

Deriving sediment quality guidelines in the Guadalquivir estuary associated with the Aznalcóllar mining spill: A comparison of different approaches

Obtención de guías de calidad de sedimento en el estuario del Guadalquivir asociadas con el vertido minero de Aznalcóllar: Una comparación de diferentes métodos

I. Riba^{1*}
V. Zitko²
J.M. Forja¹
T.A. DelValls¹

¹ Departamento de Química Física
Facultad de Ciencias del Mar
Universidad de Cádiz
Apartado 40
11510 Puerto Real, Cádiz, España
*E-mail: immaculada.riba@uca.es

² ChemEnv
114 Reed Ave
St. Andrews, N.B., E5B 1A1, Canada

Recibido en febrero de 2003; aceptado en abril de 2003

Abstract

Concentrations of heavy metals (Fe, Zn, Cd, Pb, Cu and Mn) and sediment toxicity tests (mortality of amphipods, *Ampelisca brevicornis*, of clams, *Scrobicularia plana*, and of fish, *Solea senegalensis*) were used to derive sediment quality guidelines (SQGs). The approaches are based on the determination of LC50, on the application of a multivariate analysis (MAA), and on the Threshold Effect Level Quotients (TELQs). All approaches lead to consistent SQGs. The range of concentrations established with MAA results in narrower uncertainty ranges. Sediment toxicity estimated by TELQs is in good agreement with that determined experimentally. In terms of the toxic mud concentration, the maximum and minimum LC50s (for fish EC50s) are 1.07% and 0.44% for amphipods, 5.75% and 1.25% for clams, and 7.24% and 1.97% for fish, based on dry weight. However, heavy metal concentrations or ranges should be used only as a first tier in a “weight-of-evidence” approach to determine the environmental quality in aquatic systems. The use of SQGs for the management of these systems should be taken with care, especially those used for the management of dredging processes.

Key words: sediment quality guidelines, sediment contamination, sediment toxicity, multivariate analysis, LC50.

Resumen

Se han utilizado las concentraciones de los metales pesados: Fe, Zn, Cd, Pb, Cu, Mn, y los resultados de toxicidad (mortalidad de anfipodos: *Ampelisca brevicornis*, coquinas: *Scrobicularia plana*, y peces: *Solea senegalensis*) para obtener guías de calidad de sedimento (SQGs). Los métodos utilizados se basan en la determinación de LC50s, en la aplicación del análisis multivariante (MAA), y en la utilización de los coeficientes del nivel del umbral de efecto (TELQs). Todos los métodos permiten obtener las guías de calidad. De los resultados obtenidos en la aplicación del MAA se obtienen áreas de incertidumbre con intervalos más estrechos. La toxicidad de sedimento, estimada por el método TELQs, presenta una buena correlación con aquella determinada experimentalmente. En los términos de concentración de lodo tóxico, los valores máximos y mínimos de LC50s (para peces EC50s) son 1.07% y 0.44%, para anfipodos; 5.75% y 1.25%, para coquinas; y 7.24% y 1.97% para peces, y éstos vienen expresados como porcentaje de lodo tóxico en peso seco. Sin embargo, estos intervalos de concentraciones mencionados debieran ser utilizados en un primer paso como un método basado en “el peso de la evidencia” cuando se utilizaran para establecer la calidad ambiental en sistemas acuáticos. Cuando el propósito sea la utilización de estas guías de calidad de sedimento en la gestión de dragados, éstas deben utilizarse con precaución.

Palabras clave: guías de calidad de sedimento, contaminación de sedimento, toxicidad de sedimento, análisis multivariante, LC50.

Introduction

During the last decades there has been some debate about the use of the words criteria, guidelines, site-specific values, etc., as a final proposal in sediment quality studies regarding the protection of the environmental quality in aquatic ecosystems (Chapman, 1991). The term sediment quality guidelines (SQGs) is now widely accepted. It gives the range of concentrations of chemicals associated with the presence or absence of adverse biological effects (Wenning and Ingersoll, 2002). Recent reports suggest that SQGs continue to be widely used, since they give reasonable predictions of the potential damage associated with chemicals in sediments (Fairey *et al.*, 2001). However, it is still necessary to establish the appropriate use and limitations of SQGs as a management tool. The site specificity of SQGs should be re-assessed and discussed, particularly for special areas such as estuaries, highly influenced by large gradients of natural variability (salinity, pH, etc.) Such variability can affect the fate and effect of the sediment contaminants.

LC50s (or EC50s for sublethal effects, but for the sake of brevity only the term LC50 is used) are widely used to assess the adverse biological effects or hazards of contaminants. LC50s are based on sets of toxicological data and are, together with data on exposure, used to predict potential risks of contaminants. In a risk assessment, LC50s (a measure of hazard) are usually combined with contaminant concentrations (a measure of exposure) into toxic units or quotients (TUs, for sublethal effects the term Effect Levels may be used). TUs are ratios of concentrations of chemicals to their respective LC50s; they have been widely used for the management of risk and regulatory decisions. For instance, oil dispersant may be approved for use only on the basis of its LC50s for different organisms. On the other hand, multivariate analysis approaches (MAA), as well as "consensus", have been used to develop SQGs, which establish concentrations or ranges of concentrations of chemicals associated with adverse effects. The latter are usually defined as the Threshold Effect Level (TEL), Effects Range Low, Probable Effects Level, Effects Range Median, and Apparent Effects Threshold (Long *et al.*, 1995; DelValls and Chapman, 1998; NOAA/HAZMAT, 1999; Ingersoll *et al.*, 2001). As in the case of LC50s, the MAA-derived range of concentrations of contaminants associated with adverse biological effects can be used to establish the associated risk (DelValls *et al.*, 1998; Riba *et al.*, 2002a). The mean of TUs is used to assess the risk of complex chemical mixtures (Fairey *et al.*, 2001).

During the monitoring of the Aznalcóllar mining spill (April 1998), an integrated assessment was conducted in the Guadalquivir estuary to determine the impact of the heavy metals related to the accidental spill. During this study, sediment samples from the estuary and different concentrations of the spilled toxic mud diluted in a clean sediment were analyzed and their toxicity was determined. The aim of this work was to establish the feasibility of using these data to predict sediment

Introducción

Durante las últimas décadas del siglo pasado se ha debatido la utilización de las palabras criterios, guías, valores específicos de calidad, etc., con el objetivo de elegir la más adecuada para ser utilizada en estudios de caracterización de la calidad de sedimentos y de protección de la calidad ambiental en sistemas acuáticos (Chapman, 1991). Hoy en día el término guías de calidad de sedimento (SQGs, por sus siglas en inglés) está aceptado ampliamente. Este término hace referencia a intervalos de concentración de contaminantes asociados con la presencia o ausencia de efectos biológicos adversos (Wenning e Ingersoll, 2002). Existen trabajos recientes que recomiendan el uso de los SQGs, ya que éstos ofrecen una predicción razonable del daño potencial asociado con los contaminantes presentes en el sedimento (Fairey *et al.*, 2001). Sin embargo, sigue siendo necesario establecer el uso apropiado, y por tanto las limitaciones asociadas con ellos, cuando se utilizan como herramienta de gestión ambiental. La especificidad de los SQGs debe ser reevaluada y discutida, particularmente en áreas como los estuarios, que están sometidos a elevados gradientes de variabilidad natural (salinidad, pH, etc.). Esta variabilidad puede afectar al comportamiento ambiental y a los efectos de los contaminantes que se encuentran en los sedimentos.

Los valores de LC50 (ó EC50s calculados para los efectos subletales, aunque por conveniencia aquí sólo se utilizará el término LC50) se utilizan ampliamente para evaluar los efectos biológicos adversos o daños que producen los contaminantes. Los LC50s se basan en la utilización de una serie de datos toxicológicos y, junto con los datos de exposición a sustancias contaminantes, se utilizan para predecir los posibles riesgos producidos por éstos. Para calcular los cocientes de Unidades Tóxicas (TUs, aunque para efectos subletales, el término niveles de efecto podría ser más apropiado) se combinan los LC50 que miden la peligrosidad, con datos de concentración de contaminantes que miden la exposición. Estos TUs son los cocientes entre las concentraciones de contaminantes y sus respectivos LC50s. Este tipo de valores TUs se utilizan en la toma de decisiones preventivas y en la gestión de riesgo. Por ejemplo, en un país se puede aprobar la utilización de un compuesto como dispersante de petróleo en base a los valores de LC50s calculados para diferentes organismos. Por otra parte, los métodos basados en la utilización del análisis multivariante (MAA, por sus siglas en inglés) así como los métodos de "consenso", se han utilizado para obtener los SQGs. En ambos casos se establecen intervalos de concentraciones de contaminantes asociados con efectos adversos. Los últimos métodos se definen de forma rutinaria como nivel del umbral de efectos (TEL), intervalo mínimo de efecto, nivel de efecto probable, mediana del intervalo de efecto y umbral de efecto aparente (Long *et al.*, 1995; DelValls y Chapman, 1998; NOAA/HAZMAT, 1999; Ingersoll *et al.*, 2001). Como en el caso de los LC50s, los intervalos de concentraciones de contaminantes asociados con el efecto biológico, y obtenidos por el método MAA, pueden ser utilizados para establecer el riesgo asociado

quality in the area. The error associated with the different approaches employed to derive SQGs was estimated and the role of SQGs in the management of the risk of heavy metals from the spill was evaluated.

Material and methods

Approach

The present study was performed at four stations (GL2, GL6, GR2 and GR4) in the Guadalquivir estuary, SW Spain (fig. 1). Toxic mud was collected from an impacted area, located 40 km away from the Aznalcóllar mine tailing pond. The mud was diluted by a clean sediment from the Bay of Cádiz (fig. 1) to yield concentrations of 0.3%, 1.8%, 7.9%, 20% and 32% dry weight. The dilutions were performed in the containers for the toxicity tests. The mixtures were homogenized in water to be used in the tests. A detailed description of the dilution procedures, the collection of the samples, the chemical analysis and the toxicity tests are reported by Riba *et al.* (2002b). A summarized description of these processes and techniques is shown in table 1.

LC50 approach

The LC50 value is the concentration of toxic mud that results in the mortality of 50% of the animals tested. The

con ellos (DeIvalls *et al.*, 1998, Riba *et al.*, 2002a). La media de los TUs se utiliza para evaluar el riesgo procedente de una mezcla de contaminantes (Fairey *et al.*, 2001).

Durante el seguimiento del vertido minero de Aznalcóllar (Abril de 1998) se aplicó un método integrado para determinar el impacto de los metales pesados procedentes del vertido sobre el estuario del Río Guadalquivir. Durante este estudio se analizó y caracterizó la toxicidad de diferentes muestras de sedimento del estuario y diferentes concentraciones del lodo tóxico procedentes del vertido, preparadas con sedimento limpio. El objetivo de este trabajo fue establecer la validez de los datos de contaminación y toxicidad para predecir la calidad de sedimento en la zona de estudio. Se ha estimado el error asociado con los diferentes métodos empleados para obtener los SQGs, así como la importancia de los SQGs en la gestión del riesgo asociado con los metales pesados procedentes del vertido.

Material y métodos

Descripción del método integrado

El presente estudio se ha desarrollado en cuatro estaciones (GL2, GL6, GR2 y GR4) localizadas en el estuario del Río Guadalquivir (SO de España, fig. 1). También se ha utilizado el lodo tóxico recogido en un área impactada por el vertido, alejada 40 Km de la balsa minera. El lodo tóxico fue diluido con sedimento limpio muestreado en la Bahía de Cádiz (fig. 1) para obtener las concentraciones 0.3%, 1.8%, 7.9%, 20% y 32%, expresadas como porcentaje de peso seco. Las diferentes diluciones se prepararon utilizando los mismos contenedores usados para las pruebas de toxicidad. Los sedimentos y las diluciones de lodo se homogenizaron con la misma agua limpia utilizada en los propios tests. Una descripción detallada de los procedimientos llevados a cabo para preparar las diluciones, la recolección de muestras, los protocolos de análisis químicos y las pruebas de toxicidad se han publicado por Riba *et al.* (2002b). En la tabla 1 se ofrece una descripción resumida de estos procesos y técnicas.

Método LC50

El valor de LC50 es la concentración de lodo tóxico que provoca la mortalidad del 50% de los organismos utilizados en los ensayos de toxicidad. Los LC50s se calculan mediante una regresión lineal del logaritmo de la concentración de lodo tóxico, utilizando los valores de declinación probit y mediante el programa informático desarrollado por la Agencia del Medio Ambiente de EEUU (EPA-Probit, versión 1.5, Ecological Monitoring System Laboratory, E.P.A., Cincinnati, Ohio 45268). Este programa permite calcular el valor de LC50, un máximo y un mínimo dentro del intervalo del 95% de confianza. Estos valores máximos y mínimos se utilizan en este estudio para obtener los SQGs. La concentración de lodo tóxico, correspondiente al valor máximo de LC50 se utiliza

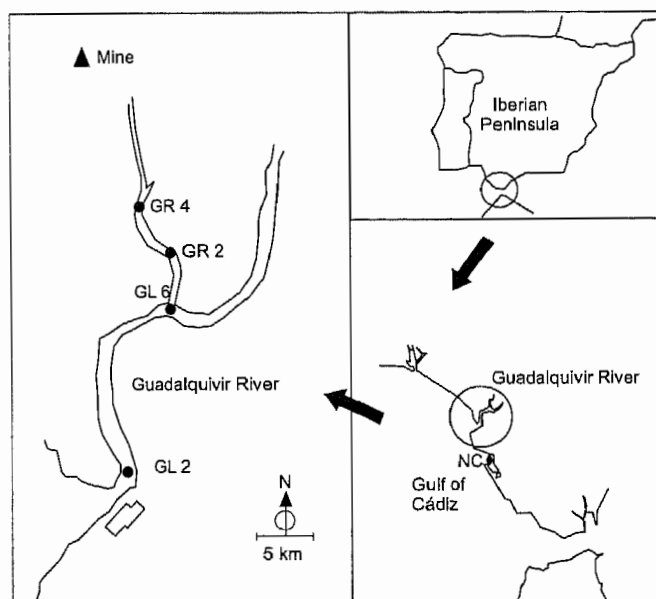


Figure 1. Map of the Guadalquivir estuary located in the Gulf of Cádiz, showing the general areas sampled and location of the sampling stations. The negative control (NC) used in the toxicity tests and for the toxic mud dilution (TM) is represented by the symbol ♦.

Figura 1. Mapa del estuario del Guadalquivir localizado en el Golfo de Cádiz. En él aparecen las áreas generales muestreadas y las localizaciones de las estaciones de muestreo. El control negativo de toxicidad (NC) usado en las pruebas de toxicidad y en las diluciones de lodo tóxico (TM) se representa por el símbolo ♦.

Table 1. Summarized description of the methods carried out to obtain the chemical and toxicological sets of data processed to derive sediment quality guidelines (SQGs) in the Guadalquivir estuary.**Tabla 1.** Descripción resumida de los métodos llevados a cabo para la obtención de las series de datos químicos y toxicológicos procesados para establecer las guías de calidad de sedimento (SQGs) en el estuario del Guadalquivir.

Analysis	Approach	Endpoint/parameter	Measurement
Collection of sediments	Van Veen grab	Chemical and toxicological	Environmental and dilutions
Metals	Total digestion (aqua regia, HF)	Fe, Mn, Zn and Cu Cd and Pb	A.A. Flame A.A. Graphite furnace
Toxicity			
Amphipods (<i>Ampelisca brevicornis</i>)	1:4 v/v; dilution	Mortality (10 d)	20°C, no feed. No water replacement
Clams (<i>Scrobicularia plana</i>)	1:4 v/v; dilution	Mortality (96 h)	20°C, no feed. No water replacement
Fish (<i>Solea senegalensis</i>)	1:4 v/v; dilution	Lesion index of tissues (LIT, 15–30 d)	20°C, artificial feed. Water replacement twice a week

LC50s are calculated by linear regressions of the logarithms of the concentration of toxic mud on declining probit values, by the EPA-Probit analysis program (version 1.5, Ecological Monitoring System Laboratory, EPA, Cincinnati, Ohio). This software determines the value of LC50 and the maximum and minimum values of the 95% confidence interval. We have used these maximum and minimum values to derive the SQGs. The concentration of toxic mud corresponding to the maximum LC50 was used to calculate the concentration of the heavy metals associated with the toxic effect, and was defined as "major adverse biological effects". Similarly, the minimum value of LC50 yielded the concentration of heavy metals not associated with the toxic effect and was defined as "no or minimal adverse biological effects". The difference between both is the uncertainty interval.

To derive SQGs for a metal at a given LC50 ($SQG(M)_{LC50}$), the following expression was used:

$$SQG(M)_{LC50} = 0.01 * (C_{TM} \%TM + C_c \%C)$$

where C_{TM} is the concentration of the metal in the toxic mud and C_c is the concentration of the metal in the control sediment used to dilute the toxic mud. These concentrations were previously reported by Riba *et al.* (2002b); C_{TM} and C_c are, respectively, 21618 and 41.6 mg kg⁻¹ for Zn, 45.7 and 0.1 mg kg⁻¹ for Cd, 2033 and 9.5 mg kg⁻¹ for Cu, and 7873 and 71.9 mg kg⁻¹ for Pb, dry weight. The %TM and %C correspond to the percentage of toxic mud and control, respectively, for a given value of LC50. The values of LC50 are obtained for each bioassay and expressed as percentage of toxic mud. As an example we show the derivation of SQGs for Zn from the LC50 calculated for clams (maximum 5.75% and minimum 1.25%). The maximum is related to a percentage of toxic mud of 5.75%, so the percentage of control sediment is 94.25%. The concentration of Zn in the toxic mud is (see above) 21618 mg kg⁻¹ and the concentration of Zn in the

para calcular la concentración de los metales pesados asociados con el efecto tóxico y en este trabajo ésta se ha definido como "efecto biológico adverso mayor". De forma similar, el valor mínimo de LC50 determina la concentración de metales pesados no asociada con el efecto tóxico y ha sido definida como "efecto biológico adverso mínimo o nulo". La diferencia entre estos dos valores se define como el intervalo de incertidumbre.

Para obtener las guías de calidad de sedimento asociadas con un determinado metal y a partir de los valores de LC50 se ha utilizado la siguiente expresión:

$$SQG(M)_{LC50} = 0.01 * (C_{TM} \%TM + C_c \%C)$$

donde C_{TM} es la concentración del metal en el lodo tóxico y C_c es la concentración del metal en el sedimento limpio utilizado para diluir el lodo tóxico. Estas concentraciones se han descrito previamente por Riba *et al.* (2002b), C_{TM} y C_c son, respectivamente, para el Zn, 21618 y 41.6; para el Cd 45.7 y 0.1; para el Cu 2033 y 9.5; y para el Pb 7873 y 71.9, expresadas como mg kg⁻¹ de peso seco. Los parámetros %TM y %C corresponden a los porcentajes de lodo tóxico y control, respectivamente, para un valor dado de LC50. Los valores de LC50 se obtienen para cada bioensayo y se expresan como porcentaje de lodo tóxico. Como ejemplo se muestra la obtención de los SQGs para el Zn, utilizando el LC50 calculado para las coquinas (max: 5.75% y min: 1.25%). El máximo corresponde a un porcentaje de lodo tóxico de 5.75%, por lo que el porcentaje de sedimento control será de 94.25%. La concentración de Zn en el lodo tóxico es (ver arriba) 21618 mg kg⁻¹ y la concentración de este metal en el sedimento control es 41.6 mg kg⁻¹. Utilizando la ecuación anterior, los valores SQG obtenidos son 1282 y 311 mg kg⁻¹, para el máximo y el mínimo de LC50, respectivamente. El área o intervalo de incertidumbre será la diferencia entre estos dos valores. Para determinar los SQGs para los otros metales se ha utilizado el mismo tipo de cálculo.

control sediment is 41.6 mg kg⁻¹. From the above equation, the SQG values are 1282 and 311 mg kg⁻¹ for the maximum and minimum LC50, respectively. The uncertainty interval is the difference between these two values. The same calculations were carried out for the other metals.

Multivariate analysis approach

Assumptions in the application of the MAA to the data are that the heavy metals measured are those responsible for the effects observed and outweigh the influence of natural physicochemical factors. Other co-varying and not quantified chemicals may have had an influence on the effects observed. The effects of potential interactions of the mixture of metals (synergism, additivity, antagonism) are unknown and the MAA assumes that they act independently. Such considerations were previously reported in the performance of multivariate analysis to link chemical and toxicological data (Zitko, 1994).

The chemical and toxicological data were analyzed by statistical analysis (principal component analysis, PCA) to explore the patterns of the variables (heavy metals: $n = 6$; biological effects: $n = 3$). The objective of PCA is to derive a reduced number of new variables as linear combinations of the original variables. This provides a description of the structure of the data with the minimum loss of information. The PCA was performed on the correlation matrix; i.e., the variables were centered (mean = 0) and scaled (standard deviation = 1) to be treated with equal importance. All analyses were performed using the PCA option of the FACTOR procedure, followed by the basic setup for factor analysis procedure (P4M) from the BMDP statistical software package (Frane *et al.*, 1985). The samples included the five toxic mud concentrations (0.3%, 1.8%, 7.9%, 20% and 32%) and the four sediment samples collected in the Guadalquivir estuary (GL2, GL6, GR2 and GR4). The resulting sorted, rotated factor loadings are coefficients correlating the original variables and the principal factors in this analysis. The variables are reordered so the rotated factor loadings for each factor are clustered together. In the present study, we selected to interpret a variable or group of variables as those associated with a particular factor where loadings were ≥ 0.3 , corresponding to an associated explained variance over 65%. This approximates Comrey's (1973) cut-off of 0.55 for a good association between an original variable and a factor, and also takes into account discontinuities in the magnitudes of loadings approximating the original variables.

To derive the SQGs for the Guadalquivir estuary, a representation of the factor scores for each sample to the centroid of all cases for the original data is needed. We use the factor scores (prevalence) of principal factors to make three definitions: when the factor 3 (F3) scores are ≤ 0 , the maximum concentrations of metals at those stations represent the maximum concentrations not associated with adverse effects. These are considered the concentrations below which biological effects are low or minimal and are described here as "no or minimal adverse biological effects". The minimal

Método del Análisis Multivariante

La aplicación del método del análisis multivariante (MAA, por sus siglas en inglés) sobre los datos obtenidos asume que los metales pesados medidos en el estudio son los responsables del efecto observado y tienen mayor influencia que los factores físicoquímicos naturales. Otros contaminantes que pueden covariar, y que no se han cuantificado, podrían haber tenido una influencia en el efecto observado. Los efectos de posibles interacciones de mezclas de metales (sinergia, adición, antagonismo) se obvian y el MAA asume que los contaminantes actúan independientemente. Este tipo de consideraciones se han descrito previamente al utilizarse este tipo de métodos estadísticos que compaginan datos químicos y toxicológicos (Zitko, 1994).

Los datos de contaminantes y toxicológicos fueron analizados mediante análisis estadístico (análisis de componentes principales, PCA) para explorar el comportamiento de las variables (metales pesados: $n = 6$; efectos biológicos: $n = 3$). El objetivo del PCA es obtener un número reducido de nuevos factores como combinaciones lineales de las variables originales. Esto permite obtener una descripción de la disposición de los datos con una pérdida mínima de información. En el PCA se utilizó la matriz de correlación; i.e., de forma que las variables fueron centradas (media = 0) y escaladas (desviación estándar = 1), lo que permitió que fueran tratadas por igual. Todos los análisis se llevaron a cabo utilizando la opción PCA en el proceso FACTOR, seguida por el protocolo básico en el procedimiento de análisis de factores (P4M) utilizando un paquete estadístico informático como el BMDP (Frane *et al.*, 1985). En el análisis se incluían las cinco concentraciones de lodo tóxico (0.3%, 1.8%, 7.9%, 20% y 32%) y las cuatro estaciones de sedimento muestreadas en el estuario del Río Guadalquivir (GL2, GL6, GR2, GR4). Los pesos resultantes de la rotación de los factores son coeficientes que correlacionan en este análisis las variables originales y los factores. Las variables son reordenadas y, por lo tanto, los coeficientes de las variables en estos nuevos factores rotados se agrupan en forma de racimo. En el presente estudio se han seleccionado coeficientes = 0.3 para interpretar una variable o grupo de ellas asociadas a un factor determinado, coeficiente que permite explicar aproximadamente el 65% de la varianza. Esto aproxima al corte de Comrey (1973) de 0.55 para una buena asociación entre una variable original y un factor, y además tiene en cuenta las discontinuidades en las magnitudes de los pesos de las variables aproximando sus valores a los originales.

Para obtener las guías de calidad de sedimento (SQGs) en el estuario del Río Guadalquivir se propone una representación de los pesos de los factores en cada una de las muestras de sedimento frente al centroide de todos los casos estudiados para todas las variables originales. Se utiliza el peso de los factores principales para realizar tres definiciones: Cuando los pesos del factor 3 (F3) son ≤ 0 , las concentraciones máximas de los metales en esas estaciones representan las concentraciones máximas que no están asociadas con efecto biológico.

concentrations of metals at stations where the F3 scores are > 0 are considered concentrations causing "major adverse biological effects". The difference between the latter and the former is the interval of uncertainty.

Threshold Effect Level Quotient approach

In the third approach, a hypothetical concentration of the toxic mud in the samples from the estuary was calculated from:

$$GLR = TM * M$$

where **GLR** is the matrix of the concentrations of the metals in the GLR samples, with dimensions [rows = metals = 4, columns = GL2, GL6, GR2, GR4 = 4]. The matrix **TM** [rows = 4, columns = 2] contains the composition of the toxic mud in the first column and that of the clean sediment in the second column. The matrix **M** [rows = fractions = 2, columns = GL2, GL6, GR2, GR4 = 4], which contains the proportions of the toxic mud and the sediment, is calculated by least squares.

A cubic spline interpolation was used to construct the toxicity curves encompassing the three lowest concentrations of the toxic mud.

Results and discussion

The results of the chemical and toxicological data used to derive SQGs for the Guadalquivir estuary are summarized in table 2. The percentages of mortality of amphipods and clams were used to calculate the LC50 for each organism. The lesion index percentage of damaged tissues (gills, intestine and gut) in the bottom-fish *Solea senegalensis* was used in a similar way to calculate the LC50. This is a sublethal effect concentration (EC50) that causes damage in all the tissues studied, in 50% of the fish.

Estas concentraciones se consideran por debajo de aquellas cuyos efectos biológicos son mínimos o inexistentes y son descritas aquí como de "efectos biológicos adversos o nulos". Las concentraciones de los metales en los casos donde los pesos de F3 son > 0 son consideradas como concentraciones que causan "efectos biológicos adversos mayores". La diferencia entre esta última definición y la primera determina el intervalo de incertidumbre.

Método TELQ

En el tercer método utilizado, se establece una concentración hipotética de lodo tóxico en las muestras recolectadas en el estuario. Estas concentraciones se calculan utilizando la siguiente expresión:

$$GLR = TM * M,$$

donde **GLR** es la matriz de las concentraciones de los metales en las muestras GLR, con dimensiones [filas = metales = 4, columnas = GL2, GL6, GR2, GR4 = 4]. La matriz **TM** [filas = 4, columnas = 2] contiene la composición del lodo tóxico en la primera columna y la del sedimento limpio control en la segunda. La matriz **M** [filas = fracciones = 2, columnas = GL2, GL6, GR2, GR4 = 4], que contiene las proporciones (fracciones) de lodo tóxico y de sedimento, se calcula mediante el uso de aproximación por mínimos cuadrados. Finalmente, se utiliza una interpolación cúbica de tipo "ranura" para construir las curvas de toxicidad que engloban las tres concentraciones más pequeñas de lodo tóxico.

Resultados y discusión

En la tabla 2 aparecen resumidos los resultados químicos y toxicológicos obtenidos y utilizados para la determinación de

Table 2. Summarized chemical (six heavy metals, mg kg⁻¹, except for Fe, percent dry weight) and toxicological (percentage of mortality of amphipods and clams, Morty_A and Morty_C; and lesion index of tissues (LIT) expressed as percentage) results obtained for the toxic mud dilution (0.3%, 1.8%, 7.9%, 20% and 32%) and the sediment samples from the Guadalquivir estuary (GL2, GL6, GR2 and GR4).

Tabla 2. Resultados resumidos de contaminantes (6 metales pesados, mg kg⁻¹, excepto para Fe, % -peso seco-) y toxicológicos (porcentaje de mortalidad de anfipodos y coquinas, -Morty_A y Morty_C; e índices de lesión de tejidos -LIT, expresados como porcentaje-) obtenidos para las diluciones de lodo tóxico (0,3%, 1,8%, 7,9%, 20% y 32%) y las muestras de sedimento procedentes del estuario del Guadalquivir (GL2, GL6, GR2, GR4).

Metal	0.3%	1.8%	7.9%	20%	32%	GL2	GL6	GR2	GR4
Zn	106	430	1725	4356.9	6946	82	138	273	158
Fe	0.6	1.2	3.7	8.7	13.6	0.6	2.1	3.2	2.9
Cd	0.2	0.9	3.6	9.2	14.7	0.1	0.3	1.3	0.8
Pb	95	212	680	1632	2568	66	55	87	45
Cu	11	41	161	404	644	16	31	53	45
Mn	164	167	180	207	233	186	400	812	510
Morty_A	17.5	92.5	100	100	100	17.5	27.5	60	22.5
Morty_C	15	25	75	99.5	100	3	7.5	10	7.5
LIT	19.2	36.5	46.2	67.3	94.2	9.6	11.5	26.9	16.7

The “no effect” and “major effect” concentrations as well as the uncertainty interval are given in table 3. It can be observed that the amphipods are the species most sensitive to the toxic mud. The sensitivity of clams and of fish in terms of sublethal effects, is lower. The widths of the uncertainty intervals are large for all three species. These results show that the LC50 approach can be used to derive SQGs associated with the mining spill. However, the wide uncertainty intervals between the concentrations associated with biological effects and those with no apparent effect produce large “gray intervals” for the determination of risk in impacted areas.

The application of PCA to the chemical and toxicological data represents the original variables (metals and toxicity tests) by three new variables, or principal factors (table 4). These factors explain 99.14% of the variance in the original data set. Negative values of sorted rotated factor loadings (negative salience) are as important as positive values (positive salience); however, in this analysis, the positive loadings are in general of larger magnitude than the negative loadings. The loadings following varimax rotation for the three factors are given in table 4. Each factor is described according to the dominant group of variables. The first principal factor, #1, is predominant and accounts for 88.32% of the variance. This factor combines the chemical concentrations of all the metals

los SQGs en el área del estuario del Río Guadalquivir. Los porcentajes de mortalidad de anfípodos y coquinas se han utilizado para calcular los valores de LC50 en cada organismo. El índice de lesión, expresado como porcentaje de tejidos dañados (branquias, intestino y tubo digestivo) en el pez bentónico *Solea senegalensis*, se utilizó de forma similar para calcular los LC50. En este caso, se define como la concentración (EC50) que produce un 50% de daño en todos los tejidos estudiados del organismo.

En la tabla 3 se muestran las concentraciones de “efectos nulos” y de “efectos mayores”, así como los intervalos de incertidumbre. Se puede observar que la especie de anfípodo utilizada es la más sensible a la contaminación presente en el lodo tóxico. La sensibilidad de coquinas y peces, ésta última en términos de daño subletal, es menor. Para las tres especies utilizadas, la amplitud de los intervalos de incertidumbre es grande. Estos resultados muestran que el método que utiliza los valores de LC50 puede ser usado para obtener los SQGs en el estuario del Guadalquivir asociados con el accidente minero de Aznalcóllar. Sin embargo, la gran amplitud del intervalo de incertidumbre entre las concentraciones asociadas con efectos biológicos y las no asociadas con efectos aparentes, genera grandes “intervalos grises” en la determinación del riesgo en las áreas impactadas.

Table 3. Summarized results of LC50s, expressed as percentage of toxic mud, calculated for the three sediment toxicity tests (amphipods, clams and fish) and sediment quality guidelines (SQGs) derived as described in the text for Zn, Cd, Pb and Cu, proposed for the Guadalquivir area affected by the Aznalcóllar mining spill. All concentrations are expressed as mg kg⁻¹ of dry sediment.

Tabla 3. Resultados resumidos de LC50s expresados como porcentaje de lodo tóxico calculado para los tres ensayos de toxicidad de sedimento (anfípodos, coquinas y peces) y guías de calidad de sedimento (SQGs) obtenidas como se ha descrito a lo largo del texto para zinc, cadmio, plomo y cobre, propuestas para el área del Guadalquivir afectada por el vertido minero de Aznalcóllar. Todas las concentraciones están expresadas como mg Kg⁻¹ de sedimento en peso seco.

Contaminants	Value descriptions		
	Major adverse biological effects	No or minimal adverse biological effect	Area of uncertainty
Amphipod (LC50)	1.07	0.44	
Zn	>272	≤136	272–136
Cd	>0.59	≤0.30	0.59–0.30
Pb	>93.5	≤43.8	93.5–43.8
Cu	>43.6	≤17.8	43.6–17.8
Clam (LC50)	5.75	1.25	
Zn	>1282	≤311	1282–311
Cd	>2.72	≤0.67	2.72–0.67
Pb	>462	≤108	462–108
Cu	>183	≤96.1	183–96.1
Fish (LC50)	7.24	1.97	
Zn	>1605	≤466	1605–466
Cd	>3.40	≤1.00	3.40–1.00
Pb	>579	≤164	579–164
Cu	>212	≤110	212–110

Table 4. Sorted, rotated factor loadings (pattern) of nine variables in the three principal factors obtained from the multivariate analysis in the study using toxic mud dilutions (0.3%, 1.8%, 7.8%, 20% and 32% dry weight of toxic mud) and sediment samples from the Guadalquivir estuary (GL2, GL6, GR2 and GR4). The loading matrix has been rearranged so that the columns appear in decreasing order of variance explained by the factors. Only loadings greater than 0.3 are shown. Factors (#) are numbered consecutively from left to right in order of decreasing variance (Morty_A = mortality of amphipods, Morty_C = mortality of clams, and LIT = lesion index of tissues).

Tabla 4. Pesos de los factores rotados de 9 variables en los tres factores principales obtenidos del análisis multivariante en el estudio, utilizando diluciones de lodo tóxico (0.3%, 1.8%, 7.8%, 20% y 32% de peso seco de lodo tóxico) y las muestras de sedimento procedentes del estuario del río Guadalquivir (GL2, GL6, GR2 y GR4). Sólo los pesos mayores o iguales a 0.3 se muestran en la tabla. Los factores (#) están numerados consecutivamente de izquierda a derecha a medida que explican la menor varianza (Morty_A = mortalidad de anfipodos, Morty_C = mortalidad de almejas, y LIT = índice de lesiones en tejidos).

Factors	#1	#2	#3
% variance	82.32	11.01	5.81
Zn	0.934	---	0.321
Cd	0.940	---	0.323
Pb	0.926	---	0.329
Cu	0.944	---	0.309
Morty_A	0.407	---	0.905
Morty_C	0.734	---	0.578
LIT	0.825	---	0.535
Fe	0.957	---	---
Mn	---	-0.989	---

(Zn, Cd, Pb, Cu and Fe), except Mn, with all the biological effects (amphipods, Morty_A; clams, Morty_C; and fish lesions, LIT); it represents biological effects associated with chemicals from the accidental spill. The second factor, #2, accounts for 11.01% of the variance and combines only with the concentration of Mn but as negative loading. It represents a natural sedimentary matrix at the study site defined by variations in the Mn concentration and not associated with the biological effect measured in this study. The third factor, #3, accounts for 5.81% of the variance, and is a combination of four metals (Zn, Cd, Pb and Cu) and the three biological effects. The highest loading is associated with the mortality of amphipods, the rest of the loadings being lower than those grouped in factor 1. This factor was defined as the acute effect of the mining spill on the Guadalquivir estuary.

In order to confirm these factor descriptions and to establish the site-specific values of sediment quality, here defined as SQGs, in the Guadalquivir estuary, we propose a representation of estimated factor scores from each case (stations and dilutions of toxic mud) to the centroid of all cases for the original data (fig. 2). In general, values of factor #1 increase with increasing concentration of toxic mud, showing

La aplicación del MAA a la series de datos químicos y toxicológicos representa las variables originales (metales y tests de toxicidad) como una combinación lineal de tres nuevas variables, o factores principales (tabla 4). Estos factores explican un 99.14% de la varianza total de los datos originales. Los valores negativos de los pesos de las variables en los factores son tan importantes como los valores positivos. Sin embargo, en este análisis, los valores positivos son en general de mayor magnitud que los negativos. En la tabla 4 se muestran los valores de los pesos de las variables obtenidas en cada factor y tras su rotación "varimax". Cada factor se describe según el grupo de variables dominantes en él. El primer factor principal, #1, explica un 88.32 % de la varianza y se define como la combinación lineal de las concentraciones de los metales Zn, Cd, Pb, Cu y Fe, con todos los efectos biológicos medidos (anfipodos, Morty_A; coquinas, Morty_C; y lesiones de peces, LIT). Este factor representa los efectos biológicos asociados con los contaminantes procedentes del vertido accidental. El segundo factor, #2, explica un 11.01% de la varianza e incluye sólo la concentración de Mn pero con un coeficiente negativo. Este factor representa la matriz sedimentaria típica de la zona de estudio, que está definida por variaciones en las concentraciones del metal Mn y que además no está asociada con los efectos biológicos medidos en este estudio. El tercer factor, #3, representa el 5.81% de la varianza y es una combinación de la concentración de cuatro metales, Zn, Cd, Pb y Cu, y los tres efectos biológicos. El mayor coeficiente está asociado con la variable mortalidad de anfipodos, mientras que el resto de los pesos de las variables son menores que los agrupados en el factor 1. Este factor se define como los efectos agudos provocados por el vertido minero de Aznalcóllar sobre el ecosistema del estuario del Guadalquivir.

Con el objetivo de confirmar la descripción de los factores anteriores, y de determinar los valores específicos de calidad de sedimento, definidos aquí como Guías de Calidad de Sedimento (SQGs) en el estuario del Río Guadalquivir, proponemos una representación de los pesos estimados de los factores en cada uno de los casos de estudio (diluciones de lodo tóxico y estaciones de sedimento) al centroide de todos los casos para los datos originales (fig. 2). En general, los valores del factor #1 aumentan con la concentración de lodo tóxico, apareciendo con valores positivos a diluciones mayores de 7.8% y con un valor máximo en la mayor dilución utilizada en este estudio (32%). Este factor presenta valores negativos siempre asociados con las estaciones muestreadas en el estuario del Río Guadalquivir. El otro factor, que también incluye concentraciones de metales y efectos biológicos en su definición, es el factor #3. El valor de este factor es positivo a concentraciones de lodo tóxico = 1.8% y en la estación GR2 localizada en el estuario del Río Guadalquivir. Este hecho confirma que el factor #1 está asociado con los efectos tóxicos producidos por los metales presentes en el lodo tóxico, y que el factor #3 está asociado con el impacto agudo asociado con el vertido que afectó al estuario.

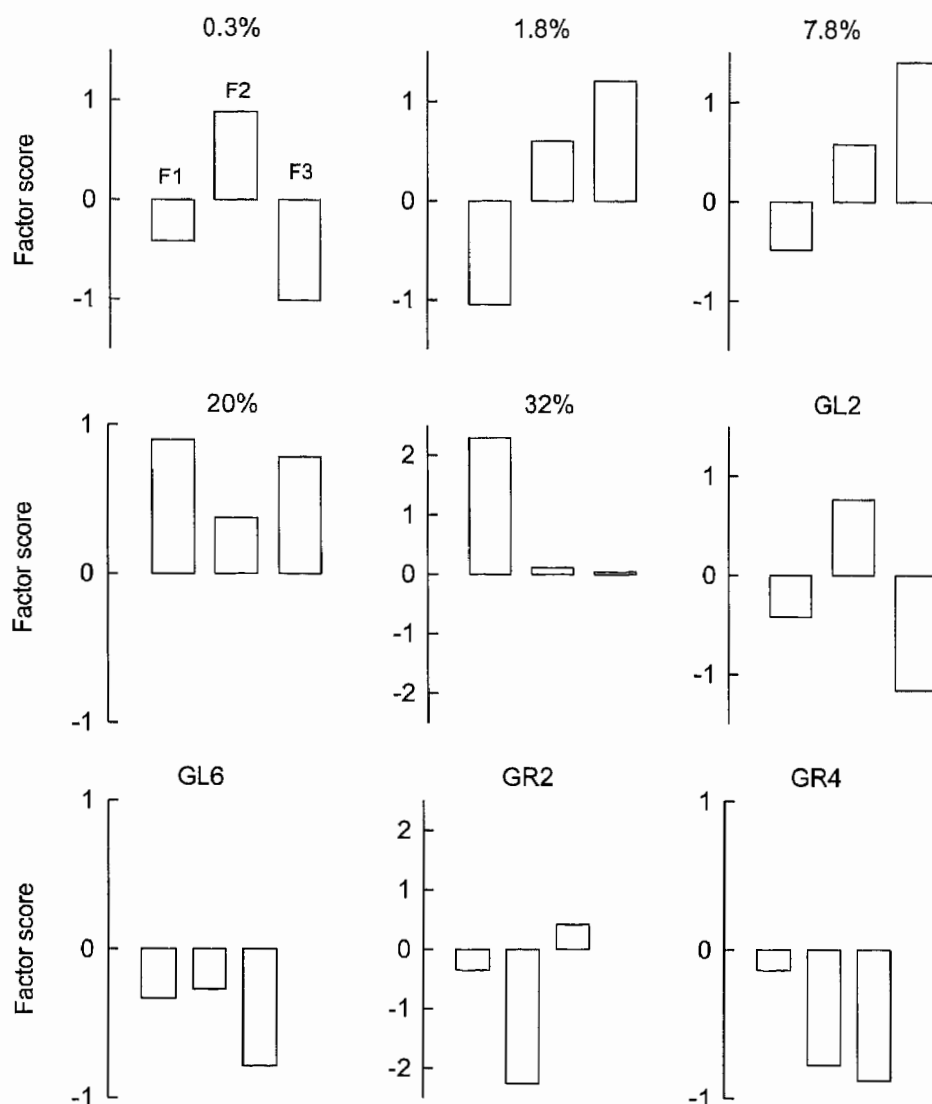


Figure 2. Estimated factor scores for each of the nine cases evaluated using five toxic mud dilutions (0.3%, 1.8%, 7.8%, 20% and 32% dry weight of toxic mud) and sampling points located in the Guadalquivir estuary (GL2, GL6, GR2 and GR4) to the centroid of all cases for the original data. The factor scores quantify the prevalence of every factor for each station and are used to calculate the sediment quality guidelines (SQGs).

Figura 2. Peso de los factores (*factor scores*) estimados para cada uno de los nueve casos evaluados, en las diluciones de lodo tóxico (0.3%, 1.8%, 7.8%, 20% y 32% de peso seco de lodo tóxico) y en las muestras de sedimento procedentes del estuario del Río Guadalquivir (GL2, GL6, GR2 y GR4). La contribución de los factores cuantifica la influencia de cada factor para cada estación y es usado para calcular las guías de calidad del sedimento (SQGs).

positive values at dilutions higher than 7.8% and a maximum value at the highest toxic mud dilution (32%). This factor score was always negative in all the sediment sampled in the Guadalquivir estuary. The other factor, which includes metal concentrations and biological effects in its definition, is factor #3. The value of this factor is positive at concentrations of toxic mud $\geq 1.8\%$ and at station GR2, located in the Guadalquivir estuary. This confirms that factor #1 is associated with the toxic effects caused by metals in the toxic mud and that factor #3 is associated with the acute impact from the spill that affected the estuary.

Los pesos de los factores que vienen descritos en la figura 2 se utilizaron para obtener los SQGs. Cuando los pesos del factor #3, que es el factor que muestra la relación entre los metales y los efectos adversos, son ≤ 0 , la concentración máxima de los metales en estas estaciones son las concentraciones máximas de éstos que no están asociadas con efectos adversos, “efectos biológicos mínimos o nulos, no polucionado”. Por otra parte, para establecer las concentraciones mínimas de contaminantes que siempre están asociadas con efectos biológicos, se seleccionarán las concentraciones mínimas de metales en las estaciones donde los pesos del

To derive the SQGs, the factor scores were used and are shown in figure 2. When the scores of factor #3 (the factor showing relationships between the metals and adverse effects) are ≤ 0 , the maximum concentrations of the metals at these stations are the maximum chemical concentrations not associated with adverse effects: "no or minimal adverse biological effects; not polluted". In contrast, to establish the minimal concentrations above which biological effects are always high, the minimum concentrations of the metals, at the stations where the score of factor #3 > 0 , were selected and described here as "major adverse biological effects; highly polluted". The minimal and major effect concentrations, as well as the intermediate ranges of concentrations representing a "moderately polluted" interval of uncertainty, are shown in table 5.

To facilitate the understanding of the above-mentioned process to derive SQGs, we have described the calculation method for the case of Cd (table 5). The metal is included in factors #1 and #3 and therefore correlated to biological effect

factor #3 > 0 y se describen aquí como "efectos biológicos adversos mayores, altamente polucionado". En la tabla 5 se muestran las concentraciones de efectos mínimos o nulos y efectos mayores, así como los intervalos intermedios de concentraciones que representan un intervalo "moderadamente polucionado" de incertidumbre.

Para confirmar el proceso de cálculo de SQGs descrito previamente, se ha aplicado este método para obtener las guías de calidad en el caso del Cd (tabla 5). Este metal está incluido en los factores #1 y #3, por lo que está correlacionado con efecto biológico (tabla 4). Además, el factor #3 es positivo en las diluciones de lodo tóxico = 1.8% y en la estación GR2 (fig. 2), localizada en el estuario. Por el contrario, su valor es negativo en la dilución de 0.3% y en el resto de las estaciones localizadas a lo largo del estuario del Guadalquivir. La concentración máxima de Cd entre estos cuatro casos es de 0.8 mg kg⁻¹ medida en la estación GR4 (tabla 2). Esta es la concentración con "efectos biológicos adversos mínimos o nulos" (tabla 5).

Table 5. Summary of benchmark sediment quality guidelines (SQGs) proposed for Zn, Cd, Pb and Cu in this study derived using different approaches: (A) MAA; (B) LC50, amphipods; (C) LC50, clams; and (D) LC50, fish. The SQGs shown in B, C and D are from table 3. All concentrations are expressed as mg kg⁻¹ dry sediment. An error quotient is included to determine the effectiveness of each approach to derive SQGs and defined as $\epsilon = [(U.A._i/U.A._{MAA}) - 1] * 100$, being U.A._i the uncertainty areas determined by each approach and shown in the table as the "moderately polluted" guideline and U.A._{MAA} that was obtained by the MAA.

Tabla 5. Resumen de los valores guías de calidad de sedimento (mg Kg⁻¹ -sedimento seco-) propuestos para Zn, Cd, Cu y Pb en este estudio y obtenidos al utilizar diferentes métodos: A) MAA; B) LC50 -anfípodos-; C) LC50 -coquinas-; y D) LC50 -peces-. Los SQGs en B, C y D provienen de la tabla 3. Todas las concentraciones están expresadas como mg Kg⁻¹ de sedimento en peso seco. Se incluye el valor del coeficiente de error para determinar la efectividad de cada uno de los métodos en la obtención de los SQGs, definido como $\epsilon = [(U.A._i/U.A._{MAA}) - 1] * 100$, siendo U.A._i el intervalo de incertidumbre determinado por cada método y mostrado en la tabla como la guía "moderadamente polucionado" y U.A._{MAA} es el intervalo obtenido de la aplicación del MAA.

Metal		ϵ (%)	Sediment quality guidelines		
			Not polluted	Moderately polluted	Highly polluted
Zn	A	0	<158.0	158-273	>273.0
	B	19	<136.0	136-272	>272.0
	C	744	<311.0	311-1282	>1282.0
	D	890	<466.0	466-1605	>1605.0
Cd	A	0	<0.8	0.8-0.9	>0.0
	B	188	<0.3	0.3-0.6	>0.6
	C	1952	<0.7	0.7-2.7	>2.7
	D	2306	<1.0	1.0-3.4	>3.4
Pb	A	0	<66.0	66-87	>87.0
	B	137	<44.0	44-94	>94.0
	C	1585	<108.0	108-462	>462.0
	D	1876	<164.0	164-579	>579.0
Cu	A	0	<45.0	45-53	>53.0
	B	52	<18.0	18-44	>44.0
	C	985	<96.0	96-183	>183.0
	D	1172	<110.0	110-212	>212.0

(table 4). Also, factor #3 is positive at concentrations of toxic mud ≥ 1.8 and at station GR2 (fig. 2), located in the Guadalquivir estuary. Its value is negative at dilution 0.3% and at the rest of the stations (GL2, GL6 and GR4) located in the estuary. The maximum concentration of Cd among these four cases is 0.8 mg kg^{-1} at station GR4 (table 2). This is the “no or minimal adverse biological effects” concentration (table 5). Similarly, to develop the “highly polluted” guideline, we find the minimum concentration of the metals (table 2) among the stations with factor #3 positive: 1.8%, 7.8%, 20%, 32% and GR2 (fig. 2), which for Cd is 0.9 mg kg^{-1} at the toxic mud concentration of 1.8%. The “moderately polluted” uncertainty interval is the difference between these two concentrations. The SQG values for the other metals were derived in the same way (table 5).

To compare the prediction of risk associated with the heavy metals and expressed as SQGs by both approaches (LC50 and MAA), the “not polluted” and “highly polluted” guidelines, derived by the MAA, were compared to those calculated using the minimum and maximum values of LC50. The effectiveness was established comparing the uncertainty intervals determined by both approaches. An error quotient (ϵ) was defined as the uncertainty interval derived in the LC50 approach, $(U.I.)_{LC50}$, divided by the uncertainty interval derived by the MAA, $(U.I.)_{MAA}$. For convenience, these values were scaled by subtracting 1 and multiplying by 100 (table 5). As can be seen, the LC50-derived SQGs always resulted in a higher ϵ , especially for clams and fish. These results show that the sensitivity of one organism can highly affect the derivation of SQGs if used alone and that the PCA approach can balance this kind of error, avoiding a misinterpretation of the data. Furthermore, a detailed analysis of the SQGs provided by some of the LC50s shows that the use of some of the guidelines can produce the overprotection (amphipods) or underprotection (fish and clams) of the environment for some of the metals from the accidental spill.

Assuming that the sediments in the estuary were contaminated by only the toxic mud, the hypothetical concentration of the toxic mud in these samples can be calculated (table 6). The agreement between the calculated and the reported concentrations is not perfect, but it gives an estimate of the concentration of the toxic mud that approximates the concentrations of metals in the samples from the estuary. Interestingly, the agreement between the reported (table 2) and calculated (table 6) concentrations is better for the more distant stations GL2 and GL6. The concentration of Cu and Cd is underestimated in the GR2 and GR4 samples. Nevertheless, one can use the calculated (or expected) toxic mud concentrations in a comparison with the results of the toxicity tests (fig. 3). Since there are only two “spiked” sediment concentrations within the hypothetical concentration range (0.2–1.3%, table 2), the toxicity curves in the range of the calculated concentrations were obtained by interpolation. As can be seen from figure 3, most of the expected frequency of toxic effects is well below the extrapolated toxicity curves, particularly for clams.

De forma similar, para obtener la guía de “altamente polucionado” tendremos que determinar la concentración mínima de metales pesados (tabla 2) de entre las estaciones donde el factor #3 es positivo: 1.8%, 7.8%, 20%, 32% y GR2 (fig. 2), la cual es 0.9 mg kg^{-1} para Cd y, medida en la dilución de lodo tóxico, de 1.8%. El intervalo de incertidumbre que define la guía “moderadamente polucionada” es la diferencia entre estas dos concentraciones. Los valores de SQG para los otros metales pueden establecerse de igual forma (tabla 5).

Para comparar la predicción del riesgo asociado con los metales pesados y expresado como valores de SQG utilizando los dos métodos anteriormente descritos (LC50s y MAA), las guías “no polucionado” y “altamente polucionado” obtenidas del MAA se compararon con las calculadas a partir de los valores mínimo y máximo de LC50s. La efectividad se calcula comparando los intervalos de incertidumbre determinados por ambos métodos. Se define el coeficiente de error (ϵ) como el cociente entre el intervalo de incertidumbre obtenido al utilizar el método LC50 $(U.I.)_{LC50}$ y el intervalo de incertidumbre obtenido de aplicar el MAA $(U.I.)_{MAA}$. Por conveniencia, estos valores han sido normalizados restando 1 y multiplicando por 100 (tabla 5). Como puede verse, los valores SQG obtenidos al utilizar el método LC50 siempre presentan un mayor ϵ , especialmente en los bioensayos con coquinas y peces. Estos resultados permiten ver que si la sensibilidad de un organismo se utiliza de forma individual, esto puede afectar bastante al cálculo de los SQGs, mientras que el MAA puede paliar esta clase de error evitando una mala interpretación de los datos. Además, un análisis detallado de los SQGs obtenidos al utilizar el método LC50 muestra que el uso de algunas guías puede sobreproteger (anfipodos) o desproteger (peces y coquinas) al medio ambiente, sobretodo en el caso de alguno de los metales pesados procedentes del vertido minero de Aznalcóllar.

Es posible calcular una concentración hipotética de lodo tóxico en las muestras recogidas en el estuario del Río Guadalquivir (tabla 6) y utilizando las concentraciones de contaminantes medidas en ellas si se asume que los sedimentos del estuario se han contaminado sólo por el lodo tóxico. La concordancia que existe entre las concentraciones calculadas y las analizadas en los sedimentos no es del todo perfecta, pero nos ofrece una estimación de la concentración de lodo tóxico que se aproxima a las concentraciones de metales en las muestras obtenidas en el estuario. Es interesante la similitud entre las concentraciones analizadas (tabla 2) y las calculadas (tabla 6) para las estaciones más alejadas y localizadas en el Río Guadalquivir GL2 y GL6. En este sentido, la concentración de Cu y Cd está infraestimada en las muestras localizadas en el Río Guadiamar (muestras GR2 y GR4). En cualquier caso, es posible utilizar las concentraciones de lodo tóxico calculadas (o esperadas) con un propósito comparativo frente a los resultados de las pruebas de toxicidad (fig. 3). Debido a que sólo existen dos concentraciones “dopadas” de sedimento entre el intervalo de las concentraciones hipotéticas (0.2–1.3%, tabla 2), las curvas de toxicidad en el rango de las concentraciones calculadas se han obtenido mediante interpolación.

Table 6. Hypothetical toxic mud concentrations and Threshold Effect Level quotients (TELQs)
Tabla 6. Concentraciones hipotéticas de lodo tóxico y coeficientes de nivel de umbral de efecto (TELQs).

Mixing fractions		Calculated										
Mud	Clean	Zn	Cd	Cu	Pb	TEL		Quotients	Mean	Station		
1	0	21618	45.7	2033	7873							
0	1	41.6	0.1	9.5	71.9							
		Calculated composition				TEL		Quotients	Mean	Station		
0.0026	0.6431	83.0	0.18	11.4	66.7	0.67	0.27	0.61	2.21	0.94	GL2	
0.0062	0.1072	138.5	0.29	13.6	56.5	1.12	0.43	0.73	1.87	1.04	GL6	
0.0131	-0.1805	275.7	0.58	24.9	90.2	2.22	0.85	1.33	2.99	1.85	GR2	
0.0077	-0.1788	159.0	0.33	14.0	47.8	1.28	0.49	0.75	1.58	1.03	GR4	
0.0131	0.0000	283.2	0.60	26.6	103.1	2.28	0.88	1.42	3.42	2.00	GR2*	
0.0077	0.0000	166.5	0.35	15.7	60.6	1.34	0.52	0.84	2.01	1.18	GR4*	
TEL		124	0.68	18.7	30.2							

The toxicity test results were also compared with the Threshold Effect Level Quotients (TELQs, table 6), and the toxic responses are plotted against the average TELQs in the insert in figure 3. It can be seen that toxic effects occur at TELQs > 0.9.

It is not the objective of this work to provide guidelines for the management of the risk in estuarine environments but to note the errors associated with the derivation of SQG values when considerations related to the method used to derive them are not taken into account. Furthermore, the intrinsic error associated with the measurements of chemical and toxicological variables should be taken into account when the final interpretation is performed. In this sense, an uncertainty interval such as that associated with Cd (derived using MAA) could be considered non-existent, because the error included in the chemical determination and the variability of the toxicological endpoints produces higher error than a variability of 0.1 mg kg⁻¹ defined by the uncertainty area determined by the MAA.

Within the context of this study, a number of conclusions can be obtained:

- The SQGs derived using the MAA from this set of data can be used to obtain more useful values than those obtained using the LC50 approach. It may be that toxicity tests performed with a larger number of concentrations would provide narrower uncertainty intervals. The effectiveness of SQGs derived by MAA is higher than that associated with the LC50 approach. The LC50 approach derives SQGs that can either over- or underprotect the environment depending on the organism used in the toxicity test. In this sense, the LC50 approach is not recommended to derive quality guidelines using only one species.

Como puede observarse en la figura 3, la mayoría de las frecuencias esperadas de efectos tóxicos se encuentran alejadas y por debajo de las curvas de toxicidad extrapoladas, particularmente para las coquinas.

Los resultados de toxicidad también se han comparado utilizando los coeficientes TEL (TELQs, tabla 6), de forma que las respuestas tóxicas se han representado frente a la media de los TELQs en la figura pequeña insertada dentro de la figura 3. Como puede verse los efectos tóxicos ocurren a TELQs > 0.9.

El objetivo de este trabajo no es proponer guías genéricas para la gestión de riesgo en ambientes de estuarios, sino evidenciar los errores asociados a los diferentes métodos propuestos para la obtención de los valores de SQG. Además, a la hora de hacer una interpretación final de los resultados deberían tenerse en cuenta los errores intrínsecos asociados con las medidas de las concentraciones de contaminantes y las de las variables toxicológicas. En este sentido, un intervalo de incertidumbre como el obtenido para el metal Cd (utilizando el MAA) puede considerarse como no-existente porque el propio error cometido en la determinación analítica de la concentración de Cd en el sedimento y la variabilidad de la mortalidad de los organismos y/o el daño histológico es mayor que el valor de 0.1 mg kg⁻¹ definido en el intervalo de incertidumbre.

Del contexto de este estudio se pueden obtener una serie de conclusiones:

- La utilización del MAA permite obtener valores de SQGs más útiles que los determinados por el método LC50. Posiblemente, la utilización de un mayor número de concentraciones podría derivar en un intervalo de incertidumbre más estrecho. La efectividad del MAA para obtener los SQGs es mayor que la asociada con el método LC50. De este método se obtienen valores de SQGs que

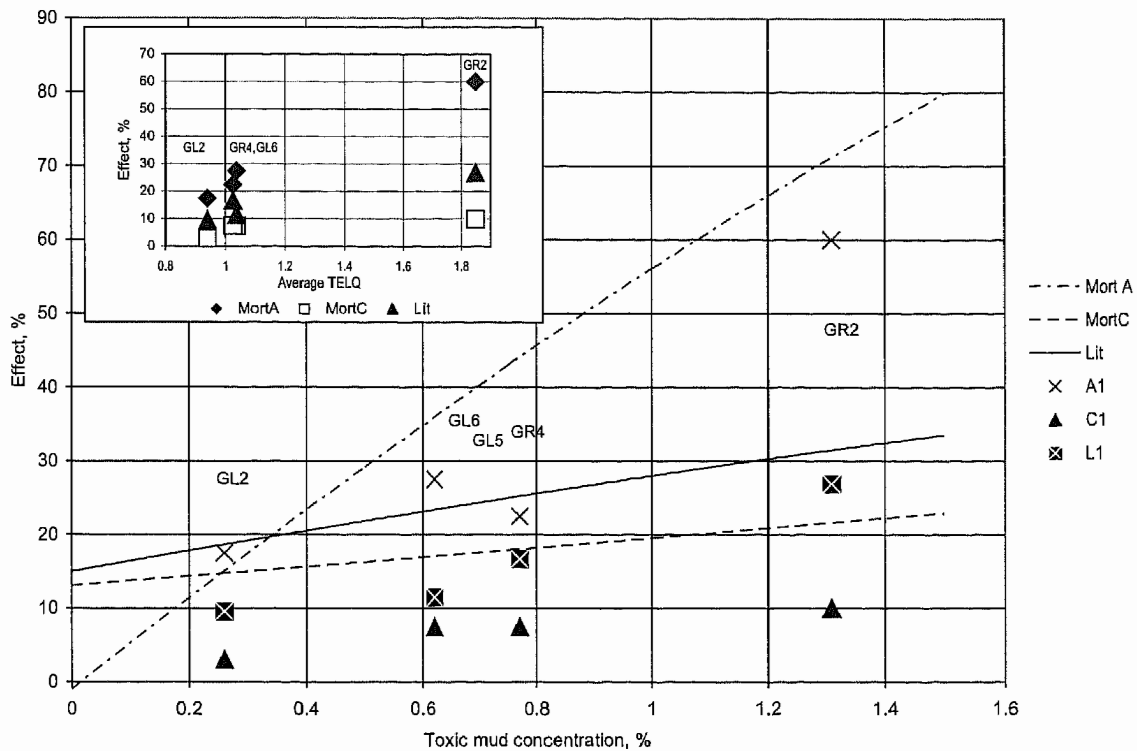


Figure 3. Interpolated toxicity curves and results of toxicity tests, based on the hypothetical toxic mud concentration in the GL2, GL6, GR2 and GR4 samples. The insert shows the relationship between toxic effect (%) plotted against the mean threshold effect level quotients (TELQs).
Figura 3. Curvas de toxicidad interpoladas y resultados de los tests de toxicidad basados en la determinación de las concentraciones hipotéticas de lodo tóxico en las muestras del estuario, GL2, GL6, GR2 y GR4. La figura pequeña insertada muestra la relación entre efecto tóxico, %, representada frente a los coeficientes medios TEL.

- The use of SQGs without any consideration related to the error associated with the approach used for their derivation can determine both over- or underprotection related to the environmental risk associated with some chemicals, as demonstrated for the metals from the accidental spill. The intrinsic variability associated with the analytical methods, both chemical and toxicological, should be established when SQGs are proposed.
- The SQGs derived using MAA can be used to identify the risk associated with metals bound to sediments located in the Guadalquivir estuary as an initial step to determine the sediment quality in the area. In this sense, dredged management in the estuary can use this kind of SQGs, although only for the marine area influenced by salinity values of a typical marine environment (20–35). For the estuarine areas with lower values of salinity, considerations on the effects of salinity, pH and other variables on the bioavailability of contaminants should be assessed.
- When the source of the contamination is known and toxicity tests with this source have been performed, the hypothetical concentration of the source can be used in the evaluation of the toxicity tests of field samples.
- The TELQs can be used for an initial estimate of the risk.

- pueden sobre o infra proteger el medio ambiente dependiendo del organismo utilizado en los tests de toxicidad. En este sentido, no se recomienda el método LC50 basado en la utilización de una sola especie como método para determinar los SQGs.
- La utilización de los SQGs sin tener en cuenta ninguna consideración relacionada con el error asociado al método utilizado puede dar lugar tanto a una sobre como a una infra protección relacionada con el riesgo ambiental producido por alguno de los contaminantes, como se ha demostrado para los metales originados por el vertido accidental. La variabilidad intrínseca asociada con los métodos analíticos tanto fisicoquímicos como toxicológicos debe establecerse a la hora de proponer SQGs.
- Como paso previo para determinar la calidad de los sedimentos, los SQGs obtenidos del MAA pueden ser utilizados para identificar el riesgo asociado con los metales de los sedimentos del estuario del Río Guadalquivir. En este sentido, en la gestión de los dragados que tienen lugar de forma rutinaria en el estuario, pueden utilizarse estos SQGs aunque sólo en el área de influencia marina con valores de salinidad comprendidos entre 20 y 35. En las otras áreas del estuario con valores de salinidad menores habrían de

The use of SQGs is still under debate by the scientific community as to how and when (or if) they should be used to evaluate results of biological tests. Although a final decision has not yet been adopted, some experts believe that SQGs should reflect either a range of numeric values or a classification scheme based on degrees of contamination and reflect the uncertainty inherent in the sediment assessment process. In this sense, this study addresses both considerations for the specific case of the Guadalquivir estuary, after it was impacted by an accidental mining spill. The authors emphasize that they suggest a method for the development of site-specific sediment quality guidelines and not generic sediment quality guidelines.

Acknowledgements

This research was supported by the PICOVER project of the Junta de Andalucía and by grant REN2002-01699 from the Plan Nacional Español de Investigación, Innovación y Desarrollo (Ministerio de Ciencia y Tecnología). Inmaculada Riba thanks the Consejería de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía for her doctoral fellowship (F.P.D.I.).

References

- Chapman, P.M. (1991). Environmental quality criteria: What type should we be developing? *Environ. Sci. Technol.*, 25: 1353-1359.
- Comrey, A.L. (1973). *A First Course in Factor Analysis*. Academic Press, New York.
- DelValls, T.A. and Chapman, P.M. (1998). Site-specific sediment quality values for the Gulf of Cádiz (Spain) and San Francisco Bay (USA) using the sediment quality triad and multivariate analysis. *Cien. Mar.*, 24(3): 313-336.
- DelValls, T.A., Forja, J.M., González-Mazo, E., Blasco, J. and Gómez-Parra, A. (1998). Determining contamination sources in marine sediments using multivariate analysis. *TRAC-Trend in Anal. Chem.*, 17(4): 181-192.
- Fairey, R., Long, E.R., Roberts, C.A., Anderson, B.S., Phillips, B.M., Hunt, J.W., Puckett, H.R. and Wilson, C.J. (2001). An evaluation of methods for calculating mean sediment quality guidelines quotients as indicators of contamination and acute toxicity to amphipods by chemical mixtures. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20(10): 2276-2286.
- Frane, J., Jennrich, R. and Sampson, P. (1985). Factor analysis. In: W.J. Dixon (ed.), *BMDP Statistical Software*. Univ. California Press, Berkeley, pp. 480-500.
- Ingersoll, C.G., MacDonald, D.D., Wang, N., Crane, J.L., Field, L.J., Haverland, P.S., Kemble, N.E., Lindskoog, R.A., Severn, C. and Smorong, D.E. (2001). Predictions of sediment toxicity using consensus-based freshwater Sediment Quality Guidelines. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 41: 8-21.
- Long, E.R., MacDonald, D.D., Smith, S.L. and Calder, F.D. (1995). Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environ. Management*, 19(1): 81-97.
- tenerse en cuenta los efectos de la salinidad, pH y otras variables sobre la biodisponibilidad de los contaminantes.
- Cuando la fuente de contaminación es conocida y se llevan a cabo tests de toxicidad utilizando esta fuente (lodo tóxico), la concentración hipotética de la fuente puede ser utilizada en la evaluación de los resultados de toxicidad obtenidos en las muestras recogidas en el campo.
 - El coeficiente del nivel de umbral del efecto (TELQ) puede ser utilizado para estimar de forma inicial el riesgo.
- El uso de los SQGs sigue debatiéndose por la comunidad científica, que cuestiona el cómo y cuándo (o si) debieran ser utilizados los SQGs para evaluar los resultados de los tests biológicos. Aunque no se ha adoptado una decisión final, algunos expertos creen que los SQGs deben reflejar un rango numérico de valores o esquemas de clasificación basados en diferentes grados de contaminación, y reflejar la incertidumbre inherente al proceso de evaluación del sedimento. En este sentido, este estudio responde a estos dos tipos de consideraciones para un caso específico como el del estuario del Río Guadalquivir afectado por un vertido minero. Los autores enfatizan en sugerir un método para desarrollar guías de calidad de sedimento específicas para el sitio de estudio y no guías genéricas de calidad de sedimento.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el convenio PICOVER de la Junta de Andalucía y por el proyecto con número de referencia REN2002-01699 financiado por el Plan Nacional Español de Investigación, Innovación y Desarrollo (Ministerio de Ciencia y Tecnología). Inmaculada Riba agradece a la Consejería de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía por su beca Doctoral (F.P.D.I.).

Traducido al español por los autores.

-
- NOAA/HAZMAT (1999). Screening Quick Reference Table for Inorganics in Solids. HAZMAT Rep. 99-1, mfb@hazmat.noaa.gov.
- Riba, I., DelValls, T.A., Forja, J.M. and Gómez-Parra, A. (2002a). Influence of the Aznalcóllar mining spill on the vertical distribution of heavy metals in sediments from the Guadalquivir estuary (SW Spain). *Mar. Pollut. Bull.*, 44: 39-47.
- Riba, I., Forja, J.M., DelValls, T.A., Guerra, R. and Iacondini, A. (2002b). Determining sediment toxicity associated with the Aznalcóllar mining spill (SW Spain) using a bacterial bioassay. In: M. Pelli, A. Porta R.E. and Hinchee (eds.), *Characterization of Contaminated Sediments S1-1*, Venice, pp. 93-100.
- Zitko, V. (1994). Principal component analysis in the evaluation of environmental data. *Mar. Pollut. Bull.*, 28: 718-722.