developed by different laboratories with and without demonstrated previous experience in the same bioassays.
- To discuss the possible causes of interlaboratory variation to improve the standardization of the protocol and the use of bioassays as a complementary tool to chemical guidelines for dredged material characterization and management.
- To discuss the use of previously derived or proposed biological guidelines to consider a sample toxic or not toxic.

Study design

The number of participants differed in each of the bioassays because not all the laboratories were properly equipped to perform them all. Laboratories participated voluntarily and had some previous experience in applying these tests; however, while some laboratories had used some tests in routine analysis for years, others had only recently included toxicity bioassays in their routine. Each laboratory was identified with a number to maintain anonymity.

In Phase I of the exercise, CEDEX and Cádiz University selected six sampling stations (DelValls *et al.* 2003). One sediment sample from each station (named A to F) was then sent to the laboratories together with a protocol describing the test

2006a, b) se realizó una segunda fase en marzo de 2004, en la que sólo se incluyeron los ensayos con Microtox® y con estadios larvarios de erizo de mar. La organización de esta fase (II) fue similar a la previa (Fase I) pero las muestras se recogieron en distintas estaciones. Con las muestras se envió un protocolo más completo con especial énfasis en los factores de confusión encontrados durante la Fase I y que se discutieron, previamente a la Fase II, con los laboratorios participantes.

Sedimentos estudiados

Las muestras de sedimento distribuidas en la Fase I del ejercicio (abril de 2003) se recogieron en cinco puertos localizados alrededor de la costa española (fig. 1). Las muestras incluían un sedimento control (muestra A) proveniente de una zona intermareal de la Bahía de Cádiz que, de acuerdo con estudios previos (DelValls *et al.* 1997), está libre de contaminación y no presenta toxicidad. Los sedimentos identificados como muestra B también provenían de la Bahía de Cádiz pero de la zona interior del puerto, posiblemente con contaminación de tipo orgánico. La muestra C se recogió en el puerto de Huelva donde se han encontrado previamente niveles altos de distintos compuestos metálicos (Riba *et al.* 2004). Las muestras D y E provenían de los puertos de Bilbao y Barcelona, respectivamente, cuya fuente de contaminación principal es el transporte marítimo. La muestra F eran sedimentos provenientes del puerto de Cartagena, afectado por actividades mineras de importancia histórica.

Para la Fase II del ejercicio de intercalibración, las muestras A' y B' se recogieron aproximadamente en el mismo lugar que el año anterior. Las muestras C' y D' fueron recogidas en el puerto de Huelva y la F' en el puerto de Bilbao (fig. 1). Los sedimentos de la muestra E' provenían del estuario del Río Guadarranque, en la zona de la Bahía de Algeciras y afectado principalmente por contaminación de tipo orgánico.

Las muestras de los sedimentos se recogieron con una draga tipo Van Veen y se agruparon en contenedores de polipropileno refrigerados (50 L). Las muestras de sedimento fueron homogeneizadas y tamizadas a través de una malla de 0.5 mm para retirar organismos y restos de ellos que pudieran interferir en los ensayos, dividiéndolas en alícuotas de distinto tamaño según el número y tipo de ensayos que fuese a realizar el laboratorio de destino. Antes de los ensayos, las muestras se conservaron herméticamente cerradas en oscuridad y a 4°C. Estas condiciones de conservación se alteraron durante el envío de las muestras, que se realizó en neveras refrigeradas y duró alrededor de 24 h.

Caracterización de los sedimentos

La caracterización de los sedimentos usados para los ensayos de toxicidad siguió las recomendaciones españolas usadas actualmente para materiales de dragado (CEDEX 1994). Esta caracterización incluyó algunos parámetros normales del sedimento (distribución de tamaños de grano o

condiciones. The laboratories reported any change to the initial protocol. Since different interfering factors were identified during Phase I (Casado-Martínez *et al.* 2006a, b), a second phase (Phase II) was carried out in March 2004 to refine the results. In Phase II only the Microtox® test and the bioassay using sea urchin embryo-larval stages were included in the exercise. The study design was similar to that of Phase I but some of the test sediments were obtained from different sites. An updated protocol, reporting the interfering factors found during the previous study, was sent together with the samples to the laboratories.

Test sediments

For Phase I, one control sediment and five contaminated dredged sediment samples were collected from different Spanish ports in April 2003 (fig. 1). The control sediment (sample A) was collected from an intertidal zone of Cádiz Bay, considered an uncontaminated area according to previous studies (DelValls *et al.* 1997). Sample B was also collected at Cádiz Bay but from the inner part of the port, probably contaminated by organic compounds. Sample C was collected from the port of Huelva, where high levels of metallic contamination due to mining activities and industrial sewage have been found (Riba *et al.* 2004). Samples D and E were collected from the ports of Bilbao and Barcelona, respectively, because of the high maritime transport and shipping activities that characterize both. Sample F was collected from the port of Cartagena, where metal concentrations are very high as a result of historically important mining activities.

For Phase II of the intercalibration exercise, samples A' and B' were collected from the same stations in Cádiz Bay as the previous year. Samples C' and D' were collected from the port of Huelva. Sample E' was collected from the Guadarranque River estuary, located in Algeciras Bay, because of the hydrocarbon contamination of the area. Sample F' was collected from the port of Bilbao (fig. 1).

Sediments were collected with a Van Veen grab and pooled in polypropylene containers (50 L). Prior to the analyses, the sediment samples were kept hermetically closed in darkness and at 4°C. Samples were homogenized and sieved through a 0.5-mm mesh to remove organisms and other debris that could interfere in the tests, and then divided into aliquots of different size depending on the number and type of tests to be carried out in each laboratory. All samples were distributed to the laboratories in iceboxes in less than 24 h.

Chemical analyses

The chemical characterization of the sediments used for the toxicity bioassays followed the Spanish recommendations for dredged material (CEDEX 1994). This characterization included the measurement of some conventional parameters of the sediment (grain size distribution and organic matter content), as well as the quantification of As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb

contenido en materia orgánica) y la cuantificación de As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb y Zn, y algunos compuestos de tipo orgánico como la suma de determinados bifenilos policlorados (PCBs) e hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) en la fracción menor a 63 μm , previamente secada a 40°C. La distribución de los tamaños de grano se realizó según la UNE 103 101, y el contenido en materia orgánica se estimó por el método de pérdida por ignición (LOI) a 550°C y posterior determinación gravimétrica, como se recomienda para dragados de pequeños volúmenes (CEDEX 1994).

Las especies metálicas se determinaron previa digestión ácida en horno microondas en frascos de Teflón. Para la determinación del Hg se utilizó la técnica de generación de vapor frío y para la del As la generación de hidruros, ambos cuantificados mediante espectrometría de absorción atómica. Las concentraciones de Cd, Pb, Cu, Zn y Cr se determinaron mediante espectrometría de absorción atómica con llama o en horno de grafito dependiendo de las concentraciones en los sedimentos. Los PCBs e PAHs se cuantificaron, previa extracción con ciclohexano y diclorometano, mediante tratamiento con ultrasonido y concentración y limpieza por columna cromatográfica. La determinación de PCBs (suma de 7 compuestos) se realizó por cromatografía de gases acoplada a un detector por captura de electrones (de acuerdo con USEPA, método 8080) y los PAHs (suma de 16 compuestos) se determinaron mediante cromatografía líquida de alta resolución con detección por fluorescencia (de acuerdo con la USEPA, método 8310). Todos los análisis se comprobaron con materiales de referencia (Material Certificado de Referencia NRC-CNRC 277 BCR para metales y NRC-CNRC HS-1 para compuestos orgánicos) y estaban dentro del rango de aceptabilidad.

Resultados

Los resultados de los análisis químicos y otros parámetros del sedimento se incluyen en las tablas 2 y 3. Las concentraciones químicas encontradas en los sedimentos se compararon con los valores límites (NA 1 y NA 2) usados para la caracterización de materiales de dragado en España (CEDEX 1994) y se clasificaron de acuerdo a las distintas opciones de gestión (tabla 4). La muestra A, que podría ser considerada un control negativo de toxicidad (DeValls *et al.* 1997), era un sedimento arenoso con bajo contenido en materia orgánica. Como se esperaba, las concentraciones de compuestos químicos fueron bajas y en ningún caso superan los niveles de acción. El resto de las muestras presentaron un alto porcentaje de finos de 57–60% (muestras B, E y F) a 90% (estación C). Los sedimentos también tuvieron un alto contenido en materia orgánica que varió entre 10% (muestras C y F) y 17% (muestra E). De acuerdo con estos resultados todos los sedimentos excepto los de la estación A no serían aptos para su vertido al mar. Las muestras B y D excedieron el NA 2 para los PCBs. La muestra C estuvo principalmente afectada por contaminación de tipo metálica y superó los NA 2 correspondientes a las especies

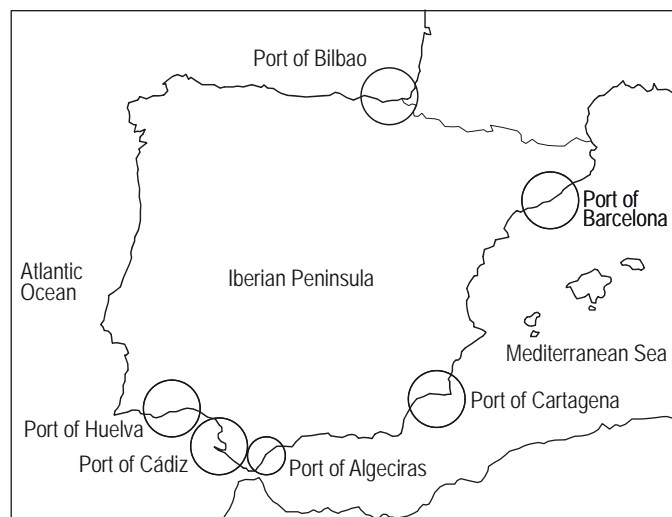


Figura 1. Localización de los puertos españoles seleccionados para el ejercicio interlaboratorio.

Figure 1. Location of the Spanish ports selected for the interlaboratory exercise.

and Zn, and of some organic compounds such as the sum of certain congeners of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the <63- μm fraction. For the analyses, sediments were dried at 40°C for 24 h. Grain size distribution followed UNE 103 101 and organic matter content was estimated by loss of ignition (LOI) at 550°C and gravimetric determination as recommended for small dredged volumes (CEDEX 1994).

Metals were determined in microwave acid-digested samples in Teflon vessels. The cold vapor technique was used for Hg and hydride generation for As, both quantified using atomic absorption spectrometry. The concentrations of Cd, Pb, Cu, Zn and Cr were determined using flame or furnace atomic absorption spectrometry, depending on the metal content. The PCBs and PAHs were quantified after extraction with cyclohexane and dichloromethane by means of ultrasound treatment and concentration and clean-up with column chromatography. Determination of PCBs (sum of 7 congeners) was made with gas chromatography with electron capture detection (GC-ECD) (following USEPA, method 8080), while PAHs (sum of 16 congeners) were determined using HPLC with fluorescence detection (following USEPA, method 8310). All the analytical procedures were tested with reference materials (Certified Reference Material, NRC-CNRC 277 BCR for metals; and NRC-CNRC HS-1 for organic compounds) and were within the range of acceptability.

Results

The results of the chemical analyses and other sediment parameters are shown in tables 2 and 3. The sediment chemical concentrations were compared to the limit values (named Action Levels, table 1) used in Spain for dredged material characterization (CEDEX 1994), and the samples were

Tabla 2. Resultado de los análisis químicos y parámetros normales del sedimento de las diferentes muestras (A–F) usadas en la Fase I de este estudio. Todas las concentraciones están expresadas en mg kg⁻¹ de peso seco, excepto la suma de PCBs, expresada en µg kg⁻¹ peso seco, n.d. = no detectado.
Table 2. Results of the chemical analyses and normal parameters of the sediment samples (A–F) used in Phase I of this study. All concentrations are given in mg kg⁻¹ dry weight, except for the sum of the PCB congeners, given in µg kg⁻¹ dry weight; n.d. = not detected.

	A	B	C	D	E	F
% coarse	0.19	0.05	0.19	2.39	1.41	3.95
% sand	99.8	40.4	9.60	20.3	39.9	38.2
% fine sediment	0.04	59.5	90.2	77.3	58.7	57.8
% OM	1.07	13.8	10.6	14.8	17.6	10.6
% dry weight	84.1	56.8	41.8	53.7	33.4	55.7
As	3.42	30.8	531	67.3	29.0	101
Cd	0.92	1.32	2.50	2.00	2.88	98.5
Cr	0.10	14.9	24.1	18.3	93.9	66.6
Cu	6.98	203	1497	102	601	665
Hg	0.05	1.98	1.99	0.74	4.12	136
Ni	0.06	20.1	7.10	26.4	32.3	29.0
Pb	2.28	86.9	384	147	455	1397
Zn	21.3	378	1857	476	1165	8651
Σ ₇ -PCBs	n.d.	144	n.d.	111	273	123
Σ ₁₆ -PAHs	n.d.	n.d.	n.d.	66.7	1.80	0.91

metálicas As y Cu, y en las otras dos muestras, E y F, se registró una mezcla de compuestos de tipo orgánico (PCBs) e inorgánico (Hg y Cu y también Cd para la muestra E) que excedían los correspondientes NA 2. Sólo los sedimentos de la estación D presentaban una concentración importante de PAHs.

Del análisis de los sedimentos distribuidos en la Fase II del ejercicio se obtuvieron resultados similares: con excepción de la muestra A', el resto de los sedimentos fueron clasificados en la Categoría III ya que la concentración de determinados compuestos excedió los correspondientes NA 2. Las muestras del puerto de Huelva (C' y D') estuvieron principalmente afectadas por As, Cd y Cu. Las muestras E' y F' se clasificaron como no aptas para su vertido al mar debido a sus altas concentraciones de PCBs, aunque también presentaron importantes concentraciones de PAHs y de As y Hg, que superaban los NA 1. El contenido en material orgánico de los sedimentos también fue elevado, entre 6% y 15%. Las muestras C' y D' mostraron una carga química similar aunque esta última tenía un porcentaje de finos mayor y el doble contenido en materia orgánica que la primera.

Discusión

De acuerdo con las características fisicoquímicas determinadas en los sedimentos analizados, son de esperarse niveles bajos de toxicidad para la muestra A, lo que permitiría verterla al mar sin mayor problema tras un proceso normal de autorización; sin embargo, las otras cinco muestras serían clasificadas

classified according to the required management options (table 4). Sample A, considered a negative control of toxicity (DelValls *et al.* 1997), was a sandy sediment with very low organic matter content. As expected, all chemical concentrations were low and far from the limit values, except for Cd that was closer. The rest of the samples showed a high percentage of fine sediments, ranging from 57–60% in samples B, E and F to 90% in sample C. Organic matter content ranged from 10% in samples C and F to 17% in sample E. According to the chemical analyses, all the samples except for sample A would be considered not suitable for open water disposal. The concentrations of PCBs in samples B and D were responsible for their category III classification. Sample C was only affected by metallic contamination, while As and Cu failed AL2. For samples E and F, a mixture of organic (PCBs) and inorganic species (Hg and Cu, and for E also Cd) exceeded the corresponding AL2. The concentrations of PAHs were low in samples E and F and high only in sample D; they were not detected in samples A, B and C.

All the samples used in the Phase II of the study except for sample A' were classified in category III because some compounds failed AL2. The samples from the port of Huelva were mainly contaminated with As, Cd and Cu. Samples E' and F' were classified as not suitable for aquatic disposal because the concentrations of PCBs were higher than the corresponding AL2; moreover, the concentrations of PAHs were high. Organic matter content was very variable and ranged from 6% to 15%, the latter value corresponding to sample F'. Samples C' and D' showed similar concentrations of chemical

Tabla 3. Resultado de los análisis químicos y parámetros normales del sedimento de las diferentes muestras (A'-F') usadas en la segunda fase de este estudio. Todas las concentraciones expresadas como mg kg⁻¹ en base al peso seco, excepto la suma de PCBs, expresada como µg kg⁻¹ peso seco; n.d. = no detectado.

Table 3. Results of the chemical analyses and normal parameters of the sediment samples (A'-F') used in Phase II of this study. All concentrations are given in mg kg⁻¹ dry weight, except for the sum of the PCB congeners, given µg kg⁻¹ dry weight; n.d. = not detected.

	A'	B'	C'	D'	E'	F'
% coarse	0.31	0.04	0.03	0.24	0.05	38.1
% sand	99.0	42.9	56.0	8.36	5.00	14.5
% fine sediment	0.68	57.1	44.0	91.4	94.9	47.4
% OM	1.50	14.0	6.30	9.37	9.00	15.1
% dry weight	80.0	60.8	41.8	55.5	49.8	30.5
As	3.98	33.7	273	336	109	104
Cd	0.87	2.00	1.32	1.03	0.17	2.00
Cr	0.22	16.3	8.13	12.1	38.2	23.1
Cu	8.67	197	772	497	5.01	204
Hg	0.09	1.54	1.20	0.90	1.90	1.43
Ni	0.07	23.9	129	6.18	74.7	32.0
Pb	3.98	97.4	217	210	21.6	285
Zn	24.5	405	1176	974	138	777
Σ ₇ -PCBs	n.d.	129	n.d.	2.29	109	256
Σ ₁₆ -PAHs	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4.21	13.9

Tabla 4. Clasificación de las muestras según las recomendaciones en uso en España (CEDEX 1994) y los requerimientos para cada material.

Table 4. Classification of samples according to the recommendations in use for dredged material management in Spain (CEDEX 1994) and the requirements for each material.

Sample	Category	Management requirements
Phase I		
A	I	Suitable for aquatic disposal; only mechanical effects should be taken into account
B	III	Not suitable for aquatic disposal; PCB values higher than Action Level 2
C	III	Not suitable for aquatic disposal; As and Cu higher than Action Level 2
D	III	Not suitable for aquatic disposal; PCB values higher than Action Level 2; high PAH concentrations
E	III	Not suitable for aquatic disposal; Cu, Hg and PCB values higher than Action Level 2
F	III	Not suitable for aquatic disposal; Cd, Cu, Hg and PCB values higher than Action Level 2
Phase II		
A'	I	Suitable for aquatic disposal; only mechanical effects should be taken into account
B'	III	Not suitable for aquatic disposal; PCB values higher than Action Level 2
C'	III	Not suitable for aquatic disposal; As, Cd, Cu and Ni higher than Action Level 2
D'	III	Not suitable for aquatic disposal; As, Cd and Cu higher than Action Level 2
E'	III	Not suitable for aquatic disposal; PCB values higher than Action Level 2; high PAH concentrations
F'	III	Not suitable for aquatic disposal; PCB values higher than Action Level 2; high PAH concentrations

como categoría III, cuyo vertido en principio se prohíbe por ser consideradas potencialmente tóxicas. No obstante estar afectadas por distintos tipos de contaminación, para poder verterlas al mar todas requerirían de un procedimiento de autorización especial. Además, estas cinco muestras eran sedimentos finos con alto contenido en materia orgánica. Los resultados para la serie de muestras de la Fase II fueron similares y su clasificación en categorías de gestión resultó igual: todas las muestras excepto el sedimento arenoso (A') fueron clasificadas como categoría III, es decir, con efectos adversos potenciales.

Agradecimientos

Este estudio se realizó como parte de un proyecto de investigación conjunto entre el CEDEX y la Universidad de Cádiz. Parte del trabajo fue subvencionado por el Programa Nacional del Ministerio Español de Ciencia y Tecnología (REN2002_01699/TECNO). MC Casado-Martínez agradece la financiación del Ministerio Español de Educación y Ciencia en el programa de becas de Formación de Personal Investigador (FPI). Nuestro agradecimiento a las autoridades portuarias y al personal de los puertos de Cádiz, Huelva, Barcelona y Cartagena por su ayuda durante el muestreo de los sedimentos, así como al personal de AZTI por su ayuda durante los muestreos de sedimentos en el puerto de Bilbao y a A Luque por sus comentarios para la preparación del manuscrito final.

Referencias

- Casado-Martínez MC, Campisi T, Díaz A, Lo Re R, Obispo R, Postma JF, Riba I, Sneekes AC, Buceta JL, DelValls TA. 2006a. Interlaboratory assessment of marine bioassays to evaluate the environmental quality of coastal sediments in Spain. II. Bioluminescence inhibition test for rapid sediment toxicity assessment. *Cienc. Mar.* (this issue).
- Casado-Martínez MC, Fernández N, Lloret J, Marín L, Martínez-Gómez C, Riba I, Saco-Álvarez L, DelValls TA. 2006b. Interlaboratory assessment of marine bioassays to evaluate the environmental quality of coastal sediments in Spain. III. Bioassay using embryos of the marine sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Cienc. Mar.* (this issue).
- CEDEX. 1994. Recomendaciones para la gestión del material de dragado en los puertos españoles. Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas, Puertos del Estado, Madrid.
- DelValls TA, Lubián LM, Forja JM, Gómez-Parra A. 1997. Comparative ecotoxicity of interstitial waters using Microtox and the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 2323–2332.
- DelValls TA, Casado-Martínez MC, Riba I, Martín-Díaz ML, Forja JM, García-Luque E, Gómez-Parra A. 2003. Investigación conjunta sobre la viabilidad de utilizar ensayos ecotoxicológicos para la evaluación de la calidad ambiental del material de dragado. Reporte técnico para CEDEX, noviembre de 2003, Puerto Real, Cádiz.

compounds but differences in the sediment characteristics: the organic matter content of D' was double that of C', and D' also had a higher percentage of fine sediments.

Discussion

According to the physicochemical characteristics found in the sediments analyzed, low or no toxicity is expected from sample A, which is sandy sediment suitable for open water disposal after a normal authorization process. The rest of the samples fell into category III and potential toxicological effects are therefore expected, though differences in their type of contamination were found. This group of five samples consisted of fine sediments with high organic matter content and their chemical concentrations are high enough to be considered potentially toxic, thus requiring a special authorization process for open water disposal. The results obtained from the Phase II samples were similar and their classification according to management categories was the same: all samples except for sample A', the sandy sediment, were classified as category III, with potential biological effects.

Acknowledgements

This study was conducted under a joint research project between CEDEX and the University of Cádiz. The Spanish National Science and Technology Program (REN2002_01699/TECNO) supported part of the work. The first author was supported by a grant (FPI) from the Spanish Ministry of Education and Science. Thanks are due to the port authorities of Cadiz, Huelva, Barcelona and Cartagena for their help during the sampling process, and to AZTI staff for their help during the sampling in the port of Bilbao. We thank A Luque for his useful suggestions during the preparation of the manuscript.

Environment Australia 2002. National Ocean Disposal Guidelines for Dredged Material. May 2002. ISBN 0642548315.

Riba I, Casado-Martínez MC, Forja JM, DelValls TA. 2004. Sediment quality in the South Atlantic coast of Spain. *Environ. Toxicol. Chem.* 23: 271–282.

RIKZ. 2001. Disposal of dredged material in Dutch coastal waters: A new, effect-oriented assessment framework. RIKZ/2001.030.

USEPA. 1994. Methods for assessing the toxicity of sediment-associated contaminants with estuarine and marine amphipods. United States Environmental Protection Agency, EPA/600/R-94/025.

*Recibido en noviembre de 2004;
aceptado en septiembre de 2005*