



PLEC DE PRESCRIPCIONS TÈCNIQUES PARTICULARS DE “ASSISTÈNCIA TÈCNICA PER A L'ANÀLISI DE SEDIMENTS, PEIXOS I BIOMARCADORS I REALITZACIÓ DE TESTOS DE TOXICITAT AL MEANDRE DE FLIX. Clau: CTN2300529”

ÍNDEX GENERAL

Contingut

1. OBJECTIUS DEL TREBALL	2
2. ÀMBIT DEL TREBALL	2
3. TREBALLS A EXECUTAR.....	2
Tasca 1. Caracterització i anàlisi química de sediments	2
Tasca 1.1. Anàlisi de nutrients i de contaminants diana (M1–M5) de les mostres de sediment preses a la primera campanya	3
Tasca 1.2. Anàlisi no dirigida (<i>non target</i>) mitjançant tècniques d'espectrometria de masses d'alta resolució Anàlisi de mostres de sediment preses en la segona campanya (M1-M10)	7
Tasca 1.3. Anàlisi de nous contaminants identificats (M11-M15) en les mostres de sediment preses en la segona campanya	8
Tasca 2. Anàlisi de peixos i invertebrats	8
Tasca 2.1. Presa de mostra (M1-M3)	9
Tasca 2.2. Anàlisi de contaminants bioacumulats en peixos (M4-M15)	10
Tasca 2.3. Estudi de biomarcadors en peixos (M4-M15)	13
Tasca 2.4. Estudi de biomarcadors en invertebrats (M4-M15)	14
Tasca 3. Estudis ecotoxicològics ex-situ amb mostres del meandre (M1-M15)	14
4. REGISTRE I PRESENTACIÓ DELS RESULTATS	15
5. REUNIONS DE PREPARACIÓ I SEGUIMENT DELS TREBALLS	16
6. TERMINI D'EXECUCIÓ DELS TREBALLS	16
7. PRESSUPOST DELS TREBALLS	17





1. OBJECTIUS DEL TREBALL

El meandre de Flix constitueix una massa d'aigua (ES091MSPF459 – Riu Ebre des de la presa de Flix fins al desguàs de la central hidroelèctrica de Flix, codi ACA E1080) que no assolix els objectius de bon estat que fixa la directiva marc de l'aigua. A 2020, el seu estat ecològic és mediocre i el seu estat químic és bo (dades CHE).

El 9 de febrer de 2023, la Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental de la Secretaría de Estado de Medio Ambiente va signar una Resolució concedint a la Generalitat de Catalunya una subvenció per a la restauració, millora ambiental i de l'estat de la massa d'aigua del meandre de Flix. Una de les feines encomanades és la caracterització dels sediments acumulats al meandre, la caracterització de la fauna ictíola i l'anàlisi ecotoxicològic de l'aigua.

És objecte d'aquest treball donar resposta a aquests requeriments. Concretament:

- Analitzar la matèria orgànica, els metalls i els compostos organoclorats de mostres de sediment.
- Analitzar metalls i compostos organoclorats de mostres de peix.
- Analitzar biomarcadors de toxicitat i indicadors d'estrès en peixos i invertebrats.
- Realitzar assajos de toxicitat *in vitro* amb aigua de dins i fora del meandre, i amb sediments.

2. ÀMBIT DEL TREBALL

Els treballs s'emmarquen en el meandre de Flix, entre la presa de Flix i el desguàs de la central hidroelèctrica de Flix. També s'inclouen la zona immediatament aigües avall i trams aigües amunt per tenir punts de comparació i facilitar la interpretació de resultats.

3. TREBALLS A EXECUTAR

El contracte inclou els següents treballs, els quals es descriuen amb precisió més endavant:

- Tasca 1: Caracterització i anàlisi química de mostres de sediment que seran preses per l'ACA en dues campanyes de camp.
 - Tasca 1.1. Caracterització de nutrients i anàlisi de contaminants diana, inclosos orgànics i inorgànics, de les mostres de sediment preses a la primera campanya.
 - Tasca 1.2. Anàlisi no dirigit (*non target*) de mostres de sediment preses a la primera campanya.
 - Tasca 1.3. Monitoratge de nous contaminants identificats en base a les mostres de sediment preses a la primera campanya.
- Tasca 2: Anàlisi de compostos bioacumulats en biota i més concretament en peixos.
- Tasca 3: Estudi de biomarcadors en peixos i invertebrats
- Tasca 4: Assajos ecotoxicològics *ex situ* amb aigua superficial i sediments del meandre.

Tasca 1. Caracterització i anàlisi química de sediments





Tasca 1.1. Anàlisi de nutrients i de contaminants diana (M1–M9) de les mostres de sediment preses a la primera campanya

A l'inici del contracte, l'ACA proporcionarà 25 mostres de sediment (10 mostres de sediment superficial, sense tamisar, i 15 mostres provinents de 5 cores, sense tamisar) corresponents a la primera campanya de camp. L'empresa adjudicatària es responsabilitzarà de la recollida de les mostres allà on estiguin emmagatzemades (instal·lacions de l'ACA o, en tot cas, instal·lacions dintre de Catalunya), així com del seu transport i la conservació de les mostres en òptimes condicions tant durant el seu transport com a les instal·lacions on s'analitzaran.

Les anàlisis es faran entre el mes 1 i el mes 9 després de l'inici del contracte, de tal manera que l'empresa adjudicatària comunicarà els resultats a l'ACA en un període de temps inferior a nou mesos després d'haver rebut les mostres, utilitzant el canal i el format que s'hagi acordat.

Per cadascuna de les 25 mostres de sediment proporcionades per l'ACA es farà:

1) Anàlisi del nutrients. En detall els paràmetres que s'analitzaran seran:

- Fòsfor total (mg P/kg_{dw})
- Fosfat (mg PO₄/kg_{dw})
- Nitrogen total (mg N/kg_{dw})
- Nitrogen total Kjeldhal (mg N/kg_{dw})
- Amoni (mg NH₄/kg_{dw})
- Carboni orgànic total (mg C/kg_{dw})
- Calci (mg Ca/kg_{dw})
- Ferro (mg Fe/kg_{dw})
- Manganès (mg Mn/kg_{dw})
- Potencial Redox (mV)
- % matèria seca
- % matèria orgànica

2) Anàlisi de contaminants diana. S'analitzarà la presència de microcontaminants orgànics i metalls seleccionats per cadascuna de les 25 mostres de sediment proporcionades per l'ACA: 10 mostres de sediment superficial i 15 provinents de 5 cores.

Els contaminants que caldrà analitzar quantitativament es detallen a la Taula 1 i Taula 2. La Taula 1 està composta per substàncies prioritàries i preferents dels annexos IV i V Reial Decret 817/2015 que, d'acord amb l'article 24 de l'esmentat Reial Decret, han de tenir-se en compte de manera especial en l'anàlisi de sediments degut a la seva propensió a acumular-s'hi. S'inclouen també substàncies afins (i.e. PBDE 209 i àcid perfluorooctanoic) i contaminants amb un llarg històric de dades a l'Agència (i.e. DDTs i aldrins).

La Taula 2 està composta per contaminants més polars, però que han estat detectats de manera habitual a la massa d'aigua.

Les anàlisis es duran a terme amb les següents especificitats:

- S'analitzaran en la fracció <63 µm, sempre que la composició granulomètrica de la mostra ho permeti o, en qualsevol cas, en la fracció <2 mm.





- Els resultats es reportaran en unitats de *pes sec* excepte en els casos de les dioxines, furans i PCBs anàlegs de les dioxines, que es reportaran en unitats d'equivalents tòxics de *pes sec*, d'acord amb els Factors d'Equivalència Tòxica establerts per l'Organització Mundial de la Salut (OMS, 2005).
- S'utilitzaran mètodes analítics que assegurin una incertesa d'anàlisi inferior o igual al 50 % ($k=2$), estimats en materials de referència o mostres fortificades a nivells de concentració ambientalment rellevants.
- Pels contaminants orgànics de la Taula 1, s'hauran d'utilitzar mètodes analítics que assegurin un límit de quantificació $\leq 10 \mu\text{g/kg}_{\text{dw}}$ en, com a mínim, 30 paràmetres. Les dioxines i furans (#35 a la Taula 1) i algunes substàncies perfluoroalquíliques (#42) es computen com un sol paràmetre. En tots els casos, preferentment, s'assoliran límits de quantificació iguals o millors als indicats a la Taula 1.
- Pels contaminants inorgànics de la Taula 1 ("metalls, metal·loides i organometàl·lics"), s'hauran d'utilitzar mètodes analítics que assegurin un límit de quantificació $\leq 500 \mu\text{g/kg}_{\text{dw}}$ en, com a mínim, 7 paràmetres. Preferentment, s'assoliran límits de quantificació iguals o millors als indicats a la Taula 1.
- Pels contaminants de la Taula 2, s'utilitzaran mètodes analítics que assegurin el límit de quantificació exigint en, com a mínim, 9 dels 13 paràmetres.

Taula 1. Contaminants prioritaris i preferents que cal analitzar en el sediment d'acord amb el RD 817/2015 i contaminants afins d'interès per l'ACA.

#	Família	Anàlit	LQ preferent ($\mu\text{g/kg}_{\text{dw}}$)
1	Hidrocarburs aromàtics policíclics	Antracè	1,0
2		Benzo[a]pirè	1,0
3		Benzo[b]fluorantè	1,0
4		Benzo[k]fluorantè	1,0
5		Benzo[g,h,i]perilè	1,0
6		Fluorantè	1,0
7		Indeno[1,2,3-cd]pirè	1,0
8		Crisè	5,0
9		Benzo(a)antracè	5,0
10		Dibenzo(a,h)antracè	5,0
11	Difenil èters bromats	PBDE 28	0,25
12		PBDE 47	0,25
13		PBDE 99	0,25
14		PBDE 100	0,25
15		PBDE 153	0,25
16		PBDE 154	0,25
17		PBDE 209	1,0
18	Plaguicides organoclorats	<i>p,p'</i> -DDD	0,1
19		<i>p,p'</i> -DDE	0,1
20		<i>p,p'</i> -DDT	0,1





#	Família	Anàlit	LQ preferent (µg/kg _{dw})
21		<i>o,p'</i> -DDT	0,1
22		<i>p,p'</i> -Dicofol	0,5
23		Heptaclor	0,5
24		Epòxids d'heptaclor	0,5
25		Hexaclorobenzè	0,25
26		α-hexaclorociclohexà	0,25
27		β-hexaclorociclohexà	0,25
28		γ-hexaclorociclohexà	0,25
29		Pentaclorobenzè	0,25
30		Quinoxifè	5,0
31		Aldrí	0,25
32		Dieldrí	0,25
33		Endrí	0,25
34		Isodrí	0,25
35	Dibenzo-<i>p</i>-dioxines policlorades	2,3,7,8-T4CDD	0,25 TEQ
		1,2,3,7,8-P5CDD	
		1,2,3,4,7,8- H6CDD	
		1,2,3,6,7,8-H6CDD	
		1,2,3,7,8,9-H6CDD	
		1,2,3,4,6,7,8-H7CDD	
		1,2,3,4,6,7,8,9-O8CDD	
	Dibenzofurans policlorats	2,3,7,8-T4CDF	
		1,2,3,7,8-P5CDF	
		2,3,4,7,8-P5CDF	
		1,2,3,4,7,8-H6CDF	
		1,2,3,6,7,8-H6CDF	
		1,2,3,7,8,9-H6CDF	
		2,3,4,6,7,8-H6CDF	
		1,2,3,4,6,7,8-H7CDF	
		1,2,3,4,7,8,9-H7CDF	
		1,2,3,4,6,7,8,9-O8CDF	
	Policlorobifenils anàlegs a les dioxines	3,3',4,4'-T4CB (PCB 77)	
		3,3',4',5-T4CB (PCB 81)	
		2,3,3',4,4'-P5CB (PCB 105)	
		2,3,4,4',5-P5CB (PCB 114)	
		2,3',4,4',5-P5CB (PCB 118)	
		2,3',4,4',5'-P5CB (PCB 123)	
		3,3',4,4',5-P5CB (PCB 126)	





#	Família	Anàlit	LQ preferent (µg/kg _{dw})
		2,3,3',4,4',5-H6CB (PCB 156)	
		2,3,3',4,4',5'-H6CB (PCB 157)	
		2,3',4,4',5,5'-H6CB (PCB 167)	
		3,3',4,4',5,5'-H6CB (PCB 169)	
		2,3,3',4,4',5,5'-H7CB (PCB 189)	
36	Altres organoclorats	Cloroalcans (C10-C13)	10
37		Hexaclorobutadiè	0,25
38	Substàncies perfluoro-alquíliques	Àcid perfluorooctanosulfònic	0,5
39		Àcid perfluorooctanoic	0,5
40		Àcid perfluorononanoic	1
41		Àcid perfluorohexanosulfònic	1
42		Àcid perfluorobutanosulfònic	1
		Àcid perfluorobutanoic	
		Àcid perfluorodecanosulfònic	
		Àcid perfluorodecanoic	
		Àcid perfluorododecanosulfònic	
		Àcid perfluorododecanoic	
		Àcid perfluoroheptanosulfònic	
		Àcid perfluoroheptanoic	
		Àcid perfluorohexanoic	
		Àcid perfluorononanosulfònic	
		Àcid perfluoropentanosulfònic	
		Àcid perfluoropentanoic	
		Àcid perfluorotridecanosulfònic	
		Àcid perfluorotridecanoic	
		Àcid perfluoroundecanosulfònic	
		Àcid perfluoroundecanoic	
43	Altres	Di(2-etilhexil) ftalat	5,0
44		Hexabromociclododecà	1,0
45		Bisfenol A	10
46	Metalls, metal·loides i organometalls	Catió tributilestany	2,5
47		Arsènic	100
48		Cadmi	50
49		Coure	50
50		Crom	100
51		Crom VI	500
52		Mercuri	50
53		Níquel	100





#	Família	Anàlit	LQ preferent (µg/kg _{dw})
54		Plom	100
55		Seleni	50
56		Zinc	500

Taula 2. Compostos que cal analitzar en el sediment, detectats en la columna d'aigua a la massa d'aigua E1080.

#	Família	Anàlit	CAS	LQ exigit (µg/kg _{dw})	LQ preferit (µg/kg _{dw})
1	Plaguicides prioritaris	Atrazina	1912-24-9	10	6,11
2		Desetilatraxina	6190-65-4	5	1,66
3		Cipermetrina	52315-07-8	5	2,62
4		Isoproturon	34123-59-6	5	4,20
5	Plaguicides preferents	Metolaclor	51218-45-2	5	3,17
6		Terbutilazina	5915-41-3	5	2,62
7	Altres plaguicides	Bentazona	25057-89-0	100	100
8		Clortoluron	15545-48-9	5	4,06
9		Diflufenican	83164-33-4	5	0,61
10		Oxadiazon	19666-30-9	15	14,5
11		Pendimetalina	40487-42-1	75	74,8
12	Altres	Claritromicina	81103-11-9	100	100
13		4-octilfenols	140-66-9	50	38,7

Tasca 1.2. Anàlisi no dirigida (*non target*) mitjançant tècniques d'espectrometria de masses d'alta resolució Anàlisi de mostres de sediment preses en la segona campanya (M1-M9)

A l'inici del contracte, l'ACA també proporcionarà 6 mostres més de sediment (que seran addicionals a les 25 anteriors i sense tamisar): 5 d'aquestes mostres hauran sigut preses en diversos punts del meandre de Flix i la sisena mostra haurà estat presa aigües amunt i serà utilitzada com a mostra de referència.

L'empresa adjudicatària es responsabilitzarà de la recollida de les mostres allà on estiguin emmagatzemades (instal·lacions de l'ACA o, en tot cas, instal·lacions dintre de Catalunya), així com del seu transport i la conservació de les mostres en òptimes condicions tant durant el seu transport com en les instal·lacions on s'analitzaran.

Per cadascuna d'aquestes 6 mostres de sediment (5 + 1) es farà una anàlisi no dirigida (*non target*) amb l'objectiu d'identificar temptativament la presència de contaminants antropogènics orgànics o organometàl·lics que no es trobin recollits en les taules 1 i 2. No seran d'interès per aquesta tasca les biomolècules d'origen natural que puguin trobar-se en el sediment, fruit del normal funcionament de l'ecosistema.

L'anàlisi instrumental es durà a terme utilitzant tècniques de cromatografia de líquids acoblada a espectrometria de masses d'alta resolució (e.g. amb analitzadors





tipus Q-TOF o Q-Orbitrap) i, com a valor afegit, es podrà complementar mitjançant cromatografia de gasos acoblada a espectrometria de masses d'alta resolució (e.g. amb analitzadors tipus Orbitrap, TOF, o sector magnètic).

Les substàncies reportades s'hauran d'identificar amb un nivell de confiança de nivell 2 o, preferentment, de nivell 1 d'acord amb la classificació establerta a Schymanski et al. (2014)¹.

Les anàlisis es faran entre el mes 1 i mes 9 (M1-M9) després de l'inici del contracte, de tal manera que l'empresa adjudicatària comunicarà els resultats a l'ACA en un període de temps inferior a 9 mesos després d'haver rebut les mostres, utilitzant el canal i el format que s'hagi acordat.

Durant el mes 9 (M9) l'empresa adjudicatària entregarà un informe parcial dels resultats obtinguts en la tasca 1.1 i 1.2.

Tasca 1.3. Anàlisi de nous contaminants identificats (M11-M15) en les mostres de sediment preses en la segona campanya

A partir dels resultats de l'anàlisi no dirigida de les 6 mostres corresponents a la primera campanya (tasca 1.2.), es plantejarà realitzar una segona campanya de camp que l'ACA realitzarà durant el mes 10 (M10) on es prendran fins a un màxim de 20 noves mostres de sediment superficial, sense tamisar, amb l'objectiu de monitoritzar la presència dels compostos nous identificats. La localització exacta del punt de presa de les mostres serà decidida en base als resultats obtinguts en les anàlisis prèvies (tasca 1.2).

Aquesta darrera campanya estarà subjecta als resultats obtinguts en la tasca anterior (Tasca 1.2.) de tal manera que si no es considera necessari, les mostres no es prendran i per tant, aquestes darreres anàlisis no es duran a terme i no es pagaran.

Les mostres seran proporcionades per l'ACA. L'empresa adjudicatària es responsabilitzarà de la recollida de les mostres allà on estiguin emmagatzemades (instal·lacions de l'ACA o, en tot cas, instal·lacions dintre de Catalunya), així com del seu transport i la conservació de les mostres en òptimes condicions tant durant el seu transport com en les instal·lacions on s'analitzaran. Les anàlisis es realitzaran en la fracció <63 µm, sempre que la composició granulomètrica de la mostra ho permeti o, en qualsevol cas, en la fracció <2 mm. S'empraran, en la mesura del possible, mètodes d'extracció i d'anàlisi validats.

L'empresa adjudicatària comunicarà els resultats a l'ACA en un període de temps inferior a cinc mesos després d'haver rebut les mostres, utilitzant el canal i el format que s'hagi acordat.

Tasca 2. Anàlisi de peixos i invertebrats

L'objectiu és caracteritzar l'impacte de la contaminació química en la fauna del meandre, amb especial atenció a la fauna piscícola. Aquesta avaluació es durà a terme a través de dos tipus d'anàlisis:

1. Quantificació de metalls i microcontaminants bioacumulats en peixos
2. Estudi de les alteracions del metabolisme de peixos i invertebrats.

¹ Schymanski, E. L., Jeon, J., Gulde, R., Fenner, K., Ruff, M., Singer, H. P., & Hollender, J. (2014). Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: communicating confidence. *Environ. Sci. Technol.*, 48, 4, 2097–2098





Tasca 2.1. Presa de mostra (M1-M3)

Mostreig de peixos: El mostreig de peixos es realitzarà en coordinació amb un equip extern a aquesta contractació. El mostreig es farà entre el mes 1 i el mes 3 després de l'inici d'aquest contracte; tot i que dependrà de les condicions de cabal per la qual cosa es podrà retardar si així fos necessari sempre i quan les anàlisis es puguin dur a terme durant el període de vigència del contracte.

L'equip extern aportarà l'embarcació, l'equip de pesca, el personal de mostreig i la seva expertesa al terreny, tant pel que fa als hàbitats com a la població piscícola existent i s'encarregarà de la pesca dels peixos. L'empresa adjudicatària d'aquest contracte s'encarregarà de la manipulació dels peixos, la recollida de les mostres i el seu processat per a les tasques 2.2 – anàlisi de contaminants bioacumulats i 2.3 – anàlisi de biomarcadors.

El mostreig de peixos es durà a terme en quatre o cinc punts que estaran localitzats dins del propi meandre i tindrà per objectiu retratar la diversitat d'hàbitats del meandre i els diferents nivells d'exposició de les espècies que hi viuen. A banda, es mostrejarà un punt extra, que s'ubicarà aigües amunt del meandre i que servirà de referència per avaluar estadísticament la significança de les alteracions metabòliques observades dins del propi meandre. La localització exacta dels punts serà convinguda amb l'ACA en les reunions inicials i a partir dels informes previs que l'Agència disposa.

En cada punt es capturaran 4-5 peixos. Si això no fos possible, es capturaran 20 peixos pel total de punts establerts dintre del meandre. En el punt de referència situat aigües amunt, es capturaran 5 peixos. En tots els casos, s'identificarà el punt (coordenades UTM) on cada peix haurà estat pescat.

En els 25 peixos caldrà fer l'anàlisi de substàncies bioacumulades (Tasca 2.2), mentre que l'anàlisi de biomarcadors (Tasca 2.3) tan sols es farà en 20 d'aquests peixos (Taula 3).

L'espècie de peix a mostrejar serà preferentment la carpa (*Cyprinus carpio*), sempre i quan sigui viable la seva captura en nombre suficient. Si es considera oportú, de cara a una millor interpretació dels resultats, es pot seleccionar una altra espècie en base a literatura existent. L'empresa haurà d'incloure-ho a la seva oferta i justificar-ho.

Mostreig d'invertebrats: Pel mostreig d'invertebrats es plantegen dues opcions: o bé s'usa una espècie present al medi natural, o bé es fa un exercici de transplantament temporal i es fan servir els mateixos individus que per als estudis ecotoxicològics (Tasca 3). En tot cas, l'empresa adjudicatària s'encarregarà del seu mostreig, si es proposa usar un organisme propi del meandre de Flix, o bé d'efectuar els transplantaments corresponents si així s'ha proposat a l'oferta (Tasca 2.4 i a la Tasca 3). S'analitzaran tants invertebrats com sigui necessari per donar una robustesa estadística als resultats. Tal com es descriurà a la tasca 2.4., per als invertebrats caldrà analitzar biomarcadors.

Taula 3. Esquema de la presa de mostra i anàlisis posteriors en peixos i invertebrats.

	Tasca 2.2 Anàlisi bioacumulats	Tasca 2.3 Biomarcadors	Tasca 2.4 Biomarcadors
Punt de referència	5 peixos	5 peixos	Invertebrats
Meandre de Flix	20 peixos	15 peixos	Invertebrats



Tasca 2.2. Anàlisi de contaminants bioacumulats en peixos (M4-M15)

Per cadascun dels 25 peixos s'analitzarà la presència de microcontaminants orgànics i metalls, d'acord amb la planificació de la Taula 3. L'empresa adjudicatària s'encarregarà del pre-processat i processat de les mostres, de transportar-les en òptimes condicions de conservació i d'analitzar la concentració de les substàncies recollides a la Taula 4, amb les següents especificitats:

- L'anàlisi es durà a terme per al "peix total".
- Els resultats es reportaran en unitats de *pes humit* excepte en els casos de les dioxines, furans i PCBs anàlegs de les dioxines, que es reportaran en unitats d'equivalents tòxics d'acord amb els Factors d'Equivalència Tòxica establerts per l'Organització Mundial de la Salut (OMS, 2005).
- S'utilitzaran mètodes analítics que assegurin una incertesa d'anàlisi inferior o igual al 50 % ($k=2$), estimats en materials de referència o mostres fortificades a nivells de concentració ambientalment rellevants.
- S'hauran d'utilitzar mètodes analítics que assegurin el límit de quantificació requerit en 27 dels paràmetres fixats a la Taula 4. En la mesura del possible, els mètodes assoliran el LQ preferent.

Taula 4. Contaminants a analitzar en peixos

#	Família	Anàlit	LQ requerit ($\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{ww}}$)	LQ preferent ($\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{ww}}$)
1	Hidrocarburs aromàtics policíclics	Antracè	0,3	0,09
2		Fluorantè	9	2
3		Benzo(a)pirè	1,5	0,2
4		Benzo(b)fluorantè	1,5	0,2
5		Benzo(k)fluorantè	1,5	0,2
6		Benzo(ghi)perilè	1,5	0,2
7		Indeno(123-cd)pirè	1,5	0,2
8		Crisè	1,5	0,2
9		Benzo(a)antracè	1,5	0,2
10		Dibenzo(a,h)antracè	1,5	0,2
11	Difenil èters bromats	PBDE 28	$2,55 \times 10^{-3}$	$8,4 \times 10^{-4}$
12		PBDE 47	$2,55 \times 10^{-3}$	$8,4 \times 10^{-4}$
13		PBDE 99	$2,55 \times 10^{-3}$	$8,4 \times 10^{-4}$
14		PBDE 100	$2,55 \times 10^{-3}$	$8,4 \times 10^{-4}$
15		PBDE 153	$2,55 \times 10^{-3}$	$8,4 \times 10^{-4}$
16		PBDE 154	$2,55 \times 10^{-3}$	$8,4 \times 10^{-4}$
17		PBDE 209	0,01	0,03



18	Plaguicides organoclorats	<u>p,p'-DDD</u>	—	0,3
19		<u>p,p'-DDE</u>	—	0,3
20		<u>p,p'-DDT</u>	—	0,3
21		<u>o,p'-DDT</u>	—	0,3
22		<u>p,p'-Dicofol</u>	9,9	1,635
23		<u>Heptaclor</u>	2×10^{-3}	2×10^{-3}
24		<u>Epòxids d'heptaclor</u>	2×10^{-3}	2×10^{-3}
25		<u>Hexaclorobenzè</u>	3	3
26		<u>α-hexaclorociclohexà</u>	1	0,3
27		<u>β-hexaclorociclohexà</u>	1	0,3
28		<u>γ-hexaclorociclohexà</u>	1	0,3
29		<u>Pentaclorobenzè</u>	1	0,3
30		<u>Quinoxifè</u>	30	9
31		<u>Aldrí</u>	—	0,5
32		<u>Dieldrí</u>	—	0,5
33		<u>Endrí</u>	—	0,5
34		<u>Isodrí</u>	—	0,5
35	Dibenzo-<i>p</i>- dioxines policlorades	2,3,7,8-T4CDD	$1,95 \times 10^{-3}$	$1,05 \times 10^{-5}$
		1,2,3,7,8-P5CDD		
		1,2,3,4,7,8- H6CDD		
		1,2,3,6,7,8-H6CDD		
		1,2,3,7,8,9-H6CDD		
		1,2,3,4,6,7,8-H7CDD		
		1,2,3,4,6,7,8,9-O8CDD		
	Dibenzofurans policlorats	2,3,7,8-T4CDF		
		1,2,3,7,8-P5CDF		
		2,3,4,7,8-P5CDF		
		1,2,3,4,7,8-H6CDF		
		1,2,3,6,7,8-H6CDF		
		1,2,3,7,8,9-H6CDF		
		2,3,4,6,7,8-H6CDF		
		1,2,3,4,6,7,8-H7CDF		
		1,2,3,4,7,8,9-H7CDF		
		1,2,3,4,6,7,8,9-O8CDF		
	Policlorobifenils anàlegs	3,3',4,4'-T4CB (PCB 77)		
		3,3',4',5'-T4CB (PCB 81)		



	a les dioxines	2,3,3',4,4'-P5CB (PCB 105)		
		2,3,4,4',5-P5CB (PCB 114)		
		2,3',4,4',5-P5CB (PCB 118)		
		2,3',4,4',5'-P5CB (PCB 123)		
		3,3',4,4',5-P5CB (PCB 126)		
		2,3,3',4,4',5-H6CB (PCB 156)		
		2,3,3',4,4',5'-H6CB (PCB 157)		
		2,3',4,4',5,5'-H6CB (PCB 167)		
		3,3',4,4',5,5'-H6CB (PCB 169)		
		2,3,3',4,4',5,5'-H7CB (PCB 189)		
36	Altres organoclorats	Cloroalcans (C10-C13)	100	30
37		Hexaclorobutadiè	16,5	6,3
38	Substàncies perfluoro-alquíliques	Àcid perfluorooctanosulfònic	3,25	1,0
39		Àcid perfluorooctanoic	—	1,5
40		Àcid perfluorononanoic	—	1,5
41		Àcid perfluorohexanosulfònic	—	1,5
42		Àcid perfluorobutanosulfònic	—	1,5
		Àcid perfluorobutanoic		
		Àcid perfluorodecanosulfònic		
		Àcid perfluorodecanoic		
		Àcid perfluorododecanosulfònic		
		Àcid perfluorododecanoic		
		Àcid perfluoroheptanosulfònic		
		Àcid perfluoroheptanoic		
		Àcid perfluorohexanoic		
		Àcid perfluorononanosulfònic		
		Àcid perfluoropentanosulfònic		
		Àcid perfluoropentanoic		
Àcid perfluorotridencanosulfònic				
Àcid perfluorotridecanoic				
Àcid perfluoroundecanosulfònic				
Àcid perfluoroundecanoic				
43	Altres	Di(2-etilhexil) ftalat	15	4,5
44		Hexabromociclododecà	50,1	1,05
45		Bisfenol A	1,5	1,5



46	Metalls, metal·loides i organometalls	Catió <u>tributilestany</u>	15	4,5
47		Arsènic	0,5	0,1
48		Cadmi	0,5	0,1
49		Coure	0,5	0,1
50		Crom	0,5	0,1
51		Crom VI	—	0,1
52		Mercuri	3	3
53		Níquel	—	0,1
54		Plom	0,5	0,1
55		Seleni	0,5	0,1
56		Zinc	0,5	0,1

Tasca 2.3. Estudi de biomarcadors en peixos (M4-M15)

Seguint tant les principals recomanacions internacionals de qualitat ecològica, destacant entre elles la Directiva Marc del Aigua (2000/60/EC), es considera que, a més del control de la qualitat biològica, cal analitzar l'estat de salut dels organismes del riu a través de biomarcadors d'alteració fisiològica i/o metabòlica. En aquest sentit, l'estudi de biomarcadors permet detectar efectes subletals de la contaminació.

Així, els treballs inclouran l'anàlisi de biomarcadors en un total de 20 peixos, preferentment carpes comunes (*Cyprinus carpio*) o, tal com s'ha indicat anteriorment, una altra espècie seleccionada en cas que s'hagi considerat oportú (de cara a una millor interpretació dels resultats), i sempre i quan l'empresa ho hagi inclòs a la seva oferta i justificat degudament: 15 peixos pescats al meandre de Flix i 5 peixos pescats al punt de referència fora del meandre de Flix. Per aquestes anàlisis s'utilitzaran els mateixos individus usats en l'anàlisi de compostos bioacumulats (Tasca 2.2.).

Tal com s'ha esmentat en la tasca 2.1., la pesca dels individus la realitzarà personal extern a aquesta contractació, amb equips propis. L'empresa adjudicatària haurà d'estar present als treballs de camp i coordinar-se amb l'equip de camp, i s'encarregarà de la manipulació i el processat dels individus, la recol·lecció de les mostres necessàries i de l'anàlisi de biomarcadors i paràmetres fisiològics que donin resposta a l'estrès i l'estat immunològic, l'estrès oxidatiu, l'estrès metabòlic i el dany de l'ADN, tals com:

- Pes.
- Llargada.
- Índex hepatosomàtic.
- Índex gonadosomàtic.
- Anàlisi del perfil leucocitari (neutròfils, cèl·lules LG-PAS i monòcits) en sang perifèrica.
- Anàlisi d'integritat de DNA.
- Activitat de l'ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) en teixit hepàtic.
- Activitat de l'7-benzyloxy-4-trifluoromethyl-coumarin O-debenzyloxylase (BFCOD) en teixit hepàtic.
- Activitat de P450-aromatasa en la fracció microsomal ovàrica.





Agència Catalana de l'Aigua

L'empresa licitant podrà incloure en la seva proposta altres biomarcadors o paràmetres fisiològics que serveixin com a alternativa als aquí proposats o com a treballs addicionals, sempre i quan es justifiqui la seva conveniència en el cas d'estudi i sempre que siguin comunament emprats en la literatura científica i, per tant, que ofereixin resultats fàcilment comparables.

Així mateix, s'observarà la superfície corporal del peix per detectar la presència de paràsits, ferides o d'altres lesions que serviran per a fer una avaluació clínica del seu estat de salut.

Tasca 2.4. Estudi de biomarcadors en invertebrats (M4-M15)

Amb l'objectiu d'obtenir una visió més àmplia de l'estat ecològic del meandre de Flix, s'avaluaran les alteracions metabòliques en organismes d'altres nivells tròfics, concretament en invertebrats. Es contemplen dues possibilitats: 1) analitzar biomarcadors d'alguna espècie d'invertebrat present a la zona d'estudi (meandre de Flix i punt de referència); 2) incubar al medi natural els organismes que s'hagin usat per als estudis ecotoxicològics (veure Tasca 3). En cas que s'opti per un organisme present a la zona d'estudi, es suggereix l'ús d'invertebrats de la família *Atyidae*, ja que té una presència rellevant al meandre de Flix. Si s'opta per organismes que puguin ésser trasplantats temporalment i exposats a les condicions del meandre (per exemple, *Daphnia magna* amb què s'hagin realitzat els assajos d'ecotoxicitat corresponents a la Tasca 3) caldrà assegurar que no poden escapar cap al medi natural.

Els treballs inclouran l'avaluació de biomarcadors tals com:

- Activitat del glutatíó-S-transferasa.
- Activitat del superòxid dismutasa.
- Activitat de la catalasa.
- Activitat del lactat deshidrogenasa.
- Peroxidació de lípids

L'empresa licitant haurà d'especificar quins organismes indicadors i quins biomarcadors es proposen. L'empresa podrà incloure en la seva proposta altres organismes indicadors i/o altres biomarcadors que serveixin com a alternativa als aquí proposats o com a treballs addicionals. En qualsevol cas, caldrà justificar la seva conveniència en l'estudi particular, tenint en compte que siguin comunament emprats en la literatura científica i, per tant, que ofereixin resultats fàcilment comparables.

Tasca 3. Estudis ecotoxicològics ex-situ amb mostres del meandre (M1-M15)

Es duran a terme estudis ecotoxicològics *ex situ* amb mostres preses en l'àmbit del meandre de Flix. En concret, es prendrà com a mínim una mostra d'aigua superficial i una mostra de sediment (amb les rèpliques que siguin necessàries per donar una robustesa estadística als resultats) en tres zones de mostreig, una situada dins del propi meandre de Flix, l'altra situada aigües amunt, i l'altra situada aigües avall. Les coordenades dels punts seran acordades amb l'ACA a l'inici dels treballs. El punt situat aigües amunt s'emprarà com a punt de referència.

L'empresa adjudicatària s'encarregarà de la presa de l'aigua superficial i del sediment superficial en els punts acordats, del seu transport en òptimes condicions de conservació i de la realització dels testos d'eco-toxicitat.

Els testos seran rellevants per a organismes de nivells tròfics diferents i àmbits diferents. Així, es proposen els següents testos:





- Test d'immobilització de *Daphnia magna* (OECD Test No. 202), o un test de toxicitat aguda equivalent en un altre organisme invertebrat.
- Test reproductiu en *Daphnia magna* (OECD Test No. 211), o un test de toxicitat equivalent en un altre organisme invertebrat.
- Test de toxicitat crònica en *Hyalella azteca* (EPA-TEST 100.4), o un test de toxicitat equivalent realitzat explícitament en sediments.
- Test d'inhibició del creixement de la microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* (OECD Test No. 201), o un test de toxicitat equivalent amb algues.

L'empresa licitant podrà incloure en la seva proposta altres testos que serveixin com a alternativa als testos proposats o com a treballs addicionals, sempre i quan es duguin a terme d'acord amb protocols estandarditzats i que siguin comunament emprats en la literatura científica (i, conseqüentment, que ofereixin resultats fàcilment comparables amb altres casos d'estudi), així com assajos de transplantament d'invertebrats. Igualment, l'empresa licitant haurà de detallar en la seva proposta quins *endpoints* subletals emprarà en cadascun dels testos proposats per avaluar la toxicitat de les mostres.

Durant el mes 10 (M10) l'empresa adjudicatària entregarà un informe parcial dels resultats obtinguts en la tasca 2.1, 2.2, 2.3 i 3.

Tasca 4. Redacció de l'informe final (M16)

A la fi del mes 16, l'empresa adjudicatària lliurarà un informe final del contracte amb els resultats i interpretació de tots els treballs realitzats i que donarà una visió global de l'estat del meandre de Flix.

4. REGISTRE I PRESENTACIÓ DELS RESULTATS

A l'inici dels treballs, després de la primera reunió inicial amb l'ACA, l'empresa presentarà una proposta de cronograma ajustada a les dates reals, i en coordinació amb els equips de treballs de camp.

La presentació i lliurament de resultats s'efectuarà seguint les freqüències i formats que s'estableixen en el cronograma adjunt.

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18
Tasca 1.1																		
Tasca 1.2																		
Tasca 1.3																		
Tasca 2.1																		
Tasca 2.2																		
Tasca 2.3																		
Tasca 2.4																		
Tasca 3																		
Tasca 4																		
Revisió ACA																		

- Els resultats de la tasca 1.1 (anàlisi nutrients) s'entregaran a la fi del mes 9 de contracte.
- Els resultats de la tasca 1.1 (contaminants diana) s'entregaran a la fi del mes 9 de contracte.
- Els resultats de la tasca 1.2 (anàlisi no dirigida) s'entregaran a la fi del mes 9.





- La tasca 1.3 (nous contaminants), en cas de ser necessària, s'iniciarà a la fi del mes 10 i els resultats s'entregaran a la fi del mes 16.
- La tasca 2.1 finalitzarà al mes 3.
- Els resultats de les tasques 2.2 (bioacumulació), 2.3 (biomarcadors peixos) i 2.4 (biomarcadors invertebrats) s'entregaran a la fi del mes 15.
- Els resultats de la tasca 3 (assajos ecotoxicològics) s'entregaran, a molt tardar, a la fi del mes 15.
- L'informe final (tasca 4) conjunt de totes les tasques s'entregarà a la fi del mes 16.
- L'ACA es reserva els dos últims mesos per la revisió de resultats i informes, i la presentació dels treballs a tercers, si és el cas.

Les dades dels treballs de gabinet es presentaran en forma de taules.xlsx, amb el format i les unitats que s'acordin en reunions prèvies. Les dades i els resultats aniran sempre acompanyats dels corresponents informes i documents explicatius, i tots ells es presentaran sempre en format digital. Els documents que es preparin s'hauran de redactar en català.

En el cas específic de la tasca 1.2 (anàlisi no dirigida), els resultats consistiran en una llista de pics (*peaklist*) curada, en la qual constin: (i) els identificadors únics de la substància temptativament identificada, incloent nom(s), l'InChIKey o l'InChI, i el n^oCAS, si existeix; (ii) el nivell de confiança de la identificació (1 o 2); (iii) la m/z experimental, per cada mostra on s'hagi detectat la substància; (iv) l'error de m/z (diferència entre m/z experimental i teòrica) per cada mostra on s'hagi detectat la substància; (v) les fórmules temptatives de l'ió i de la substància; (vi) l'ajust de l'espectre experimental a l'espectre de la llibreria, expressat en % o en el sistema de puntuació del software utilitzat, per a cada mostra on s'hagi detectat la substància; (vii) la llibreria utilitzada per a la identificació; (viii) la semiquantificació de la substància en cada mostra on s'hagi detectat, entenent "semiquantificació" com la resposta instrumental del contaminat (àrea del pic en qüestió) relativa a la resposta instrumental d'un patró fortificat a concentració coneguda. Adjunta a aquestes dades, l'empresa adjudicatària entregarà una còpia de les dades crues (cromatogrames i espectre de masses de cada mostra), que l'ACA arxivarà amb l'objectiu de poder realitzar cerques retrospectives de contaminants desconeguts en un futur.

5. REUNIONS DE PREPARACIÓ I SEGUIMENT DELS TREBALLS

S'establiran reunions de treball periòdiques entre l'empresa adjudicatària del contracte (amb els responsables tècnics de l'execució dels treballs) i l'equip tècnic que designi l'ACA.

En les reunions s'establiran les pautes pel correcte desenvolupament dels treballs descrits al PPT i per al seguiment de la qualitat dels resultats obtinguts. L'empresa adjudicatària haurà de redactar una acta de les reunions.

S'estableix un mínim de tres reunions en el transcurs de l'estudi, coincidents amb el final de l'anàlisi dirigida de sediments (la Tasca 1.1), l'anàlisi no dirigida (Tasca 1.2) i l'anàlisi de peixos i invertebrats (Tasca 2), a més de la reunió tècnica de preparació dels treballs a l'inici del contracte i una reunió final per la presentació de les conclusions. S'inclou també al menys una sessió de presentació dels treballs davant d'altres persones interessades (personal de l'ACA, personal de la CHE, personal local o gestors externs).

6. TERMINI D'EXECUCIÓ DELS TREBALLS

El termini d'execució del contracte s'iniciarà des de la seva firma i finalitzarà 18 mesos després.

Les tasques es programen per ser realitzades en 16 mesos, però es reserven dos mesos més





Agència Catalana de l'Aigua

per imprevistos i correccions que pugui realitzar l'ACA.

7. PRESSUPOST DELS TREBALLS

El pressupost de licitació per a la realització dels treballs és de **198.050,72 €** més IVA.

Els pagaments restaran subjectes a la validació dels treballs. Es pagarà per mostra analitzada i per resultat validat.

Per a les anàlisis no dirigides (tasca 1.2), el pressupost inclou una suma de 276,64 € (+IVA) per cada compost la identitat del qual hagi pogut ser confirmada injectant un patró analític, fins a un màxim dels 30 compostos.

Els treballs es facturaran per blocs a mida que les tasques es vagin acabant, coincidint amb el lliurament dels informes parcials i l'informe final.

Com que el nombre de mostres a realitzar pot ser diferent a les mostres pressupostades en aquest plec (on s'ha fet un pressupost de màxims), la certificació d'aquesta part tindrà en compte el nombre de mostres efectivament analitzades.

