

**Metales Pesados en  
Especies  
Cinegéticas de Caza  
Mayor: estudio  
epidemiológico y  
riesgo alimentario**

Jesús Salvador Sevillano  
Morales

TITULO: *Metales Pesados en Especies Cinegéticas de Caza Mayor: estudio epidemiológico y riesgo alimentario*

AUTOR: *Jesús Salvador Sevillano Morales*

---

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2013  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

[www.uco.es/publicaciones](http://www.uco.es/publicaciones)  
[publicaciones@uco.es](mailto:publicaciones@uco.es)

---



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE VETERINARIA



TESIS DOCTORAL

**Metales pesados en especies cinegéticas de caza  
mayor: estudio epidemiológico y riesgo  
alimentario.**

Jesús Salvador Sevillano Morales

Córdoba, julio de 2013

Autor: Jesús Salvador Sevillano Morales

Título: *Metales pesados en especies cinegéticas de caza mayor: estudio epidemiológico y riesgo alimentario.*

ISBN:

Esta investigación ha sido financiada por el Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentación y de la Producción Ecológica (IFAPA) de la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa de la Junta de Andalucía.

**METALES PESADOS EN ESPECIES  
CINEGÉTICAS DE CAZA MAYOR:  
ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO Y RIESGO  
ALIMENTARIO**

Tesis que presenta el licenciado Jesús Salvador Sevillano Morales para optar al título de Doctor en Veterinaria.







**TÍTULO DE LA TESIS:** Metales pesados en especies cinegéticas de caza mayor: estudio epidemiológico y riesgo alimentario.

**DOCTORANDO/A:** Jesús Salvador Sevillano Morales.

**INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS**

La tesis doctoral titulada *Metales pesados en especies cinegéticas de caza mayor: estudio epidemiológico y riesgo alimentario*, y que ha realizado el doctorando D. Jesús Salvador Sevillano Morales, dio comienzo en el curso académico 2008/2009. Este trabajo se ha enmarcado dentro de un proyecto de concertación I+D+I (C03-84) financiado por el Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica, de la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa de la Junta de Andalucía, y se ha desarrollado en los Departamentos de Bromatología y Tecnología de los Alimentos y de Sanidad Animal de la Universidad de Córdoba.

Los objetivos planteados en el trabajo fueron: (1) Cuantificar los niveles de plomo, cadmio, cobre, zinc, y hierro, en músculo y diferentes órganos de ciervo y jabalí mediante protocolos analíticos de espectrofotometría de absorción atómica; (2) Estimar tendencias de consumo de carne de ciervo y de jabalí en la población de *cazadores* y *no cazadores*; (3) Analizar el riesgo alimentario por ingesta de metales pesados derivada del consumo de carne de ciervo y jabalí, determinando la evaluación de la exposición y la caracterización del riesgo y (4) Determinar la influencia de posibles factores de riesgo respecto a la acumulación de metales pesados en ciervo y jabalí.

Durante el desarrollo de esta investigación el doctorando ha completado su formación como investigador en las siguientes áreas:

1. Desarrollo y optimización de protocolos analíticos para la determinación de metales pesados en muestras biológicas mediante EAA.



2. Aplicación del análisis del riesgo alimentario como herramienta de gestión de la seguridad alimentaria.
3. Y aplicación de metodologías específicas de epidemiología veterinaria en el estudio de contaminantes en fauna silvestre.

Por otra parte ha completado su formación asistiendo a numerosos congresos, jornadas y encuentros científicos, algunos de ellos de carácter nacional e internacional.

Como resultado de esta tesis, y hasta el momento, se ha producido la siguiente producción científica y divulgativa.

- Se ha publicado un trabajo en *Food Additives contaminants, parte A*, con un índice de impacto 1,765.
- Se han presentado dieciséis comunicaciones en diferentes congresos, jornadas y encuentros científicos.
- Y se ha contribuido a la divulgación científica a través de dos publicaciones en revistas especializadas, en el sector cinético, y la participación en dos programas de televisión (Caza y pesca, de Canal +, TV Municipal, programa Universidad).

Por todo ello, y en cumplimiento de las disposiciones legales vigentes se expide el presente informe y se autoriza la presentación y defensa de la citada tesis doctoral elaborada por el Ldo. en veterinaria D. Jesús Salvador Sevillano Morales para la obtención del título de doctor.

Córdoba, 31 de julio de 2013


Firma del/de los director/es



Fdo. Manuel A. Amaro López



Fdo. Antonio Arenas Casas



Fdo. Rafael Moreno Rojas

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mis directores de tesis. Al Pr. Dr. D. Manuel Ángel Amaro López por su confianza, dedicación, exigencia y apoyo en todos los momentos durante tantos años. Al Pr. Dr. D. Antonio Arenas Casas por creer en este proyecto desde un principio. Y al Pr. Dr. D. Rafael Moreno Rojas por el privilegio de su tiempo y orientación. A Fernando Pérez, por su tiempo, dedicación, paciencia y apoyo técnico.

A todo el Personal del Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos y del Departamento de Sanidad Animal.

Mi agradecimiento también a la Delegación Provincial de Medio Ambiente de Córdoba, especialmente a Rafael Arenas, Jefe de Servicio, así como a los técnicos por su colaboración.

Igualmente mi gratitud hacia los cazadores y sociedades de cazadores, a propietarios de fincas, orgánicos y guardas de caza, así como a las empresas de tratamiento de carne de caza, especialmente a EL CANITO Productos de la Caza y del Cerdo Ibérico, sin cuya colaboración, no hubiera sido posible el desarrollo de este trabajo de investigación.

Gracias a todos por vuestra ayuda y dedicación. Sin vosotros esta tesis no podría siquiera haberla empezado.



A mis padres, a María José y a mi hijo, Jesús, al que más quiero en  
el mundo mundial



## ABREVIATURAS

AAFCO	Association of American Feed Control Officials
AESAN	Autoridad Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición
AEWA	African-Eurasian Migratory Waterbird Agreement
ALAD	Enzima Delta ácido aminolevulínico dehidratasa
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
CAC	Comisión del Codex Alimentarius
CRM	Certified Reference Materials
DDTs	Dicloro Difenil Tricloroetano
EAA	Espectrofotometría de Absorción Atómica
EFSA	European Food Safety Authority
ENIDE	Encuesta Nacional de Ingesta Dietética Española
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
GATT	General Agreement on Tariffs and Trade.
IDT	Ingesta Diaria Tolerable
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
LQ	Límite de Cuantificación.
LD	Límite de Detección.
MAPA	Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
N	Normalidad
ND	No Determinado
pH	Logaritmo de la concentración de hidrogeniones.
PI	Plug Estimator
PMADI	Provisional Maxime Acceptable Daily Intake
PMTDI	Provisional Maxime Tolerable Daily Intake.
PNRI	Plan Nacional de Investigación de Residuos
PTWI	Provisional Tolerable Week Intake.
TWI	Tolerable Week Intake.
RAMSAR	Convención sobre Humedales de importancia Internacional

SCAN	Scientific Committee on Animal Nutrition
TWI	Tolerable Week Intake.
USFWS	United States Fish and Wildlife Service.
UE	Unión Europea
WHO/OMS	World Health Organization/Organización Mundial de la Salud
w/w	wet weight

## INDICE

1	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
2	<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	9
2.1	Metales pesados.....	11
2.1.1	Metales pesados tóxicos .....	13
2.1.2	Oligoelementos.....	26
2.2	Las especies cinegéticas como bioindicadoras de contaminación ambiental.....	32
2.3	Factores determinantes para la acumulación de metales pesados por las especies cinegéticas de caza mayor. ....	36
2.3.1	Factores endógenos.....	37
2.3.2	Factores exógenos.....	41
2.3.3	Otros factores .....	47
2.4	Análisis de Riesgos .....	50
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	57
4	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	61
4.1	Muestreo .....	61



4.1.1	Tamaño Muestral .....	61
4.1.2	Descripción de zonas de muestreo .....	61
4.1.3	Población de estudio.....	64
4.1.4	Muestras biológicas .....	66
4.1.5	Determinación de la edad.....	67
4.1.6	Estacionalidad.....	69
4.2	Aparatos y Reactivos.....	69
4.2.1	Aparatos.....	69
4.2.2	Reactivos.....	70
4.3	Pretratamiento de la muestra.....	70
4.4	Determinaciones analíticas.....	73
4.4.1	Espectrofotometría de absorción atómica con llama .....	73
4.4.2	Espectrofotometría de absorción atómica con cámara de grafito.....	74
4.5	Validación de los métodos analíticos .....	78
4.5.1	Exactitud .....	78

4.5.2	Material de Referencia Certificado.....	79
4.5.3	Adiciones estándar.....	80
4.5.4	Precisión.....	81
4.5.5	Linealidad/ función respuesta .....	82
4.5.6	Sensibilidad .....	86
4.5.7	Límites de detección y cuantificación.....	87
4.6	Determinación de los hábitos de consumo de carne de caza .....	88
4.7	Metodología de la Evaluación de riesgos .....	89
4.7.1	Identificación del peligro .....	89
4.7.2	Caracterización del peligro.....	89
4.7.3	Evaluación de la exposición .....	90
4.7.4	Caracterización del riesgo.....	93
4.8	Estudio epidemiológico .....	94
4.9	Análisis estadístico.....	95
5	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>101</b>
5.1	Análisis estadístico de metales. ....	101

5.1.1	Normalidad de las variables: pruebas no paramétricas	101
5.1.2	Estudio de componentes de la varianza	101
5.1.3	Análisis de la varianza: Modelo Lineal General	103
5.1.4	Análisis estadístico multivariante: correlaciones, estudio cluster y componentes principales	143
5.2	Consumo de carne de caza	161
5.2.1	Consumo de carne de ciervo y jabalí	163
5.2.2	Consumo de productos cárnicos derivados de la caza	169
5.2.3	Temporalidad del consumo de carne de caza	172
5.3	Evaluación de Riesgo	177
5.3.1	Identificación del peligro	177
5.3.2	Caracterización del peligro	179
5.3.3	Evaluación de la exposición	182
5.3.4	Caracterización del riesgo	196
5.4	Estudio epidemiológico	237

5.4.1	Codificación de variables y análisis univariante. .....	238
5.4.2	Análisis bivariante.....	242
5.4.3	Análisis multivariante .....	248
6	<b>CONCLUSIONES</b> .....	265
7	<b>RESUMEN</b> .....	271
8	<b>ABSTRACT</b> .....	276
9	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	293



## INTRODUCCIÓN





## 1 INTRODUCCIÓN

La caza es una actividad ancestral que se remonta a los orígenes mismos de la especie humana y que ha ido evolucionando hasta convertirse en la actualidad en una actividad ocio-deportiva con una gran proyección social, económica, medioambiental y sanitaria.

España es un país con gran tradición cinegética, con aproximadamente un millón doscientos mil cazadores y ocho millones de piezas abatidas de las principales especies de caza, cada año (MAPA 2005), siendo Andalucía una de las regiones más importantes de caza de la península Ibérica, ya que representa en torno al 25% de la actividad cinegética total. En esta comunidad destaca Córdoba, como una de las provincias cinegéticas más significativas, con un millón doscientas mil hectáreas de superficie acotada, aproximadamente 1527 cotos privados de caza, de los cuales 225 son de caza mayor, una media de doscientas cuarenta mil piezas abatidas anualmente y casi un millón de kilogramos de carne de caza producida de estas especies (Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, 2005, 2006, 2007).

Las principales especies de caza mayor son el ciervo (*Cervus elaphus*) y el jabalí (*Sus scrofa*), y de caza menor, el conejo de monte (*Oryctolagus cuniculus*) y la perdiz roja (*Alectoris rufa*). Estas especies son claves para el ecosistema mediterráneo ya que suponen un



eslabón fundamental en la cadena trófica para aves de presa y carnívoros, algunas de ellas son especies protegidas o incluso en peligro de extinción. Pero también son la base de desarrollo económico y social, pues suponen una fuente importante de ingresos económicos y de creación de empleo en el medio rural, a través de la propia gestión cinegética, y el tratamiento y comercialización de la carne y otros productos de caza generados a partir de las piezas abatidas durante las cacerías (González y cols., 2004).

La carne de caza es considerada una delicatesen y tiene un elevado valor gastronómico y nutricional. A priori, la carne de caza debe estar libre de residuos (hormonas, medicamentos, etc.), al tratarse de animales de vida libre que se desarrollan en un medio natural, y debe tener una alta calidad sanitaria (Soler y cols., 2007). En España, durante el periodo de 2002 a 2008 se han producido de media unas 21 mil toneladas de carne de caza por año, de las cuales unas 10 mil toneladas corresponden a carne de ciervo y jabalí (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación 2003, 2004, 2008, y 2009). No obstante la carne de caza no está exenta de riesgos alimentarios derivados de su propia naturaleza o de la presencia de contaminantes en el medio ambiente.

La Organización Mundial de la Salud, desde un punto de vista de salud pública, considera de gran importancia no solo las enfermedades de origen alimentario causadas por microorganismos,

sino aquellas provocadas por agentes contaminantes como las dioxinas, los residuos de pesticidas y medicamentos, y los metales pesados (WHO 2002). Algunos de estos contaminantes se pueden incorporar a los sistemas biológicos, fundamentalmente a través de la cadena alimentaria, llegando finalmente a los humanos (Sharma y Shupe, 1977), lo que supone, actualmente, una gran preocupación para las autoridades sanitarias competentes.

Por todo ello existe, cada vez, un mayor interés por estudiar la salud de los ecosistemas y de los organismos que residen en ellos, incluyendo el nivel de contaminantes de metales pesados y otros tóxicos y su bioacumulación en tejidos animales por los efectos letales y subletales que estos producen.

En este contexto las especies cinegéticas son un eslabón importante en la transferencia de contaminantes del habitat donde viven (agua, suelo) y han sido utilizadas frecuentemente, como indicadores biológicos de contaminación ambiental (Adrian, 1986; Créte y cols., 1987; Holm, 1993; Swiergosz y cols., 1993; Pokorny, 2000; Craste y Burgatsacaze, 1995), pero también pueden representar, a largo plazo, un riesgo sanitario para los humanos, como consecuencia del consumo de su carne y productos cárnicos (Andrée y cols. 2010).

La mayoría de los autores han estudiado la presencia de metales pesados en diferentes tejidos de algunas especies cinegéticas y, sólo en algunos casos, se ha valorado, también, el riesgo para la

salud pública derivado del consumo de su carne y vísceras (Falandysz y cols. 2005; Lazarus y cols., 2008; Bilandzic y cols. 2009; Taggart y cols. 2011; Jarzynska y Falandysz, 2011), aunque aún no se ha estimado suficientemente el riesgo sanitario en aquellas poblaciones consideradas de riesgo como pueden ser los cazadores y sus familias.

Estos datos son indicativos de la importancia que supone la actividad cinegética y el papel de las especies cinegéticas como bioindicadores de contaminación ambiental (Tataruch y Kierdorf, 2003). Aunque se han realizado algunos estudios, en nuestro país, sobre la presencia de plomo y cadmio en ciervo y jabalí (Santiago y cols., 1998; Reglero y cols., 2008 y 2009 Taggart y cols., 2011 y Gallego-Rodríguez, 2011), y en otras especies cinegéticas (Hermoso de Mendoza, 2012), sin embargo son escasos los estudios de análisis del riesgo alimentario por presencia de metales pesados asociado al consumo de este tipo de carne de caza, especialmente en aquellas poblaciones consideradas de riesgo como los cazadores y sus familias.

Por la falta de datos, la preocupación por la seguridad alimentaria (Saenz, 2003) y la salud pública y el papel que España, y más concretamente Andalucía, representan desde el punto de vista cinegético, este trabajo de investigación se plantea como objetivos estudiar la presencia de metales pesados en especies cinegéticas de caza mayor (ciervo y jabalí), estimar la influencia de factores de

riesgo determinantes en la acumulación de estos contaminantes en estas especies, y valorar el riesgo sanitario para la salud pública que supone el consumo de este tipo de carne, específicamente entre los cazadores y su entorno familiar.



## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA





## 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los metales se encuentran en la corteza terrestre de forma natural. Algunos metales, tales como el cobre, hierro y zinc, resultan esenciales, actuando como cofactores de algunas enzimas y juegan un papel importante en determinadas funciones fisiológicas (Abou-Arab, 2001). No obstante su carencia puede causar disturbios y alteraciones patológicas (Schuehammer y cols., 1991), e, incluso, intoxicación cuando exceden a determinados niveles (Eisler, 1993; Puls, 1994; Miranda y López Alonso, 2006). Otros, sin embargo, no cumplen ninguna función biológica conocida y resultan ser extremadamente tóxicos, con efectos embriotóxicos, teratogénicos o incluso mutagénicos, tal es el caso del mercurio, plomo, cadmio, y otros metales pesados, constituyendo un peligro para animales y humanos (Reilly, 1980; Guitart, 2002).

Factores antropogénicos y algunas catástrofes han contribuido a su amplia difusión incidiendo directamente en el aumento de sus niveles en determinados ecosistemas (Adrian, 1986; Falandysz, y cols., 2005; Guitart, y Thomas, 2005). Algunas veces por ignorancia, accidente o irresponsabilidad, la industria ha vertido al medio ambiente muchas sustancias contaminantes peligrosas que, directa o indirectamente, han terminado en la población humana y animal (Saenz, 2007).



Entre las actividades humanas más contaminantes se encuentran la producción de energía eléctrica mediante la combustión de carbones, el uso de carburantes derivados del petróleo (Kierdorf y Kierdorf, 2002), el uso de hornos y calderas industriales, comerciales y residenciales, los incendios forestales, la actividad minera (Hernández, 1999; Reglero y cols., 2008), la caza y el tiro deportivo (Guitart y Thomas, 2005), la actividad militar y el uso de fertilizantes y fitosanitarios en las actividades agrícolas modernas (Toman y Massányi, 1996; Eira y cols., 2005; Falandysz y cols., 2005).

Esta presencia de metales pesados en el medio ambiente constituye un serio y urgente problema reconocido por la mayoría de los pueblos del mundo (Abou-Arab, 2001; Vengust y Vengust, 2004). Su acumulación puede incrementar el riesgo de transferencia a animales herbívoros y mamíferos salvajes, llegando a acumular algunos de estos metales en sus tejidos, incorporándose así a los sistemas biológicos (Scheuhammer, 1991; Reglero y cols., 2008).

Las rutas de exposición de metales pesados en mamíferos terrestres son fundamentalmente la inhalación y la ingestión (Pokorny y cols., 2004), siendo la principal ruta de exposición en humanos la ingestión a través de la dieta (Herver 2004; Guitart, y Thomas, 2005; González-Muñoz y cols., 2008), generalmente por consumo de alimentos y bebidas (Zurera y cols., 1994). Estos metales pueden llegar a constituir un problema para la salud

pública derivado de su consumo, con mayor incidencia en aquellos grupos de población denominados de riesgo que muestran un consumo diferencial con respecto a la población en general.

Algunos países, como consecuencia de los efectos tóxicos, han adaptado su legislación para restringir o prohibir el uso de algunos de estas sustancias contaminantes (Meyer y cols., 1999), existiendo, actualmente, una necesidad clara de minimizar la contraminación ambiental, con el objetivo de reducir, no sólo los efectos directos sobre la sanidad animal, sino también los efectos que pudieran tener sobre la salud humana (Scientific Committee on Animal Nutrition, 2003).

## 2.1 METALES PESADOS

Los metales pesados son elementos químicos con una densidad igual o superior a 5 g/cm<sup>3</sup> o cuyo número atómico es superior a 20, a excepción de los metales alcalinos y alcalinotérreos (Adriano, 1986), que existen de forma natural en la tierra y que tienen una función muy diferente en los sistemas biológicos, mientras algunos son esenciales para el ejercicio de la vida, otros son extremadamente tóxicos.

En base a sus efectos sobre los organismos vivos, los metales pesados se distinguen dos grandes grupos: aquellos que no presentan una función biológica conocida (principalmente Cd, Hg, Pb, As, Sb, Bi) y los considerados oligoelementos o micronutrientes

(B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se y Zn, entre otros). La presencia de los primeros en seres vivos, en cantidades mínimas, implica graves disfunciones orgánicas. Los oligoelementos o micronutrientes se requieren en pequeñas cantidades, o cantidades traza, por las plantas y animales; todos ellos son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital, pero superado un cierto umbral se vuelven tóxicos (Goyer y Clarkson, 2001).

Los metales, en función del tiempo y nivel de exposición, presentan distintas formas de toxicidad: toxicidad aguda y toxicidad crónica. La toxicidad aguda se da por exposición a través del consumo de agua, alimentos o por exposición ocupacional. Sus síntomas característicos son: síndrome gastrointestinal agudo, disfunción renal y neurotoxicidad, entre otros. En las formas crónicas la exposición puede ser a través del consumo de agua o alimentos, por vía aérea o por contacto con suelos contaminados. La intoxicación crónica implica el desarrollo de distintos tipos de cáncer, hiperqueratosis, hiper e hipopigmentación de la piel en el caso particular del arsénico, inflamación crónica de las vías respiratorias, insuficiencia renal, dermatitis, síntomas neurológicos y daños reproductivos: fetotoxicidad, teratogenicidad, aborto espontáneo (Goyer y Clarkson, 2001).

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) los clasifica en función de su peligrosidad. Y considera metales peligrosos a aquellos que a través de una leve exposición

puede ocasionar daños a la salud humana (Hg y Be), mientras que estima como potencialmente peligrosos a elementos que deben mantenerse bajo control como el Ba, Cd, Cu, Pb, Mn, Ni, Zn, V y Sn.

Otra clasificación es la de la Asociación Americana de control oficial de los Alimentos (AAFCO, 1996), que establece distintas categorías de toxicidad y da unos valores máximos recomendados de niveles de metales en alimentos de origen animal: a) metales altamente tóxicos, con unos niveles máximos de 10 mg/kg, (Cd, Hg y Se); b) metales tóxicos, con un nivel máximo de 40 mg/kg, (incluyen Ba, Co, Cu, Pb, Mb, Tg, V); c) metales moderadamente tóxicos, con niveles máximos, de 400 mg/kg (Sb, As, I, Ni) y finalmente los metales ligeramente tóxicos, con unos niveles de 1000 mg/kg (Al, B, Br, Bi, Cr, Mn, Zn).

### **2.1.1 Metales pesados tóxicos**

#### *2.1.1.1 Plomo*

El plomo debe su importancia como contaminante a su gran difusión en la naturaleza y el entorno industrial. Su origen natural se encuentra en la degradación de los suelos, el desgaste de los depósitos de minerales de plomo (galena, anglesita, celusita...), emanaciones volcánicas. Es un elemento de gran interés para la industria dada su resistencia a la meteorización y a la acción de los ácidos. El plomo y sus derivados se encuentran en todas partes del medio ambiente, como por ejemplo, en las plantas y animales, en el

aire, en el agua de la bebida, en los ríos, océanos y lagos, en el polvo, en el suelo, etc. (Agency for Toxic Substances and Disease Registry., 1993).

#### 2.1.1.1.1 Fuentes de contaminación

Las fuentes más importantes de plomo son de carácter antropogénico: residuos industriales de fábricas de colorantes, insecticidas, explosivos, soldaduras, reactivos químicos, aditivos antidetonantes para la gasolina, minería, alfarería, acumuladores y baterías, protectores contra los rayos X, etc. (JECFA, 1972).

En España, además, se han de tener en cuenta la abundancia de yacimientos de galena, a la hora de considerar la importancia de este contaminante (Pérez Gutiérrez y Pérez Pérez, 2001).

Sólo el 4% del plomo contenido en la atmósfera es de origen natural, y adquiere niveles de 1-3  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  en el medio urbano, oscilando las concentraciones en el medio rural entre 0,1 y 0,5  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . La abundancia del plomo en la atmósfera de las zonas urbanas se ha relacionado con la muerte súbita de los niños recién nacidos, así como de los fracasos en la cría de pequeños animales en este medio (JECFA, 1972). Un 76% de las emisiones de este metal a la atmósfera procede de su uso como aditivo en las gasolinas (Pacyna JM, 1991).

El contenido de plomo en los suelos españoles es de 35 ppm (Adriano, 1986). Esta cifra no es muy superior al rango de concentraciones entre 8 y 20 ppm de plomo que presentan los suelos no cultivados (JECFA, 1972). Los lodos procedentes de las instalaciones de tratamiento de aguas residuales, a menudo son añadidos a terrenos agrícolas y pueden ser fuente de plomo (JECFA, 1972).

Las plantas absorben el plomo con cierta facilidad, y lo acumulan principalmente en las raíces. Los bulbos son importantes acumuladores de plomo (JECFA, 1972).

Hoy en día, muchas de las fuentes de plomo a las que el ser humano ha estado expuesto durante siglos, como por ejemplo la gasolina con plomo, ya no son importantes, pues su uso ha sido regulado. En España, mediante el Real Decreto 403/2000 de 24 de marzo, se prohibió la comercialización de gasolinas con plomo a partir del 1 de enero de 2002.

En las últimas décadas, el nivel de plomo en los alimentos ha disminuido significativamente debido a los esfuerzos en reducir su emisión y en mejorar la garantía de la calidad de los análisis químicos. El plomo está presente en bajas concentraciones en la mayoría de los alimentos, siendo despojos y moluscos los que pueden contener niveles más altos. La contaminación de los alimentos durante el procesamiento o la producción en las zonas contaminadas son las principales razones para una mayor ingesta

de plomo a través de los productos alimenticios (Andrée y cols. 2010).

#### 2.1.1.1.2 Metabolismo y acumulación

El plomo absorbido a nivel gastrointestinal, se distribuye en distintos órganos y tejidos, como riñón, hígado, encéfalo y huesos. Dada su similitud con el calcio, el mayor depósito de este metal se localiza en el tejido óseo tanto de mamíferos como de aves. De los tejidos blandos, el riñón generalmente acumula los mayores niveles de plomo, y por lo tanto se le considera un buen indicador de exposición reciente al plomo (Schuehammer, 1987).

La eliminación del plomo tiene lugar fundamentalmente a través de la secreción biliar, las heces, el pelo, sudor, y en circunstancias, por la leche materna, alcanzando concentraciones de hasta 12 mg/l (Schuehammer, 1987).

#### 2.1.1.1.3 Toxicidad

La intoxicación crónica por plomo se manifiesta en humanos y los animales por la disminución en el desarrollo corporal. Las formas agudas se manifiestan con encefalopatías agudas, dolor abdominal, anemia, y paro respiratorio, además de apatía, ataxia, somnolencia, estupor y otros signos neurológicos (Schuehammer, 1987; JECFA, 1972).

El plomo se comporta como factor de quiescencia en los espermatozoides (hipocinesis), generando trastornos importantes en la capacidad fecundante; mientras que en las hembras provoca alteraciones en el desarrollo embrionario (abortos, aberraciones cromosómicas, distintas formas teratogénicas, etc.) (Schuehammer, 1987; JECFA, 1972).

La actividad de las enzimas sanguíneas parece verse afectada por concentraciones extremadamente bajas de plomo, es el caso de la enzima delta ácido aminolevulínico dehidratasa (ALAD), esencial para la producción de hemoglobina. En exposiciones crónicas al plomo, el hematocrito y los niveles de hemoglobina descienden. Además la función inmune puede verse dificultada (JECFA, 1972). Algunos de los efectos crónicos de la intoxicación por plomo son los cólicos, estreñimiento y anemia. También puede inducir aumento de la presión arterial y enfermedad cardiovascular en adultos. Efectos sobre el desarrollo neurológico en el feto y disminución de la capacidad de aprendizaje en los niños se encuentran entre los efectos graves (Andrée y cols. 2010).

#### 2.1.1.1.4 El plomo y la actividad cinegética

Actualmente la relación del plomo y su implicación en la actividad cinegética sigue siendo foco de interés. Y aunque existen numerosos estudios sobre la ingestión de plomo, a través de los pesos de pesca o el uso de perdigones como munición y la subsiguiente intoxicación por este metal en las aves acuáticas



(Guitart 2001 y 2002; Guitart y Thomas, 2005) y algunas aves terrestres, incluidas aves de presa, sin embargo no se ha valorado suficientemente los efectos del plomo en las especies cinegéticas que habitan en los ecosistemas terrestres.

En general, los efectos del uso de la munición de plomo se pueden resumir en tres puntos. En primer lugar, mortalidad adicional de aves acuáticas y especies terrestres por la intoxicación con este metal después de haber ingerido perdigones usados como munición en las cacerías. En segundo lugar, intoxicación de las rapaces, incluyendo especies amenazadas por la ingestión de perdigones o fragmentos de estos en la carne de la presa. Y por último, contaminación ambiental a largo plazo por el depósito del plomo, con unos costes de destrucción medioambiental enormes, como se está apreciando en Estados Unidos (Fisher y cols., 2006).

Además, actualmente ha emergido otro problema toxicológico, la ingestión de plomo, como fuente potencial de exposición a este metal en los humanos, a través del consumo de carnes de caza contaminada que contengan perdigones o fragmentos de balas de este metal en sus tejidos (Guitart y Thomas, 2005; Pain y cols., 2010; André y cols., 2010).

Para abordar los problemas causados por la contaminación del plomo en la fauna silvestre como consecuencia de la acumulación de perdigones en el medio ambiente, se ha intentado establecer códigos voluntarios de conducta, redistribución de los perdigones a través

del cultivo de sedimentos, elevar los niveles de agua para reducir el acceso a los perdigones en los ecosistemas acuáticos, proporcionar adecuado alimento y tratar a los animales enfermos. Sin embargo, mientras su éxito ha sido variable a nivel local, la única solución que ha demostrado ser efectiva es la prohibición de la caza o el cambio a munición no tóxica (Fisher y cols., 2006).

En Dinamarca y Holanda la prohibición del uso del plomo en actividades cinegéticas es total, mientras que en Norte América, el uso de perdigones de plomo está restringido sólo para aves de caza migratorias, pudiéndose emplear para cazar especies cinegéticas indígenas como el urogallo (Fisher y cols., 2006). En España el Real Decreto 581/2001, de 1 de junio, prohíbe la tenencia y el uso de municiones que contengan plomo durante el ejercicio de la caza y el tiro deportivo en humedales de importancia internacional, de acuerdo con el convenio RAMSAR, y en otros humedales considerados legalmente como zonas protegidas. En Japón, el uso de munición de plomo para la caza de ciervos en la isla de Hokkaido es ilegal. En Groenlandia no hay restricciones (Fisher y cols., 2006).

Respecto al cambio de munición en el ejercicio de la caza, existen gran variedad de alternativas de munición no tóxica, como son el acero, el estaño, el tungsteno, el zinc o el bismuto, sin embargo con la excepción del acero, ninguna de estas alternativas es ecotoxicológicamente perfecta. El acero y otras alternativas se

comercializan en los países donde el uso de munición no tóxica es obligado por ley (Fisher y cols., 2006). La falta de aceptación al cambio de la munición por parte de los cazadores europeos, se debe principalmente a que los perdigones de acero no son adecuados para el formato de arma europea. El acero es menos denso, de modo que precisa una velocidad bastante superior a la que precisa un cartucho cargado con la misma cantidad y número de perdigones de plomo para conseguir el mismo efecto letal. Además el cambio de munición supondría también la compra de una nueva escopeta (Mateo y cols., 1994), pues las escopetas europeas tienen unos cañones más delgados que las americanas, y los cartuchos de perdigones de acero pueden estallar si se emplean con estas armas, ocasionando accidentes.

Actualmente y aunque el uso de la munición de plomo haya sido prohibido o restringido en algunos países, aún es ampliamente utilizado en la caza, y la sustitución de este metal con alternativas menos tóxicas progresa lentamente.

#### 2.1.1.2 *Cadmio*

El cadmio es un metal pesado que se encuentra asociado, en la naturaleza, a otros metales, especialmente al cinc y al cobre. De hecho no fue considerado hasta el año 1972 un mineral puro (cadmio en griego significa óxido de cinc). Estas asociaciones con elementos cuya toxicidad no es alarmante, hacen que sea uno de los

tóxicos más peligrosos, pues sus efectos pueden ser subestimados (JECFA, 2005).

#### 2.1.1.2.1 Fuentes de contaminación

El origen del cadmio es fundamentalmente antropogénico. Se trata de un metal relativamente volátil que se desprende en los procesos industriales del cinc, cobre, fósforo, etc. Por lo tanto se encuentra en el ambiente en lugares de trabajo en que se manipulen baterías, soldaduras, pigmentos, etc., en aguas contaminadas, en lugares cercanos a centrales térmicas y quemaderos de basuras y en el tabaco (JECFA, 2005). Los productos alimenticios son la principal fuente de exposición de la población no fumadora. La absorción de cadmio después de la exposición dietética en humanos es relativamente baja (3-5%), pero es retenido en el riñón y el hígado con una larga vida biológica de 10 a 30 años.

En suelos no contaminados se halla niveles de 1 mg/kg, siendo más abundante en los suelos ácidos, en los que se libera con más facilidad de la roca madre (JECFA, 2005). En España el contenido medio en suelos es de 1,7 mg/kg (Adriano, 1986). En el aire adquiere valores de 0,002 µg/m<sup>3</sup>. Su volatilidad facilita su difusión por movimientos atmosféricos.

Generalmente se incorpora a la cadena alimenticia a través de las plantas, almacenándose en su parte aérea. El trigo y el arroz representan importantes reservorios de cadmio. La enfermedad de

*itay-itay* se asocia a unos niveles de este metal en cultivos de arroz de 0,7 a 4 µg/g (encontrándose los niveles en zonas control entre 0,03 y 0,1 µg/g) (JECFA, 2005).

La concentración de cadmio en invertebrados es dependiente de los niveles de este elemento en el ambiente acuático que les rodea y puede ser acumulado hasta niveles que son varios órdenes de magnitud superiores a la concentración acuosa del cadmio. Esta facultad también se ha observado en invertebrados terrestres como las lombrices de tierra. Invertebrados carnívoros que predan sobre herbívoros y detritívoros pueden concentrar aún más el cadmio y los mamíferos y aves acumular este exceso que presentan sus fuentes de alimento en sus órganos diana (hígado y riñón) (Schuehammer, 1987).

#### 2.1.1.2.2 Metabolismo y acumulación

En mamíferos y aves la absorción intestinal de cadmio es dosis-dependiente. Como respuesta a dosis ambientales poco relevantes (inferiores a 1 mg/kg peso corporal), la absorción está en un rango de 0,4-2% de la dosis, y principalmente se localiza en el epitelio intestinal. Sólo un 0,1-0,5% de la dosis pasa a la circulación para llegar a otros tejidos (Schuehammer, 1987; JECFA, 2005).

La distribución del cadmio es dosis dependiente. El daño al epitelio intestinal, por ejemplo por coccidiosis, o por el efecto tóxico del propio metal, incrementa la absorción de cadmio. De la misma

forma, dietas deficientes en calcio, cinc o hierro, contribuyen a una mayor asimilación intestinal de cadmio y un incremento en su toxicidad (Schuehammer, 1987).

En los tejidos, el cadmio se acumula a lo largo del tiempo unido a proteínas de bajo peso molecular (6500 daltons) ricas en grupos sulfidrilo, las metalotioneínas. La síntesis de estas proteínas es inducida por la exposición a cadmio, cinc, cobre y mercurio. La mayoría del resto de metales son menos efectivos en inducir esta síntesis. Una de las funciones de estas proteínas, es el normal almacenamiento y metabolismo de cinc y cobre, y la detoxificación y almacenamiento de metales no esenciales como el cadmio y el mercurio (Schuehammer, 1987).

El contenido en cadmio del hígado y los riñones suma un 90% de la carga corporal total, y una vez unido a metalotioneínas, tiene una vida media biológica extremadamente larga, más de 20 años en humanos (Schuehammer, 1987).

#### 2.1.1.2.3 Toxicidad

Las intoxicaciones por cadmio suelen ser de carácter crónico y provocan lesiones pulmonares, daño renal, alteraciones óseas y fallos del aparato reproductor, además de tener efectos carcinogénicos (Schuehammer, 1987; JECFA, 2005). Principalmente es un tóxico para el riñón, sobre todo para las células tubulares proximales donde se acumula con el tiempo y puede causar

disfunción renal. Después de prolongada y/o alta exposición al daño tubular puede progresar a una disminución la tasa de filtración glomerular, y finalmente a la insuficiencia renal (Andrée y cols., 2010).

El riñón es el órgano crítico en la toxicidad crónica del cadmio, aunque en machos, los testículos pueden verse seriamente afectados por la exposición subletal al cadmio. Cuando la concentración alcanza el valor crítico (100-200  $\mu\text{g/g}$  de tejido, en peso fresco, en humanos y mamíferos de experimentación) se produce una nefropatía inducida por cadmio (Schuehammer, 1987).

También puede causar la desmineralización ósea, ya sea a través del hueso directa daños o indirectamente como resultado de la disfunción renal. En los huesos se producen notables deficiencias en la calcificación, dando lugar a cuadros de raquitismo, osteomalacia y osteoporosis (JECFA, 2005).

La enfermedad de *itay-itay* fue descrita por primera vez en Japón, y se describe como un “síndrome doloroso de naturaleza reumática” consecuencia de la ingestión masiva de cadmio. Cursa en un período de 5 a 10 años, siendo los primeros síntomas las alteraciones dentarias (anillos de cadmio), boca reseca, pérdida del sentido del gusto, que vienen seguidos de anemia (reflejo de lesiones en la médula ósea), fuertes dolores articulares y alteraciones en la orina (proteinuria, aminoaciduria, enzimuria, glucosuria, fosfaturia, hipercalciuria) (JECFA, 2005).

Desde 1965 se asocia la presencia de cadmio a efectos cancerígenos, habiéndose observado en personas expuestas durante más de 10 años a este contaminante (JECFA, 2005). El Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer ha clasificado el cadmio como un carcinógeno humano (grupo 1) sobre la base de estudios ocupacionales. Los datos más recientes sobre la exposición humana a cadmio han sido estadísticamente asociados con un mayor riesgo de cáncer, como en el pulmón, endometrio, vejiga, y de mama en la población general (EFSA, 2009).

Muchos de los efectos de la ingesta de cadmio son similares a los que se producen en dietas con deficiencias en cinc y hierro. Anemia inducida por cadmio, hiperplasia de médula ósea, hipertrofia cardíaca, como en los estados carenciales de hierro; hipoplasia testicular, como la inducida por falta de cinc. Estas consecuencias se asocian generalmente a alteraciones en el metabolismo normal de metales traza esenciales causadas por el cadmio, más que por la citotoxicidad del cadmio en sí (Schuehammer, 1987). Las alteraciones en el metabolismo del hierro, cinc y calcio, por exposición crónica al cadmio, pueden ocurrir sin que se haya alteraciones en la función renal (Schuehammer, 1987).

La concentración de cadmio en el hígado es utilizada como indicadora de la carga corporal. El hígado acumula aproximadamente la mitad de la carga corporal de este metal,



siendo extremadamente estable y resistente a los efectos tóxicos (Schuehammer, 1987). Lo ideal es medir los niveles de cadmio en el hígado y en el riñón, pues la ratio de concentraciones puede ser informativa de la exposición a este metal. Ratios de cadmio hígado/riñón mayores que 1 indican exposición aguda a dosis elevadas de cadmio, mientras que ratios inferiores a 1 indican un bajo nivel de exposición (Schuehammer, 1987; Pedersen y Lierhagen, 2006).

## **2.1.2 Oligolementos**

### *2.1.2.1 Hierro*

El hierro es uno de los metales más abundantes en el Planeta. Es imprescindible para el organismo animal, especialmente para diversas funciones metabólicas y enzimáticas, y es esencial para el crecimiento. Se incorpora al organismo por vía digestiva (Reilly, 2002).

#### 2.1.2.1.1 Funciones biológicas

Forma parte del núcleo de la hemoglobina y la mioglobina (proteínas de transporte y almacenamiento de oxígeno), y de gran número de enzimas, fundamentalmente oxidativas, enzimas claves en la respiración celular. Tiene gran importancia en el sistema inmunitario (Reilly, 2002).

Mayoritariamente (60-70%), se encuentra en la hemoglobina y la mioglobina, el resto se deposita en hígado, bazo y médula ósea en forma de ferritina y hemosiderina, y una pequeña cantidad forma parte de la transferina, proteína de transporte sanguíneo y de sistemas oxidativos como los citocromos de fosforilación y algunas enzimas hepáticas como la *triptófano oxigenasa* (Reilly, 2002).

La hemoglobina, tras un período de recirculación sanguínea, es conducida al bazo, donde se degrada a hemosiderina; y es transformada en pigmentos biliares a nivel del hígado. Las reservas de hierro, así como el que resulta liberado tras la ruptura de los hematíes, quedan a disposición del organismo para la síntesis de hemoglobina. Esta capacidad de reciclaje del hierro, hace que el hierro empleado por el individuo supere con creces la cantidad que aporta la ingesta (Reilly, 2002).

#### 2.1.2.1.2 Toxicidad

Su efecto principal como agente causante de enfermedad está asociado a su escasez en la cadena alimentaria, produciendo interferencias minerales que reducen sus niveles de absorción, que actúan alterando en el organismo los equilibrios hierro-cobre-cobalto, necesarios para la incorporación del hierro a la hemoglobina (JECFA, 1983; Reilly, 2002).

El fenómeno de la hemosiderosis aparece como consecuencia de un exceso de hierro en el organismo, que conlleva una

aglomeración de moléculas de ferritina con el hierro en exceso formando hemosiderina. Las causas que pueden originar este fenómeno son: varias transfusiones repetidas, estados anémicos con activación de la absorción intestinal del elemento, anomalías hepáticas que pueden originar sobrecargas corporales de hierro, ingestión excesiva de alcohol junto con el mineral (Halliday y cols., 1982). Esta enfermedad se ha descrito con frecuencia en la mitad Sur de África, donde la tribu Bantú utiliza ollas de cocción y bidones de hierro en el proceso de fabricación de la cerveza Kaffir, dando lugar a tasas de ingestión hasta 10-20 veces superiores a las de la dieta normal (Walter y cols., 1993).

La hemocromatosis es otra patología debida a niveles excesivos de hierro, aparece al fallar los mecanismos que limitan su absorción. Da lugar a un aumento del tamaño del hígado con una insuficiencia funcional, cirrosis, pigmentación oscura de la piel, diabetes mellitus por lesión pancreática y fallo cardíaco (Moore, 1973).

Los mayores riesgos de intoxicación aguda por ingestión de niveles excesivos de hierro derivan del consumo indiscriminado, especialmente por parte de niños, de dosis medicamentosas de suplementación de hierro. En Estados Unidos, las preparaciones de hierro y vitaminas figuran en el cuarto lugar de productos tóxicos ingeridos por niños menores de 5 años. Los signos clínicos de la

intoxicación aguda por hierro son: náuseas, vómitos, diarreas, acidosis, shock, y, a veces, colapso cardíaco y muerte (Linder, 1988).

#### 2.1.2.2 Cobre

Las concentraciones de cobre se localizan principalmente en músculo (38%), hígado (13%), cerebro (9%) y sangre (8%), depositándose las reservas preferentemente en el hígado (7 mg/kg en humanos) y en el pelo (15 mg/kg) (Linder, 1988).

##### 2.1.2.2.1 Funciones biológicas

Como nutriente esencial participa en funciones orgánicas importantes, entre las que destacan: a) ser componente estructural de proteínas fundamentales en la formación de hemoglobina, como la ceruloplasmina sanguínea hepática; b) ser modulador de la actividad de enzimas oxigenasas en reacciones de oxidación y catálisis del oxígeno molecular y radicales superóxido (como por ejemplo la *tirosinasa* en la formación de melanina, la *lisil-oxidasa* en la formación de enlaces cruzados entre colágeno y elastina, esenciales en la consistencia del tejido conectivo y vasos sanguíneos, o la *dopamina  $\beta$ -hidroxilasa* en la biosíntesis de catecolaminas...etc), y ser cofactor de otras enzimas que participan en la mielinización durante el desarrollo del sistema nervioso (Reilly, 2002).

#### 2.1.2.2.2 Toxicidad

La toxicidad del cobre no es causada tanto por el propio catión, como por la interferencia y bloqueo que provoca en la absorción y distribución corporal de otros iones metálicos, en particular del hierro y zinc. La exposición prolongada a dosis altas de cobre puede ocasionar anemia hemolítica, enfermedad de Pink o acrodinia en niños, enfermedad de Wilson o degeneración hepatolenticular (excesiva acumulación de cobre en hígado, riñón, cerebro y córnea por causas genéticas, que se traduce en cirrosis, lesiones renales y cerebrales). En individuos expuestos al uso de derivados de este metal en forma de spray o polvo (aplicación de pesticidas en agricultura), existe la posibilidad de incorporar cobre de manera masiva por vía inhalatoria (JECFA, 1982; Reilly, 2002).

#### 2.1.2.3 *Cinc*

El cinc se encuentra presente en todas las células del organismo, pero en ciertos tejidos su presencia es más abundante. Se acumula rápidamente en hígado, páncreas, bazo, riñones, retina, piel, cabello, uñas y en mayor proporción en el tejido muscular (60%). Además muestra un especial tropismo por la glándula prostática y los tejidos gonadales masculinos (JECFA, 1982; Reilly, 2002).

Los depósitos en los tejidos blandos como músculo, cerebro, pulmón y corazón, son relativamente estables e independientes de

los niveles en la dieta. Sin embargo, el contenido en cinc en otros tejidos, especialmente el hueso, testículos, cabello y sangre, tienden a reflejar la ingesta del animal (Reilly, 2002).

Este elemento no se almacena en el organismo y su exceso es eliminado del cuerpo. La excreción se realiza fundamentalmente por las heces. La excreción por orina y sudor es pequeña. Otras formas de excreción son la descamación de la piel, el crecimiento del cabello y el líquido seminal (Reilly, 2002).

Su biodisponibilidad está afectada por interacciones con otros elementos minerales, como la competencia con el hierro en la absorción intestinal (cuando la ratio hierro/cinc de la dieta es superior a 2, la absorción de cinc inorgánico se inhibe significativamente), la relación antagónica entre cobre y cinc o la interferencia recíproca entre cinc y cadmio (Reilly, 2002).

#### 2.1.2.3.1 Funciones biológicas

El cinc se considera un nutriente esencial, fundamentalmente como componente estructural de determinadas enzimas (*anhidrasa carbónica, superóxido dismutasa, retinol deshidrogenasa*). Actúa como factor coenzimático de enzimas que participan en numerosos procesos del metabolismo. Participa en el mecanismo de acción de la testosterona, regulando la función sexual masculina y la espermatogénesis. También actúa como factor en la biosíntesis

proteíca, en particular del colágeno, responsable de acciones beneficiosas sobre el tejido epitelial (JECFA, 1982; Reilly, 2002).

#### 2.1.2.3.2 Toxicidad

El cinc es el menos tóxico de todos los oligoelementos, y los problemas de salud que ocasiona se relacionan más con su carencia que por su exceso. Su principal efecto tóxico es la interferencia con el cobre, dando lugar a anemia por deficiencia de cobre (Reilly, 2002).

La intoxicación aguda por cinc ocasiona erosión e irritación gastrointestinal, caída de la función inmune y reducción de las HDL colesterol plasmáticas, alteraciones gustativas, dolores de cabeza y abdominales con nauseas, vómitos y diarreas a partir de las 3-10 horas de la ingestión de 2 g o más en forma de sulfato (Prasad, 1976; Reilly, 2002). La ingestión de 150-500 mg de Zn/día durante varios meses ocasiona hipocupremia, microcitosis y neutropenia (Prasad, 1976).

## 2.2 LAS ESPECIES CINEGÉTICAS COMO BIOINDICADORAS DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

Con el fin de medir directamente la calidad de los ecosistemas y los niveles de contaminantes en organismos, se han desarrollado sistemas de *monitorización* y de *biomonitorización*, que han utilizado a diferentes especies animales como indicadoras de esta

contaminación (Lessire y cols., 1995; Eens y cols., 1999). Estos sistemas son esenciales para evaluar la influencia de la contaminación en el medio ambiente y las posibles consecuencias en la salud de los propios animales y humanos.

Para que un sistema de biomonitorización sea efectivo debe tener un bajo coste, debe de permitir un fácil muestreo y ha de manifestar una buena correlación con los cambios medio ambientales (Xuebin y cols., 2008). Las características fundamentales que definen una especie como buen bioindicador son que sea fácil de reconocer, que muestre dimorfismo sexual, que sea longeva, abundante y que tenga una amplia distribución geográfica. En resumen, especies que permitan que haya abundancia de datos de grupos bien definidos (fundamentalmente de sexo y edad), con los que poder llegar a establecer estándares útiles para valorar la magnitud de la carga de un metal en un organismo y su significación para el ecosistema en el que haya habitado (Kalisishka y cols., 2004).

Para la mayoría de los estudios se han seleccionado especies que bioacumulen tóxicos más rápidamente, bien por tratarse de organismos que se encuentren en posiciones elevadas de la cadena trófica, o bien porque habiten ecosistemas que han sufrido un gran desastre ecológico o sean altamente sensibles a la presencia de contaminantes. Las especies territoriales son las que mejor reflejan la contaminación en la dieta local, pues los movimientos de una especie de biomonitorización deben ser limitados si se quiere



indicar con precisión la disponibilidad de contaminación de una zona específica (Herrera y cols., 2000).

La literatura científica ha señalado como bioindicadores de contaminación ambiental, organismos muy diversos, desde plantas, organismos no parásitos, moluscos, y diversos tejidos y órganos animales que acumulan tóxicos, incluso excrementos, etc. (Kuiters, 1996; Xuebin y cols., 2008). Y en general los mamíferos salvajes son conocidos por ser adecuados indicadores de contaminación de metales pesados (Sobanska, 2005), también las especies cinegéticas y específicamente los cérvidos (Crate y Burgatsacaze, 1995; Sobanska, 2005; Kottferová y Koréneková, 1998).

Además se ha descrito el papel de algunas especies cinegéticas como bioindicadoras de contaminación ambiental de los ecosistemas por metales (Katarazyna, 1979; Crate y Burgatsacaze, 1995; Pokorny, 2000; Kierdorf y cols., 2002), bien por su frecuencia común y distribución geográfica uniforme, bien por su sencilla cadena alimentaria, ya que la mayoría son herbívoros. (Elkin y Bethke, 1995) o por sus características poblacionales, extensión territorial y fácil muestreo (Créte y cols., 1987; Holm, 1993; Swiergosz y cols., 1993).

Igualmente se ha indicado que las especies como el ciervo (*Cervus elaphus*) y el jabalí, (*Sus scrofa*,) son especies específicamente adecuadas como indicadores biológicos de contaminación ambiental (Crate y Burgatsacaze, 1995; Sobanska, 2005), indicándose que las

especies de ciervo responden rápidamente a la contaminación (Kottferová y Koréneková, 1998), tienen una elevada sensibilidad a diferentes contaminantes antropogénicos y son parte de la cadena alimentaria de los ecosistemas naturales, con un amplio número y vasta distribución (Markov).

En algunos casos se ha estudiado la presencia de contaminantes orgánicos persistentes muy tóxicos y, en otros casos, la presencia de metales pesados, fundamentalmente de plomo y cadmio, en diferentes tejidos de numerosas especies animales, y en diferentes regiones del mundo, estimándose a veces la contaminación ambiental producida por estos metales, la transferencia de estos contaminantes a los sistemas biológicos y valorándose, en raras ocasiones, el riesgo para la salud humana derivado del consumo de carne y vísceras de estas especies animales.

En nuestro país, los artículos publicados acerca de la acumulación de metales pesados en la fauna salvaje tienen como especies objeto de estudio básicamente aves de humedal y rapaces, fundamentalmente por el impacto toxicológico que produce la acumulación de plomo en estas aves y que incluso llega a provocar, en muchos, la muerte del individuo (plumbismo). Se estima que cada año mueren, en nuestro país, en torno a unas 50.000 aves a causa del plumbismo, algunas de ellas pertenecientes a especies protegidas o en peligro de extinción (Guitart, 2001). Pero también se

han estudiado especies cinegéticas de caza menor como el conejo de monte y la perdiz (Herrera y cols., 2000; Enriquez, 2007) y de caza mayor como el ciervo y el jabalí (Santiago y cols., 1998; Reglero y cols., 2009; Taggart y cols., 2011; Gallego Rodríguez, 2012), y el corzo (Hermoso de Mendoza y cols., 2011).

En cuanto a las especies de caza mayor, ciervo y jabalí, son relevantes los estudios de contaminación por metales, fundamentalmente plomo y cadmio, en estas especies, en Sierra Morena, (Santiago y cols., 1995), en un área minera de Sierra Madrona y Valle de Alcudia, en la provincia de Ciudad Real (Reglero y cols., 2008 y 2009; Taggart y cols., 2011), y en la región de Extremadura (Gallego Rodríguez, 2012), bien para valorar la incidencia de contaminación ambiental (Santiago y cols., 1998), la transferencia de metales desde las plantas a ciervos (Reglero y cols., 2008), o incluso valorar el riesgo sanitario para el consumidor en cuanto al contenido de estos metales (Gallego Rodríguez, 2012; Taggart y cols., 2011).

### 2.3 FACTORES DETERMINANTES PARA LA ACUMULACIÓN DE METALES PESADOS POR LAS ESPECIES CINEGÉTICAS DE CAZA MAYOR.

Existen numerosos factores que pueden incidir en la acumulación de metales pesados en los seres vivos, y particularmente en las especies cinegéticas. Estos factores se pueden

clasificar en factores internos o endógenos como la especie, el sexo, la edad, el tejido, estado nutricional, etc. y factores externos o exógenos como la estacionalidad, distribución geográfica, el relieve, las corrientes de viento predominantes, tipos de cultivo, hábitos alimentarios y factores antropogénicos, como la explotación minera, actividad militar, práctica de la caza, fertilización, desarrollo industrial, etc (Reid y cols., 1980; Kottferová y Koréneková, 1998; Robards y Worsfold 1991; Sobanska, 2005).

A continuación se describe la influencia de algunos de estos factores respecto a la presencia de metales pesados en las especies cinegéticas de caza mayor, ciervo y jabalí, especies objeto de este estudio.

### **2.3.1 Factores endógenos**

#### *2.3.1.1 Especie*

La acumulación de metales pesados en especies cinegéticas varía en función de la especie, y algunos autores han encontrado diferencias significativas en los niveles de algunos metales entre el jabalí y el ciervo, indicando unas veces una mayor acumulación de metales en el jabalí y otras una menor acumulación de ciertos metales en esta especie respecto al contenido de metales en ciervo (Kuiters, AT., 1996; Santiago y cols., 1998; Medveded, 1999; Taggart y cols., 2011).

La mayoría de los autores coinciden en señalar que estas diferencias inter-específicas respecto a la acumulación de metales están relacionadas, básicamente, con diferencias en la composición de la dieta y hábitos alimentarios (Craete y Burgatsacaze, 1995; Santiago y cols., 1998).

### 2.3.1.2 *Sexo*

Los niveles de metales pesados pueden variar en función del género en aquellas especies que presenten un marcado dimorfismo sexual, lo que implica posibles variaciones de su fisiología y tasa metabólica o tengan diferentes dietas (Tom y cols.; 2002, 2006).

Respecto a la relación del contenido de metales y el sexo, hay autores que han señalado diferencias, encontrando niveles inferiores de cadmio en hígado y riñón de las hembras de alce y ciervo de cola blanca (Crête y cols., 1987), niveles superiores de cadmio en las hembras de ciervos (Craig y cols., 1993), de mercurio en el corazón de jabalí (Sobanska, 2005) o niveles superiores de hierro, cobre y sodio en las hembras de gamo (Vengust y Vengust, 2004). Recientemente, Gallego Rodríguez (2012), estudiando plomo y jabalí en Extremadura, ha encontrado, en general, que los ciervos macho tienden a acumular más metales que las hembras, mientras que las hembras de jabalí presentan valores superiores que los machos. Hermoso de Mendoza y cols., (2011), estudiando metales en corzo (*Capreolus capreolus*), en el noroeste de España, ha señalado una clara

influencia del sexo sobre la acumulación de ciertos metales, encontrando mayores niveles de cadmio y cinc en las hembras respecto a los machos. Sin embargo no encontraron diferencias respecto al sexo en la acumulación de plomo.

Otros autores no han señalado diferencias significativas en cuanto a los niveles de metales y el sexo (Stansley y cols., 1991; Kahn y cols., 1995; Taggart y cols., 2011).

### 2.3.1.3 *Edad*

La variación de la concentración de metales en relación con la edad indica diferencias en la dieta, fisiología y estado metabólico entre jóvenes y adultos (Tom y cols., 2002). De acuerdo a Pedersen y Lierhagen (2006), las diferencias de concentración de metales entre individuos jóvenes y adultos estarían causadas, fundamentalmente, por la bioacumulación a lo largo del tiempo, indicando un exceso en la carga de metales.

En general, se ha observado que los animales adultos tienen niveles superiores de metales en algunos órganos en relación con la edad, lo que ha sido descrito también en el ciervo (Vikoren y cols., 2005; Lazarus y cols., 2005 y 2008; Taggart y cols., 2011, Jarzynska y Falandysz, 2011) y en jabalí (Zaccaroni y cols., 2003; Rudy, 2010; Taggart y cols., 2011), aunque a veces se ha descrito cierta tendencia contraria, encontrándose una disminución de los niveles en los animales adultos (Gallego Rodríguez, 2012).

Hermoso de Mendoza y cols., (2011) ha observado que los niveles de plomo (en hígado, riñón y músculo) y de cadmio (en riñón) en individuos macho de corzo (*Capreolus capreolus*), son superiores en los individuos adultos.

Sin embargo otros autores no pudieron establecer diferencias significativas entre los niveles de metales y la edad (Kahn y cols., 1995; Vengust y Vengust, 2004).

#### 2.3.1.4 Órgano

La variación de la concentración de metales entre los distintos órganos indica diferencias en el grado de acumulación (Burger y cols. 1998).

Los oligoelementos como el cobre y el cinc están implicados en una serie de procesos metabólicos y por lo tanto van a encontrarse en grandes cantidades en los distintos tipos de órganos que se analicen. Sin embargo, los metales tóxicos (cadmio, mercurio y plomo) muestran un patrón de acumulación diferente, con niveles elevados en hígado y riñón y bajos en otros tejidos. Esto se debe a que los metales tóxicos son transportados al hígado y al riñón para su almacenamiento y detoxificación (Pedersen y Lierhagen, 2006).

Una mayoría de autores señalan que los mayores niveles de cadmio se encuentran en el riñón, seguidos del hígado y músculo tanto en el ciervo como en el jabalí (Falandysz y cols., 2005;

Kramarova y cols., 2005; Lazarus y cols., 2008, Jarzynska y Falandysz, 2011). En general, se considera que el riñón es el órgano crítico en la toxicidad crónica del cadmio (Schuehammer, 1987). Así, cuando la ratio de cadmio hígado/riñón es menor que 1 indica una exposición prolongada a pequeñas dosis (Schuehammer, 1987; Pedersen y Lierhagen, 2006).

Los mayores niveles de plomo se encontraron en hígado, seguido de riñón y músculo tanto para el ciervo como para el jabalí (Kottferová y Koréneková, 1998; Medvedev 1999; Kramarova y cols., 2005 y Lazarus y cols., 2008). No obstante algunos autores han señalado al riñón como principal órgano de acumulación de plomo, seguido del hígado y músculo (Swiergosz y cols., 1993; About-Arab, 2001; Piskorova y cols., 2003; Falandysz y cols., 2005 y Jarzynska y Falandysz, 2011) y otros han señalado el músculo como principal órgano de acumulación en el ciervo (Falandysz, 1994; Gasparik y cols., 2004).

### **2.3.2 Factores exógenos**

#### *2.3.2.1 Localización geográfica*

La localización geográfica es otro factor determinante respecto a la presencia de metales pesados en diferentes especies silvestres y también cinegéticas, encontrándose variaciones y diferencias significativas de las concentraciones de estos metales en individuos



procedentes de diferentes regiones y áreas geográficas (Stansley y cols., 1991; Hogstad, 1996; Custer y cols., 2004; Vikoren y cols., 2005).

Esta variabilidad se puede explicar bien por las características geológicas naturales de la zona, por las condiciones climáticas, que no sólo condicionan el tipo de vegetación de la zona, sino también la absorción de metales pesados del suelo (Hogstad, 1996), o bien por la disponibilidad de alimentos o incluso por el desarrollo industrial (García-Fernández y cols., 1995; 1997) y otras actividades antropogénicas como la actividad minera (Wren y cols., 1994; Reglero y col., 2009).

Estas actividades están asociadas a un incremento de metales en los sedimentos y por lo tanto relacionadas con una mayor transferencia a las plantas y a los herbívoros que habitan en estas áreas (Wren y cols., 1994), sugiriéndose que las características geológicas del terreno o la cercanía a actividades industriales humanas pueden influir sobre la presencia de estos metales en la alimentación y por tanto en sus tejidos orgánicos (Soler y cols., 2007).

Quizás uno de los aspectos más determinantes en las diferencias geográficas respecto a la acumulación de metales es aquel relacionado con la explotación y actividad minera. La contaminación de metales pesados a partir de la actividad minera y metalúrgica ha sido estudiada en el mundo en diferentes compartimentos ambientales, incluyendo agua, suelo y biota. La

actividad minera genera grandes volúmenes de residuos con elevadas concentraciones de metales pesados (Reglero y cols., 2009). Se estima que entre 1930 y 1985, la producción minera de cadmio, cobre, cinc y plomo se ha multiplicado por 18, 2, 8 y 4 veces respectivamente (Falandysz y cols., 1994; Alonso-Martirena, 1998).

En Córdoba, además de la contaminación generada en los núcleos urbanos y las zonas agrícolas, la principal fuente potencial de metales pesados procede de la cuenca carbonífera Peñarroya-Belmez-Espiel o cuenca del Guadiato (Hernando-Luna y Hernando-Fernández, 2003). En este contexto, Santiago y cols., (1998) concluyeron que los animales procedentes de las áreas norte y central de esta provincia tenían mayores concentraciones de cadmio y de plomo en el hígado y riñón que las concentraciones de animales procedentes del área este.

Recientes estudios de transferencia de metales a plantas y ciervos en un área minera de España han indicado que las concentraciones de plomo y otros elementos en los sedimentos, plantas y ciervos de éste área, especialmente de la zona denominada Mina de Horcajo, en la zona este de Sierra Morena, en la provincia de Ciudad Real, fueron superiores comparándolas con las muestras de la zona control (Reglero y cols., 2008 y 2009). Taggart y cols. 2011, encontraron algunas diferencias entre especies para cada una de las áreas estudiadas. Así los jabalíes del área minera tenían mayores niveles de plomo y selenio, pero niveles más bajos de

cadmio y arsénico, y en las áreas control tenían más bajos niveles de cadmio y cinc pero más cobre y selenio que el ciervo. Recientemente, un estudio de la evaluación de la contaminación por plomo y cadmio en Extremadura ha indicado diferencias estadísticas entre zonas para determinados órganos. Aunque no se sigue un patrón concreto entre órganos ni entre especies, si hay una correlación clara del cadmio en el hígado tanto en ciervo como en jabalí, con la zona geográfica (Gallego-Rodríguez, 2012).

#### 2.3.2.2 *Estacionalidad*

La Estacionalidad es otro factor de variación a tener en cuenta a la hora de determinar los niveles de metales pesados en especies de fauna salvaje. Y la influencia de la estacionalidad está condicionada, fundamentalmente, por la situación fisiológica del animal y por los cambios en la composición y calidad de la dieta en las diferentes épocas del año.

Algunos autores han establecido variaciones significativas en la concentración de algunos metales pesados con respecto a la estacionalidad en diferentes especies cinegéticas (Créte y cols., 1989; Holm, 1993; Aastrup y cols., 2000; Later y Nagy, 2000; Pokorný y cols., 2002; Reglero y cols., 2009).

No existe un patrón claro de estacionalidad, variando la misma en función de la localización geográfica, de la especie animal e incluso de la naturaleza del contaminante objeto de estudio. En

algunos casos los niveles de contaminante fueron superiores en invierno que en otoño (Créte y cols., 1989; Aastrup y cols., 2000), otras fueron superiores en Otoño que en invierno (cadmio, plomo y cobre en Alce; Medevdev, 1999); o superiores en primavera frente al otoño e invierno (nivel de cadmio en Caribú; Later y Nagy., 2000) e incluso superiores a finales de verano y principios de otoño (metales pesados en corzo; Pokorny y cols., 2002 y 2004). Y proponen que estas diferencias estacionales están relacionadas, básicamente, con cambios en la alimentación.

Reglero y cols., (2008) indican que la dieta de ciervos en España está basada en gramíneas durante la primavera y el otoño, y frutos de arbustos y árboles durante el invierno, con una fuerte variación del área geográfica. Además en Sierra Morena las gramíneas representan el 75% de la dieta en primavera y sólo el 20% en invierno, señalando que las gramíneas tienen bajos niveles de plomo en determinadas zonas y ello podría explicar algunas variaciones estacionales con respecto a la exposición del plomo en estas especies.

### 2.3.2.3 *Alimentación*

En la exposición de los herbívoros a metales pesados, además de los niveles de metales en el suelo, así como su distribución y su biodisponibilidad en el mismo, influyen otros factores específicos (Brekken y Steinnes 2004; Reglero y cols. 2009), como la elección por

los animales de las plantas que ingieren (Santiago y cols. 1998; Reglero y cols. 2009) o de la digestibilidad de las mismas. En algunos casos, estos factores pueden ser más determinantes que el nivel general de contaminación de la zona (Kålås y Lierhagen 1992, Wren y cols., 1994).

Además en la transferencia de metales desde el suelo a la cadena trófica de los mamíferos terrestres han de considerarse otras interacciones con la biota del suelo, como las lombrices de tierra, que tienen gran tolerancia a la acumulación de plomo, y representan un importante reservorio de este elemento, o los caracoles que bioacumulan cinc, cobre y cadmio en sus tejidos blandos y son un componente clave en los ecosistemas terrestres, por lo que son susceptibles de transferir contaminantes a consumidores primarios y depredadores terrestres (Notten y cols., 2005).

Por lo que los hábitos alimentarios constituyen un factor fundamental en la acumulación de metales en especies silvestres, y las diferencias en la alimentación podrían explicar diferencias en las concentraciones de distintos metales pesados (Sharma y Shupe, 1977; Froslic y cols., 1986), y podrían también explicar las diferencias en el contenido de plomo y cadmio en ciervo y jabalí (Kuiters, 1996; Santiago y cols. 1998; Reglero y cols. 2009).

Kuiters (1996), indicó que la acumulación de metales pesados es superior en jabalí, siendo generalmente de 3 a 5 veces superior comparada con el ciervo. Y establece que estas diferencias entre

especies estarían directamente relacionadas con los componentes dominantes en la alimentación del jabalí.

Santiago, y cols. (1998) señalaron que las diferencias en la acumulación de plomo y cadmio en las especies de ciervo y jabalí, fueron debidas a diferencias en los hábitos alimentarios y a la presencia medio ambiental de estos metales. Ambos metales están presentes en todos los organismos vivos y se acumulan a través de la cadena alimentaria, sin embargo el jabalí es omnívoro y el plomo está presente en todos los ecosistemas con mayores niveles que el cadmio, y el ciervo es un herbívoro, y es conocido que las hojas y raíces de las plantas asimilan fácilmente cadmio medio ambiental.

Reglero y cols. (2008) han observado una exposición elevada de plomo en ciervos, y señalan que ello puede ser debido a la ingestión de suelos contaminados en áreas mineras, ya que el suelo puede constituir un componente significativo de la dieta de ciertas especies de vertebrados, incluidos los mamíferos.

### **2.3.3 Otros factores**

Además de los factores anteriormente descritos existen otros que también pueden influir en los niveles de metales pesados en diferentes especies silvestres, como el uso de fertilizantes (Eira y cols. 2005; Nziguheba y Smolders 2008) y productos fitosanitarios, residuos ganaderos, el tiro deportivo y la misma actividad cinegética (Burger y cols., 1997; Mateo y Guitart, 2002).

En los medios puramente rurales los fertilizantes y los productos fitosanitarios pueden llegar a constituir la principal fuente de contaminación por metales pesados. Los fertilizantes inorgánicos pueden contener cadmio procedente de la manufactura. Las rocas fosfatadas llevan una notable cantidad de diversos metales, sobre todo cadmio, que junto al plomo y arsénico son bastante frecuentes en diversos tipos de abonos. En este sentido algunos estudios han determinado que las concentraciones altas de cadmio en conejos de monte capturados en Dunas de Mira (Portugal), un espacio natural bordeado por campos agrícolas, eran consecuencia del empleo de fertilizantes fosfatados en los suelos de laboreo circundantes (Eira y cols. 2005).

Otros autores, estudiando la entrada de elementos traza en suelos agrícolas vía fertilizantes fosfatados, y partiendo de que los fertilizantes minerales son fuente de difusión de metales en este tipo de suelos, establecieron que las concentraciones medias de metales en fertilizantes fueron: 14,8 (Ni); 7,4 (Cd); 166 (Zn); 2,9 (Pb); 7,6 (As); y 89,5 (mg/kg) (Cr). Además encontraron una correlación positiva entre las concentraciones de estos elementos con la concentración de fosfato confirmando que la roca fosfato es la mayor fuente de los elementos traza (Nziguheba y Smolders 2008). Y concluyeron que la entrada de metales en suelos agrícolas varía entre regiones como resultado de las diferencias en las cantidades de fertilizantes aplicados y de su concentración en elementos traza.

En España la entrada de metales en suelos cultivables a través de los fertilizantes fosfatados fue de 1,9 (Cd); 4,8 (Ni); 1,6 (Pb); 82,9 (Zn); 34,7 (Cr); y 1,9 (As) g/ha/año. En la provincia de Córdoba, las áreas geográficas de las Sierras Subéticas, el Valle del Guadalquivir y la Campiña, son zonas donde la vegetación natural prácticamente ha desaparecido en favor de la introducción masiva de los monocultivos (fundamentalmente de viñedos y olivar), lo que ha implicado un aumento del empleo de fertilizantes y fitosanitarios.

Por otra parte, los residuos ganaderos, utilizados como complementos nutritivos, pueden contener cinc y cobre. En el caso de los residuos de las explotaciones ganaderas porcinas se ha de tener en cuenta que los cerdos excretan aproximadamente 80-95% de los suplementos dietéticos de estos elementos, por lo que la adición de elementos traza a la dieta produce purines con altas concentraciones de metales (López Alonso y cols., 2000).

Actualmente, se ha encontrado una fuente de contaminación importante, por plomo, en algunas especies cinegéticas, posiblemente relacionada con el ejercicio de la caza. Esta puede ser contaminación puede ser consecuencia bien de la ingestión de perdigones de plomo, lo que está afectando considerablemente a especies de los ecosistemas acuáticos, y a algunas especies de aves terrestre (Burger y cols., 1997; Soler y cols., 2004), habiéndose determinado hasta 288 perdigones de plomo/m<sup>2</sup> en los primeros 20 cm del sedimento (Thomas y Guitart, 2005), o bien por la dispersión



de los mismos perdigones y/o fragmentos de balas usadas como munición en la carne de los individuos abatidos durante el ejercicio de la caza (Falandysz, 1994; Dobrowolska y Melosik , 2008).

## 2.4 ANÁLISIS DE RIESGOS

El Libro Blanco sobre seguridad alimentaria establece que el Análisis de Riesgos debe ser la base de la seguridad alimentaria (Comisión de las comunidades europeas, 2000). Y la FAO/OMS, en la guía Análisis de Riesgos relativos a la inocuidad de los alimentos (2007), señala que el Análisis de Riesgos representa un proceso estructurado de toma de decisiones con tres componentes distintos pero estrechamente vinculados: a) la gestión de riesgos (reglamentación y control); b) la evaluación de riesgos (asesoramiento científico y análisis de datos) y c) la comunicación de riesgos (figura 1).

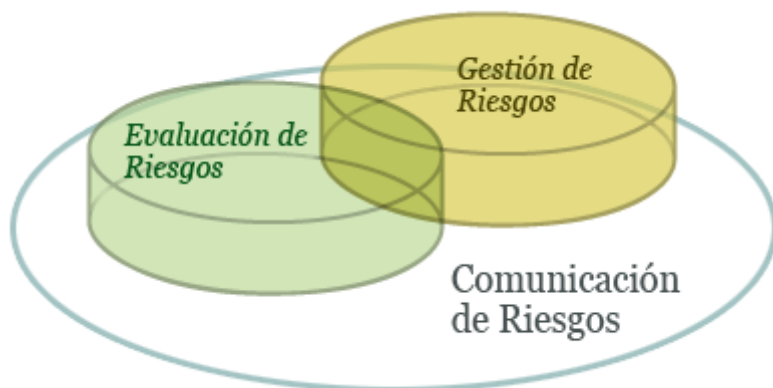


Figura 1: Fases del Análisis de Riesgos

El acuerdo del GATT (General Agreement on Tariffs and Trade), establece la evaluación de riesgos como el marco que proporciona la base científica a fin de garantizar un comercio justo para evitar las barreras comerciales y garantizar la salud de los consumidores, y es crucial para proporcionar datos de riesgo para la salud humana.

La evaluación de riesgos es el componente científico central del análisis de riesgos y puede describirse generalmente como la determinación de los posibles efectos adversos para la vida y la salud resultantes de la exposición a peligros durante un determinado período de tiempo (FAO/OMS, 2007). Este proceso se lleva a cabo en 4 etapas: 1) identificación del peligro, 2) caracterización del peligro; 3) evaluación de la exposición y 4) caracterización del riesgo, siendo dos factores claves la evaluación de la exposición y la caracterización del riesgo (figura 2).



Figura 2: Etapas de la evaluación del riesgo

En general, la mayoría de los estudios que han intentado valorar el riesgo para la salud humana derivado del consumo de carne en especies cinegéticas, se han limitado a comparar los niveles medios de contenido de metales pesados, en diferentes órganos, con los niveles establecidos por la normativa europea en animales de abasto, ya que no existen límites de plomo y cadmio en la carne de animales de caza (Falandysz 1994 y 2005; Santiago y cols., 1998; Pokorny y cols., 2000; Lázarus y cols., 2005; Soler y cols., 2007). Y sólo, en algunos casos, se ha estimado la evaluación de la exposición a metales pesados comparándola con los niveles de referencia toxicológica establecidos por organismos internacionales, como WHO y JECFA (Medvedev, 1999; Vahteristo y cols., 2003; Mateo y cols., 2007; Lázarus y cols., 2008; Taggart y cols., 2011; Jarzynska y Falandysz, 2011).

Generalmente, la evaluación de la exposición se ha realizado siguiendo un enfoque determinista o puntal. Para ello se han combinado los datos de los niveles de metales pesados en estos alimentos con la información de su consumo. Los datos de consumo se obtienen a través de encuestas alimentarias de consumo (Berti y cols., 1998; Kim y cols., 1998; Haldimann y cols., 2002; Vahteristo y cols., 2003; Enríquez, 2007). Sin embargo algunas veces, en lugar de realizar encuestas, se han utilizado estimaciones del consumo considerando otros datos disponibles (Burger y cols. 1997 y 1998; Soler y cols., 2007), o se ha trabajado con escenarios

hipotéticos de consumo de una determinada cantidad de carne de caza (Taggart y cols. 2011; Jarzynska y Falandysz, 2011).

Pascoe y cols., (1996), analizaron la exposición de la cadena alimentaria y los peligros de la vida salvaje a la contaminación por metales, en Wetland, calculando la dosis de ingesta de los receptores y comparándola con los valores tóxicos de esos mismos contaminantes, y establecieron que una exposición por ingesta baja no representa peligro para la salud de los receptores, y una exposición que excede de los valores tóxicos puede indicar un riesgo potencial para la salud.

En muchos casos, los resultados, obtenidos a través de estudios de riesgo alimentario de carne y vísceras de especies cinegéticas, han sido utilizados por las autoridades sanitarias, de algunos países, para recomendar un consumo moderado o incluso prohibir el consumo de estos productos (Froslic y cols., 1986; Créte y cols., 1987; Stansley y cols., 1991; Wolters y cols., 1994; Falandysz y cols., 2005).

En nuestro país son escasos los estudios que han valorado el riesgo para la salud pública derivado del consumo de carne de caza, destacando aquellos estudios realizados en ciervo y jabalí en Sierra Morena, Andalucía por Santiago y cols., (1998), Sierra Madrona, en Ciudad Real (Taggart y cols., 2011), y recientemente en Extremadura (Gallego-Rodríguez, 2012). Por otra parte están los estudios de estimación del riesgo por consumo de carne de caza menor,

concretamente de conejo y perdiz en Sierra Morena y Campiña en la Provincia de Córdoba (Enríquez, 2007) y en codornices cocinadas en escabeche (Mateo y cols., 2007).

Y aunque se han encontrado niveles de plomo y cadmio en estas especies cinegéticas superiores a los límites recomendados (Santiago y cols., 1998; Gallego-Rodríguez, 2012 y Enríquez, 2007; Taggart y cols., 2011), la mayoría de estos estudios coinciden en señalar que el consumo medio de carne de caza, procedente de actividades cinegéticas, no representa un riesgo sanitario significativo para la salud pública en cuanto a su contenido en metales pesados (Gallego-Rodríguez, 2012), o pueden considerarse alimentos razonadamente seguros respecto a su aporte de metales, aunque el plomo, con niveles más elevados, ha de tenerse en cuenta como elemento de riesgo en aquellas poblaciones que consumen habitualmente o consumen elevadas cantidades de estos productos (Enríquez, 2007).

No obstante, algunos autores insisten en la necesidad de continuar e incluso incrementar la vigilancia de estas sustancias tóxicas en la carne de especies de caza destinada a consumo humano (Taggart y cols., 2011; Gallego-Rodríguez, 2012).

## OBJETIVOS





### 3 OBJETIVOS

Esta Tesis Doctoral plantea el estudio del contenido de metales pesados en especies cinegéticas de caza mayor (ciervo y jabalí) en la provincia de Córdoba y sus posibles implicaciones epidemiológicas y de seguridad alimentaria, proponiendo los siguientes objetivos:

**Primero:** Cuantificar los niveles de plomo, cadmio, cobre, zinc, y hierro, en músculo y diferentes órganos de ciervo y jabalí mediante protocolos analíticos de espectrofotometría de absorción atómica.

**Segundo:** Estimar tendencias de consumo de carne de ciervo y de jabalí en la población de *cazadores* y *no cazadores*.

**Tercero:** Analizar el riesgo alimentario por ingesta de metales pesados derivada del consumo de carne de ciervo y jabalí, determinando la evaluación de la exposición y la caracterización del riesgo.

**Cuarto:** Determinar la influencia de posibles factores de riesgo respecto a la acumulación de metales pesados en ciervo y jabalí.





## MATERIAL Y MÉTODOS





## **4 MATERIAL Y MÉTODOS**

### **4.1 MUESTREO**

#### **4.1.1 Tamaño Muestral**

El tamaño muestral fue calculado de acuerdo a criterios de muestreo representativos para el estudio epidemiológico en función de la prevalencia de la acumulación de metales en especies cinegéticas de caza mayor (Cameron y Baldock, 1998).

Ante la imposibilidad de encontrar en la literatura científica datos de prevalencia de acumulación de metales pesados en especies de caza, se optó por considerar la prevalencia más adversa, es decir un 50%, ya que este parámetro implica el máximo número de muestras a recoger, un error aceptado del 10% y un intervalo de confianza del 95%.

Se determinó un tamaño de muestra representativa de al menos 100 individuos para cada una de las especies.

#### **4.1.2 Descripción de zonas de muestreo**

El muestreo se ha realizado en la provincia de Córdoba, Comunidad Autónoma de Andalucía, ubicada en el centro sur de España.

La provincia de Córdoba engloba tres unidades geográficas claramente establecidas: Sierra Morena al norte, las cordilleras Béticas al sur y el valle del Guadalquivir, surcado por el río del mismo nombre, que atraviesa Córdoba de este a oeste, (Ocaña-Ortiz, 2005).

Para la toma de muestra se establecieron cuatro áreas geográficas diferenciadas de Sierra Morena en las que la caza mayor adquiere una gran importancia: Alto Guadalquivir (AGVIR); Pedroches (PCHES); Alto Guadiato (AGUAD) y Vega del Guadalquivir (VGVIR) (figura 3).



Figura 3: Distribución de las áreas objeto de estudio

La primera zona, situada más al noreste, es el Alto Guadalquivir, caracterizada por masa forestal y cultivos ocasionales de olivos.

La segunda zona es el Valle de los Pedroches situada más al norte que la anterior, de topografía suave, aunque no muy apta para la agricultura. Sus suelos, dependientes del granito, han permitido la formación de extensas dehesas en las que se ha podido llevar a cabo un aprovechamiento mixto forestal y de ganadería extensiva, principalmente de cerdo y ovino, así como el desarrollo de una cierta actividad de explotación minera.

La tercera zona es el Valle del Guadiato, extendida por el noroeste y zona central y caracterizada por bosque mediterráneo, masa forestal, explotación ganadera e importantes actividades mineras, militares y de recolección de setas en otoño.

Y la cuarta zona, situada más al oeste de Sierra Morena es el Valle del Guadalquivir con extensas zonas de dehesa destinadas a la actividad ganadera, principalmente de ovino y caprino, y donde se ubica la sierra de Hornachuelos, constituyendo uno de los parajes cinegéticos más renombrados de Europa y con un medio natural excepcionalmente conservado, con áreas de bosque mediterráneo en estado casi puro (Santiago y cols., 1998; Ocaña-Ortiz, 2005).

Se muestrearon un total de 27 cotos distribuidos en las cuatro áreas descritas, tal y como se refleja en la figura 4.

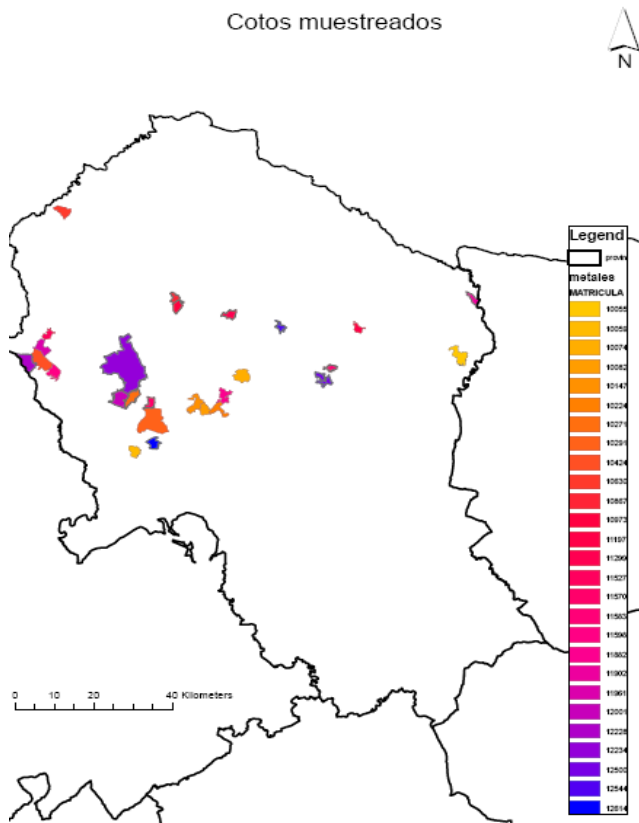


Figura 4. Representación de cotos muestreados

### 4.1.3 Población de estudio

Se han estudiado las dos especies cinegéticas de caza mayor más representativas de la península Ibérica y las más predominantes de la provincia de Córdoba; el ciervo (*Cervus elaphus*) y el jabalí (*Sus scrofa*).

El ciervo es un ungulado de la familia Cervidae. En la Península Ibérica se reconoce la subespecie *Cervus elaphus hispanicus*, con un peso corporal medio entre 100 y 180 Kg. Su distribución, en la provincia de Córdoba se circunscribe a la zona de Sierra Morena y coincide con dominios geográficos caracterizados por una vegetación tipo de bosque y matorral mediterráneo con predominio de encinares y alcornoques, combinado con áreas de pastizales, no existiendo en otras zonas de Córdoba como son la Campiña y la Subbética. Se trata de un animal de manada que forma grupos familiares, con una gran territorialidad. Su alimentación se caracteriza por consumir pasto verde de otoño a primavera y seco en verano, así como hojas y brotes de matorral y arbustos. También se alimenta de bellotas y otros frutos (Mena y Molera, 1997; Díaz y cols., 1997).

El jabalí pertenece a la familia Suidae. Se trata de la especie cinegética de caza mayor más ampliamente repartida por la península Ibérica. En el sur de España se reconoce la subespecie *Sus scrofa baeticus*, de menor tamaño y con un peso corporal medio que oscila entre 50 y 150 Kg. En Córdoba se distribuye prácticamente por toda la geografía, evitando los espacios abiertos y las zonas de alta montaña. Se caracterizan por tener un amplio nicho trófico y gran capacidad de adaptación. Aunque es omnívoro, consume grandes cantidades de vegetales, frutos, tubérculos, raíces, gramíneas y hongos, pero también todo tipo de insectos, gusanos,



micromamíferos, serpientes, carroñas, etc. (Mena y Molera, 1997; Díaz y cols., 1997; Sáenz de Buruaga y cols., 2001).

#### 4.1.4 Muestras biológicas

Se han muestreado un total de 101 ciervos, de los cuales 73 fueron machos y 28 hembras, y 107 jabalíes, de los cuales 42 fueron machos y 65 hembras (tabla 1), abatidos en cacerías organizadas en las diferentes zonas geográficas objeto de estudio. Concretamente se recogieron muestras de diferentes localizaciones orgánicas como hígado, riñón, músculo, corazón y pulmón de sendas especies.

Tabla 1.- **Ciervos y jabalíes muestreados en las diferentes áreas objeto de estudio y clasificados por sexo.**

Especie	SEXO	AGUAD	AGVIR	PCHES	VG VIR	TOTAL
Ciervo	HEMBRA	7	3	4	14	28
	MACHO	39	5	6	23	73
Jabalí	HEMBRA	30	12	11	12	65
	MACHO	18	11	3	10	42

Las muestras de músculo se tomaron de dos localizaciones diferentes; en el ciervo de la zona del cuello<sup>1</sup>, aprovechando que en las cacerías se separa la cabeza del cuerpo por ser aquella considerada un trofeo para el cazador, y en el jabalí de la zona medial del muslo<sup>2</sup>, en canales decomisadas parcialmente por los

---

<sup>1</sup> Zona que incluye los músculos braquicefálico y externo cefálico,

<sup>2</sup> Zona donde se localizan los músculos sartorio, pectíneo, gracilisador, semitendinoso, cuadrado femoral y obturador externo.

daños producidos durante la caza. Por otro lado, se muestrearon solomillos<sup>3</sup> como pieza cárnica más representativa del consumo de carne de caza mayor. Las muestras de solomillos fueron adquiridas en salas de manipulación de carne de caza autorizadas, a partir del despiece de los animales cuyas vísceras habían sido ya muestreadas en las monterías, manteniéndose en todo momento la trazabilidad durante el proceso de recogida de estas muestras. En total se recogieron 41 muestras de músculo de ciervo y 64 de jabalí, de los cuales 12 muestras corresponden a solomillo en sendas especies.

Una vez recogidas las diferentes muestras, estas fueron identificadas y transportadas al laboratorio en condiciones de refrigeración, donde se procedió a su congelación a -18°C hasta su posterior tratamiento.

#### **4.1.5 Determinación de la edad**

Se establecieron dos grupos de edades para cada una de las especies objeto de estudio en base a características morfológicas y dentarias de acuerdo a criterios indicados por Sáenz de Buruaga y cols., (2001).

En el ciervo se establecieron individuos jóvenes menores de 2 años y adultos mayores de 2 años al igual que lo hicieron Lazarus y cols. (2005) y Vitoren y cols. (2005). En el jabalí los individuos se

---

<sup>3</sup> Pieza cárnica que incluye los músculos psoas menor, psoas ilíaco y cuadrado de los lomos

clasificaron en jóvenes menores de 1 año y adultos mayores de un año de acuerdo a Sobanska (2005).

En el ciervo se utilizó básicamente criterios de desarrollo dentario<sup>4</sup>, aunque también, en los machos, se complementó con el desarrollo de la cuerna.

En el jabalí se utilizó igualmente criterios de desarrollo dentario, centrándonos en la aparición y desarrollo del 2 molar (aparece a los 12 meses), aunque se complementó con características de conformación corporal, destacando en los individuos mayores de un año la aparición de largas cerdas y la crin dorsal que recorre el lomo hasta la mitad del cuerpo.

Se muestrearon un total de 83 individuos adultos y 18 jóvenes en ciervo y en jabalí 39 jóvenes y 68 adultos (tabla 2).

**Tabla 2.- Ciervos y jabalíes muestreados en las diferentes áreas objeto de estudio y clasificados por edad.**

Especie	EDAD	AGUAD	AGVIR	PCHES	VG VIR	TOTAL
Ciervo	JOVEN (<2años)	9		4	5	18
	ADULTO (>2 años)	37	8	6	32	83
Jabalí	JOVEN (>1 año)	16	10	11	2	39
	ADULTO (> 1año)	32	13	3	20	68

---

<sup>4</sup> A los 24 meses aparece el tercer molar definitivo.

#### 4.1.6 Estacionalidad

Las muestras se recogieron en las estaciones de otoño e invierno que son las principales estaciones de la temporada cinegética de caza mayor en nuestro País.

### 4.2 APARATOS Y REACTIVOS

#### 4.2.1 Aparatos

Se utilizaron los siguientes aparatos:

- Espectrofotómetro de absorción atómica con llama Varian Espectra 50 B
- Lámparas Varian de cátodo hueco para Cu, Fe y Zn
- Espectrofotómetro de absorción atómica con cámara de grafito Perkin-Elmer AA600 y auto muestreador AS-800
- Lámpara Perkin Elmer de descarga sin electrodo para Pb
- Lámpara Perkin Elmer de cátodo hueco para Cd
- Tubos de electro grafito y cubierta de grafito pirolítico con plataforma integrada Perkin-Elmer
- Microondas CEM Corporation MDS 2000, con reactores de teflón herméticos y sistema de control de presión
- Equipo de desionización Sistema Optium-Maxima Elga Option3 Water Purifier con cartuchos Elgastat LC-111
- Congelador horizontal Liebherr

- Liofilizador Thermo Savant Modely D
- Picadora doméstica Moulinex
- Balanza de precisión And HR-200
- Stomacher modelo 400 (Seward)

#### 4.2.2 Reactivos

Se utilizaron los siguientes reactivos: Ácido Nítrico *Hiperpur Panreac* (69%); Peróxido de Hidrógeno *Panreac* (33%); Ácido Nítrico *J. T. Baker* (65%); Agua bidestilada desionizada de >18 mΩ; Soluciones stock-patrón *Merck* 1000 mg/L de Cu, Zn, Fe, Cd y Pb; Ácido Clorhídrico *Scharlau* 0,1N y Paladio *Merck* 10 g/L; Pd (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>/ HNO<sub>3</sub> ca 15%.

#### 4.3 PRETRATAMIENTO DE LA MUESTRA

A su llegada al laboratorio las muestras obtenidas eran lavadas, para eliminar los restos de sangre, y colocadas en placas de Petri, previamente taradas e identificadas, para proceder a su pesada en fresco. A continuación se congelaron a -20°C y se liofilizaron al vacío (180 mbar) durante 48 horas a -50°C de temperatura para eliminar su contenido en humedad.

Una vez liofilizadas, se realizó la pesada de las muestras en seco para el cálculo del porcentaje de humedad (%H) mediante la expresión:

$$\%H=(PF-PL/PF) *100$$

PF= peso fresco de la muestra.

PL= peso de la muestra liofilizada

Mediante stomacher se homogeneizaban obteniéndose un material en polvo de fácil manipulación y conservación, el cual se almacenaba en botes de polipropileno.

Previamente a la determinación analítica, las muestras se sometieron a un tratamiento de mineralización por vía húmeda de acuerdo a otros autores (Wolkers y cols., 1994; Medvedev, 1999; Parker y Hamer, 2001; Zaccaroni y cols., 2003). La mineralización por vía húmeda en un sistema cerrado que requiere poca cantidad de muestra, lo que resultaba adecuado por su posible efecto de preconcentración que podría favorecer la señal analítica en cuanto a su proximidad al límite de detección del análisis.

Se utilizó un microondas *CEM Corporation MDS 2000* con reactores/vasos de teflón cerrados y control de presión y temperatura, aplicándose el programa de control que se muestra en la tabla 3.

Tabla 3.- Programa de control del microondas

<i>Fase</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
<b>Potencia</b> (%)	80	40	64	100	100
<b>Tiempo</b> (min)	2	6	6	7	5
<b>Presión máxima</b> (MPa)	80	120	160	160	180

En los reactores de teflón del microondas se depositaban 0,5 gramos de la muestra liofilizada, pesados en balanza de precisión, a los que se adicionaban 6,25 mililitros de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) *suprapur* y 0,75 mililitros de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Cada muestra fue digerida por duplicado.

Finalizado el proceso de digestión, las muestras fueron diluidas hasta un volumen final de 15 ml, con agua bidestilada-desionizada extraída de un aparato Elga Option3 Water Purifier (resistividad de más de 18 mΩ), y se conservaron a temperatura de refrigeración hasta su análisis. Para evitar pérdidas de analito, se procuraba arrastrar y disolver todos los posibles restos de muestra, tanto de las paredes de los reactores, como las de los embudos.

La limpieza del material empleado en el pretratamiento de las muestras se realizó a través de tres baños consecutivos:

- baño de agua bidestilada para eliminar posibles partículas groseras o residuos de algún elemento mineral a concentraciones elevadas.

- baño en ácido nítrico al 10% en agua bidestilada-desionizada para solubilizar cualquier tipo de impureza adherida a las paredes del material.
- baño en agua bidestilada-desionizada para aclarado de la solución ácida previa.

#### 4.4 DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Para el análisis de cobre, zinc y hierro se empleó espectrofotometría de absorción atómica (EAA) con llama, y para cadmio y plomo se utilizó espectrofotometría de absorción atómica con cámara de grafito.

##### 4.4.1 Espectrofotometría de absorción atómica con llama

Los parámetros instrumentales y las condiciones de análisis de cobre, zinc y hierro se indican en la tabla 4.

Tabla 4.- Condiciones instrumentales para determinación de Cu, Zn y Fe en Espectrofotometría de Absorción Atómica con llama.

<i>ELEMENTO</i>	<i><math>\lambda</math>slit</i>	<i>Nebulizador</i>	<i><math>\alpha</math> mechero</i>	<i>I lámpara</i>	<i>Corrector de fondo</i>
<b>Cu</b>	324,8/0,5	spoiler	0	4 mA	no
<b>Zn</b>	213,9/1	spoiler	45°	5 mA	no
<b>Fe</b>	248,3/0,2	spoiler	45°	5 mA	no

En el caso del zinc y el hierro se decidió la rotación del mechero como un sistema de dilución instrumental, variando el ángulo de incidencia del haz de luz sobre el analito. De esta forma se evitó realizar diluciones de las muestras al objeto de que no se



produjeran errores en la determinación analítica por los trasvases que supone la dilución física de la muestra. Es un aspecto analítico comprobado que el número de transferencias entre recipientes ha de ser el menor posible para minimizar errores.

#### **4.4.2 Espectrofotometría de absorción atómica con cámara de grafito**

Las determinaciones analíticas de cadmio y plomo se llevaron a cabo mediante un espectrofotómetro *Perkin-Elmer AA600* equipado con una cámara de grafito THGF (*Transversaly Heated Graphite Furnace*) y auto muestreador *AS-800*, controlados por el software *WinLab 32* y con efecto Zeeman como corrector de fondo.

Se emplearon tubos de grafito con plataforma integrada y como gas interno y externo se utilizó Argón de máxima pureza, y como modificador de matriz se empleó paladio en su forma activa de anión tetracloropaladato II ( $\text{PdCl}_4^{2-}$ ) en una solución de 1ppm de Pd y 2,5% de ácido clorhídrico (Moreno-Rojas y cols., 2010). De cada muestra se realizaron dos lecturas o replicados.

A continuación se describen los parámetros instrumentales y las condiciones de análisis del cadmio y del plomo.

##### *4.4.2.1 Cadmio*

Para la determinación analítica del cadmio se utilizó una lámpara de cátodo hueco, seleccionándose una longitud de onda de

228,8 nm y rendija de 0,7 nm. La intensidad aplicada fueron 4 mA. El volumen de muestra inyectado fue de 10  $\mu$ l.

Se realizaron ensayos a diferentes temperaturas de preatomización y atomización en los intervalos 400-450°C y 1400-1800°C respectivamente. Los mejores porcentajes de recuperación para muestras certificadas de hígado y músculo y adiciones estándar efectuadas sobre muestras de pulmón se obtuvieron con el programa de tiempo-temperatura indicado en la tabla 5.

Tabla 5.- Condiciones instrumentales para la determinación de cadmio en hígado, corazón, pulmón y músculo

<i>ETAPA</i>	<i>T<sup>o</sup>(°C)</i>	<i>Tiempo de rampa</i>	<i>Tiempo de mantenimiento</i>	<i>Flujo interno</i>	<i>Tipo de gas</i>
<b>Desecación 1 de alícuota</b>	110	1	30	250	Normal
<b>Desecación 2 de alícuota</b>	130	15	30	250	Normal
<b>Preatomización</b>	550	10	20	250	Normal
<b>Atomización</b>	1700	0	5	0	Normal
<b>Limpieza</b>	2600	1	3	250	Normal

En el caso de muestras certificadas de riñón, los mayores porcentajes de recuperación se obtuvieron con el programa que se indica en la tabla 6.

Tabla 6.- Condiciones instrumentales para la determinación de cadmio en riñón.

ETAPA	Tª(°C)	Tiempo de rampa	Tiempo de mantenimiento	Flujo interno	Tipo de gas
Desecación 1 de alícuota	110	1	30	250	Normal
Desecación 2 de alícuota	130	15	30	250	Normal
Preatomización	450	10	20	250	Normal
Atomización	1750	0	5	0	Normal
Limpieza	2600	1	3	250	Normal

#### 4.4.2.2 Plomo

El plomo fue medido a una longitud de onda de 283,3 nm, utilizándose una lámpara de descarga sin electrodo con intensidad de 440 mA y una rendija de 0,7 nm. El volumen de inyección fue de 20 µl. Se optimizaron las temperaturas de preatomización y atomización en los intervalos de 500-700°C y de 1500-1750°C respectivamente.

Los mejores resultados en cuanto a porcentajes de recuperación de muestras certificadas y adiciones estándar para cada una de las matrices corresponden con el programa que se especifica en las tablas 7, 8 y 9.

Tabla 7.- Condiciones instrumentales para determinación de plomo en hígado.

<i>ETAPA</i>	<i>T<sup>a</sup></i> (°C)	<i>Rampa</i> (segundos)	<i>Mantenimiento</i> (segundos)	<i>Flujo interno</i>	<i>Tipo de gas</i>
<b>Desecación 1 de alícuota</b>	110	1	30	250	Normal
<b>Desecación 2 de alícuota</b>	130	15	40	250	Normal
<b>Preatomización</b>	700	15	20	250	Normal
<b>Atomización</b>	1750	0	5	0	Normal
<b>Limpieza</b>	2600	1	3	250	Normal

Tabla 8.- Condiciones instrumentales para determinación de plomo en riñón y pulmón.

<i>ETAPA</i>	<i>T<sup>a</sup></i> (°C)	<i>Rampa</i> (segundos)	<i>Mantenimiento</i> (segundos)	<i>Flujo interno</i>	<i>Tipo de gas</i>
<b>Desecación 1 de alícuota</b>	110	1	30	250	Normal
<b>Desecación 2 de alícuota</b>	130	15	40	250	Normal
<b>Preatomización</b>	600	15	20	250	Normal
<b>Atomización</b>	1650	0	5	0	Normal
<b>Limpieza</b>	2600	1	3	250	Normal

Tabla 9.- Condiciones instrumentales para determinación de plomo en músculo y corazón.

<i>ETAPA</i>	<i>T<sup>a</sup></i> (°C)	<i>Rampa</i> (segundos)	<i>Mantenimiento</i> (segundos)	<i>Flujo interno</i>	<i>Tipo de gas</i>
Desecación 1 de alícuota	110	1	30	250	Normal
Desecación 2 de alícuota	130	15	40	250	Normal
Preatomización	500	15	20	250	Normal
Atomización	1500	0	5	0	Normal
Limpieza	2600	1	3	250	Normal

## 4.5 VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

Mediante la validación del método analítico se pretende demostrar que se han hecho las pruebas necesarias que garanticen la máxima fiabilidad de los resultados obtenidos.

Los principales parámetros mediante los que se determina la validación del un procedimiento (parámetros de calidad) son la exactitud, la precisión, los límites de detección y cuantificación, la linealidad o función respuesta y la sensibilidad.

### 4.5.1 Exactitud

La exactitud es el grado de concordancia entre el resultado y el valor de referencia aceptado (valor real) de acuerdo a la Internacional de Química Pura y Aplicada (siglas en inglés, IUPAC, 2002). En la determinación de metales pesados, este parámetro puede verse afectado fundamentalmente por interferencias debidas a sustancias que no han sido completamente eliminadas durante el pretratamiento de la muestra (Pomeranz y Meloan, 1994).

La exactitud de los métodos analíticos empleados se estimó mediante materiales de referencia certificados y estudios de recuperación mediante adiciones estándar de concentración conocida.

#### 4.5.2 Material de Referencia Certificado

Se utilizaron los siguientes materiales de referencia certificados; CRM No. 184 *Bovine Muscle* (músculo de bovino), CRM No. 185 *Bovine Liver* (hígado de bovino) y CRM No. 186 *Pig Kidney* (riñón de cerdo), proporcionados por el *Community Bureau of Reference* (BCR) de Bruselas. Los porcentajes de recuperación obtenidos se indican en las tablas 10, 11 y 12.

Tabla 10.- CRM No. 184 *Bovine Muscle* (mg/kg).

<b>ELEMENTO</b>	<b>VALOR CERTIFICADO</b>	<b>VALOR OBTENIDO</b>	<b>% REC.</b>
Cu	2,36	2,21	<b>94</b>
Zn	166	156	<b>94</b>
Fe	79	81,9	<b>103,7</b>
Cd	0,013	0,0118	<b>90,76</b>
Pb	0,239	0,234	<b>97,9</b>

Tabla 11.- CRM No. 185 *Bovine Liver* (mg/kg).

<b>ELEMENTO</b>	<b>VALOR CERTIFICADO</b>	<b>VALOR OBTENIDO</b>	<b>% REC.</b>
Cu	198	207,15	<b>95,58</b>
Zn	402	119,4	<b>84,08</b>
Fe	214	203,4	<b>95,05</b>
Cd	0,298	0,274	<b>91,94</b>
Pb	0,501	0,510	<b>101</b>

Tabla 12.- CRM No. 186 *Pig Kidney* (mg/kg).

<i>ELEMENTO</i>	<i>VALOR CERTIFICADO</i>	<i>VALOR OBTENIDO</i>	<i>% REC.</i>
Cu	31,9	26,85	<b>84,17</b>
Zn	128	118,05	<b>92,22</b>
Fe	299	293,75	<b>98,24</b>
Cd	2,71	2,214	<b>81,69</b>
Pb	0,306	0,291	<b>95,09</b>

#### 4.5.3 Adiciones estándar

Al no disponer de material certificado de referencia de tejido pulmonar, la exactitud para este tipo de matriz se estimó mediante adiciones estándar.

Se prepararon dos lotes de 12 muestras de pulmón, dividido cada uno en 4 grupos. En el primer lote, a cada grupo se le adicionaron 0; 1,5; 3 y 4,5 ml de un patrón de 50 ppb de concentración de cadmio. Al segundo lote, se adicionaron las mismas cantidades de un patrón de 500 ppb de concentración. Finalmente las muestras se procesaron de acuerdo al método de pretratamiento descrito en el apartado 2.1, y 2.2 recuperándose en un volumen de 15 ml. De igual forma se prepararon dos lotes de blancos.

En las figuras 5 y 6 se representan las rectas de calibrado y las pendientes de las adiciones estándar obtenidas para el plomo y el cadmio.

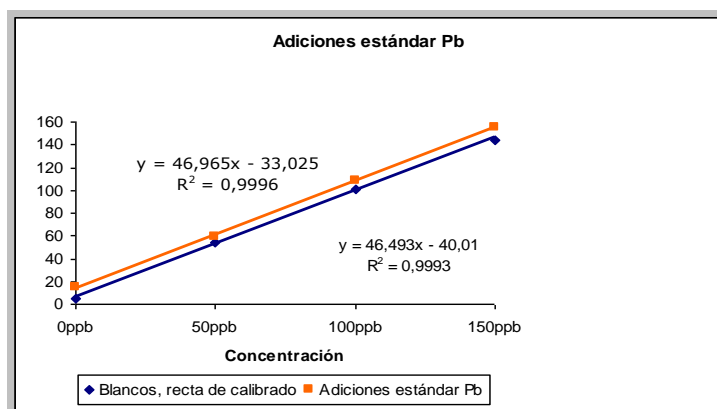


Figura 5. Recta de calibrado de adiciones estándar de plomo para muestras de pulmón.

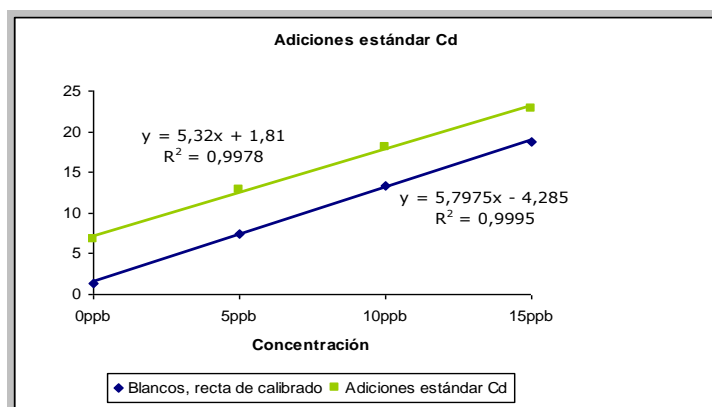


Figura 6. Recta de calibrado de adiciones estándar de cadmio para muestras de pulmón.

#### 4.5.4 Precisión

La precisión es el grado de concordancia entre resultados de medidas independientes en condiciones establecidas (IUPAC, 2002). La medida de la precisión se expresa en términos de imprecisión y se calcula como la desviación típica de los resultados analíticos, de



tal forma que, a mayor desviación típica, menor precisión. Por tanto, se puede considerar que el coeficiente de variación de los resultados analíticos de un grupo homogéneo de muestras puede definirse como un parámetro indicador de precisión.

$$RSD = \text{Desviación típica} / \text{Media} * 100$$

Para su determinación se escogieron 2 muestras liofilizadas al azar de distinta especie y se mineralizaron 10 veces. Las soluciones resultantes fueron analizadas y con los datos resultantes se calcularon los siguientes coeficientes de variación (tabla 13):

Tabla 13.- Coeficientes de variación: A) Ciervo y B) Jabalí

MUESTRA	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe
Especie A	3,13	1,46	2,91	2,72	2,37
Especie B	1,60	3,44	5,34	2,47	2,69

Este cálculo de la precisión también se conoce como *repetibilidad* o *precisión intralaboratorio* y se define como la precisión bajo condiciones en las que los resultados de la determinación de un analito se obtienen con el mismo método, con el mismo operador y utilizando el mismo instrumento de medida.

#### 4.5.5 Linealidad/ función respuesta

La linealidad es la relación entre la concentración de analito y la respuesta del método y se representa mediante curva de

calibración. En nuestro caso, la totalidad de las determinaciones analíticas llevadas a cabo tuvo un ajuste lineal.

#### 4.5.5.1 Curvas de calibrado de zinc, cobre y hierro.

A partir de soluciones patrón se elaboraron rectas de calibrado para zinc, cobre y hierro con distintos rangos de concentración.

En las figuras 7, 8 y 9 se muestran modelos de curvas de calibración obtenidos para cada uno de los elementos minerales analizados. Indicar que siempre se procedió a elaborar la curva de calibración correspondiente de acuerdo al tipo de muestra a analizar y a las condiciones instrumentales establecidas.

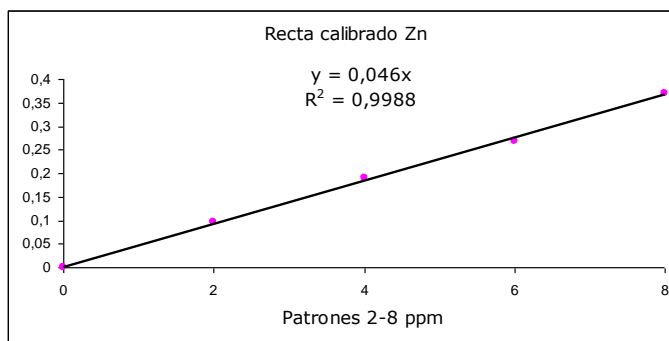


Figura 7. Recta de calibrado de cinc (2-8 ppm).

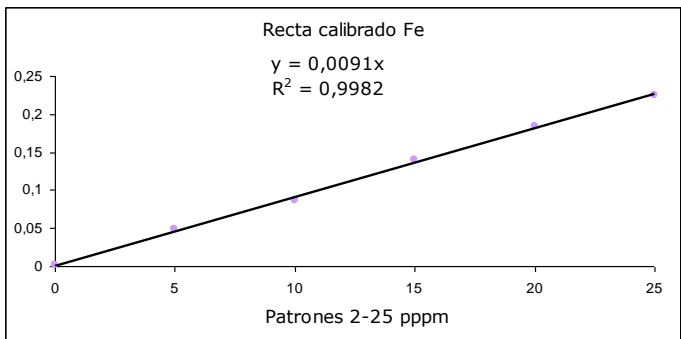


Figura 8. Recta de calibrado de cobre (0,5-2,5 ppm).

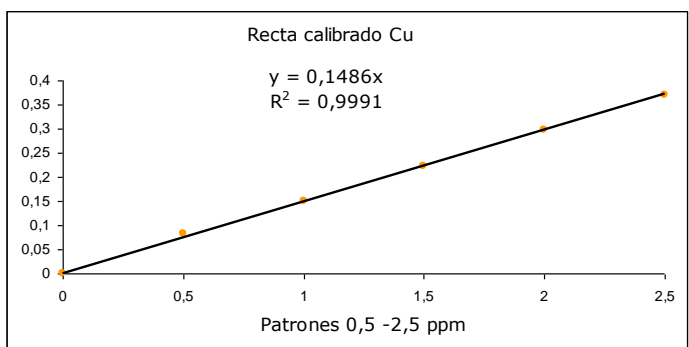


Figura 9. Recta de calibrado de hierro (5- 25 ppm).

#### 4.5.5.2 Curvas de calibrado de cadmio y plomo.

Todas las muestras analizadas mostraron unos niveles de cadmio comprendidos en un rango de concentración en solución entre 5 y 25 ppb, por lo que se empleó la siguiente curva de calibrado (figura 10).

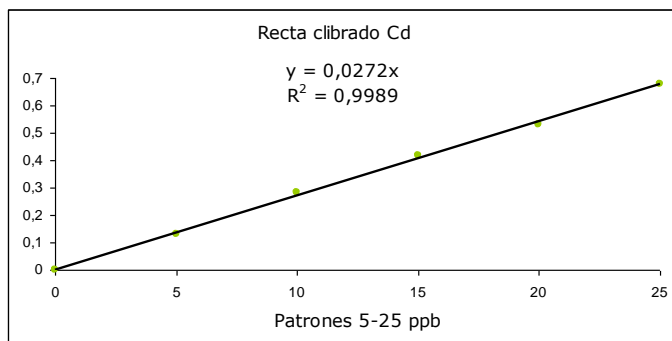


Figura 10. Recta de calibrado de cadmio (5-25 ppb).

En el caso del plomo, las muestras analizadas presentaron concentraciones comprendidas entre 5 a 25 ppb (figura 11). Aquellas muestras que sobrepasaron este rango se analizaron mediante rectas de calibración con patrones de concentraciones más altas en un rango de 100-500 ppb (figura 12), reduciéndose en estos casos el volumen de inyección a 10  $\mu$ l.

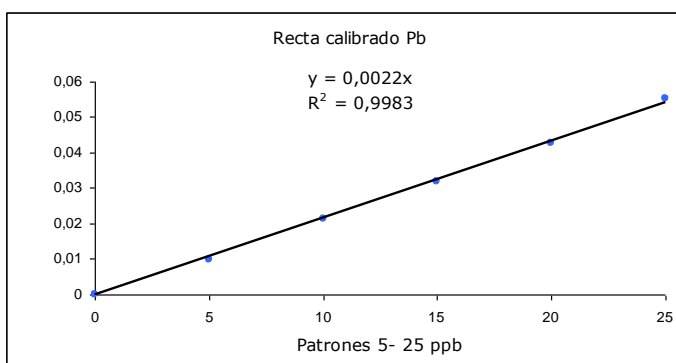


Figura 11. Recta de calibrado de plomo (5-25 ppb).

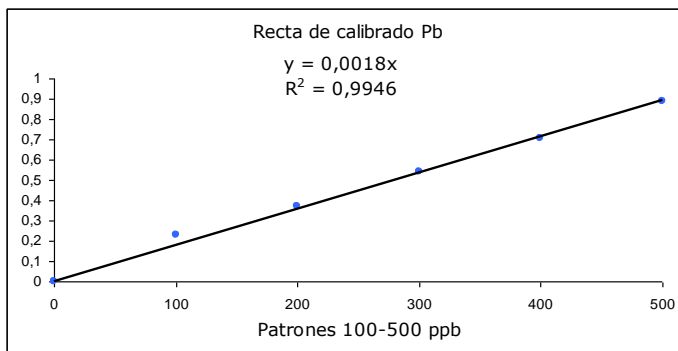


Figura 12. Recta de calibrado de plomo (100-500 ppb).

#### 4.5.6 Sensibilidad

En Espectrofotometría de Absorción Atómica, la sensibilidad se define como la concentración (ppm) requerida de un elemento para proporcionar una señal de 1% de absorción, equiparable a una lectura de 0,0044 unidades de absorbancia.

También se ha llamado *concentración o masa característica*, delimita la zona de trabajo al obtener la curva de calibrado (IUPAC, 2002). Los resultados obtenidos se indican en la tabla 14.

Tabla 14. Sensibilidad.

<i>Elemento</i>	<i>Curva calibrado</i>	<i>Sensibilidad</i>
Zn	2 - 8 ppm	0,0957
Cu	0,5 - 2,5 ppm	0,0296
Fe	5-25 ppm	0,4835
Cd	5 - 25 ppb	0,0002
Pb	5 - 25 ppb	0,0020
Pb	100 - 500 ppb	0,0024

#### 4.5.7 Límites de detección y cuantificación

Según la Internacional de Química Pura y Aplicada (siglas en inglés, IUPAC, 2002), el límite de detección (LD) se define como un número expresado en unidades de concentración (o cantidad) que describe el más bajo nivel de concentración de un sustancia que puede determinarse como estadísticamente diferente del blanco analítico

El límite de detección se calculó como la concentración correspondiente a la señal promedio ( $X$ ) de los blancos más tres veces la desviación estándar ( $SD$ ) de dichas mediciones (IUPAC 1995; Herrera Murillo y Rodríguez Román, 2010):

$$LD = X + 3 SD$$

El límite de cuantificación ( $LC$ ) es la concentración mínima de analito que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud y precisión. Los límites de cuantificación se obtuvieron sumando a la media la desviación estándar ( $SD$ ) multiplicada por 10 (IUPAC 1995; Herrera Murillo y Rodríguez Román, 2010):

$$LC = X + 10 SD$$

Los valores de los límites de detección y cuantificación se muestran en la tabla 15.

Tabla 15: Límite de Detección y Límite de Cuantificación

<i>Elemento</i>	<i>Límite Detección</i>	<i>Límite Cuantificación</i>
Fe	0,0084	0,0265
Zn	0,0291	0,1011
Cu	0,0019	0,0031
Cd	0,0005	0,0012
Pb	0,0037	0,0152

#### 4.6 DETERMINACIÓN DE LOS HÁBITOS DE CONSUMO DE CARNE DE CAZA

Para la valoración de los hábitos de consumo de carne y productos derivados de la caza se diseñó una encuesta de consumo (anexo 2).

La encuesta se administró a aquellas personas que manifestaron consumir algún tipo de carne de caza. Y se pretendía obtener información relativa al consumo de carne de caza mayor (ciervo y jabalí) y menor (conejo y perdiz), incluyéndose vísceras y productos cárnicos derivados. Además consideraba el tamaño de la unidad familiar y los periodos de consumo preferente, diferenciándose entre familias de cazadores y no cazadores.

Se recopilaron 301 encuestas correspondientes a 1248 miembros de la unidad familiar consumidores de algún tipo de carne de caza (ciervo, jabalí, conejo y/o perdiz).

La cantidad de carne de caza consumida se calculó en kg/persona/año, dividiendo la cantidad total consumida de cada

una de las especies (expresada en kg) por el número de miembros de la unidad familiar.

#### 4.7 METODOLOGÍA DE LA EVALUACIÓN DE RIESGOS

La evaluación de riesgos se realizó siguiendo el esquema propuesto por el Codex Alimentarius, diferenciándose cuatro etapas: i) identificación de peligros; ii) caracterización de peligros; iii) evaluación de la exposición y iv) caracterización de riesgos.

##### 4.7.1 Identificación del peligro

Se realizó determinando el porcentaje de muestras de carne de ciervo y jabalí que excedía los valores máximos establecidos por el Reglamento CE 1881/2006, para carne y vísceras de animales de abasto.

##### 4.7.2 Caracterización del peligro

A falta de modelos adecuados de dosis-respuesta, por lo general los riesgos químicos de alimentos para la salud humana son evaluados mediante la comparación de la exposición dietética a un nivel seguro de exposición adecuada (Renwick y cols. 2003).

En este estudio se han utilizado diferentes valores umbrales de ingesta toxicológica para los diferentes metales establecidos por la Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) y



la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (The European Food Safety Authority, EFSA).

### 4.7.3 Evaluación de la exposición

La evaluación de la exposición fue realizada siguiendo dos modelos o enfoques diferentes: modelo probabilístico y modelo determinista o puntual.

#### 4.7.3.1 Modelo probabilístico

La metodología utilizada en el modelo probabilístico sigue las directrices para el desarrollo de estudios de evaluación de riesgos proporcionada por la Comisión del Codex Alimentarius (CAC/GL-30, 1999).

Los datos de concentración y de consumo fueron utilizados para generar distribuciones de probabilidad que contemplaran el rango completo de valores observados. Para ello se realizaron distintas pruebas estadísticas como la prueba de Kolmogorov-Smirnov, Chi-cuadrado y Root Mean Square Error (RMSE).

Con las distribuciones de probabilidad obtenidas se definieron las variables del modelo de evaluación de la exposición. Este modelo no incluyó la separación entre la variabilidad y la incertidumbre de las variables. El modelo fue simulado aplicando el análisis de Monte-Carlo (Metropolis y Ulam, 1949), mediante la

utilizando del software @ Risk Profesional© (Palisade, Newfield, NY).

#### 4.7.3.2 Modelo determinista o de estimación puntual

En el modelo determinista, a diferencia del análisis probabilístico, se utilizaron valores puntuales para describir tanto la concentración de metales como los datos de consumo, en lugar de distribuciones de probabilidad (Pocas and Hogg, 2009).

Las concentraciones de metales y los patrones de consumo de ambos tipos de carne fueron descritos por los valores de media geométrica y percentil 95. Este modelo asume que todos los individuos consumen la misma cantidad de alimento y que el agente químico está siempre presente en el alimento en el valor medio o superior.

Estos valores se combinaron en cuatro escenarios diferentes para estimar el nivel de ingesta de metales (es decir, niveles de exposición) derivados del consumo de un sólo un tipo de carne, bien de ciervo o de jabalí, o conjuntamente de ambos tipos de carne, en las poblaciones de *cazadores* y *no cazadores*. Los cuatro escenarios para calcular la ingesta fueron los siguientes:

- **Escenario 1:** se combinan valores medios de los datos de consumo de carne de ciervo, de jabalí y de ambos tipos de carne, en las poblaciones de *cazadores* y *no cazadores*, y

valores medios de concentración de metales de la carne de estas especies de caza.

- **Escenario 2:** se combinan valores medios de los datos de consumo de carne de ciervo, de jabalí y de ambos tipos de carne, en las poblaciones de *cazadores* y *no cazadores*, con valores percentil 95 de datos de concentración de metales de la carne de estas especies de caza.
- **Escenario 3:** se combinan valores de percentil 95 de datos de consumo de carne de ciervo, de jabalí y de ambos tipos de carne con los valores medios de los datos de concentración de metales presentes en la carne de estas especies de caza, en sendos tipos de consumidores..
- **Escenario 4:** se combinan valores de percentil 95 de consumo de carne de ciervo, de jabalín y de ambos tipos de carne y datos de concentración de metales presentes en la carne de estas especies de caza.

La evaluación de la exposición se calculó determinando la ingesta de metales usando la siguiente expresión, utilizada indistintamente en ambos modelos (probabilístico y determinista):

$$\text{Ingesta } (\mu\text{g/día o semana}) = \text{consumo de alimentos } (\text{kg/día o semana}) \times [\text{metal pesado}] (\mu\text{g/kg})$$

Los niveles de exposición obtenidos para cada uno de los escenarios considerados se utilizaron para estimar la caracterización del riesgo alimentario.

#### 4.7.4 Caracterización del riesgo

La caracterización del riesgo se calcula de forma diferente según se aplique el modelo probabilístico o determinista.

En el modelo probabilístico, una forma de caracterizar el riesgo es utilizar el concepto PI (Plug Estimator) que se define como la probabilidad de exceder los valores de referencia toxicológicos, de acuerdo a Tressou y cols., (2004) y que se calcula mediante la siguiente expresión:

$$PI = \frac{\#(X_i > PTWI)}{n}$$

Considerando  $X_i$  como el valor de la exposición a un peligro químico determinado para un individuo  $i$  ( $i = 1, \dots, n$ ); la PTWI como la Ingesta Provisional Semanal Tolerable (en inglés, Provisional Tolerable Weekly Intake), donde  $\#(X_i > PTWI)$  denota el número de ingestas que superan el valor de referencia toxicológico establecido, en el caso concreto de plomo.

En otras palabras, el PI es el porcentaje de individuos de una población que están por encima del nivel máximo de ingesta establecido por los organismos internacionales.

En el modelo determinista la caracterización del riesgo se estimó por comparación de la exposición o nivel de ingesta, obtenida para cada uno de los metales y en cada uno de los escenarios, respecto a los valores de referencia toxicológica establecidos por los organismos internacionales. Así se determinaba si el nivel de exposición a un determinado metal estaba o no por encima de los niveles toxicológicos de referencia, lo que estaría indicando un mayor o menor nivel de riesgo alimentario.

#### 4.8 ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO

En el estudio epidemiológico se implementó un cuestionario que tenía como objetivo fundamental la obtención de información sobre factores de riesgo relacionados con la acumulación de metales pesados en especies cinegéticas de caza mayor (ciervo y jabalí).

Se establecieron cinco grupos de factores de riesgo en el cuestionario: 1) identificación y localización geográfica; 2) actividad antropogénica; 3) actividad cinegética; 4) alimentación y 5) gestión cinegética, incluyendo un total de 31 variables y 109 posibles respuestas (anexo 1).

Las encuestas se cumplimentaron en el momento de recogida de las muestras en el campo, bien en las juntas de carne y/o en el cazadero, y siempre fueron administradas al gestor cinegético, y se obtuvieron un total de 27 cuestionarios. Las respuestas de cada variable de cada uno de los cuestionarios se extrapoló al número total de muestras obtenidas y analizadas pertenecientes a cada uno de los cotos muestreados.

Con los datos epidemiológicos obtenidos en los cuestionarios y los resultados de acumulación de metales pesados (variables dependientes) se elaboró una base de datos sobre la que se llevaron a cabo los análisis estadísticos correspondientes.

#### 4.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico de los datos de concentración de metales se llevó a cabo mediante la aplicación de los software: Statistical Package for the Social Sciences *SPSS.15.0* y Statistica for Windows: *Statistica 64bit v10 (StatSoft Inc)*.

Para la estadística descriptiva de los datos de consumo se ha aplicado *Microsoft Excel* (Microsoft, Redmond, Washington), realizándose el análisis estadístico mediante *SPSS 15.0* (SPSS Inc. Chicago, Illinois, EE.UU.).

El análisis estadístico del estudio epidemiológico se realizó utilizando el *SPSS 15.0*.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN







## **Análisis Estadístico**

---



## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE METALES.

#### 5.1.1 Normalidad de las variables: pruebas no paramétricas

Para la utilización de toda la potencia que la estadística paramétrica puede aportar al mejor conocimiento de los datos, fue preciso comprobar el ajuste de los mismos a una distribución normal, requisito imprescindible en este tipo de estudios.

Para ello se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra, contrastando la distribución de la concentración de los distintos metales con los modelos de la distribución normal, resultando que la significación asintótica bilateral fue mayor que 0,05 para todos los metales, lo que indica que las variables se ajustaban a una distribución normal.

#### 5.1.2 Estudio de componentes de la varianza

Se realizó un análisis de componentes de la varianza aplicando el método ANOVA (suma de cuadrados tipo I) para todas las variables estudiadas (metales pesados) y factores de clasificación investigados (especie, órgano, sexo, edad y área geográfica de procedencia). El objetivo era cuantificar el efecto de los factores de clasificación debido a su aleatoriedad sobre la variabilidad total de

la acumulación de metales. Los resultados se muestran en la figura 13.

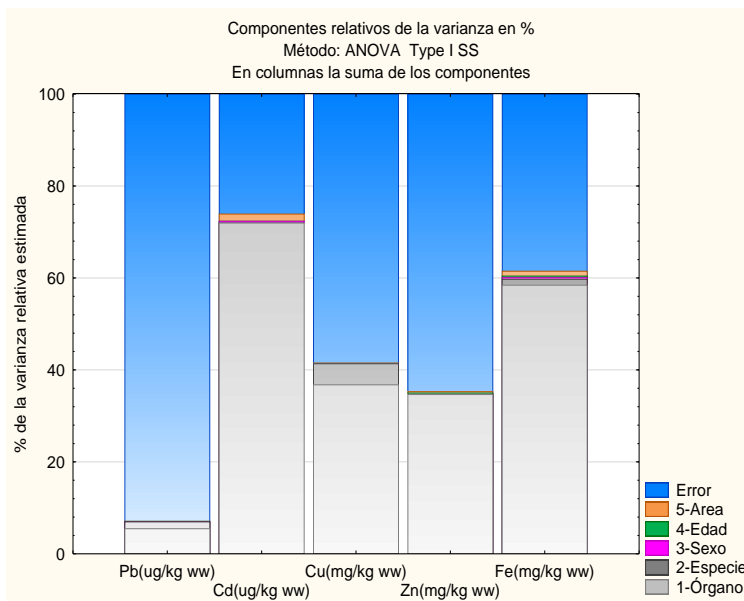


Figura 13. Componentes relativos de la varianza (%) de los principales factores de clasificación

Dentro del modelo se observa que el primer factor destacable en cuanto a la variabilidad explicada es el *órgano* para todos los metales estudiados, especialmente en el caso de cadmio (figura 13).

Este resultado era previsible pues ciertos órganos (hígado y riñón) están altamente implicados en las funciones de almacenamiento, detoxificación y excreción de metales pesados en los organismos animales, por lo que son considerados órganos acumuladores de los mismos.

Al factor *órgano* le sigue en importancia la *especie*, que muestra cierta influencia sobre la acumulación de la mayoría de metales, a excepción del zinc, siendo el segundo factor en importancia para el plomo y el cobre. Los factores *sexo*, *edad* y *área* parecen ser fuentes de escasa variabilidad en la presencia de metales, salvo en el caso del área en los niveles de cadmio y hierro, y la edad en el cinc.

Además se constata que existen factores sin identificar (error) con un peso elevado sobre la variabilidad de la concentración de metales pesados en las muestras analizadas. Concretamente en el caso del plomo, dichos factores desconocidos explican más del 90% de la variabilidad. Se propone como posible causa de esta gran incertidumbre en el origen de la variabilidad de este metal, la propia idiosincrasia de la actividad cinegética. Parte de esta variabilidad en las concentraciones de plomo podría ser debida a una posible contaminación secundaria derivada del uso de la propia munición utilizada en el abate de los animales, lo que ha sido ya descrito con anterioridad por otros autores (Schuehammer y cols., 1998; Johansen y cols., 2004 y 2006; Jarzynska y Falandysz, 2011), aunque no hay ningún estudio que lo corrobore.

### 5.1.3 Análisis de la varianza: Modelo Lineal General

Para estudiar la influencia de los factores de clasificación (*especie*, *órgano*, *sexo*, *edad*, *área geográfica de procedencia* y *estación*) sobre la presencia de metales en especies de caza mayor, se realizó un Análisis de Varianza aplicando el Modelo Lineal General (GLM)

del programa *SPSS 15.0.* y específicamente Contrastes Multivariados y Prueba de los Efectos. Esta herramienta estadística permite obtener información de la interacción entre factores, evitando su solapamiento y garantizando que las diferencias que se observan son consecuencia del propio factor considerado y no de otro con el cual se esté solapando.

Cuando se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en factores con más de dos grupos de clasificación se procedió a realizar un estudio de agrupación de medias mediante el test *post hoc* de Tukey.

#### 5.1.3.1 *Contrastes Multivariados*

Los contrastes multivariados muestran que el conjunto de variables analizadas, de forma general, presentan diferencias estadísticamente significativas en la concentración de metales para todos los factores de clasificación estudiados, así como para la mayoría de sus interacciones. Los niveles de significación de los estadísticos empleados (*traza de Pillai, lambda de Wilks, traza de Hotelling y raíz mayor de Roy*) fueron unívocos en todos los casos.

En la tabla 16 se muestra la matriz de los niveles de significación en el estudio de los contrastes multivariados para los factores de clasificación enfrentados dos a dos. Los valores de significación estadística se clasificaron en cuatro categorías:  $p > 0,05$  (no hay diferencias estadísticamente significativas),  $p < 0,05$

(diferencias estadísticas al 95%),  $p < 0,01$  (diferencias estadísticas al 99%) y  $p < 0,001$  (diferencias estadísticas al 99,9%).

Tabla 16.- Resultados de los contrastes multivariados. Interacciones grado II.

	Área	Edad	Sexo	Órgano	Especie	Estación
Área	$p < 0,001$					
Edad	$p < 0,001$	$p < 0,001$				
Sexo	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,001$			
Órgano	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p > 0,05$	$p < 0,001$		
Especie	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	
Estación	$p < 0,01$	$p < 0,001$	$p > 0,05$	$p < 0,001$	$p < 0,01$	$p < 0,001$

Las interacciones de tercer grado con diferencias estadísticamente significativas, se muestran en una tabla 17.

Tabla 17.- Resultados de los contrastes multivariados. Interacciones grado III.

Area*Edad*Sexo*	$p < 0,001$
Area*Edad*Organo*	$p < 0,01$
Area*Especie*Organo*	$p < 0,001$
Area*Estación*Organo*	$p < 0,001$
Area*Estación*Sexo*	$p < 0,05$
Edad*Sexo*Órgano*	$p < 0,05$
Especie*Sexo*Organo*	$p < 0,001$
Especie*Estación*Area*	$p < 0,001$
Area*Sexo*Especie*	$p < 0,001$
Edad*Sexo*Especie*	$p < 0,001$
Edad*Organo*Especie*	$p < 0,01$



5.1.3.2 Prueba de los Efectos intersujetos.

Una vez estudiados los efectos globales de los factores para el conjunto de los metales investigados se procede a realizar el estudio pormenorizado de cada uno de los metales.

En las siguientes tablas aparece un resumen de los niveles de significación de los resultados obtenidos aplicando el Modelo Lineal General para los diferentes metales estudiados por factores y las interacciones de estos últimos (tabla 18, 19, 20).

Dado que las interacciones de más de 3 factores resultan complejas de analizar y no ofrecían información relevante, no se ha realizado indicación de las mismos

Tabla 18.- Nivel de significación de los factores para los diferentes metales estudiados.

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
FACTOR	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe
órgano	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
especie	p>0,05	p<0,001	p<0,05	p>0,05	p<0,001
sexo	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05	p<0,05
edad	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
área	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05	p>0,05
estación	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Tabla 19.- Nivel de significación de las interacciones nivel II de los factores con los diferentes metales estudiados.

Prueba de los efectos inter-sujetos					
FACTOR	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe
Órgano-especie	p<0,05	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p<0,001
Órgano-sexo	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05
Organo-edad	p>0,05	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p<0,05
Organo-area	p>0,05	p<0,001	p<0,01	p>0,05	p<0,01
Organo-estación	p>0,05	p<0,01	p<0,01	p<0,01	p>0,05
Especie-sexo	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p<0,01	p>0,05
Especie-edad	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,001	p<0,01
Especie-area	p>0,05	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p<0,001
Especie-estación	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,01
Sexo-edad	p>0,05	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p<0,05
Sexo-area	p>0,05	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Sexo-estación	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Edad-area	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Edad-estación	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Área-estación	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05

Tabla 20.- Nivel de significación de las interacciones nivel III de los factores para los diferentes metales estudiados.

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
FACTOR	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe
Organo-especie-sexo	p>0,05	p>0,05	p<0,01	p<0,05	p>0,05
Organo-especie-edad	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,01	p<0,05
Organo-sexo-edad	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Organo-especie-area	p<0,05	p<0,001	p<0,05	p<0,05	p<0,01
Organo-sexo-area	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Organo-edad-área	p>0,05	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p<0,01
Organo-especie-estación	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05
Organo-sexo-estación	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Organo-edad-estación	p<0,01	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Organo-área-estación	p>0,05	p<0,01	p<0,01	p>0,05	p<0,05
Especie-sexo-edad	p>0,05	p<0,01	p>0,05	p<0,01	p<0,01
Especie-sexo-área	p<0,05	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p<0,001
Especie-edad-área	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Especie-sexo-estación	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05
Especie-edad-estación	ND	ND	ND	ND	ND
Especie-área-estación	p<0,01	p<0,001	p>0,05	p>0,05	p<0,05

Tabla 20:- Nivel de significación de las interacciones nivel III de los factores para los diferentes metales estudiados (continuación).

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
FACTOR	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe
Sexo-edad-área	p>0,05	p<0,01	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Sexo-edad-estación	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p>0,05
Sexo-area-estación	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05
Edad-área-estación	ND	ND	ND	ND	ND

#### 5.1.3.2.1 Estudio por órganos

El Modelo Lineal General señala que las concentraciones medias de metales en los distintos órganos analizados presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p<0,001$ ) para todos los elementos estudiados. La siguiente tabla muestra el contenido de metales en los diferentes órganos estudiados (tabla 21).

Tabla 21.- Contenido de metales en diferentes órganos (mg/kg).

Órgano/ Metal	Pb <sup>***</sup>	Cd <sup>***</sup>	Cu <sup>***</sup>	Zn <sup>***</sup>	Fe <sup>***</sup>
Corazón	0,63 ± 1,58 <sup>b</sup>	0,27 ± 0,15 <sup>b</sup>	4,5 ± 1,1 <sup>b</sup>	21,7 ± 3,8 <sup>b</sup>	62 ± 31 <sup>a</sup>
Hígado	0,52 ± 1,12 <sup>b</sup>	0,40 ± 0,12 <sup>d</sup>	7,8 ± 5,4 <sup>c</sup>	35,1 ± 15,3 <sup>d</sup>	255 ± 107 <sup>c</sup>
Músculo	0,92 ± 1,72 <sup>c</sup>	0,047 ± 0,07 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,8 <sup>a</sup>	34,5 ± 14,6 <sup>d</sup>	59 ± 51 <sup>a</sup>
Pulmón	0,88 ± 1,36 <sup>c</sup>	0,32 ± 0,18 <sup>c</sup>	1,6 ± 0,9 <sup>a</sup>	14,2 ± 4,3 <sup>a</sup>	250 ± 115 <sup>c</sup>
Riñón	0,22 ± 0,37 <sup>a</sup>	0,63 ± 0,15 <sup>e</sup>	4,9 ± 2,8 <sup>b</sup>	24,9 ± 6,9 <sup>c</sup>	101 ± 68 <sup>b</sup>

Nivel de significación: <sup>\*\*\*</sup>= $p<0,001$ ;  
grupos homogéneos Tukey: a<b<c<d<e

A continuación se realizó el *análisis de homogeneidad de medias a posteriori de Tukey* para todos los metales. En el caso del plomo se muestran tres grupos homogéneos de concentración, encontrándose las mayores concentraciones en músculo y pulmón, siendo el riñón el órgano que estadísticamente presentaba menores niveles. Hígado y corazón conforman el grupo de concentraciones intermedias.

Actualmente no existe, en la literatura científica, un criterio unánime que permita explicar este mayor contenido de plomo en el músculo. Hay autores que hacen referencia a una mayor exposición ambiental a este contaminante. Otros investigadores lo explican como consecuencia de una contaminación secundaria por la presencia de restos de fragmentos de munición al abatir el animal (Falandysz, 1994; Bilandzic y cols., 2009). Dobrowolska y Melosik (2008) encontraron, en muestras de músculo, mayores niveles de plomo a nivel del punto de entrada y proximidades de la trayectoria seguida por la munición utilizada para abatir el animal. Posiblemente esta mayor concentración de plomo en músculo de especies cinegéticas se pueda explicar por la influencia conjunta de más de un factor.

Respecto al cadmio se establecieron cinco grupos homogéneos. Las concentraciones más elevadas correspondieron a riñón, mientras que los menores niveles se hallaron en músculo. El resto de órganos constituyeron una agrupación de niveles intermedios de cadmio. Estos resultados confirman al riñón como el órgano donde

se produce una mayor acumulación de cadmio, coincidiendo con lo indicado por otros investigadores (Santiago y cols., 1998; Kottferová y Koréneková, 1998; Mevdeved, 1999; Piskorová y cols., 2003; Falandysz y cols., 2005; Lazarus y cols., 2008; Bilandzic y cols., 2009; Jarzynska y Falandysz, 2011).

Lazarus y cols. (2008) describen una mayor tasa de acumulación de cadmio en el riñón que en el hígado. Además, la media de las concentraciones de cadmio determinadas en riñón es mayor que la media de las concentraciones determinadas en hígado, por lo que el cociente  $Cd_{\text{hepático}}/Cd_{\text{renal}}$ , es inferior a 1 en ambas especies (ciervo=0,65; jabalí=0,61), lo que podría ser indicativo de que estas especies han sido expuestas a una contaminación crónica a este elemento (Santiago y cols. 1998).

En relación al contenido de cobre por órganos se establece tres grupos de homogéneos de Tukey, siendo el hígado el que presenta las concentraciones más elevadas, mientras que en pulmón y músculo se encontraron los niveles más bajos. Los valores de cobre en riñón y en corazón se corresponden con una agrupación intermedia de concentración. Los mayores niveles de cobre en hígado han sido igualmente indicados por otros autores (Falandysz, 1994; Zacaroni y cols., 2003; Gasparik y cols., 2004 y Lazarus y cols., 2008).

En el caso del zinc, se diferencian cuatro grupos independientes en base a las concentraciones de este metal. Los

mayores niveles se determinaron en el hígado y músculo, seguido del riñón. Diferentes autores han señalado que el riñón y el músculo se muestran como órganos importante en cuanto a la acumulación de zinc (Falandysz, 1994; Lazarus y cols., 2008), incluso han considerado al músculo como una fuente significativa de zinc (Jarzynska y Falandysz, 2011). Las concentraciones más bajas de zinc se encontraron en el pulmón.

Las diferentes concentraciones de hierro por órganos determinaron la aparición de tres grupos homogéneos. Los mayores niveles de este metal se encontraron en hígado y en pulmón, y los contenidos más bajos en el corazón y músculo, mientras que los niveles en riñón configuraron un grupo homogéneo de concentraciones intermedias. Este patrón de acumulación de hierro es distinto al indicado por otros autores que han señalado al riñón como el órgano que más acumula hierro (Falandysz, 1994; Lazarus y cols., 2008). No obstante, hay que tener en cuenta que este patrón de acumulación de hierro podría estar condicionado por el grado de irrigación sanguínea de cada uno de los órganos y por el volumen de sangre remanente en los mismos posterior a la muerte del animal, ya que, en función de la cantidad de sangre residual, se puede condicionar el contenido en hemoglobina/hierro (Lüker y cols., 1998).

5.1.3.2.2 Estudio por especie

Las medias y desviación típica del contenido total de plomo, cadmio, cobre, hierro y zinc en ciervo y en jabalí se indican en la tabla 22.

Tabla 22.- Contenido de metales en ciervo y jabalí (mg/kg).

Especie	Pb <sup>ns</sup>	Cd <sup>***</sup>	Cu <sup>*</sup>	Zn <sup>ns</sup>	Fe <sup>***</sup>
Ciervo	0,42 ± 0,96	0,35 ± 0,22	4,8 ± 4,6	24,3 ± 11,8	158 ± 121
Jabalí	0,78 ± 1,52	0,38 ± 0,23	4,1 ± 2,6	26,0 ± 12,9	152 ± 122

niveles de significación: ns=nos significativo; \*=p<0,05; \*\*\*=p<0,001

Se establecen diferencias estadísticamente significativas sólo para cadmio (p<0,001), cobre (p<0,05) y hierro (p<0,001). El jabalí presenta el mayor contenido de cadmio y el ciervo los mayores niveles de cobre y de hierro. Otros autores indican resultados diferentes como Santiago y cols., (1998) que señalaron una mayor acumulación de cadmio en ciervo, y Taggart y cols., (2011) que encontraron mayores concentraciones de cobre y menores de cadmio en jabalí respecto al ciervo. Sin embargo, Jarzynska y Falandysz (2011) señalaron que la carne y órganos de ciervo pueden ser considerados una buena fuente de cobre.

Aunque no se establecen diferencias significativas en el contenido de plomo en función de la especie, se encontraron mayores concentraciones de plomo en jabalí respecto al ciervo, lo



que coincide con lo descrito por Santiago y cols., (1998), Reglero y cols., (2009), Taggart y cols., (2011) y Gallego-Rodríguez (2012).

Estos resultados ponen de manifiesto la existencia de ciertas diferencias interespecíficas respecto a la acumulación de metales en ciervo y jabalí. La mayoría de los autores lo justifican por las diferencias en la composición de la dieta y en los hábitos alimentarios entre ambas especies cinegéticas (Santiago y cols., 1998; Kottferova y Koreneková, 1998; Taggart y cols., 2011).

El ciervo es una especie herbívora con un consumo elevado de partes de plantas, principalmente follaje de los árboles, arbustos y especies herbáceas más grandes (Alvarez y cols., 1991; Martínez, 2002). Sin embargo, el jabalí es omnívoro y, aunque una gran parte de su dieta son plantas, también se alimenta de caracoles, pequeños artrópodos terrestres, huevos, etc... Además, el jabalí está más expuesto a la contaminación del suelo debido a su comportamiento en buscar raíces, tubérculos, bulbos, etc...(Taggart y cols., 2009). A este respecto, Zaccaroni y cols., (2003) ya sugirió que, debido a las características etológicas del jabalí, esta especie podría estar altamente expuesta a posibles fuentes de contaminación ambiental.

Otros autores sugieren como posible explicación la distinta conformación anatómica del estómago de sendas especies. El jabalí es una especie monogástrica, con bajos valores de pH en su estómago en comparación con los rumiantes, lo que da lugar a una mejor absorción de los minerales contenidos en su dieta y por tanto

una mayor acumulación (Kreuzer y cols., 1978; Gallego-Rodríguez, 2012).

#### 5.1.3.2.3 Estudio de la asociación entre especie-órgano

Con objeto de comprobar si la distribución por órganos de los elementos analizados era la misma para ambas especies, aplicamos el Modelo Lineal General a un nuevo factor de clasificación que incluyera especie y órgano.

Las concentraciones medias de metales por especie y órgano se muestran en la tabla 23. Todos los metales presentaron diferencias estadísticamente significativas para el factor de asociación especie\*órgano.

A continuación analizamos el comportamiento de los diferentes metales respecto a este nuevo factor.

##### 5.1.3.2.3.1 Plomo

La acumulación de plomo en los órganos estudiados no responde a un patrón común, sino que varía en función de la especie. Se aprecia que el jabalí tiende a acumular más plomo en sus órganos que el ciervo, salvo en el caso del pulmón donde es prácticamente igual (tabla 23).

El músculo de jabalí es el órgano que más plomo acumula, aspecto que ha sido reseñado por algunos autores (Bilandzic y cols.,

2009; Taggart y cols., 2011). No obstante, otros estudios han indicado que el plomo se acumula preferentemente en el riñón (Piskoravá y cols., 2003; Jarzynska y Falandysz, 2011) o en el hígado (Kottferová y Koréneková, 1998).

Tabla 23.- Contenido medio de metales y grupos homogéneos de Tukey en los órganos de ciervo y jabalí (mg/kg)

Especie	Órgano	Pb <sup>***</sup>	Cd <sup>*</sup>	Cu <sup>***</sup>	Zn <sup>***</sup>	Fe <sup>***</sup>
Ciervo	Corazón	0,34 ± 1,08 <sup>ab</sup>	0,24 ± 0,14 <sup>b</sup>	4,7 ± 1,17 <sup>bc</sup>	21,3 ± 3,3 <sup>b</sup>	62 ± 31 <sup>a</sup>
	Hígado	0,35 ± 0,67 <sup>ab</sup>	0,39 ± 0,12 <sup>d</sup>	10,3 ± 6,73 <sup>e</sup>	29,5 ± 9,9 <sup>e</sup>	242 ± 98 <sup>cd</sup>
	Músculo	0,33 ± 0,85 <sup>ab</sup>	0,03 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,67 ± 0,66 <sup>a</sup>	43,7 ± 16,3 <sup>g</sup>	56 ± 45 <sup>a</sup>
	Pulmón	0,89 ± 1,35 <sup>cd</sup>	0,23 ± 0,18 <sup>bc</sup>	1,71 ± 1,12 <sup>a</sup>	12,9 ± 4,7 <sup>a</sup>	281 ± 102 <sup>e</sup>
	Riñón	0,15 ± 0,14 <sup>a</sup>	0,60 ± 0,14 <sup>e</sup>	3,85 ± 1,00 <sup>b</sup>	25,8 ± 7,9 <sup>cd</sup>	92 ± 55 <sup>b</sup>
Jabalí	Corazón	0,91 ± 1,91 <sup>cd</sup>	0,30 ± 0,16 <sup>c</sup>	4,38 ± 0,93 <sup>b</sup>	22,1 ± 4,1 <sup>b</sup>	62 ± 30 <sup>a</sup>
	Hígado	0,67 ± 1,40 <sup>bc</sup>	0,41 ± 0,13 <sup>d</sup>	5,61 ± 2,16 <sup>cd</sup>	40,1 ± 17,5 <sup>f</sup>	266 ± 114 <sup>de</sup>
	Músculo	1,29 ± 2,01 <sup>d</sup>	0,06 ± 0,08 <sup>a</sup>	2,32 ± 0,69 <sup>a</sup>	28,6 ± 9,45 <sup>de</sup>	62 ± 55 <sup>a</sup>
	Pulmón	0,87 ± 1,38 <sup>cd</sup>	0,37 ± 0,17 <sup>d</sup>	1,43 ± 0,65 <sup>a</sup>	15,5 ± 3,4 <sup>a</sup>	220 ± 118 <sup>c</sup>
	Riñón	0,30 ± 0,49 <sup>ab</sup>	0,67 ± 0,16 <sup>f</sup>	6,04 ± 3,44 <sup>d</sup>	24,0 ± 5,6 <sup>bc</sup>	111 ± 77 <sup>b</sup>

Nivel de significación: \*\*\*=p<0,001; \*=p<0,05

Grupos homogéneos de Tukey: a<ab<b<bc<c<cd<d<de<e<ef<f<g

Las concentraciones de plomo en músculo de jabalí, determinadas en este estudio (1,29 mg/kg), son ligeramente superiores a las descritas por Kottferová y Koréneková, (1998), Ritmus y Wolf (1987), Piskorová y cols., (2003) y Gallego-Rodriguez, (2012), aunque muy similares a las encontradas por Taggart y cols. (2011). En general los niveles de plomo en el músculo de jabalí oscilaron entre 0,08 mg/kg (w/w) indicado por Ritmus y Wolf (1987) y 1,36 mg/kg (w/w) determinado por Taggart y cols., (2011) (tabla 24).

Los niveles de plomo en el hígado de jabalí variaron entre 0,06 mg/kg (w/w) determinado por Bilandzic y cols., (2009) y 2,6 mg/kg (w/w) indicado por Santiago y cols., (1998), mientras que en el riñón oscilaron entre 0,06 mg/kg (w/w) y 0,6 mg/kg (w/w) indicados por estos mismos autores.

Tabla 24.- Niveles medios de plomo y cadmio en jabalí (mg/kg) descritos por otros autores.

Referencia	País	Hígado		Riñón		Músculo	
		Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd
Kottferová y Koréneková 1998		0,67	0,44	0,25	0,24	0,28	0,02
Piskorová y cols., 2003	Eslovenia	0,24	0,28	0,39	0,56	0,17	0,04
Ritmus y Wolf 1987		0,3	0,15	0,2	2,1	0,08	0,01
		0,65	0,65	0,5	4,5	0,5	0,1
Falandysz, 1994	Polonia	ND		ND		0,09	0,01
Medvedev, 1999	Rusia	0,46	0,16	0,29	0,68	0,27	0,04
Bilandzic y cols 2009	Croacia	0,06	0,3	0,06	3,5	0,08	0,01
		0,2	0,5	0,4	6	2,3	0,2
Santiago y cols. 1998		2,6	0,28	0,6	1,35		ND
Taggart y cols. 2011	España			ND		1,36	0,04
Gallego, 2012		2,1	1,60	0,06	0,62	0,78	0,011

En el caso del ciervo, las concentraciones de plomo halladas en músculo (0,33 mg/kg) están en consonancia con los niveles establecidos por Kottferová y Koréneková, (1998), Drozd y Karpinski, (1997) y Taggart y cols., (2011), sin embargo fue menor al nivel descrito por Hernández y cols., (1985) y Gallego-Rodríguez, (2012) (tabla 25).

Tabla 25.- Niveles medios de plomo y cadmio en ciervo descritos por otros autores (mg/kg).

Referencia	País	Hígado		Riñón		Músculo	
		Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd
Kottferová y Koréneková 1998	Eslovenia	0,32	0,3	0,48	2,2	0,35	0,03
Falandysz y cols. 2005	Polonia	0,26	0,19	0,31	2,2	0,22	0,1
Jarzynska y Falandysz, 2011		0,05	0,18	0,079	3,3	0,025	0,07
Szkoda y Zmudzki, 2001		0,1	0,2	0,22	1,9	0,12	0,015
Drozd y Karpinski, 1997		0,7	0,039	0,38	0,43	0,39	0,005
Wolkers y cols. 1994	P. Bajos	1,27	0,21	7,5	0,93	ND	
Lazarus y cols., 2008	Croacia	0,095	0,18	0,09	2,65	0,15	0,115
Bilandzic y cols 2009		0,08 0,1	0,1 0,19	0,06 0,36	1 2,5	0,06	0,01 0,07
Hernández y cols., 1985			ND			0,90	0,07
Santiago y cols. 1998		0,57	0,21	0,33	2,16	ND	
Reglero y cols. 2008	España	0,2 0,36	0,23 0,25			ND	
Taggart y cols. 2011			ND			0,32	0,065
Gallego-Rodríguez, 2012		1,55	1,31	0,13	1,13	0,55	0,016

Se coincide en señalar que estas diferencias entre especies y órganos podrían estar relacionadas básicamente con la composición de la dieta y hábitos alimentarios distintos de ambas especies, estando el jabalí más expuesto a los contaminantes del suelo, como ya se ha descrito anteriormente.

#### 5.1.3.2.3.2 Cadmio

El cadmio presenta un patrón de distribución similar en ambas especies, aunque los niveles de cadmio en jabalí fueron ligeramente superiores en todos los órganos respecto a los encontrados en el ciervo. Las mayores concentraciones se hallaron en el riñón y el hígado, mientras que el músculo fue el órgano que presentó menos concentración de cadmio tanto en el ciervo como en el jabalí (Tabla 23). El hígado y el riñón acumulan aproximadamente el 50% del total de cadmio en el organismo y se considera al riñón como el principal órgano de detoxificación del cadmio (Schuehammer, 1987).

Estos resultados están en consonancia con lo descrito por la mayoría de los autores (tablas 24 y 25). La concentración de cadmio determinada en el riñón de jabalí es similar a la descrita anteriormente por Medvedev (1999), Piskorová y cols., (2003), y Gallego-Rodríguez, (2012), aunque es ligeramente inferior a la señalada por Santiago y cols., (1997). En el ciervo el contenido fue similar al determinado por Drozd y Karpinski, (1997) pero menor al



indicado por Wolkers y cols., (1994), Santiago y cols., (1998) y Gallego-Rodríguez, (2012) (tabla 24).

De otra parte, el nivel de cadmio en el músculo de jabalí determinado en este estudio (0,06 mg/kg), es similar al determinado por Medvedev, (1999), Piskorova y cols., (2003) y Taggart y cols., (2011), pero superior al descrito por Kottferová y Koréneková, (1998) y Gallego-Rodríguez, (2012). En el ciervo, el contenido de cadmio fue inferior al descrito por Hernández y cols., (1985) y Taggart y cols., (2011), pero algo superior al indicado por Gallego-Rodríguez, (2012).

En relación al contenido de cadmio en el hígado, los niveles fueron prácticamente iguales en el ciervo (0,39 mg/kg) y el jabalí (0,41 mg/kg), y estuvieron en consonancia con los niveles determinados por otros autores en el ciervo (Kottferová y Koréneková, 1998; Reglero y cols., 2008) y en el jabalí (Kottferová y Koréneková, 1998; Bilandzic y cols., 2009 y Ritmus y Wolf, 1987), pero fueron inferiores a los señalados por Gallego-Rodríguez, (2012) para sendas especies cinegéticas (tablas 24 y 25).

#### 5.1.3.2.3.3 Cobre

Se observa que las concentraciones de cobre tienden a ser superiores en el hígado de ciervo y en el riñón de jabalí. En el resto de los órganos los contenidos medios son muy similares en ambas especies, siendo el pulmón y músculo los que menores niveles de

cobre presentan (tabla 23). Este mismo patrón de acumulación de cobre en ciervo y jabalí ha sido descrito por otros autores (tabla 26).

Tabla 26.- Niveles medios de cobre en ciervo y jabalí descrito por otros autores (mg/kg).

Especie	País	Hígado	Riñón	Músculo	Referencia
<i>Sus scrofa</i>	Polonia	4,5	6,3	1,6	Falandysz, 1994
		16	5,2	3,3	Falandysz y cols. 2005
		16	6,9	3,3	Jarzynska Y Falandysz 2011
<i>Cervus elaphus</i>	Polonia	4,8	2,6		Szymaczyk y Zalewski, 2001
		12	5,9	1,9	Michalska y Zmndzki,1992
		1,3	7,5	2,8	Karpinski 1999
	Croacia		5,2		Lazarus y cols., 2005
		14,7	4,8	3,5	Lazarus y cols., 2008

Los contenidos medios de cobre en el hígado, riñón y músculo de jabalí son similares a los indicados por Falandysz, (1994). En el ciervo, la concentración determinada de cobre en hígado, riñón y músculo es ligeramente inferior a la señalada por otros autores.

Se ha sugerido que el músculo y otros órganos de ciervo y jabalí podrían ser una adecuada fuente alimenticia de cobre, (Jarzynska y Falandysz, 2011).

#### 5.1.3.2.3.4 Zinc

El contenido de zinc sigue un patrón similar en los distintos órganos entre ciervo y jabalí (tabla 23). Los niveles más alto de este

metal en encuentra en el músculo de ciervo y en el hígado de jabalí. Las concentraciones más bajas se obtuvieron en el pulmón para ambas especies cinegéticas. Estos resultados son comparables con los descritos por Falandysz, (1994) en jabalí y por Michalska y Zmndzki, (1992); Karpinski, (1999); Lazarus y cols., (2008) y Jarzynska y Falandysz, (2011) en el ciervo (tabla 27). Jarzynska y Falandysz, (2011) consideran que el consumo de músculo de ciervo pudiera suponer un importante de aporte a la ingesta de cinc.

Tabla 27.- Niveles medios de cinc en ciervo y jabalí descrito por otros autores (mg/kg).

Especie	País	Hígado	Riñón	Músculo	Referencia
<i>Sus scrofa</i>	Polonia	47	30	34	Falandysz, 1994
		31	30	39	Falandysz y cols. 2005
<i>Cervus elaphus</i>	Polonia	33	43	46	Jarzynska G. Y Falandysz 2011
		37	46		Szymaczyk y Zalewski, 2001
		38	36	42	Michalska y Zmndzki,1992
	Croacia	55	60	72	Karpinski 1999
		28	34	44	Lazarus y cols., 2008

#### 5.1.3.2.3.5 Hierro

El ciervo y el jabalí muestran un patrón de distribución del hierro por órganos bastante similar, aunque con ciertas matizaciones. Las mayores concentraciones de hierro se encontraron en el pulmón de ciervo y en el hígado de jabalí, mientras que los

niveles más bajos se encontraron en el corazón y músculo de ciervo y de jabalí (Tabla 23).

Tabla 28.- Niveles medios de hierro en ciervo y jabalí descrito por otros autores (mg/kg).

Especie	País	Hígado	Riñón	Músculo	Referencia
<i>Sus scrofa</i>	Polonia	54	82	24	Falandysz, 1994
	Polonia	40	67	31	Falandysz, 1994
<i>Cervus elaphus</i>	Croacia		108		Lazarus y cols., 2005
		68	101	74	Lazarus y cols., 2008

El hierro es un elemento esencial que se acumula generalmente a nivel de hígado y/o riñón en comparación con el músculo (Falandysz, 1994). Los valores de hierro hallados en la presente estudio en riñón de ciervo (92 mg/kg) son similares a los descritos por otros autores, mientras los contenidos en hígado (242 mg/kg) son muy superiores y los niveles en músculo (56 mg/kg) menores a los indicados. En el caso del jabalí, los niveles de hierro en hígado (266 mg/kg), riñón (111 mg/kg) y músculo (62 mg/kg) están muy por encima de los indicados por Falandysz (1994) (tabla 28).

5.1.3.2.4 Estudio por sexo y la asociación sexo-especie\*

Se observa una tendencia de mayores concentraciones de metales en hembras, aunque sólo se establecen diferencias estadísticamente significativas entre sexos para el contenido de cadmio ( $p<0.001$ ) y de hierro ( $p<0,05$ ) (tabla 29).

Tabla 29.- Niveles de metales en machos y hembras (mg/kg).

Sexo	Pb <sup>ns</sup>	Cd <sup>***</sup>	Cu <sup>ns</sup>	Zn <sup>ns</sup>	Fe <sup>*</sup>
Hembras	0,68 ± 1,49	0,37 ± 0,23	4,3 ± 3,1	25,3 ± 11,7	162 ± 130
Machos	0,54 ± 1,11	0,36 ± 0,22	4,5 ± 4,1	25,1 ± 13,1	149 ± 115

---

niveles de significación: \*= $p<0,05$ ; \*\*\*= $p<0,001$

No obstante, hay que señalar que este análisis considera el total de individuos, independientemente de si se trata de ciervos y/o jabalíes. Por ello habría que analizar y discutir la asociación sexo y especie.

Cuando se estudia dicha interacción se encuentran diferencias estadísticamente significativas en los contenidos medios de cadmio ( $p<0,001$ ), cobre ( $p<0,001$ ) y zinc ( $p<0,01$ ) entre sexos de ciervo y jabalí (tabla 30). En el jabalí, los valores de cadmio, cobre y zinc son más elevados en las hembras respecto a los machos. En el caso del ciervo, son los machos los que presentaron mayores niveles (tabla 30).

Sin embargo, la influencia del sexo sobre los niveles de metales en especies cinegéticas no se ajusta a unos criterios definidos, y no parece ser relevante en relación con el patrón de acumulación de metales (Tataruch y Kierdorf, 2003).

En unos casos, no se establecieron diferencias significativas en el contenido de cadmio entre hembras y machos (Medvedev, 1997; Pokorny, 2000). Otros autores sí indicaron diferencias en los niveles de metales en función del sexo. Así Vengust y Vengust, (2004) encontraron mayores concentraciones de hierro en hembras de gamo (*Dama dama*). Y Gallego-Rodríguez, (2012), estudiando ciervo y jabalí, en Extremadura, encontró diferencias significativas en los niveles de cadmio y plomo entre los sexos de ambas especies cinegéticas. En el caso de los ciervos, los machos tendieron a acumular mayores concentraciones de metales que las hembras. En el jabalí los niveles más elevados se observaron en las hembras.

Tabla 30.- Niveles de metales en machos y hembras de ciervo y jabalí (mg/kg).

Especie	SEXO	Pb <sup>ns</sup>	Cd <sup>***</sup>	Cu <sup>***</sup>	Zn <sup>**</sup>	Fe <sup>ns</sup>
Ciervo	Hembra	0,43 ± 1,02	0,32 ± 0,22	4,4 ± 3,6	23,2 ± 9,4	159 ± 130
	Macho	0,42 ± 0,93	0,35 ± 0,22	5,0 ± 4,9	24,8 ± 12,6	158 ± 118
Jabalí	Hembra	0,79 ± 1,64	0,39 ± 0,24	4,3 ± 2,9	26,2 ± 12,4	164 ± 130
	Macho	0,76 ± 1,33	0,38 ± 0,23	3,8 ± 2,1	25,7 ± 13,8	135 ± 108

Niveles de significación: \*\*\*=p<0.001

5.1.3.2.5 Estudio por edad

Para la variable edad sólo se han encontrado diferencias estadísticamente significativas para el contenido del cadmio ( $p < 0,05$ ). Los datos indican mayores niveles de cadmio en los individuos jóvenes respecto a adultos (tabla 31).

Tabla 31.- Niveles de metales en animales jóvenes y adultos (mg/kg).

Edad	Pb <sup>ns</sup>	Cd*	Cu <sup>ns</sup>	Zn <sup>ns</sup>	Fe <sup>ns</sup>
Adulto	0,59 ± 1,27	0,36 ± 0,23	4,4 ± 3,6	24,5 ± 11,5	156 ± 125
Joven	0,63 ± 1,35	0,38 ± 0,22	4,5 ± 4,0	27,0 ± 14,6	154 ± 113

nivel de significación: \*= $p < 0,05$

Cuando comparamos los niveles de los distintos metales en cada una de las especies y órganos, se observa que el ciervo presentaba mayores contenidos de cadmio (excepto en pulmón), cobre, hierro, y zinc (excepto en hígado y pulmón) en animales jóvenes en la mayoría de los órganos. Mientras que el contenido de plomo fue mayor en adultos en la mayoría de los órganos, excepto en corazón.

Por su parte, el jabalí presentó mayores niveles de plomo (excepto músculo y pulmón), de cobre (excepto en músculo) y de hierro (excepto en riñón) en individuos adultos. Sin embargo las concentraciones de cadmio (excepto en pulmón e hígado) y de zinc (excepto corazón) fueron superiores en animales jóvenes.



La mayoría de los estudios realizados por otros autores han mostrado un mayor contenido de plomo (Lazarus y cols., 2005; Rudi, 2010) y de cadmio (Falandysz, 1994; Wolkers y cols., 1994; Kottferová y Koréneková, 1998; Parker y Hamr, 2001; Zaccaroni y cols., 2003; Lazarus y cols., 2005; Bilandzic y cols., 2009;) en determinados órganos, con la edad, para una especie determinada, indicándose, en algunos casos, que este incremento se debe básicamente a procesos de bioacumulación derivados de una exposición crónica a este metal y/o al diferente papel de cada órgano en su metabolismo (Custer y cols., 2004; Lazarus y cols., 2008; Jarzynska y Falandysz, 2011).

Recientemente Gallego-Rodríguez (2012), ha observado que se produce un cierto incremento del cadmio en el riñón del ciervo, y en el músculo, hígado y riñón de jabalí. Aunque observó una cierta disminución del contenido de plomo, en función de la edad, en estas mismas especies.

#### 5.1.3.2.6 Estudio por area

El cadmio es el único elemento que presentó concentraciones estadísticamente significativas en función del área ( $p < 0.001$ ) (tabla 32).

Las áreas de la Vega del Guadalquivir y la del Alto Guadiato se correspondieron con el grupo de mayores concentraciones de cadmio. Los menores niveles de cadmio se encontraron en el área del Alto Guadalquivir, quedando el área de Los Pedroches como un grupo de transición con concentraciones intermedias.

Estos datos son similares a los descritos por Santiago y cols., (1998) quienes establecieron mayores niveles de cadmio en animales procedentes de las áreas Norte y Central de la provincia de Córdoba (donde se sitúan las zonas del Alto Guadiato y Vega del Guadalquivir), frente a las concentraciones menores observadas en animales de la zona Este (donde se encuentran las zona del Alto Guadalquivir y la del Valle de los Pedroches).

Tabla 32.- Niveles de metales en diferentes áreas (mg/kg).

Area/Metal	Pb <sup>ns</sup>	Cd <sup>***</sup>	Cu <sup>ns</sup>	Zn <sup>ns</sup>	Fe <sup>ns</sup>
AGUAD <sup>1</sup>	0,61 ± 1,33	0,37 ± 0,22 <sup>b</sup>	4,4 ± 3,8	26,3 ± 13,3	153 ± 119
AGVIR <sup>1</sup>	0,73 ± 1,35	0,34 ± 0,25 <sup>a</sup>	4,5 ± 3,1	25,7 ± 13,6	138 ± 104
PCHES <sup>1</sup>	0,64 ± 1,48	0,36 ± 0,22 <sup>ab</sup>	4,7 ± 4,8	25,4 ± 11,3	169 ± 126
VG VIR <sup>1</sup>	0,50 ± 1,09	0,37 ± 0,23 <sup>b</sup>	4,2 ± 3,4	22,2 ± 10,4	162 ± 131

<sup>1</sup>AGUAD=Alto Guadiato, AGVIR=Alto Guadalquivir, PCHES=Pedroches, VG VIR=Vega del Guadalquivir

Nivel de significación: \*\*\*=p<0,001; subgrupos homogéneos Tukey: a<b<c

Se señala que la actividad minera está más extendida en el área Norte y que la zona Centro de la provincia de Córdoba podría estar más contaminada que las otras áreas como consecuencia de las deposiciones del cauce del río Guadalquivir, lo que podría explicar el mayor contenido de metales (plomo y cadmio) en los animales de vida libre de estas zonas (Santiago y cols., 1998). Otros autores justifican el efecto del área geográfica en función de la influencia de sus características geológicas y atmosféricas específicas (Later y Nagy, 2000), o bien de acuerdo al desarrollo de actividades industriales (Miranda y cols., 2006), agrícolas (Custer y cols., 1984) y/o minera (Taggart y cols., 2011).

#### 5.1.3.2.7 Estación

El Modelo General Lineal y la prueba de los efectos inter-sujetos indican que no se establecen diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los metales estudiados respecto a la estación (Tabla 18). No obstante, si se observa significación cuando se trata de sus interacciones con otros factores.

#### 5.1.3.2.8 Estudio de la asociación especie\* organo\*sexo

*La especie, el órgano y el sexo* son los tres factores que, en general, ocasionan las diferencias con mayores niveles de significación para los metales estudiados, así como de sus interacciones. Por ello se ha realizado un estudio *post hoc de Tukey*

para tratar de generar los grupos homogéneos que permita comprender mejor cómo interactúan dichos factores.

#### **5.1.3.2.8.1 Plomo**

El estudio *post hoc de Tukey* para plomo, establece cinco grupos homogéneos (tabla 33), siendo el músculo de jabalí (tanto macho como hembra) el que presenta valores más altos de plomo, sin que haya diferencias estadísticas entre sexos en esta especie (1,3 y 1,2 mg/kg respectivamente). Y el grupo de menor concentración lo forma el músculo de ciervo hembra (0,18 mg/kg) y los riñones de ciervo hembra y macho (0,15 mg/kg).

En general, se podría afirmar que el contenido de plomo es prácticamente similar en hembras y machos de ciervos y jabalíes, existiendo sólo diferencias significativas en el músculo de ciervo y en el corazón de jabalí. Mientras la bibliografía señala que las hembras generalmente acumulan más plomo en sus tejidos que los machos, en este estudio se ha observado mayores niveles de plomo en los machos de ciervo (0,387 mg/kg) respecto a las hembras (0,176 mg/kg). En el jabalí el corazón de hembra (0,970 mg/kg) tiene concentraciones superiores que los machos (0,791 mg/kg).

Tabla 33.- Grupos homogéneos de plomo para la interacción especie\*órgano\*sexo (mg/kg w/w).

E*O*S	N	Media
CRm	140	0,147 <sup>a</sup>
CRh	56	0,153 <sup>a</sup>
CMh	15	0,176 <sup>a</sup>
JRh	118	0,289 <sup>ab</sup>
JRm	80	0,329 <sup>ab</sup>
CHm	144	0,333 <sup>ab</sup>
CCm	144	0,337 <sup>ab</sup>
CHh	52	0,341 <sup>ab</sup>
CMm	67	0,387 <sup>ab</sup>
CCh	57	0,402 <sup>ab</sup>
JHm	84	0,688 <sup>abc</sup>
JHh	130	0,690 <sup>abc</sup>
JCm	84	0,791 <sup>abc</sup>
JPh	130	0,798 <sup>abc</sup>
JPm	82	0,885 <sup>abc</sup>
CPh	56	0,897 <sup>abc</sup>
CPm	139	0,904 <sup>abc</sup>
JCh	124	0,970 <sup>bc</sup>
JMh	78	1,205 <sup>c</sup>
JMm	52	1,309 <sup>c</sup>

grupos homogéneos Tukey: a&lt;ab&lt;abc&lt;bc&lt;c

Algunos estudios de metales pesados en especies cinegéticas han encontrado que el sexo de los animales tenía influencia sobre los valores observados en los distintos elementos analizados (Pokorny, 2000).

#### 5.1.3.2.8.2 Cadmio

Para el cadmio se establecieron diez grupos homogéneos. En general, el jabalí presentó mayores niveles de cadmio en sus tejidos que el ciervo (tabla 34). El riñón de machos y hembras de jabalí (0,66 mg/kg para ambos) y de ciervo (0,61 mg/kg) conformaron la agrupación con los valores más altos de cadmio, confirmando al riñón como órgano diana de acumulación de este metal en sendas especies. Mientras que el músculo de hembras y machos de ciervo (0,03 y 0,04 mg/kg respectivamente) y jabalí (0,06 mg/kg), constituyeron el grupo con menor concentración de cadmio.

Por otra parte en el jabalí sólo se observaron diferencias significativas entre sexos en el corazón, donde los machos (0,31 mg/kg) presentaron mayores niveles que las hembras (0,30 mg/kg). En el ciervo se determinaron niveles significativamente superiores de cadmio en el hígado, pulmón y corazón de machos (0,40; 0,30 y 0,26 mg/kg) frente a las hembras (0,35; 0,22 y 0,20 mg/kg respectivamente).

Tabla 34.- Grupos homogéneos de cadmio para la interacción especie\*órgano\*sexo (mg/kg w/w).

E*O*S	N	Media
CMh	15	0,033a
CMm	67	0,037a
JMh	78	0,057a
JMm	52	0,061a
CCh	57	0,200 <sup>b</sup>
CPh	56	0,220 <sup>bc</sup>
CCm	144	0,263 <sup>bcd</sup>
CPm	139	0,304 <sup>cde</sup>
JCh	124	0,306 <sup>cde</sup>
JCm	84	0,310 <sup>def</sup>
CHh	52	0,346 <sup>defg</sup>
JPm	82	0,368 <sup>efg</sup>
JPh	130	0,369 <sup>efg</sup>
CHm	144	0,398 <sup>fg</sup>
JHm	84	0,401 <sup>g</sup>
JHh	130	0,414 <sup>g</sup>
CRh	56	0,595 <sup>h</sup>
CRm	140	0,613 <sup>h</sup>
JRh	118	0,661 <sup>h</sup>
JRm	80	0,662 <sup>h</sup>

Agrupaciones homogéneas Tukey:  
a<b<bc<bcd<cde<def<defg<efg<fg<g<h



### 5.1.3.2.8.3 Cobre

En el caso del cobre se establecen once grupos homogéneos (tabla 35), destacando el hígado de ciervo macho (10,79 mg/kg) como el grupo de mayores concentraciones. Los menores niveles de cobre se corresponden con el pulmón de jabalí (1,42-1,53 mg/kg en machos y hembras respectivamente) y ciervo (1,55-1,78 mg/kg en hembras y machos), así como el músculo de ciervo, tanto machos (1,56 mg/kg) como hembras (2,06 mg/kg).

En general, el jabalí presentó mayores concentraciones de cobre en el músculo y en el riñón que el ciervo, mientras que el ciervo presentó niveles superiores en el hígado. Por otra parte los datos señalan que las hembras de jabalí generalmente tienen mayores concentraciones de cobre que los machos y estas diferencias fueron significativas en el hígado, riñón y pulmón. En el ciervo no se observa una tendencia clara respecto a la acumulación de cobre en los diferentes tejidos, y se observaron mayores niveles de este metal en el hígado de machos (10,79 mg/kg) frente a las hembras (8,36 mg/kg), y en riñón de hembras (4,0 mg/kg) frente a los machos (0,383 mg/kg).

Tabla 35.- Grupos homogéneos de cobre para la interacción especie\*órgano\*sexo (mg/kg w/w).

E*O*S	N	Media
JPm	82	1,42 <sup>a</sup>
JPh	130	1,53 <sup>a</sup>
CPh	56	1,55 <sup>a</sup>
CMm	67	1,58 <sup>a</sup>
CPm	139	1,78 <sup>a</sup>
CMh	15	2,06 <sup>a</sup>
JMm	52	2,20 <sup>ab</sup>
JMh	78	2,43 <sup>abc</sup>
CRm	140	3,83 <sup>bcd</sup>
CRh	56	4,00 <sup>def</sup>
JCm	84	4,20 <sup>fg</sup>
CCh	57	4,27 <sup>fg</sup>
JCh	124	4,52 <sup>fg</sup>
CCm	144	5,02 <sup>fg</sup>
JRm	80	5,09 <sup>fg</sup>
JHm	84	5,36 <sup>fgh</sup>
JHh	130	5,49 <sup>gh</sup>
JRh	118	6,77 <sup>hi</sup>
CHh	52	8,36 <sup>i</sup>
CHm	144	10,79 <sup>j</sup>

subgrupos homogéneos Tukey: a<ab<abc<bcd<def<fg<fgh<gh<hi<i<j

#### 5.1.3.2.8.4 Cinc

Se establecen quince grupos homogéneos para el contenido de zinc (tabla 36), siendo el músculo de ciervo macho (45,5 mg/kg) y el hígado de jabalí macho (41 mg/kg) los que presentan valores estadísticamente más altos de este metal, mientras que el grupo con menores concentraciones se correspondió con el pulmón de ciervo, tanto hembras (14,45 mg/kg) como machos (12,26 mg/kg) y de jabalí hembra (15,43 mg/kg).

#### 5.1.3.2.8.5 Hierro

Respecto al contenido de hierro, el estudio *post hoc de Tukey* establece siete grupos homogéneos (tabla 37), entre los que destacan el pulmón de ciervo macho y el hígado de jabalí hembra como los grupos de mayores niveles (289 mg/kg). Por el contrario, es el músculo de ciervo y jabalí machos, junto con el corazón de ciervo hembra y de jabalí macho los que presentan menores concentraciones.

Tabla 36.- Grupos homogéneos de cinc para la interacción especie\*órgano\*sexo (mg/kg w/w).

ExOxS	N	Media
CPm	139	12,26 <sup>a</sup>
CPh	56	14,45 <sup>a</sup>
JPh	130	15,43 <sup>a</sup>
JPm	82	15,76 <sup>ab</sup>
CCh	57	21,12 <sup>bc</sup>
JCm	84	21,19 <sup>bcd</sup>
CCm	144	21,42 <sup>cd</sup>
JCh	124	22,80 <sup>cde</sup>
JRm	80	23,32 <sup>cde</sup>
CRh	56	23,61 <sup>cdef</sup>
JRh	118	24,67 <sup>cdefg</sup>
CRm	140	26,77 <sup>defgh</sup>
JMm	52	27,87 <sup>efgh</sup>
CHm	144	29,20 <sup>fgh</sup>
JMh	78	30,09 <sup>ghi</sup>
CHh	52	30,31 <sup>hi</sup>
CMh	15	35,11 <sup>ij</sup>
JHh	130	40,45 <sup>jk</sup>
JHm	84	41,27 <sup>k</sup>
CMm	67	45,51 <sup>k</sup>

grupos homogéneos Tukey:

a&lt;ab&lt;bcd&lt;cd&lt;cde&lt;cdef&lt;cdefg&lt;defgh&lt;efgh&lt;fgh&lt;ghi&lt;hi&lt;ij&lt;jk&lt;k

Tabla 37.- Grupos homogéneos de hierro para la interacción especie\*órgano\*sexo (mg/kg w/w).

E*O*S	N	Media
JMm	52	47,9 <sup>a</sup>
CMm	67	53,2 <sup>a</sup>
CCh	57	54,8 <sup>a</sup>
JCm	84	57,0 <sup>a</sup>
CCm	144	64,7 <sup>ab</sup>
JCh	124	66,0 <sup>ab</sup>
CMh	15	66,1 <sup>ab</sup>
JMh	78	70,7 <sup>ab</sup>
CRh	56	82,1 <sup>ab</sup>
CRm	140	96,4 <sup>ab</sup>
JRm	80	110,3 <sup>b</sup>
JRh	118	111,4 <sup>b</sup>
JPm	82	201,1 <sup>c</sup>
JHm	84	228,4 <sup>cd</sup>
CHm	144	234,6 <sup>cd</sup>
JPh	130	236,6 <sup>cd</sup>
CPh	56	262,2 <sup>de</sup>
CHh	52	267,4 <sup>de</sup>
JHh	130	288,8 <sup>e</sup>
CPm	139	288,9 <sup>e</sup>

grupos homogéneos Tukey: a<ab<b<c<cd<de<e

## 5.1.4 Análisis estadístico multivariante: correlaciones, estudio cluster y componentes principales

### 5.1.4.1 Correlación

En la tabla 38 aparecen los resultados del estudio de correlaciones, indicándose los coeficientes de correlación y la probabilidad asociada a cada par de variables estudiadas. Al ser los coeficientes de correlación idénticos, simétricamente a uno y otro lado de la diagonal, los valores sólo se han expuesto en el cuadrante superior derecho, mientras que en el cuadrante inferior izquierdo se indica el nivel de significación de los niveles de correlación. En la matriz de correlaciones se puede apreciar que el plomo presenta una correlación negativa con todos los elementos, excepto con el hierro con el que se relaciona positivamente.

La correlación positiva más elevada se establece entre el cobre y el cadmio (0,241), seguida por el cobre y el cinc (0,240). El hierro presenta una correlación positiva con el cobre, cadmio y plomo y negativa con el cinc (-0,031).

Tabla 38.- Coeficientes de correlación (mitad superior derecha) y el grado de significación (mitad inferior izquierda) de la relación entre los metales pesados estudiados

	Pb	Cd	Cu	Zn	Fe
Pb		-0,145	-0,059	-0,052	0,098
Cd	<0,001		0,241	0,027	0,148
Cu	<0,05	<0,001		0,240	0,101
Zn	<0,05	ns	<0,001		-0,031
Fe	<0,001	<0,001	<0,001	ns	

Los datos de correlación se representan en la figura 14, en la que se indica claramente qué elementos estudiados presentan una correlación significativa, estando unidos mediante una línea verde si la correlación es positiva y mediante una línea roja si la correlación es negativa.

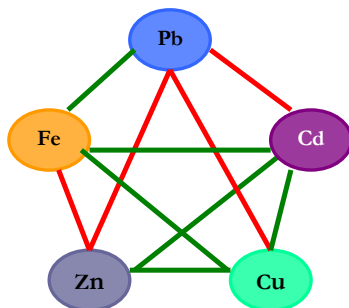


Figura 14. Correlación positiva (verde) y negativa (rojo) entre los metales estudiados.

Como ya se ha mencionado anteriormente, cadmio, cobre y cinc tienen un punto en común en su metabolismo, las metalotioneínas, lo que podría explicar que estos metales pesados presenten las correlaciones más elevadas entre sí.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores. Pedersen y Liehagen (2006) mostraron también una correlación positiva entre cadmio y cinc. Hogstad (1996) y Kotteferová y Koréneková (1998), observaron una correlación positiva entre cadmio y cinc y entre cobre y cinc. Mateo y Guitart (2002) indicaron que cobre y cinc estaban correlacionados positivamente.

Además, el cobre es un cofactor de enzimas implicadas en la absorción, utilización y transporte del hierro, y también en la prevención de su deficiencia (Jarzynska y Falandysz 2011), lo que podría explicar la correlación positiva entre estos dos elementos.

Por otra parte, Lazarus y cols., (2008) indican que cuando incrementa la capacidad de absorción intestinal de hierro, se incrementa paralelamente la absorción de cadmio y plomo, lo que puede ser un problema en áreas contaminadas, y podría explicar la correlación positiva entre estos tres elementos.



#### 5.1.4.2 Estudio Cluster

El análisis de cluster de agrupamiento de variables permite interpretar de forma más unívoca la relación entre estas. En este tipo de análisis se pueden emplear distintas reglas de amalgamación (*linkaje*) y formas de medir las distancias entre las diferentes variables. El sistema de agrupación utilizado fue el de unión (*joining*) en forma de árbol, con el método de Wards por emplear análisis de varianza para determinar las relaciones entre variables. Este método ofrece mejores predicciones en el efecto de las variables sobre los diferentes factores. Las medidas de las distancias se realizaron mediante la inversa del coeficiente  $r$  de Pearson ( $1-r$ ).

El resultado del cluster se representa en un dendograma (figura 15), donde se puede apreciar un primer agrupamiento entre el cobre y cinc. Por otra parte se observa que el cadmio se relaciona con el agrupamiento formado por el hierro, cobre y cinc. Estos agrupamientos coinciden con el estudio de correlaciones que indicó relación positiva entre estos metales.

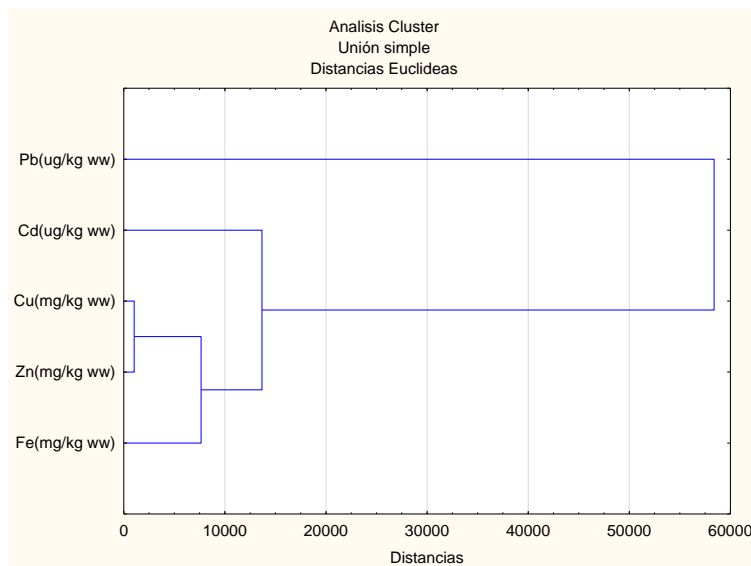


Figura 15. Dendrograma de distancias entre variables por Cluster

#### 5.1.4.3 Análisis factorial. Componentes principales.

El análisis factorial es una técnica estadística que permite comprobar el efecto que causan los principales factores de variación (identificados o no) presentes en las poblaciones estudiadas sobre los factores de clasificación y/o las variables investigadas.

Se realizó un estudio factorial, estableciéndose como criterio de selección de factores (componentes principales) que el valor propio (autovalor) fuese superior a 1 (Jambu, 1991). Los datos de valor propio, variabilidad explicada, autovalor acumulado y variabilidad acumulada se indican en la tabla 39, obteniéndose 3 factores o dimensiones con autovalores superiores a 1 que explican el 72% de la variabilidad total, de la cual, el 51% se debe exclusivamente a los

dos primeros factores. Dado que el tercer autovalor está muy próximo a 1 y que las representaciones en dos dimensiones son más fácilmente interpretadas, se han utilizado sólo los dos primeros factores a la hora de hacer las representaciones gráficas del espacio dimensional definido por el estudio factorial.

Tabla 39.- **Parámetros del análisis factorial tipo componentes principales**

<b>Factores</b>	<b>Autovalor</b>	<b>Variabilidad</b>	<b>Autovalor acumulado</b>	<b>Variabilidad acumulada</b>
Factor 1	1,428941	28,57882	1,428941	28,57882
Factor 2	1,122395	22,44790	2,551336	51,02672
Factor 3	1,028231	20,56463	3,579567	71,59135

La figura 16 muestra la situación de los cinco metales pesados en el espacio dimensional definido por los dos primeros factores. Se comprueba cómo el primer factor diferencia netamente su efecto sobre plomo (positivo) respecto al resto de variables. En cambio, el segundo factor diferencia un efecto negativo sobre cinc respecto al resto de variables sobre las que tiene un efecto positivo. La combinación de ambos factores denota una posición en el cuadrante superior derecho donde se sitúa con exclusividad el plomo, que identifica un comportamiento diferente en este metal pesado respecto al resto de los estudiados, como se ha descrito en análisis precedentes.

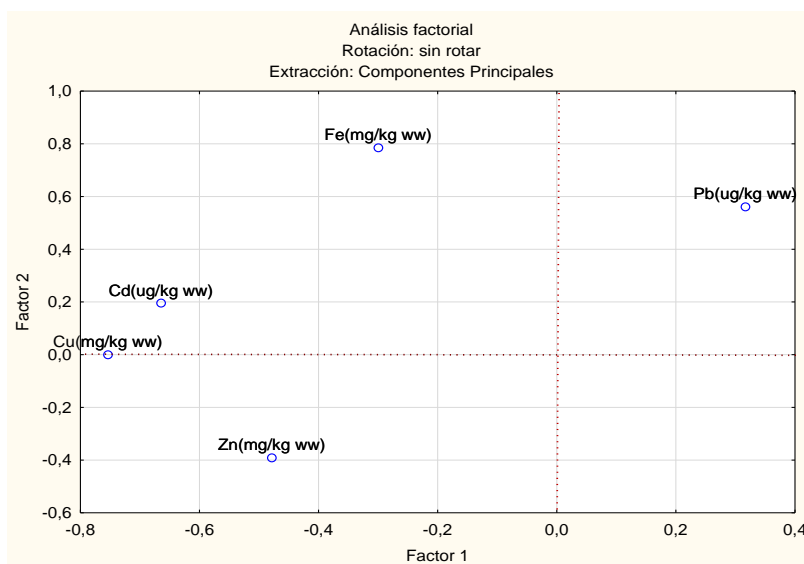


Figura 16. Análisis de componentes principales.

Respecto al resto de metales, se observa una zona neutra respecto al segundo factor, e influido negativamente por el primero, donde se relacionan cobre y cadmio. El cinc se ubica en el cuadrante inferior izquierdo, mientras que el hierro se sitúa sobre cuadrante superior izquierdo. La proximidad entre cobre, cadmio y zinc ya se ha comentado anteriormente, parecen estar correlacionados entre sí y presentar una distribución similar por órganos en ambas especies, teniendo un punto en común estos tres metales en su metabolismo, las metalotioneínas. Además, en la naturaleza, el cadmio se encuentra asociado a otros metales, especialmente al zinc y al cobre, tanto es así, que hasta 1972 el cadmio no fue considerado un metal puro (“cadmio” en griego significa óxido de cinc).

Se chequearon las diferentes posibilidades de rotación dimensional, comprobándose que en todos los casos se ofrecía un comportamiento totalmente diferenciado entre el efecto producido sobre el plomo, respecto al resto de metales analizados, siendo la única diferencia en el cuadrante en que queda el plomo en los espacios dimensionales definidos. Por este motivo se decidió trabajar directamente sin aplicar rotación.

Para tratar de estimar el efecto que presenta este espacio dimensional sobre las muestras estudiadas se han obtenido los scores (coordenadas respecto a los dos primeros factores) de cada una de las muestras analizadas. Mediante MS Excel, se han obtenido las representaciones gráficas de estas muestras en función de los dos principales factores de clasificación identificados como influyentes en el contenido de los metales.

En la figura 17 se indica la situación de las muestras de músculo de jabalí sobre el espacio dimensional definido por los dos primeros factores considerados. Se comprueba su ubicación en el cuadrante superior derecho que era la zona en que el estudio factorial ubica al plomo, por lo que se podría considerar la influencia del contenido de plomo como decisiva en este tipo de muestras.

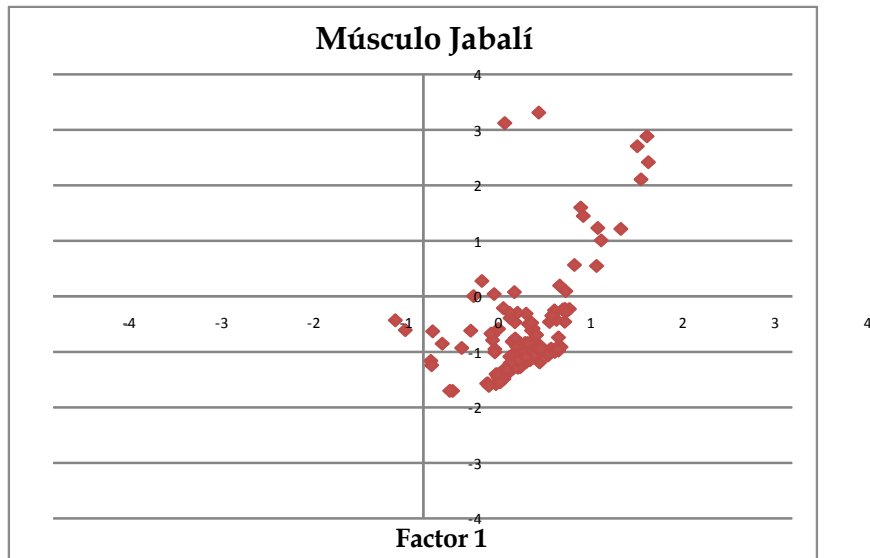


Figura 17. Análisis de componentes principales: músculo de jabalí.

En músculo de ciervo, aunque su ubicación está próxima al mismo órgano de jabalí, se comprueba cierta cercanía hacia el centro de coordenadas, lo que podría corresponder a una menor influencia de los contenidos en plomo (figura 18).

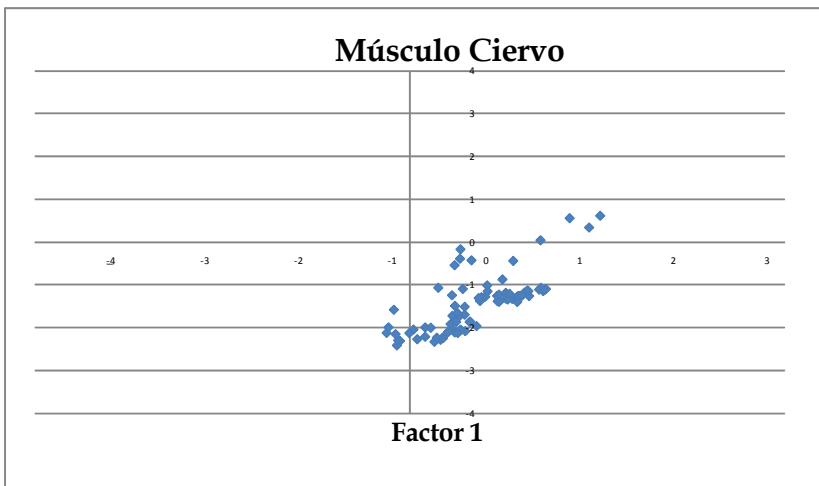


Figura 18. Análisis de componentes principales: músculo de ciervo.

En corazón de jabalí y ciervo, salvo un par de muestras anómalas, se observa de nuevo una ubicación similar a la descrita para el músculo, aunque como ocurría en el músculo de ciervo su ubicación más centrada en el centro de coordenadas parece indicar un efecto diferenciado respecto al plomo (típico comportamiento contaminativo) (figura 19).

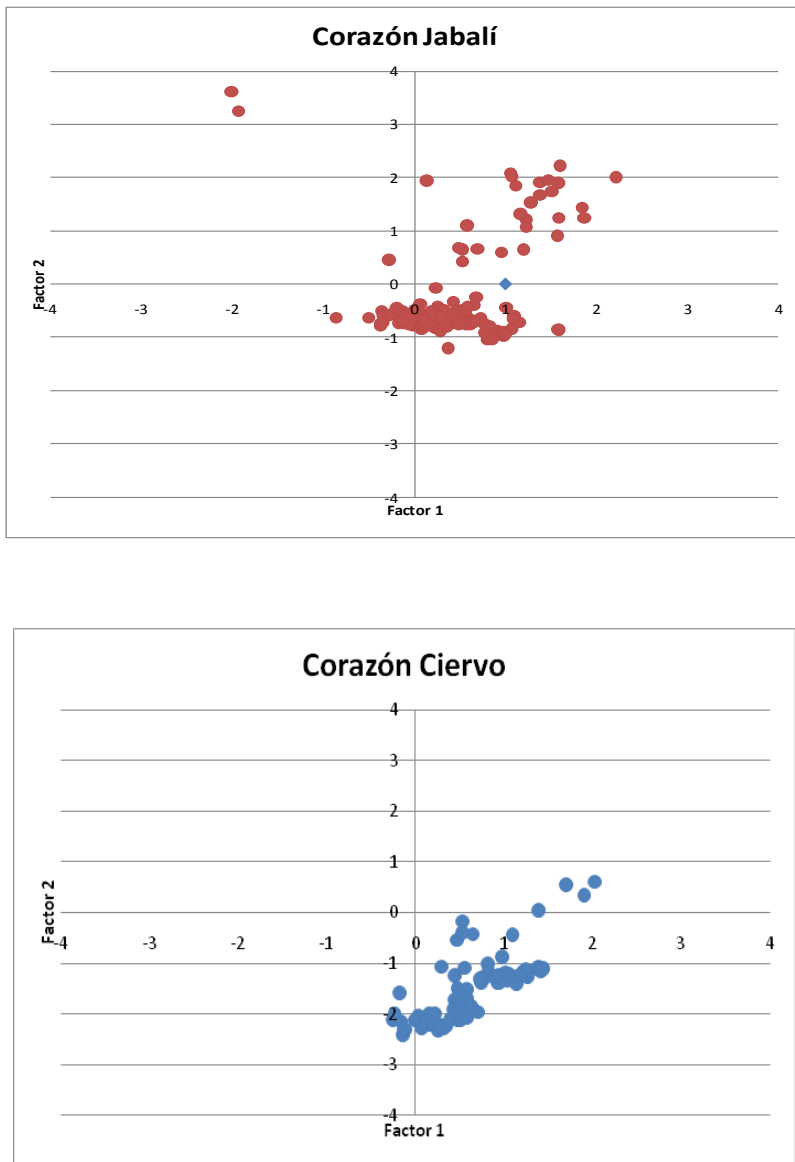


Figura 19. Análisis de componentes principales: corazón de jabalí y de ciervo.



La distribución del hígado de jabalí se encuentra netamente influenciada de forma negativa por el factor 1, por lo tanto la influencia de los contenidos de plomo tiene menor peso en este órgano en el que se aprecia una gran dispersión de los datos (figura 20).

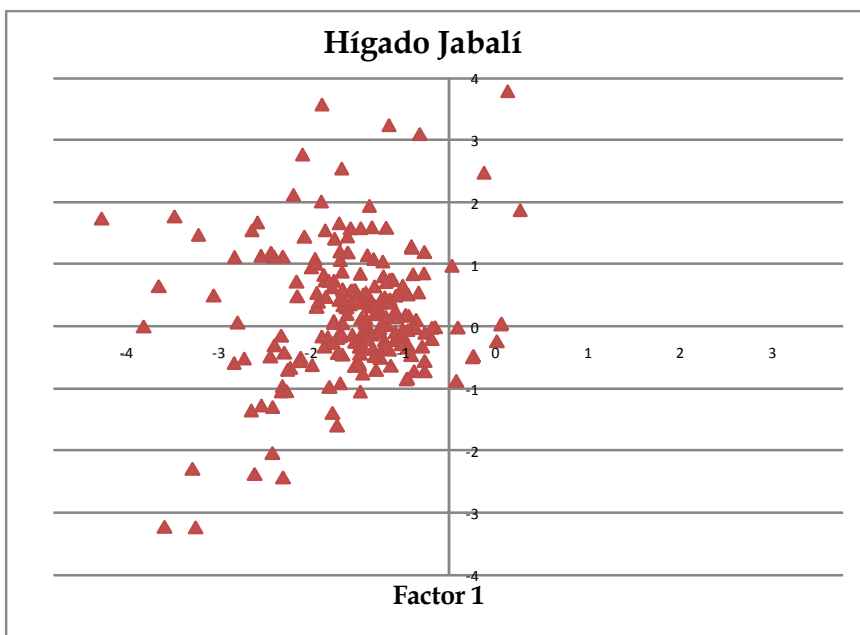


Figura 20. **Análisis de componentes principales: hígado de jabalí.**

En cambio se puede comprobar cómo el hígado de ciervo obedece a un patrón más característico en cuanto a distribución de lo enunciado para las estructuras musculares antes comentadas (figura 21).

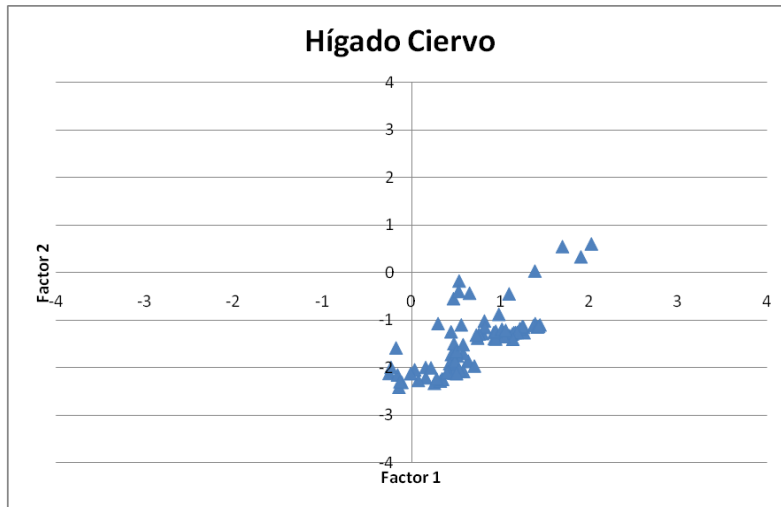


Figura 21. Análisis de componentes principales: hígado de ciervo.

Las muestras de pulmón de jabalí y ciervo presentan distribuciones muy similares, con gran dispersión en torno a la parte superior, zona de influencia de hierro y plomo, lo que podría estar definido tanto por efectos de contaminación de plomo como por el contenido de sangre en este órgano (por el hierro de la hemoglobina) (figura 22).

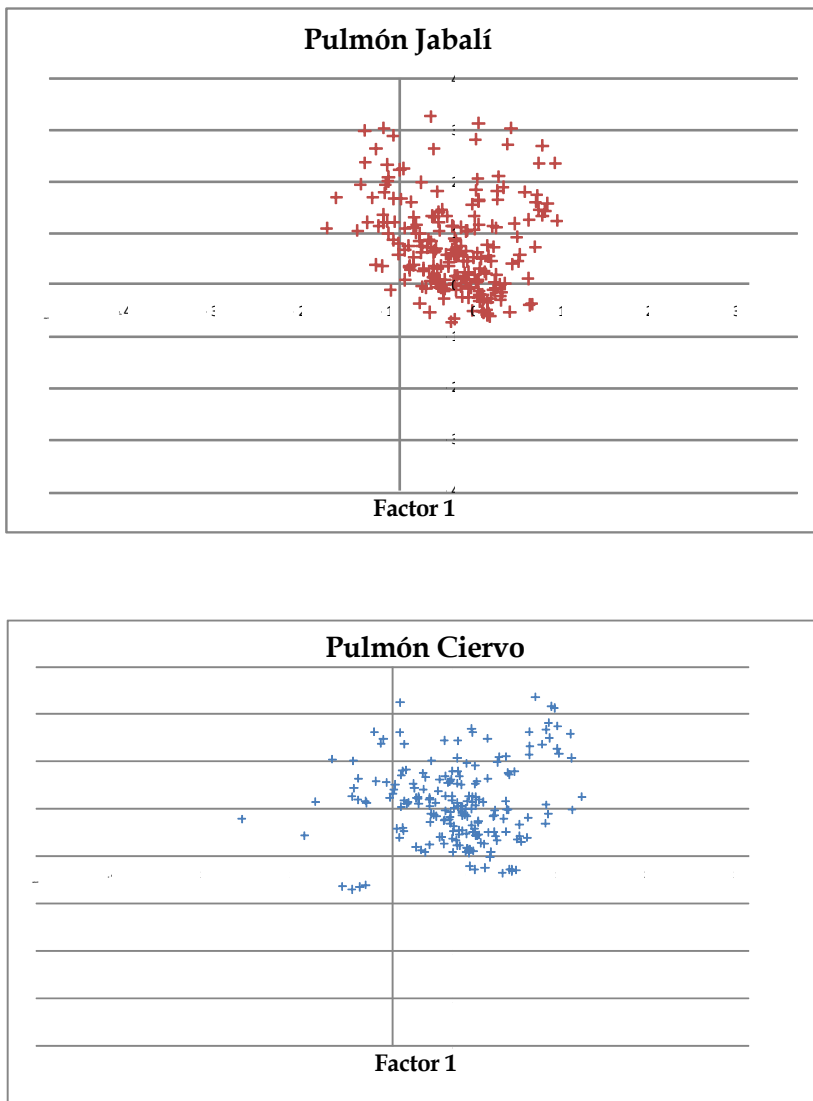


Figura 22. **Análisis de componentes principales: pulmón de jabalí y de ciervo.**

Las distribuciones de las muestras de riñones de jabalí y ciervo presentan una ubicación y morfología similar en la zona de influencia de los metales cobre, cadmio y zinc (figura 23), lo que

podría estar asociado a la correlación, ya comentada, existente entre estos tres elementos y al papel que juega el riñón en el metabolismo de alguno de ellos.

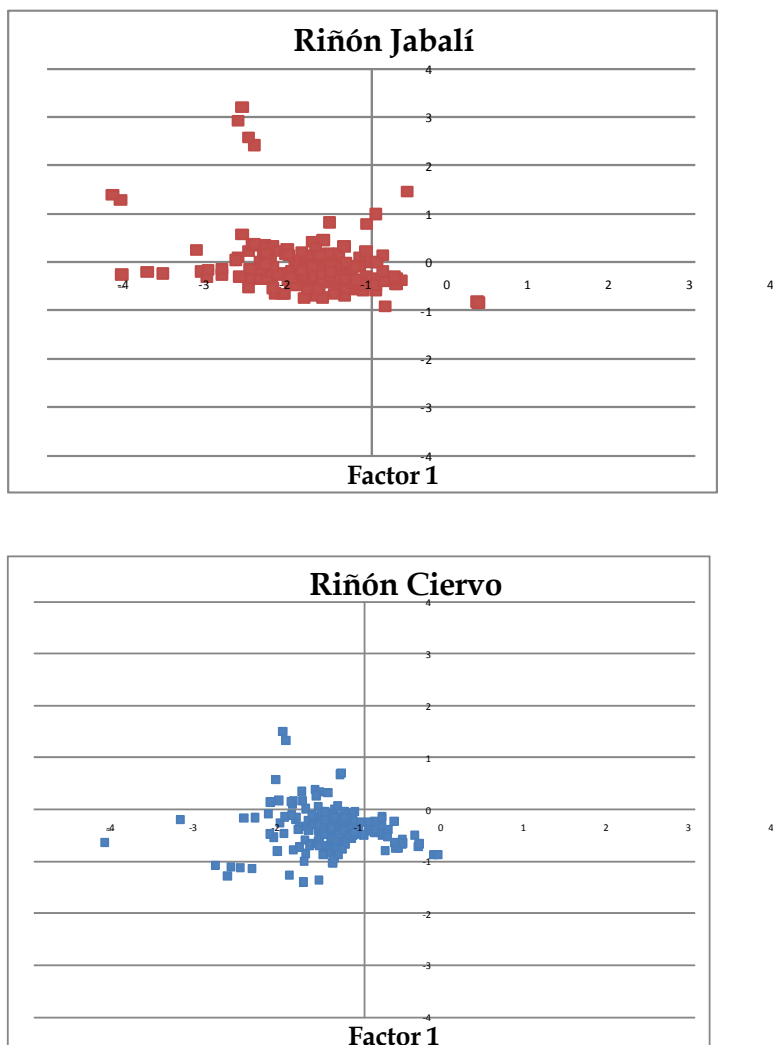


Figura 23. Análisis de componentes principales: riñón de jabalí y de ciervo.



## **Hábitos de consumo de carne de caza**

---



## 5.2 ESTIMACIÓN DEL CONSUMO DE CARNE DE CAZA

Las tendencias del consumo de carne de caza y productos derivados han sido estimadas mediante la administración de una encuesta alimentaria, de acuerdo a la metodología descrita en el apartado 4.6 de materiales y métodos.

La mayoría de las encuestas correspondían a la provincia de Córdoba (92%), perteneciendo el resto a las demás provincias de la comunidad autónoma de Andalucía. Las encuestas correspondientes a la provincia de Córdoba se distribuían según las diferentes comarcas, observándose que la mayoría de las encuestas se realizaron en la capital (figura 24).

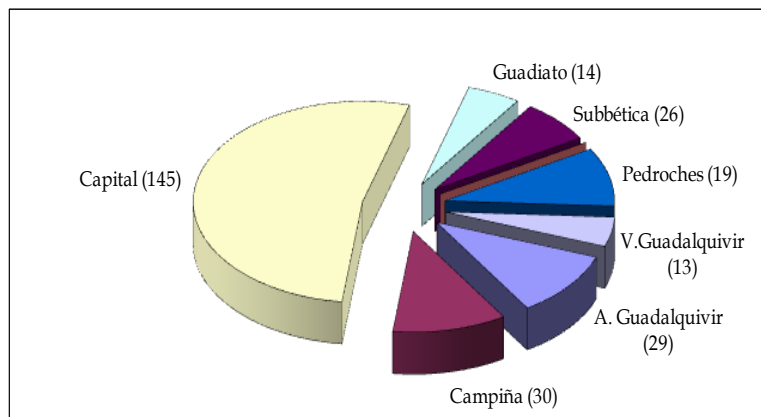


Figura 24. Distribución de encuestas en la provincia de Córdoba.



Del total de las encuestas realizadas, la mayoría correspondían a consumidores de carne de ciervo y jabalí (66%). Además los consumidores eran mayoritariamente *cazadores* (62%) frente a *no cazadores* (38%). Por otra parte, el 51% de los encuestados correspondían a no consumidores de carne de caza mayor, aunque manifestaron ser consumidores de otro tipo de carne de caza, concretamente de conejo y de perdiz (figura 25).

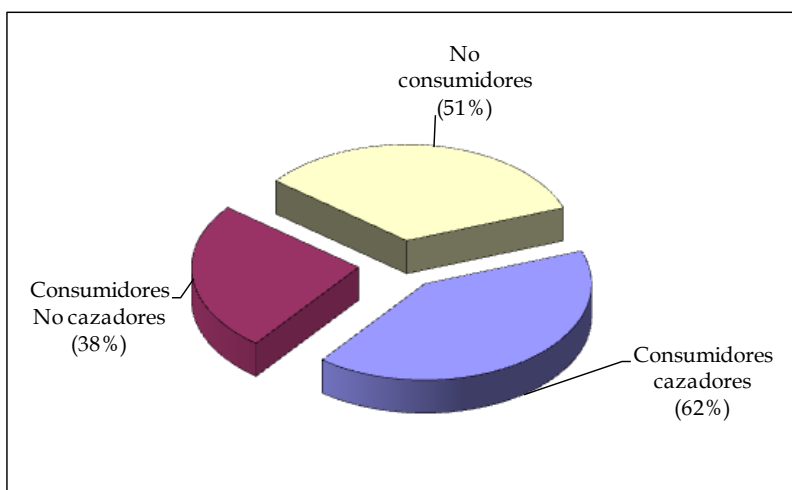


Figura 25. **Distribución de consumidores y no consumidores de carne de caza mayor.**

### 5.2.1 Consumo de carne de ciervo y jabalí

Los datos indican que la mayoría de los consumidores de carne de ciervo y jabalí lo eran de ambas tipo de carne (71%) como se muestra en la figura 26.

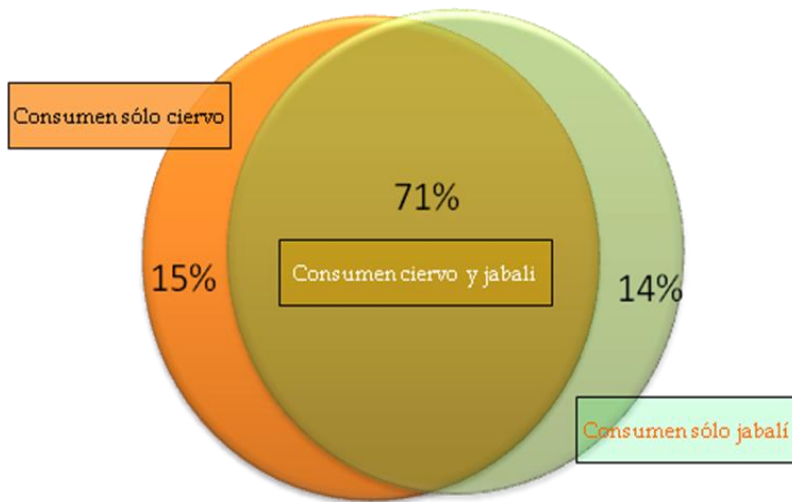


Figura 26. Distribución de quienes consumen sólo carne de ciervo, jabalí o ambos tipos de carne (%).

Los datos indican que el consumo medio de carne de ciervo y de jabalí, entre los entrevistados que manifestaron consumir algún tipo de carne de caza mayor, es de  $3,9\pm 6,5$  y de  $3,2\pm 5,1$  kg/persona/año respectivamente (tabla 40). Estos datos son similares a los descritos por otros autores en otros países. Concretamente, en Europa, se ha indicado que la media de consumo de carne de ciervo es de 2-3 kg/persona/año y en Noruega el consumo de carne de caza se sitúa en 3,3 kg/persona/año. Sin

embargo, son superiores a los datos de consumo indicados en otros países como Francia (0,6 kg/persona/año, López Sánchez, 2009), Croacia (0,34 kg/persona/año) y Polonia, con un consumo por debajo de 2 kg/persona/año (Gus, 1991), pero muy lejos de Finlandia, primer país consumidor de Europa, con un consumo de 9 kg/persona/año. Hay que señalar que los datos de estos países son referidos a consumo *per capita*, mientras que los de este estudio han sido obtenidos directamente a través de encuestas alimentarias.

Tabla 40.- Consumo de carne de ciervo y jabalí entre quienes consumían algún tipo de carne de caza mayor (kg/persona/año).

Consumo de carne de ciervo y jabalí				
Tipo de consumidor	Especie	Córdoba	Otras Provincias	Total
Cazador	Ciervo	4,3±6,1 (96)	8,6±10,8 (8)	4,7±6,6 (104)
	Jabalí	3,8±5,8 (101)	6,5±7,2 (9)	4,0±6,0* (110)
No Cazador	Ciervo	2,7±6,5 (60)	2,1±2,3 (7)	2,6±6,2 (67)
	Jabalí	1,5±1,4 (50)	2,3±3,7 (8)	1,6±1,9 (58)
Total	Ciervo	3,7±6,3 (156)	5,6±8,5 (15)	3,9±6,5 (171)
	Jabalí	3,0±4,9 (151)	4,6±6,1 (17)	3,2±5,1 (168)

Nivel de significación: \*=p<0,05

Partiendo de la tendencia real de consumo de carne de caza, se determinó el consumo de *sólo carne de ciervo*, *sólo carne de jabalí* y *consumo de ambos tipos* de carne, en sendas poblaciones de consumidores (*cazadores* y *no cazadores*) (tabla 41). El consumo medio de un sólo tipo de carne de caza, sea de ciervo o de jabalí, es mayor entre *cazadores* y *no cazadores*. El consumo de carne de ciervo (5,4 kg/año) en *cazadores* es tres veces superior a los *no cazadores* (1,6 kg/año), y dos veces y media en el caso de carne de jabalí (4,97 kg/año en *cazadores* y 2,02 kg/año en *no cazadores*). Estos datos están en consonancia con lo descrito por otros autores que afirman que los *cazadores* y su entorno familiar son consumidores habituales de carne de caza (Guitart y Thomas 2005; Mateo y cols., 2007; Lazarus y cols., 2008; Danielli y cols., 2012). Incluso los niveles de consumo de carne de jabalí para *cazadores* de este estudio (95 g/persona/semana) fueron similares a los niveles señalados recientemente por Danieli y cols., (2012), en Italia (113 g/persona/semana).

El consumo de ambos tipos de carne (ciervo + jabalí) fue prácticamente el doble para *cazadores* (4,58 y 3,82 kg/año) respecto a *no cazadores* (2,85 y 1,56 kg/año).

Tabla 41.- Principales estadísticos del consumo individualizado de sólo un tipo de carne, ciervo o jabalí y del consumo de ambos tipos de carne (kg/persona/año).

Estadísticos/consumo	Ciervo		Jabalí		ciervo y jabalí	
	Cazadores (14/199)	No cazadores (17/199)	Cazadores (20/199)	No cazadores (8/199)	Cazadores (90/199)	No cazadores (50/199)
Desviación estándar	8,51	1,73	7,41	3,75	6,25/5,63	7,05/1,43
media	5,44	1,83	4,97	2,02	4,58/3,82	2,85/1,56
máximo	30,00	6,67	26,66	11,25	26,67/30,00	50,00/5,00
Percentil 95	21,87	5,33	20,33	7,83	19,43/15,91	6,37/5,00
mínimo	0,25	0,14	0,25	0,25	0,67/0,67	0,13/0,13

No obstante, destaca un consumo máximo de 50 kg/persona/año de carne de ciervo en consumidores *no cazadores* cuando se consumen ambos tipos de carne. Este dato correspondía a un *no cazador* que manifestó consumir en su familia sólo carne de caza.

Además, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) para el consumo de carne de caza en función del tipo de consumo. El consumo de carne de caza fue superior en los consumidores de ambos tipos de carne, existiendo una correlación positiva entre el consumo de un tipo de carne y el consumo del otro tipo de carne. Se estimó *un coeficiente de correlación de Pearson* ( $r$ ) entre el consumo de ambos tipos de carne de caza de 0,31 y de 0,39 para *cazadores* y *no cazadores* respectivamente. Es decir, el consumo de un tipo de carne de caza se incrementa cuando se consume una mayor cantidad de otro tipo de carne de caza, y ello se repetía en sendos tipos de consumidores.

Este consumo es bajo si se compara con los datos de consumo de carne facilitados por el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, en su informe: Consumo Alimentario en España, de noviembre de 2008, en el que se indica un consumo medio de carne *per capita* anual de 50,6 kg para la población española, y de 42,1 kg para la población en Andalucía. Es decir el consumo medio de carne de caza, concretamente de ciervo y de jabalí, no representaría ni siquiera el 10% del consumo general de carne.

Este bajo consumo de carne de caza podría explicarse por el difícil acceso a dicho producto, por la ausencia de información al consumidor, y por la práctica inexistencia de una cocina tradicional basada en carnes de caza (González y cols., 2004; Bartolomé-Rodríguez y cols., 2006). Sin embargo la carne de caza es considerada una delicatessen con un elevado valor gastronómico y nutricional, destacando la carne de ciervo con un alto contenido en proteína, bajo en grasa y colesterol, y un escaso aporte calórico. No obstante, su aspecto, a veces, sanguinolento las hace poco atractivas para su consumo y a veces las condiciones higiénicas no están suficientemente garantizadas, debido básicamente al propio desarrollo de la actividad cinegética que hace muy difícil mantener las condiciones higiénico- sanitarias (Bartolomé-Rodríguez y cols., 2006).

Hay que señalar que este estudio es el único que proporciona datos sobre el consumo de carne de caza mayor y productos cárnicos derivados de ciervo y jabalí, recogidos a través de una encuesta de consumo específica para carne de caza. Con anterioridad, la Encuesta Nacional de Ingesta Dietética Española (ENIDE, 2011), señala que el porcentaje de consumidores de carne de caza es muy bajo (0,4%) y que el consumo medio de carne de caza mayor es de  $0,18 \pm 4,8$  g/persona/día, mientras que para las perdices y codornices es de  $0,3 \pm 5,5$ g/persona/día y de  $3,2 \pm 16,8$ g/persona/día en el caso de los conejos. Sin embargo cuando los datos se refieren al grupo de *sólo consumidores*, la AESAN

(2012) indica una media de consumo de  $46\pm 63$  g/persona/día, incluyendo cualquier tipo de carne de caza mayor (el informe no especifica a qué especies se refiere), de 65,6 g/persona/día para consumo de carne de perdiz y de codorniz y 59,6 g/persona/día para consumo de carne de conejo, si bien estos datos sólo correspondían a 12 personas.

En general, los datos de consumo de este estudio son superiores a los que se recogen en la encuesta Encuesta Nacional de Ingesta Dietética Española para carne de caza mayor (ENIDE, 2011). Y reflejan que el consumo de este tipo de carne de caza es superior *en cazadores* y su entorno familiar, lo que podría estar relacionado con la mayor disponibilidad y accesibilidad de este tipo de carne en esta población (Danieli y cols., 2012).

### 5.2.2 Consumo de productos cárnicos derivados de la caza

Los datos medios del consumo de productos cárnicos (chorizo y salchichón) derivados del ciervo y jabalí se indican en la tabla 42. Los datos indican que el 46% de los encuestados manifestaron consumir algún tipo de producto cárnico (chorizo y/o salchichón). Este consumo de chorizo y de salchichón de ciervo y de jabalí, es similar a los datos de consumo *per capita* de chorizo y de salchichón en España cifrado en 0,9 y 0,5 kg/persona/año respectivamente (Martín Cerdeño, 2012).



Tabla 42.- Consumo de chorizo y/o salchichón de ciervo y/o jabalí (kg/persona/año).

Cazador/ No cazador	Especie	Derivado cárnico	n	Córdoba	n	Otras	n	Total
<b>Cazador</b>	Ciervo	Chorizo	96	1,2 ± 1,8	7	2,6 ± 4,5	103	1,3 ± 2,1**
		Salchichón		0,6 ± 1,0		1,6 ± 2,3		0,6 ± 1,2**
	Jabalí	chorizo		1,0 ± 1,8		2,3 ± 3,3		1,1 ± 1,9
		salchichón		0,5 ± 0,7		0,8 ± 0,9		0,5 ± 0,8
<b>No cazador</b>	ciervo	chorizo	54	0,4 ± 0,5	8	0,5 ± 0,8	62	0,5 ± 0,6
		salchichón		0,2 ± 0,4		0,2 ± 0,4		0,2 ± 0,4
	jabalí	chorizo		0,4 ± 0,4		1,9 ± 2,6		0,6 ± 1,3
		salchichón		0,3 ± 0,4		0,8 ± 1,6		0,3 ± 0,7
<b>Total</b>	Ciervo	chorizo	150	0,9 ± 1,5	15	1,5 ± 3,3	165	0,9 ± 1,8
		salchichón		0,4 ± 0,9		0,9 ± 1,7		0,5 ± 1,0
	Jabalí	chorizo		0,8 ± 1,5		2,1 ± 2,9**		0,9 ± 1,7
		salchichón		0,4 ± 0,6		0,8 ± 1,3		0,4 ± 0,7

Nivel de significación: \*\*=p<0,01

Por otra parte, sólo se indican diferencias estadísticamente significativas entre Córdoba o fuera de Córdoba (factor *zona geográfica*) para el consumo de chorizo de jabalí ( $p < 0,01$ ), observándose un consumo superior fuera de Córdoba (2 kg/persona/año). No obstante, para una mayor representatividad de los resultados obtenidos hubiera sido deseable contar con un mayor número de encuestados.

Respecto al factor *cazador*, igualmente se establecen diferencias significativas en el consumo de chorizo ( $p < 0,01$ ) y salchichón de ciervo ( $p < 0,01$ ), encontrándose que el consumo de chorizo y salchichón de ciervo es casi tres veces superior en *cazadores* frente a *no cazadores* (1,3 a 0,5 kg/persona/año para el consumo de chorizo de ciervo, y 0,6 a 0,2 kg/persona/año para el consumo de salchichón de ciervo respectivamente).

Este mayor consumo de productos derivados del ciervo entre los *cazadores* podría explicarse porque los cazadores tienen una estrecha relación con la carne de caza, conoce sus características y propiedades y elaboran, en numerosas ocasiones, sus propios productos cárnicos. Además, los consumidores *no cazadores* no tienen un acceso fácil a este tipo de carne puesto que habría que recordar que el 90% de la carne de caza mayor (preferentemente de ciervo) producida en España se exporta a países centroeuropeos (González y cols., 2004; Bartolomé-Rodríguez y cols., 2006).

Entre las diferentes áreas objeto de estudio no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas para el consumo de chorizo y/o salchichón de ciervo y/o jabalí.

### 5.2.3 Temporalidad del consumo de carne de caza

Los resultados del consumo de carne de ciervo y de jabalí en función de la temporalidad de su consumo se muestran en la tabla 43. Se trataba de conocer si quienes habían manifestado ser consumidores de algún tipo de carne de caza (*cazadores* o *no cazadores*) lo hacían bien durante todo el año, bien en temporada de caza, o sólo de forma ocasional. En general, el consumo de carne de caza es mayoritario durante todo el año y solo un tercio de este consumo se produce durante la temporada de caza.

Tabla 43.- Temporalidad en el consumo de carne de caza mayor.

Temporalidad/Consumidor	Cazadores	No Cazadores	Total
Todo el año	70% (87)	44% (33)	60% (120)
Temporada de Caza	30% (37)	45% (34)	36% (71)
Sólo ocasionalmente	0% (0)	11% (8)	4% (8)

Los *cazadores* consumían carne de caza mayor preferentemente durante todo el año (70%), lo que coincide con lo indicado por la AESAN (2012) y por Danieli y cols., (2012).

La AESAN manifestó textualmente: *La carne de caza es consumida frecuentemente por los cazadores y sus familias, no estando restringida su ingesta sólo a la temporada de caza (agosto-febrero), puesto que las piezas de caza pueden ser congeladas y consumidas durante todo el año.* Además, la temporada de caza puede ser a menudo ampliada a la mayor parte del año en muchas regiones, dado que se pueden adjudicar permisos especiales para el control de jabalíes (Mateo y cols., 2011). Danieli y cols., (2012) han manifestado que la totalidad de los encuestados declararon consumir regularmente carne e hígado de jabalí durante todo el año.

Respecto a los *no cazadores*, éstos consumían carne de caza mayor durante la temporada de caza y durante todo el año indistintamente. Sólo un 11% de los consumidores *no cazadores* consumían carne de caza ocasionalmente.



## **Evaluación del Riesgo Alimentario**

---



### 5.3 EVALUACIÓN DE RIESGO

La Evaluación del Riesgo Alimentario derivado de la ingesta de metales por consumo de carne de ciervo y jabalí se realizó siguiendo la secuencia de análisis que implica un estudio de evaluación del riesgo: *identificación del peligro, caracterización del peligro, evaluación de la exposición y caracterización del riesgo* (FAO/OMS, 2007).

#### 5.3.1 Identificación del peligro

Para la identificación del peligro se consideraron las concentraciones medias de los diferentes metales estudiados en el músculo de ciervo y jabalí (tabla 23).

Actualmente no hay establecidos valores de referencia para estimar el riesgo toxicológico por la presencia de metales pesados en especies cinegéticas. No obstante, y de acuerdo a estudios previos (Piskoravá y cols, 2003; Soler y cols., 2007; Bilandzic y cols., 2009 y Taggart y cols., 2011), los niveles de plomo y cadmio en músculo del presente estudio se compararon con los valores máximos establecidos por la Unión Europea, para carne y vísceras de animales de abasto (Reglamento CE 1881/2006).

Los niveles medios de plomo en músculo de ciervo y jabalí y los de cadmio en músculo de jabalí superan los niveles máximos establecidos por la citada normativa en los porcentajes indicados en la tabla 44. Ello podría ser indicativo de la aparición de ciertos



efectos adversos para la salud en la población consumidora de este tipo de carne de caza, lo que será objeto de estudio y análisis con posterioridad.

Tabla 44.- **Porcentaje de plomo y cadmio en carne de ciervo y jabalí que superan los niveles establecidos por la normativa comunitaria.**

Especie	n	Pb (>0,1 mg/kg)*	Cd (> 0,05 mg/kg)*
Ciervo	41	28%	21%
Jabalí	64	84%	27%

\*Valores máximos establecidos para Pb y Cd de acuerdo al Reglamento CE 1881/2006

El porcentaje de muestras de carne de ciervo que supera el límite oficialmente establecido de plomo y cadmio en animales de abasto es ligeramente inferior al determinado por otros autores. Así, Falandysz y cols., (2005), Soler y cols., (2007) y Taggart y cols., (2011) indicaron que el 52, el 50 y hasta el 57% de las muestras de carne de ciervo excedían los niveles de plomo respectivamente, mientras que el 72, el 18 y hasta el 43% excedían los niveles máximos de cadmio respectivamente. No obstante, Bilandzic y cols., (2009) indicaron porcentajes de hasta el 7,7% para plomo y el 16,6% para el cadmio, inferiores a los obtenidos en el presente estudio.

En relación al jabalí, el porcentaje de muestras de carne que superan los límites máximos respecto al contenido de plomo coincide con el porcentaje indicado por Taggart y cols., (2011) de un 84% y por Danieli y cols., (2012) de un 89%, siendo inferior a los

valores determinados por Soler y cols., (2007) de un 50% y Bilandzic y cols. (2009) de hasta un 11%.

Respecto al cadmio, el porcentaje de muestras que superan los valores establecidos por la normativa es ligeramente superior al 5%, 13% y 19% indicados por Soler y cols., (2007), Piskorová y cols., (2003) y Taggart y cols.. (2011). Otros autores encontraron porcentajes superiores de muestras que excedían los límites de cadmio en músculo (Bilandzic y cols., 2009 y Danieli y cols., 2012).

Este elevado porcentaje de niveles de plomo y cadmio en el músculo de ciervo y jabalí, al margen de plantear otras cuestiones relacionadas, por ejemplo con el uso del plomo en la actividad cinegética, o si son o no suficientes los controles sanitarios actuales de estos contaminantes en este tipo de alimentos, justifica por sí solo la necesidad de realizar una evaluación del riesgo por presencia de estos metales tóxicos en este tipo de carne de caza.

### **5.3.2 Caracterización del peligro**

Para la caracterización del peligro, se ha asumido que sólo aparecen ciertos efectos adversos para la salud cuando los niveles de exposición están por encima de valores umbrales de ingesta toxicológica. En este estudio se han utilizado los límites establecidos por la Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) y la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (The

European Food Safety Authority, EFSA), indicándose los mismos en la tabla 45.

Tabla 45.- Niveles umbral de ingesta provisional tolerable/aceptable para los metales estudiados

Metal	Nivel	Concepto	Referencia Bibliográfica
Plomo	25 µg/kg	PTWI	JECFA 1999
Cadmio	2,5 µg/kg	TWI	EFSA 2010
Cobre	500 µg/kg	PMADI	JECFA 1982
Hierro	800 µg/kg	PMTDI	JECFA 1983
Zinc	1 mg/kg	PMTDI	JECFA 1982

Recientemente, la JECFA ha concluido que la PTWI (25 µg/kg) para el plomo ya no es segura ni protectora de la salud, indicando que los actuales estudios de dosis-respuesta no proporcionaban ninguna indicación de un umbral para los efectos adversos y por lo tanto llegaba a la conclusión que no era posible establecer una nueva PTWI protectora de la salud.

En relación con el plomo, la JECFA, en su setenta y tres reunión (celebrada en Ginebra, 8-17 de junio 2010), ha señalado que la exposición al plomo se asocia con una amplia gama de efectos, incluyendo varios efectos del desarrollo neurológico, insuficiencia renal, hipertensión, trastornos de la fertilidad y los resultados adversos del embarazo e incluso la mortalidad, principalmente debido a enfermedades cardiovasculares. Y ha estimado que la

PTWI establecida previamente se asocia con una disminución de al menos 3 puntos del Coeficiente Intelectual (IQ) en los niños y un aumento en la presión arterial sistólica de aproximadamente 3 mmHg (0,4 kPa) en adultos. Si bien estos efectos pueden ser insignificantes a nivel individual, estos cambios son importantes, visto como un cambio en la distribución del IQ o la presión arterial dentro de una población.

Por otra parte la European Food Safety Authority (EFSA, 2010) señala que ingestión de niveles de plomo en niños de 0,5 ug/kg b.w. diario puede afectar al desarrollo neurotóxico, y niveles de 0,6 ug/kg b.w en adultos incrementa la prevalencia de la Enfermedad Crónica del Riñón.

Respecto al cadmio señalar que sus efectos afectan básicamente al riñón, especialmente a nivel celular tubular proximal donde se acumula y puede originar disfunción renal. Tras una exposición alta o prolongada, la lesión tubular puede progresar y originar una disminución de la filtración glomerular renal. También origina desmineralización ósea, bien por lesión directa del hueso o indirectamente por una disfunción renal. En 1993, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) clasificó el cadmio y sus compuestos en el grupo 1 (carcinógeno para los humanos). Estudios recientes consideran que el cadmio podría ser también cancerígeno por vía alimentaria a partir de una ingesta diaria de 1,5 µg/kg de peso corporal (EFSA, 2011).

### 5.3.3 Evaluación de la exposición

#### 5.3.3.1 *Evaluación de la exposición: modelo determinista o puntua*

La evaluación de la exposición aplicando el modelo determinista se realizó utilizando valores puntuales de consumo de carne de caza (tabla 41) y valores de concentración de metales en el músculo de las especies objeto de estudio (tabla 23). El modelo se aplicó sobre diferentes escenarios ya definidos en la sección de Materiales y Métodos (apartado 4.7.3.2). A continuación se detallan los resultados obtenidos.

##### 5.3.3.1.1 Evaluación de la exposición al plomo

Los resultados de la evaluación de la exposición al plomo derivada del consumo de carne de caza se indican en la tabla 46. Se observa que la ingesta estimada de plomo fue superior para la población de *cazadores* en todos los escenarios considerados, lo que podría estar relacionado con el mayor consumo de carne de caza por parte de esta población.

Lazarus y cols., (2008) sugieren que los grupos específicos, como cazadores y sus familias, tienen una mayor ingesta de metales tóxicos que el calculado para la población en general, como consecuencia de un mayor consumo medio de carne de caza.

Tabla 46.- Ingesta estimada de plomo ( $\mu\text{g}/\text{kg p.c./semana}$ ).

Tipo de carne	Consumidor/ Escenario	ESC 1	ESC 2	ESC 3	ESC 4
<b>Ciervo</b>	Cazador	0,5	3,3	2,1	13,1
	No Cazador	0,2	1,1	0,5	3,3
<b>Jabalí</b>	Cazador	1,9	7,8	7,8	32,1
	No Cazador	0,8	3,2	2,9	12,1
<b>Ciervo+Jabalí</b>	Cazador	1,9	8,8	7,9	36,6
	No Cazador	0,9	4,2	2,5	11,7

Las mayores ingestas de plomo se alcanzan en el escenario 4 (datos máximos de consumo y de concentración extrema del metal) para los *cazadores* cuando se consume carne de jabalí ( $32 \mu\text{g}/\text{kg p.c./semana}$ ) y el de ambos tipos de carne ( $37 \mu\text{g}/\text{kg p.c./semana}$ ). La influencia del tipo de consumo (carne de jabalí y ambos tipos de carne de caza) se manifiesta de igual forma en la ingesta de plomo de la población *no cazadora*.

Por otra parte, se observa que la ingesta de plomo en el escenario 2 (datos medios de consumo y de concentración extrema de metal) es superior que la derivada del escenario 3 (datos de consumo extremo y medios de concentración de metal), lo que estaría indicando una mayor contribución a la ingesta de plomo por parte de la concentración de metal frente al consumo de carne de caza.

Las ingestas de plomo derivadas del consumo de carne de jabalí y del consumo de ambos tipos de carne fueron muy similares para *cazadores* y *no cazadores*. Este hecho podría deberse a las

mayores concentraciones de plomo en el jabalí (1,29 mg/kg) frente al ciervo (0,33 mg/kg).

### 5.3.3.1.2 Evaluación de la exposición al cadmio

La ingesta estimada de cadmio fue superior en la población de *cazadores* para todos los escenarios, siendo la mayor ingesta de cadmio para la población de *cazadores* en el escenario más extremo al consumir carne de jabalí y ambos tipos de carne de caza (tabla 47).

Tabla 47.- Ingesta estimada de cadmio ( $\mu\text{g}/\text{kg p.c./semana}$ ).

Tipo de carne	Consumidor/ Escenario	ESC 1	ESC 2	ESC3	ESC 4
Ciervo	Cazador	0,05	0,15	0,20	0,59
	No Cazador	0,02	0,05	0,05	0,15
Jabalí	Cazador	0,08	0,34	0,34	1,40
	No Cazador	0,03	0,14	0,13	0,53
Ciervo + Jabalí	Cazador	0,11	0,39	0,44	1,62
	No Cazador	0,05	0,18	0,14	0,52

El consumo de carne de jabalí y el de ambos tipo de carne suponen niveles de ingestas de cadmio similares en *cazadores* y *no cazadores* para todos los diferentes escenarios. En el escenario 4, cuando se consume carne de jabalí y ambos tipos de carne, los niveles de ingesta de cadmio en *cazadores* prácticamente triplica el máximo de ingesta de cadmio en la población de *no cazadores*, lo que de nuevo señala a la población de *cazadores* como una población específica con mayores niveles de ingesta de metales.

5.3.3.1.3 Evaluación de la exposición al cobre, hierro y zinc

Los resultados de las ingestas de cobre, hierro y zinc derivadas del consumo de carne de ciervo, jabalí y de ambos tipos de carne, para los diferentes escenarios definidos, se indican en las tablas 48, 49 y 50.

Tabla 48.- Ingesta estimada de cobre ( $\mu\text{g}/\text{kg p.c./semana}$ ).

Tipo de Carne	Consumidor/ Escenario	ESC1	ESC 2	ESC 3	ESC 4
Ciervo	Cazador	0,4	0,7	1,5	2,8
	No Cazador	0,1	0,2	0,4	0,7
Jabalí	Cazador	0,5	0,8	2,0	3,2
	No Cazador	0,2	0,3	0,8	1,2
Ciervo + Jabalí	Cazador	0,7	1,2	3,0	4,9
	No Cazador	0,4	0,6	0,9	1,6

Tabla 49.- Ingesta estimada de hierro ( $\mu\text{g}/\text{kg p.c./semana}$ ).

Tipo de carne	Consumidor/ Escenario	ESC 1	ESC 2	ESC 3	ESC 4
Ciervo	Cazador	12,8	33,6	51,3	134,6
	No Cazador	4,3	11,2	12,8	33,7
Jabalí	Cazador	12,9	35,9	53,4	147,7
	No Cazador	5,2	14,5	20,0	55,4
Ciervo + Jabalí	Cazador	20,7	55,8	87,0	234,7
	No Cazador	10,7	28,8	28,0	75,4



Tabla 50.- Ingesta estimada de cinc ( $\mu\text{g}/\text{kg p.c./semana}$ ).

Tipo de carne	Consumidor/ Escerario	ESC 1	ESC 2	ESC 3	ESC 4
Ciervo	Cazador	10,1	17,6	40,3	70,4
	No Cazador	3,4	5,7	10,1	17,6
Jabalí	Cazador	6,0	9,9	24,6	40,9
	No Cazador	2,4	4,0	9,2	15,3
Ciervo + Jabalí	Cazador	13,0	22,4	55,0	94,3
	No Cazador	7,1	12,3	17,8	30,5

Los mayores niveles de ingesta se corresponden al hierro, lo que se explicaría por el mayor contenido de este metal en músculo en ciervo (56 mg/kg) y jabalí (62 mg/kg). Las ingestas de cobre y de hierro son muy similares cuando se consume carne de ciervo o de jabalí. Sin embargo, la ingesta de zinc es ligeramente superior cuando se consume carne de ciervo posiblemente debido al mayor contenido de este metal en el músculo de ciervo (43,7 mg/kg). Estos datos indican que la carne de ciervo podría ser considerada como una buena fuente de zinc, tal y como había sido descrito por Jarzynska y Falandysz, (2011).

En todos los casos se repite el mismo patrón de evaluación de la exposición. En todos los escenarios los niveles de ingesta estimada fueron superiores en la población de *cazadores* respecto a los *no cazadores*, posiblemente debido al mayor consumo de carne de caza por parte de los *cazadores*. Los máximos niveles de ingesta de cobre, hierro y cinc (4,9, 235 y 94,3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corporal/semana

respectivamente) se obtienen en el escenario 4 cuando se consume ambos tipos de carne (ciervo + jabalí).

### 5.3.3.2 Evaluación de la exposición: modelo probabilístico

La evaluación de la exposición aplicando el modelo probabilístico se aplicó sólo a los metales plomo y cadmio, por su mayor importancia toxicológica, y se realizó utilizando distribuciones de consumo y de concentración de metales conforme se ha descrito en la sección de Materiales y Métodos (apartado 4.7.3.1).

Los datos medios de consumo de carne de ciervo, jabalí y de ambos tipos de carne para *cazadores* y *no cazadores* ya se han expuesto anteriormente en la sección de consumo de carne de caza (tabla 41). Estos datos fueron utilizados en el modelo probabilístico a través de distribuciones de frecuencia.

Respecto a la concentración de metales se usó la distribución normal definida por la media y desviación estándar de los datos transformados logarítmicamente, al ser esta distribución la que mejor se ajustaba para representar los datos de la concentración de plomo y cadmio según los test estadísticos de Kolmogorov Smirnov y de Chi cuadrado. Los datos de concentración media y percentil 95, en términos logarítmicos de los niveles de plomo y cadmio en el ciervo y el jabalí, se muestran en la tabla 51.

5.3.3.2.1 Evaluación de la exposición al plomo aplicando el modelo probabilístico.

La ingesta de plomo estimada mediante un modelo de evaluación del riesgo probabilístico y para población de *cazadores* y *no cazadores* con consumos individuales de un tipo de carne (i.e. carne de ciervo o de jabalí) y de ambos tipos de carne se muestran en la tabla 52.

Tabla 51.- Principales estadísticos de plomo y cadmio de la carne de ciervo y jabalí, utilizados en las estimaciones probabilísticas (escala logarítmica).

Parámetros Estadísticos	Ciervo		Jabalí	
	Pb Escala logarítmica log (µg/kg)	Cd Escala logarítmica log (µg/kg)	Pb Escala logarítmica log (µg/kg)	Cd Escala logarítmica log (µg/kg)
Desviación típica	0,5	0,5	0,6	0,5
Media	2,0	1,3	2,7	1,4
Máximo	3,7	2,1	4,0	2,6
Percentil 95	3,0	2,0	3,8	2,4
Mínimo	1,2	0,4	1,7	2,4
Distribución	Normal (2,0; 0,5)	Normal (1,3; 0,5)	Normal (2,7; 0,6)	Normal (1,4; 0,5)

Tabla 52.- Estimación de la ingesta de plomo ( $\mu\text{g}/\text{kg p.c./semana}$ ) simulada mediante un modelo probabilístico y porcentaje de la población (PI) que está por encima de la PTWI

	Población Cazadores						Población No Cazadores					
	Carne de ciervo		Carne de jabalí		Carne de ciervo y jabalí		Carne de ciervo		Carne de jabalí		Carne de ciervo y jabalí	
	Distribución completa	Distribución truncada	Distribución completa	Distribución truncada	Distribución completa	Distribución truncada	Distribución completa	Distribución truncada	Distribución completa	Distribución truncada	Distribución completa	Distribución truncada
Mínimo	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.001
Maximo	17.90	3.51	56.01	18.44	56.01	15.93	24.83	11.84	22.27	5.12	15.04	9.69
Media	0.31	0.15	1.25	0.69	0.89	0.48	0.18	0.14	0.51	0.32	0.36	0.24
SD*	0.86	0.27	3.29	1.37	2.62	1.07	0.74	0.50	1.12	0.54	0.92	0.53
Moda	0.00	0.01	0.04	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.02	0.02	0.00	0.01
5%Perc**	0.00	0.00	0.02	0.02	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01
20% Perc	0.02	0.01	0.07	0.06	0.04	0.03	0.01	0.01	0.04	0.04	0.02	0.02
40% Perc	0.04	0.03	0.18	0.15	0.12	0.09	0.03	0.03	0.11	0.09	0.06	0.05
50% Perc	0.07	0.05	0.28	0.22	0.19	0.14	0.04	0.04	0.16	0.13	0.09	0.08
60% Perc	0.11	0.08	0.42	0.32	0.31	0.22	0.07	0.06	0.24	0.19	0.15	0.12
70% Perc	0.19	0.12	0.71	0.51	0.49	0.34	0.11	0.09	0.37	0.27	0.23	0.19
80% Perc	0.34	0.20	1.26	0.84	0.90	0.57	0.17	0.15	0.60	0.42	0.39	0.30
90% Perc	0.74	0.37	3.00	1.74	1.95	1.14	0.34	0.27	1.19	0.79	0.80	0.58
95% Perc	1.29	0.61	5.81	3.02	3.89	2.04	0.61	0.46	2.12	1.31	1.51	0.97
PI***	0.00%	0.00 %	0.40 %	0.00%	0.20%	0.00 %	0.00 %	0.00 %	0.00 %	0.00%	0.00 %	0.00 %

\*SD=Desviación Estandars; \*\* Percentil; \*\*\*  $PI = \frac{\#(X_i > PTWI)}{n}$  donde # (Xi>PTWI) es el número de ingestas que exceden de la PTWI (25  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ )

La ingesta media de Pb en los diferentes modelos probabilísticos, incluyendo *cazadores* y *no cazadores*, fue bastante similar (variando de 0,2 a 0,9  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ ), excepto para *cazadores* consumidores de carne de jabalí en el que el nivel de consumo fue de alrededor de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ .

Los valores de percentil 95 mostraron un patrón similar a los valores medios, siendo los valores más altos de nuevo para la población de *cazadores* consumidores de carne de jabalí o ambos tipos de carne (6 y 4  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  respectivamente).

En general, las distribuciones truncadas al percentil 95 indicaron una disminución de los niveles de ingesta de plomo con respecto a los modelos de distribuciones completas. Este hecho fue especialmente notable para los valores máximos obtenidos en la simulación. Por ejemplo, en los modelos con distribuciones truncadas, el valor más alto se obtuvo para la población de *cazadores* consumidora de carne de jabalí con una ingesta de 18  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ . Del mismo modo, para los modelos con distribuciones completas, el valor máximo se encontró en la población de *cazadores* que consumía carne de jabalí y ambos tipos de carne de caza con valores superiores a 56  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ . Este resultado no es inesperado ya que la carne de jabalí presenta el nivel máximo de plomo y un elevado nivel de consumo (30  $\text{kg}/\text{persona}/\text{año}$ ). Sin embargo, cabe destacar que los valores

máximos de ingesta se obtuvieron en raras ocasiones, con muy pocas iteraciones en la simulación (<10).

En cuanto al nivel de ingesta asociado al consumo de carne de ciervo, los valores máximos se obtuvieron para la población *no-cazadores* utilizando distribuciones completas (25 µg/kg/semana), y distribuciones truncadas al percentil 95 (12 µg/kg/semana), y correspondieron al valor del consumo máximo utilizado en la simulación (límite máximo, es decir, aplicado a la distribución del consumo), que era igual a 50 kg/año. Este valor correspondía a una sola persona que declaró consumir sólo carne de ciervo, lo que representa un escenario de exposición muy extremo.

En contraste, los valores de percentil 95 fueron mayores para los *cazadores*, siendo 1 y 0,6 µg/kg/semana en la distribución completa y en la distribución truncada respectivamente. Mientras que para la población *no-cazadores*, los valores de percentil 95 fueron de 0,6 y 0,5 µg/kg/semana en sendas distribuciones.

#### 5.3.3.2.2 Evaluación de la exposición al cadmio aplicando el modelo probabilístico

La estimación de la ingesta de cadmio, aplicadno un modelo probabilístico, para la población de *cazadores* y *no cazadores* con consumos individuales de un tipo de carne (i.e. carne de ciervo o de jabalí) y de ambos tipos de carne se muestran en la tabla 53.

Los resultados derivados de la simulación de los modelos probabilísticos indicaron que los niveles de exposición máximos de cadmio fueron superiores a los establecidos por el modelo determinista, tanto en *cazadores* como en *no-cazadores*, y para el consumo de carne de ciervo, jabalí o ambos tipos de carne.

La ingesta media de cadmio en los diferentes modelos probabilísticos, incluyendo *no-cazadores* y *cazadores*, fue bastante similar, variando de 0,02 a 0,05  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ . Los valores de percentil 95 mostraron un patrón similar a los valores medios (variando de 0,06 a 0,2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ ), siendo los valores más altos, de nuevo, en la población de *cazadores* consumidores de carne de jabalí o ambos tipos de carne (0,2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ ).

Respecto al nivel de ingesta asociado al consumo de carne de ciervo, los valores máximos se obtuvieron para la población *no-cazadores* con niveles superiores a un 1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  para ambos tipos de distribuciones. En relación al nivel de ingesta asociado al consumo de carne de jabalí, los valores máximos se obtuvieron para la población de *cazadores* con 2,3 y 0,9  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  para distribuciones completas y truncadas al percentil 95 respectivamente.

Los valores medios y de percentil 95 de ingesta de cadmio derivada del consumo de carne de jabalí en este estudio, en la población de *cazadores* (0,05 y 0,22  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  respectivamente) no son diferentes a aquellos descritos por Danielli y cols., (2012),



quienes han determinado que los niveles de exposición medios y de percentil 95 al cadmio, en esta misma población de consumidores, fueron de 8,2 y 19,0  $\mu\text{g}/\text{persona}/\text{semana}$ , siendo esta ingesta mayor cuando se estimó la ingesta de cadmio por consumo de carne e hígado de jabalí.

En general, las distribuciones truncadas indicaron una disminución de los niveles de ingesta de cadmio con respecto a los modelos de distribuciones completas. Este hecho fue especialmente notable para los valores máximos obtenidos en la simulación. Por ejemplo, en los modelos con distribuciones truncadas, el valor más alto se obtuvo para la población de *no-cazadores* consumidora de carne de ciervo o ambos tipos de carne, con una ingesta algo superior a 1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ . Del mismo modo, para los modelos con distribuciones completas, el valor máximo se encontró en la población de *cazadores* que consumía carne de jabalí y ambos tipos de carne de caza con valores superiores a 2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ .

Tabla 53.- Estimación de la ingesta de cadmio ( $\mu\text{g}/\text{kg p.c./semana}$ ) simulada mediante un modelo de evaluación del riesgo probabilístico, y porcentaje de la población que está por debajo del 1% y del 10% TWI.

	Población Cazadores						Población No Cazadores					
	Carne de ciervo		Carne de jabalí		Carne de ciervo y jabalí		Carne de ciervo		Carne de jabalí		Carne de ciervo y jabalí	
	Distribución completa	Distribución truncada	Distribución completa	Distribución truncada	Distribución completa	Distribución truncada	Distribución completa	Distribución truncada	Distribución completa	Distribución truncada	Distribución completa	Distribución truncada
Mínimo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Máximo	1,02	0,42	2,29	0,87	2,29	0,81	1,43	1,22	1,03	0,24	1,43	1,22
Media	0,04	0,02	0,05	0,03	0,05	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Std Deviation	0,07	0,03	0,14	0,06	0,12	0,06	0,06	0,06	0,05	0,02	0,06	0,05
Mode	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5% Perc	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20% Perc	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
40% Perc	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00
50% Perc	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
70% Perc	0,03	0,02	0,03	0,03	0,04	0,03	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01
90% Perc	0,10	0,05	0,12	0,07	0,13	0,08	0,04	0,04	0,06	0,04	0,06	0,04
95% Perc	0,17	0,09	0,22	0,13	0,22	0,12	0,07	0,06	0,10	0,06	0,09	0,07
P=<1% TWI	69,9	78,0	63,7	69,8	62,5	69,8	82,4	83,6	77,4	83,8	78,8	82,3
P=<10% TWI	97,4	99,7	95,6	98,4	95,6	98,9	99,2	99,2	99,2	100	99,1	99,5

### 5.3.4 Caracterización del riesgo

#### 5.3.4.1 *Caracterización del riesgo: modelo determinista*

La caracterización del riesgo se realizó comparando los niveles de exposición de los metales objeto de estudio, en los diferentes escenarios, con los valores toxicológicos de referencia. Y en base a esta comparación, evaluar el riesgo potencial para la salud humana derivado del consumo de carne de caza mayor.

A continuación se detallan los datos de caracterización del riesgo en los diferentes escenarios definidos y para cada uno de los metales objeto de estudio.

##### 5.3.4.1.1 Caracterización del riesgo por ingestión de plomo

Los resultados de caracterización de riesgo por ingesta de plomo aplicando el modelo determinista y expresada en porcentaje con respecto al PTWI (25  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ ), y teniendo en cuenta diferentes escenarios se muestran en la figura 27.

Los datos señalan que la ingesta de plomo supera la PTWI únicamente en el escenario más extremo. Los *cazadores* consumidores de ambos tipos de carne de caza mayor (ciervo y jabalí) fueron expuestos a la máxima ingesta de plomo ( $37 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ ) alcanzando un 147% de la PTWI. Igualmente, la ingesta de plomo de los *cazadores* que consumen sólo carne de jabalí supuso un 129% de la PTWI (es decir una ingesta de  $32 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ ), lo que indica que este tipo de carne (de jabalí) podría tener una mayor influencia respecto a la ingesta de plomo.

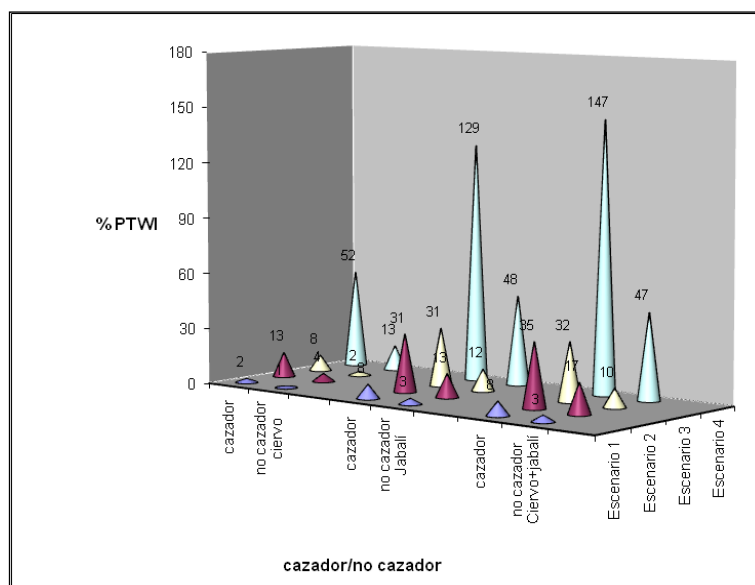


Figura 27. Caracterización del riesgo por ingesta de plomo derivado del consumo de sólo carne de ciervo, de jabalí o de ambos tipos de carne (%PTWI).

En el caso de la población *no-cazadores* nunca se supera el valor de referencia (PTWI) . Se obtiene un nivel máximo de ingesta de plomo (12 µg/kg/semana) en el escenario más extremo (escenario 4), alcanzando un 48% de la PTWI, para las personas que consumen sólo carne de jabalí, aunque se obtiene porcentajes muy próximos cuando se consume ambos tipos de carne (47% de la PTWI), lo que de nuevo pone de manifiesto que la carne de jabalí era la que más podría estar contribuyendo a los niveles de ingesta de plomo.

Por otra parte, los valores más bajos de ingesta de plomo derivaron del escenario en el que se utilizaron los valores medios de consumo de carne de caza y de concentración de metal (escenario 1). En este escenario, la carne de ciervo fue que menos ha contribuido al PTWI, con valores de 2 y 0,7% para los grupos de *cazadores* y *no-cazadores* respectivamente. Estos valores son similares a los descritos por Taggart y cols., (2011) del 3% de la PTWI, quienes consideraron un consumo medio de 150 g/persona/semana de este tipo de carne, algo superior al estimado en este estudio para ese escenario (5,44 kg/persona/año, es decir 105 g/persona/semana). Otros autores indica valores ligeramente inferiores de 0,5, 0,9 y 0,5-1% de la PTWI (Soler y cols., 2007; Lázarus y cols., 2008 y Jarzynska y Falandysz 2011, respectivamente), sin que en ninguno de estos estudios se diferenciaba entre consumidores *cazadores* y *no-cazadores*.

Los porcentajes de la PTWI derivados del consumo de carne de jabalí en este mismo escenario (8 y 3% para *cazadores* y *no-cazadores* respectivamente) fueron ligeramente mayores que el valor indicado por Soler y cols., (2007) de 0,5% de la PTWI, posiblemente debido a las diferencias en cuanto a los niveles de plomo de la carne de jabalí (más elevados en nuestro estudio) y a los patrones de consumo entre los grupos de *cazadores* y *no-cazadores*. Sin embargo, Taggart y cols. ,(2011) indicaron un 12% de la PTWI de plomo para un consumo medio de 150 g/persona/semana de carne jabalí, superando el porcentaje de la PTWI obtenido en nuestro estudio para el escenario 1 definido por un consumo medio de este tipo de carne de 4,97 kg/persona/año (es decir 95 g/persona/sermana).

El consumo de ambos tipos de carne de caza mayor en este escenario (1) supone el 8% y 3,5% de la PTWI para *cazadores* y *no cazadores* respectivamente. No se encontraron estudios que indicaran estimaciones de la ingesta de plomo derivada del consumo de ambos tipos de carne.

En general, la caracterización del riesgo por plomo derivada del consumo de carne de ciervo y jabalí fue superior en la población de los *cazadores*. lo que podría estar relacionado con un mayor consumo de carne de caza que la población general. Algunos autores sugirieron que el grupo específico de cazadores y sus familias presentan un mayor consumo de carne de caza (Guitart y Thomas 2005; Lázarus y cols, 2008).

Estudios de dieta total realizados en Andalucía y Galicia, han indicado niveles de ingesta de plomo del 5 y 5,5% de la PTWI respectivamente (Cuadrado y cols., 1995). Y recientemente en Cataluña, por la Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria, aplicando el modelo determinista, estudiando la exposición al plomo en la población catalana, han señalado niveles de 1,5% (Llobet y cols., 2010) y de 3% (Martí-Cid y cols., 2008) de la PTWI. Estos porcentajes están próximos al valor obtenido en el escenario 1 para población de *no-cazadores* de ambos tipos de carne (3,5% de la PTWI) y son algo menores que el valor obtenido para la población de *cazadores* en el mismo escenario (8% de la PTWI).

El hecho de que los niveles de ingesta por consumo de carne de ciervo y jabalí sean muy similares a los niveles obtenidos a partir de dieta total en la población general, hace hincapié en la idea, ya indicada, de que la ingesta de plomo, procedentes del consumo de carne de jabalí o de ambos tipos de carne, podría significar una importante contribución a la ingesta total de este metal, siendo especialmente relevante en la población de *cazadores*.

#### 5.3.4.1.2 Caracterización del riesgo por ingestión de cadmio

Los resultados de caracterización de riesgo por ingesta estimada de cadmio, aplicando el modelo determinista y expresada en porcentaje con respecto a la ingesta semanal tolerable (Tolerable Weekly Intake, TWI=2,5 µg/kg/semana), se muestra en la figura 28.

Los resultados indican que los niveles de ingesta de cadmio no superaron, en ningún escenario, el límite establecido de la ingesta semanal tolerable (TWI).

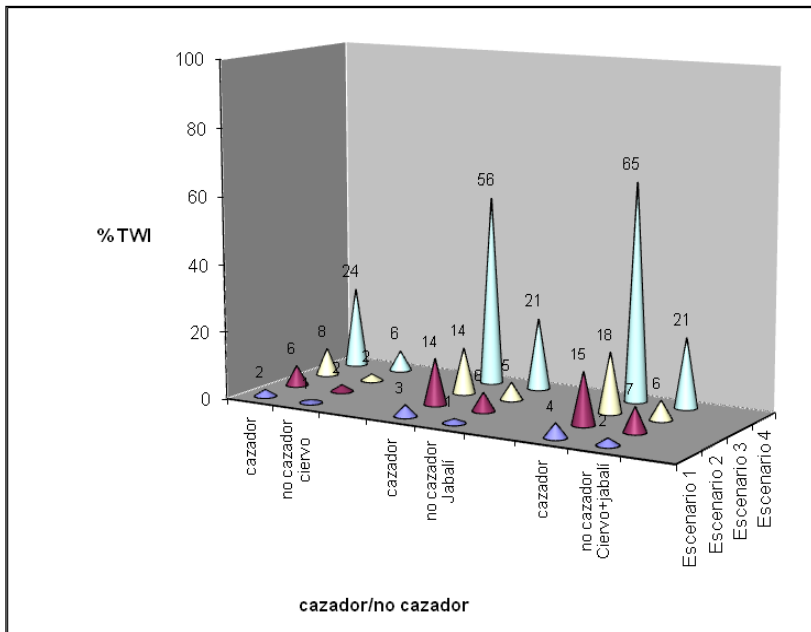


Figura 28. Caracterización del riesgo por ingesta de cadmio derivado del consumo sólo de carne de ciervo, de jabalí o de ambos tipos de carne (%TWI).

Los mayores niveles de ingesta de cadmio se alcanzan, igualmente, en el escenario 4, cuando se consume carne de jabalí o ambos tipos de carne de caza. Los cazadores consumidores de ambos tipos de carne de caza mayor (ciervo y jabalí) fueron expuestos al máximo de ingesta de cadmio (1,4 µg/kg/semana) llegando al 65% de la TWI. En los cazadores que consumen sólo carne de jabalí, la ingesta de cadmio se corresponde con el 56% de la TWI, lo que indica que este tipo de carne fue el principal contribuyente a la



ingesta de cadmio con 1,40  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  frente al 0,6  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  derivado del consumo de carne de ciervo.

En la población *no-cazadores* se obtuvo un nivel máximo del 21% de la TWI en el escenario 4, cuando consumen sólo carne de jabalí o ambos tipos de carne.

La carne de ciervo fue la que menos contribuyó a la ingesta de cadmio, representando un 6% para los grupos de *no-cazadores* y un 24% de la TWI en la población de *cazadores*. En el caso del escenario 1, los valores de ingesta de cadmio por consumo de carne de ciervo (0,7-2% TWI para *no-cazadores* y *cazadores* respectivamente), son inferiores a los descritos por Taggart y cols., (2011) quienes indicaron un valor del 6% de la ingesta semanal tolerable para un consumo medio de 150 g de carne ciervo, y Jarzynska y Falandysz (2011) que determinaron una ingesta de cadmio por consumo de carne de ciervo inferior a 0,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corporal, lo que representaba en torno al 28% de la ingesta tolerable, para un consumo de 100 g y una concentración de cadmio en músculo de ciervo (0,07 mg/kg).

Lázarus y cols., (2008) indicaron valores de ingesta de cadmio por consumo de carne de ciervo de hasta el 1,5% respecto a la ingesta semanal provisional tolerable (PTWI=7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c.), por lo que si se recalculara el valor de ingesta de cadmio respecto al valor actual de la ingesta semanal tolerable (TWI=2,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c.), este porcentaje sería algo superior al obtenido en este estudio.

En relación al consumo de carne de jabalí, los datos de porcentaje de la TWI derivados de la ingesta de cadmio por consumo de este tipo de carne varían desde el 1% para *no-cazadores* (escenario 1) y el 56% en *cazadores* (escenario 4). En el escenario 1, el porcentaje de la TWI varió entre el 3% para *cazadores* y el 1% en *no cazadores*. Los datos correspondientes a *cazadores* fueron similares al 3% descrito por Taggart y cols., (2011), aunque estos autores no diferenciaron entre consumidores *cazadores* y *no cazadores*, además consideraron un consumo medio de 150 g de carne de jabalí, algo superior al consumo utilizado en este estudio.

Por otra parte Soler y cols., (2007), indicaron que la ingesta de cadmio derivada por consumo de carne de caza representaba sólo un 0,5% de la PTWI, sin embargo estos autores utilizaron un dato medio de consumo de carne de caza sin diferenciar carne de ciervo y/o de jabalí, además de considerar como valor de referencia toxicológico de cadmio 7 µg/kg/semana.

La ingesta de cadmio (escenario 1) cuando se consumen ambos tipos de carne de caza mayor representa el 4% de la TWI para *cazadores* y el 2% de la TWI para *no-cazadores*. No se encontraron estudios con estimaciones de ingesta de cadmio derivado del consumo de ambos tipos de carne.

En general, la ingesta estimada de cadmio por el consumo de carne de ciervo y jabalí no representa un riesgo sanitario para la población consumidora de este tipo de carne, aunque se recomienda

un consumo moderado entre los *cazadores*, pues la ingesta de cadmio fue significativamente superior en esta población de consumidores, debido probablemente al mayor nivel de consumo de este tipo de carne.

### 5.3.4.1.3 Caracterización del riesgo por ingestión de cobre

Los resultados de caracterización de riesgo por ingesta estimada de cobre, aplicando el modelo determinista, expresada en porcentaje con respecto a la ingesta máxima diaria admisible (PMADI) establecida por la JECFA (1982), se muestra en la figura 29.

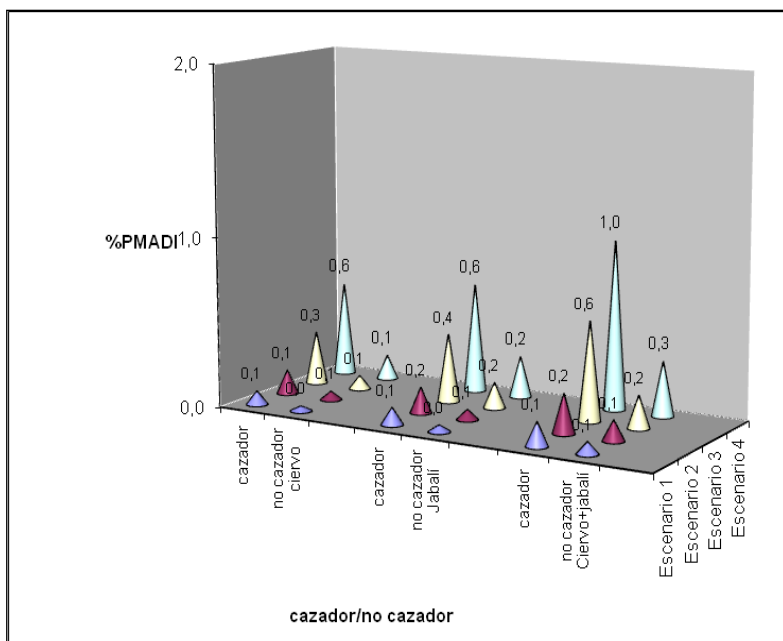


Figura 29. Caracterización del riesgo por ingestión de cobre derivado del consumo sólo de carne de ciervo, de jabalí o de ambos tipos de carne (% PMADI).

La ingesta de cobre derivada del consumo de carne de caza no supera en la población de *cazadores*, cuando se consume ambos tipos de carne, siquiera el 1% de la ingesta máxima diaria admisible, lo que representaría una ingesta diaria máxima de cobre de aproximadamente 5 µg/kg/día por consumo de carne de ciervo y jabalí.

Igualmente se observa que el porcentaje de la ingesta máxima diaria admisible de cobre es superior en la población de *cazadores* frente a la población de *no-cazadores* para la mayoría de los escenarios estudiados, no observándose prácticamente diferencias cuando se consume carne de ciervo o de jabalí en la población de *cazadores*, lo que estaría indicando que ambos tipos de carne aportan valores similares de ingesta de cobre, posiblemente debido a unos valores similares de consumo y de concentraciones de cobre en ambos tipos de carne.

#### 5.3.4.1.4 Caracterización del riesgo por ingesta de hierro

Los resultados de caracterización de riesgo por ingesta estimada de hierro, aplicando el modelo determinista, y expresada en porcentaje de ingesta diaria máxima tolerable establecida por la JECFA (1983), se muestra en la figura 30.

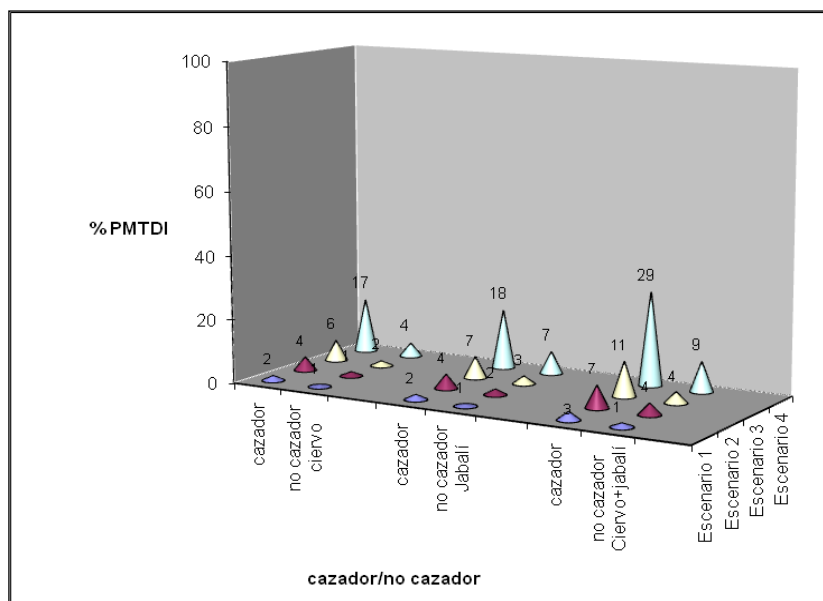


Figura 30. Caracterización del riesgo por ingesta de hierro derivado del consumo sólo de carne de ciervo, de jabalí o de ambos tipos de carne (% PMTDI).

Los resultados indican que la ingesta de hierro por consumo de carne de ciervo y jabalí no supera en ningún escenario estudiado la ingesta máxima tolerable diaria establecida (800  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ ). La caracterización del riesgo por ingesta de hierro derivada del consumo de carne de caza varía entre el 0,5% cuando se consume carne de ciervo en *no-cazadores*, y el 29% de la PMTDI cuando se consumen ambos tipos de carne de caza mayor en la población de *cazadores*, en el escenario 4, representando una ingesta diaria de aproximadamente 235  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ . Igualmente se observa que el porcentaje de la ingesta diaria tolerable admisible es superior en la

población de *cazadores* frente a la población de *no-cazadores* para todos los escenarios estudiados.

#### 5.3.4.1.5 Caracterización del riesgo por ingesta de zinc

Los resultados de la caracterización del riesgo por ingesta estimada de zinc en los diferentes escenarios se muestra en la figura 31. Los datos se expresan en porcentaje de la ingesta diaria máxima provisional tolerable establecida por la JECFA (1982) y que corresponde a 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal/día.

Con carácter general, los datos indican que el riesgo por ingesta de zinc derivada del consumo de carne de caza tampoco supera los límites tolerables recomendados.

Los valores máximos de riesgo de la ingesta estimada de zinc representan un 9% de la PMTDI y corresponden al consumo de carne de ciervo y de jabalí por parte de la población de *cazadores* (escenario 4), lo que representa una ingesta diaria provisional máxima tolerable de zinc de aproximadamente 94  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ . De nuevo los datos indican que el riesgo por la ingesta de zinc es superior en la población de *cazadores* frente a la población de *no-cazadores* para todos los escenarios estudiados.

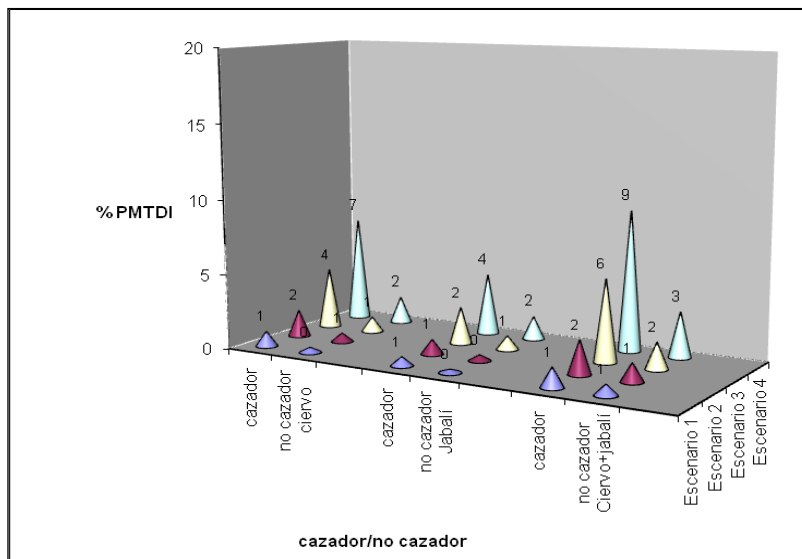


Figura 31. Caracterización del riesgo por ingesta de zinc derivado del consumo sólo de carne de ciervo, de jabalí o de ambos tipos de carne (% PMTDI).

Por otra parte, se observa que el riesgo por ingesta de zinc es superior en todos los escenarios cuando se consume carne de ciervo y de ambos tipos de carne de caza. Esto hecho sugiere que la carne de ciervo es la que más podría contribuir a la ingesta de zinc, lo que podría estar relacionado con los mayores niveles de zinc encontrados en la carne de ciervo (43,7 mg/kg), y que estaría en consonancia con Jarzynska y Falandysz (2011), quienes afirmaron que la carne de ciervo podría ser considerada una fuente esencial de zinc en la dieta humana.

El análisis de caracterización del riesgo por ingesta de metales pesados derivado del consumo de carne de ciervo y jabalí, en los distintos escenarios y aplicando el modelo determinista, y considerando los datos de todos los metales estudiados, indica que no se superan los límites toxicológicos de referencia excepto para el plomo.

Además, la población de *cazadores* fue la población con mayor riesgo derivado de la ingesta estimada de metales, siendo especialmente relevante el riesgo de esta población derivado de la ingesta de plomo cuando se consume sólo carne de jabalí o ambos tipos de carne de caza (con niveles de consumo de carne y de concentración de metales del percentil 95 y que corresponderían al escenario 4). Este aspecto coincidiría con lo expresado por diferentes autores en cuanto a señalar a la población de *cazadores* y su entorno familiar como un grupo específico de riesgo respecto a la ingesta de metales (Falandysz 1994; Burger y cols., 1997 y 1998; Haldimann y cols., 2002; Vahteristo y cols, 2003; Lazarus y cols., 2008; Taggart y cols., 2011).

Sin embargo, cuando se trabaja con niveles medios de consumo de carne y concentración de metales (escenario 1), en ningún caso se superó los niveles toxicológicos de referencia establecidos por los organismos internacionales. Esto parece indicar que, cuando se consumen niveles moderados de carne de caza



mayor, los niveles de riesgo respecto a la ingesta de estos metales están muy por debajo de los límites toxicológicos establecidos.

#### 5.3.4.2 *Caracterización del riesgo: modelo probabilístico*

La caracterización del riesgo mediante el modelo probabilístico se aplicó sólo a las ingestas de plomo y de cadmio. Ello estaría justificado por los resultados previos del análisis de peligros y de evaluación de la exposición que señalan a sendos metales con un cierto peligro, al exceder los límites máximos permitidos de estos elementos en carne de animales de abasto (tabla 44), y con elevados niveles de exposición (tabla 46 y 47). Además, se trataría de los dos metales pesados de los estudiados con un mayor riesgo toxicológico para la salud humana y, por tanto, con un mayor interés desde una perspectiva de Salud Pública.

Recientemente, Danieli y cols., (2012) en un estudio realizado en Italia, en el que han estimado el nivel de exposición de plomo y cadmio por consumo de carne de jabalí en la población de cazadores y sus familias, han sugerido que la exposición a estos metales tóxicos, por consumo de carne de caza, debe ser cuidadosamente evaluada en estas poblaciones específicas.

##### 5.3.4.2.1 Plomo

La simulación se llevó a cabo considerando las distribuciones de probabilidad en todo su rango. Además, la simulación se realizó

utilizando la distribución limitada al percentil 95 (truncada), con el fin de facilitar la comparación entre ambos modelos (determinista y probabilística).

Las gráficas A-C (figura 32) y D-F (figura 33) representan la distribución simulada del porcentaje de ingesta de plomo respecto a la PTWI para ambos tipos de distribuciones, completa y truncada (percentil 95) y para las poblaciones de *no-cazadores* y de *cazadores* respectivamente.

La aplicación del modelo de análisis de riesgo probabilístico para *no-cazadores* (figura 32) indicó valores de PI (probabilidad de exceder la PTWI) de 0,0% para todos los tipos de consumo de carne de caza mayor (de ciervo, de jabalí y de ambos tipos) y para ambos tipos de distribuciones (truncada al percentil 95 y completa). En consecuencia, la ingesta de plomo en la población *no-cazadores* consumidora de carne de caza mayor, no excedía el valor de la PTWI en ninguno de los escenarios estudiados. Además una parte significativa de esta población está por debajo del 1% de la PTWI cuando consume carne de ciervo (86%), de jabalí (72%) o de ambos tipos de carne (61%).

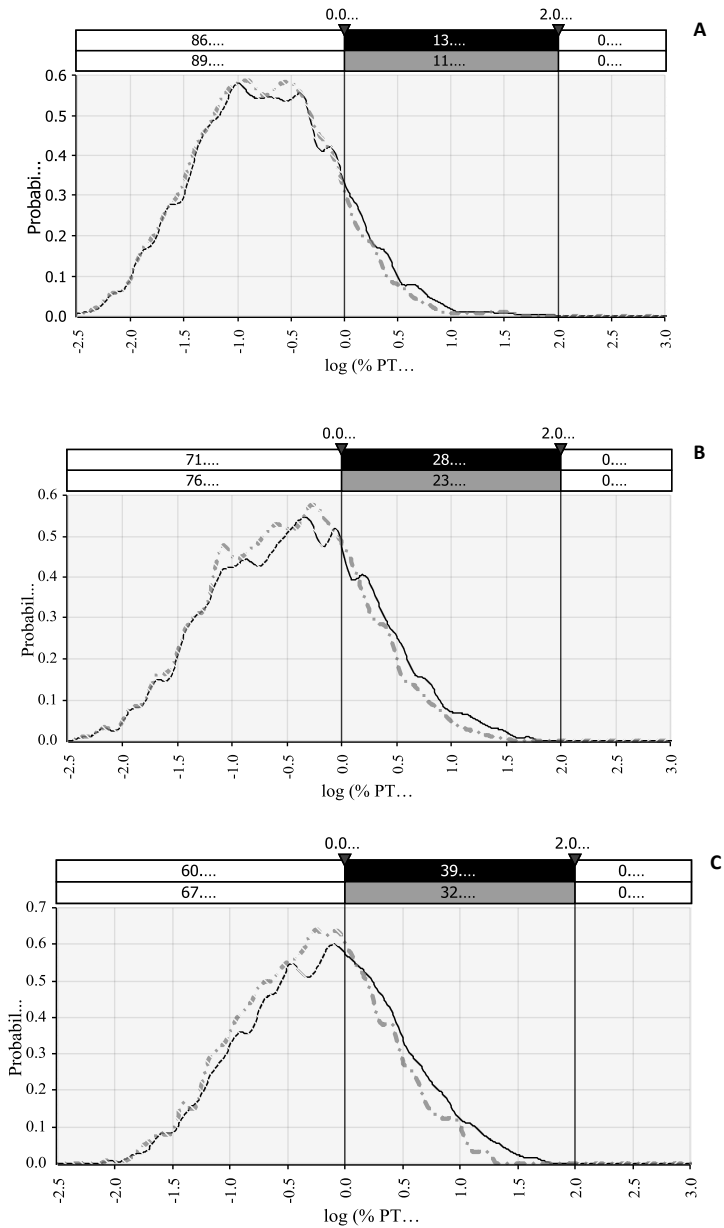


Figura 32. Distribución simulada del porcentaje de ingesta de plomo (% PTWI) en la población *no-cazadores* (distribución completa ████████ y trunca ████████), respecto al consumo de carne de ciervo (A); de jabalí (B) o ambos tipos de carne (C).

En la población de *cazadores*, el PI, considerando distribuciones completas, fue de 0,4% y 0,2% para el consumo de carne de jabalí y ambos tipos de carne, respectivamente (figura 33). La población *no-cazadores* no fue expuesta a niveles de riesgo por el consumo de carne de ciervo y/o de jabalí (PI = 0,0%).

Por otra parte, el análisis indicó que parte de la población de *cazadores* que consumían carne de ciervo (73%), de jabalí (48%) o ambos tipos de carne (55%) está por debajo del 1% de la PTWI.

El valor máximo se encontró en la población de *cazadores* que consumía carne de jabalí y ambos tipos de carne de caza con valores muy por encima de la PTWI (224%), para el estudio con distribuciones completas. Sin embargo, cuando la distribución se trunca en el percentil 95, la ingesta de plomo de esta población *cazadores* no excedía del valor de la PTWI para todos los casos simulados (es decir, PI = 0,0%).

En resumen, las distribuciones truncadas indicaron una disminución de los niveles de riesgo derivado de la ingesta de plomo con respecto a los modelos de distribuciones completas. En ningún caso se obtuvieron valores por encima de la PTWI. El valor máximo se obtuvo para la población de *cazadores* consumidora de carne de jabalí con un 72% de la PTWI.

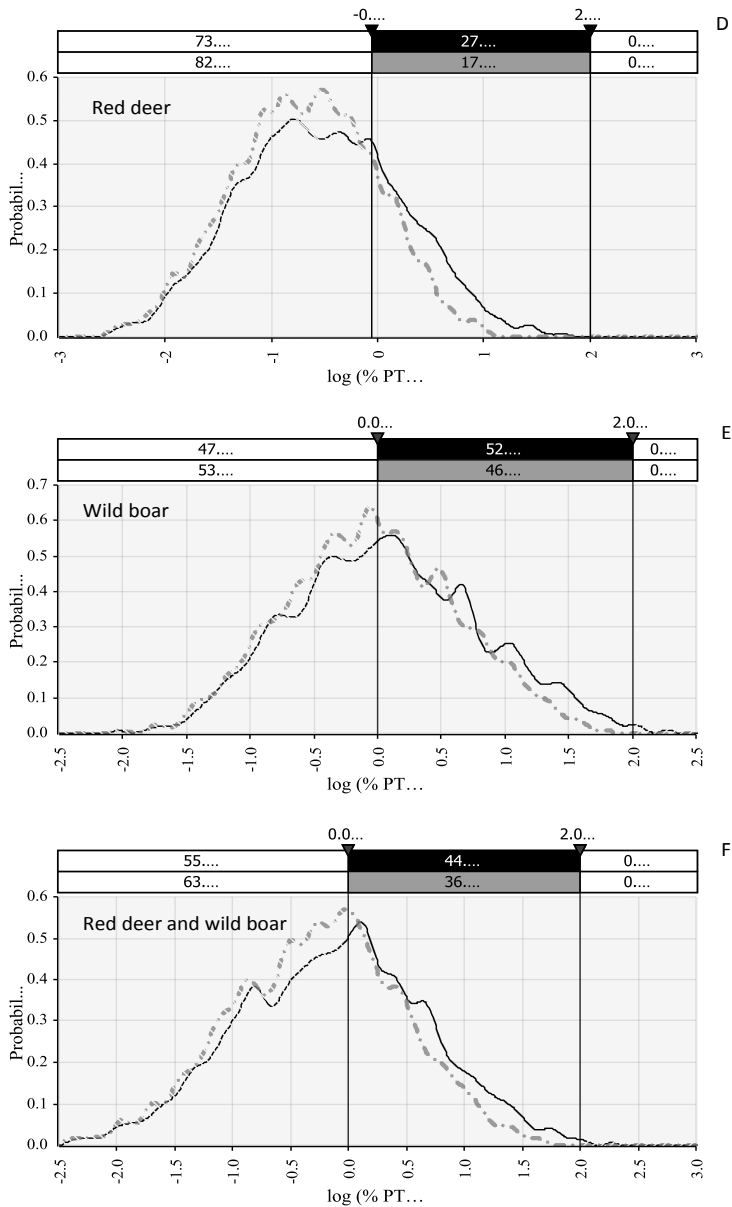


Figura 33. Distribución simulada del porcentaje de ingesta de plomo (% PTWI) en la población cazadores (distribución completa  y trunca ), respecto al consumo de carne de ciervo (D); de jabalí (E) o ambos tipos de carne (F).

#### 5.3.4.2.2 Cadmio

La simulación se llevó a cabo considerando el conjunto de las distribuciones de probabilidad en los mismos términos que en la caracterización del riesgo por ingesta de plomo.

Los resultados derivados de la simulación de los modelos probabilísticos indicaron que los niveles de exposición de cadmio no superaron en ningún caso la TWI (2,5 µg/kg/semana).

Las figuras 34 (A-C) y 35 (D-F) representan la distribución simulada (completa y truncada) del porcentaje de ingesta de cadmio respecto a la TWI en las poblaciones de *no cazadores* y de *cazadores* que consumen carne de ciervo, de jabalí o de ambos tipos).

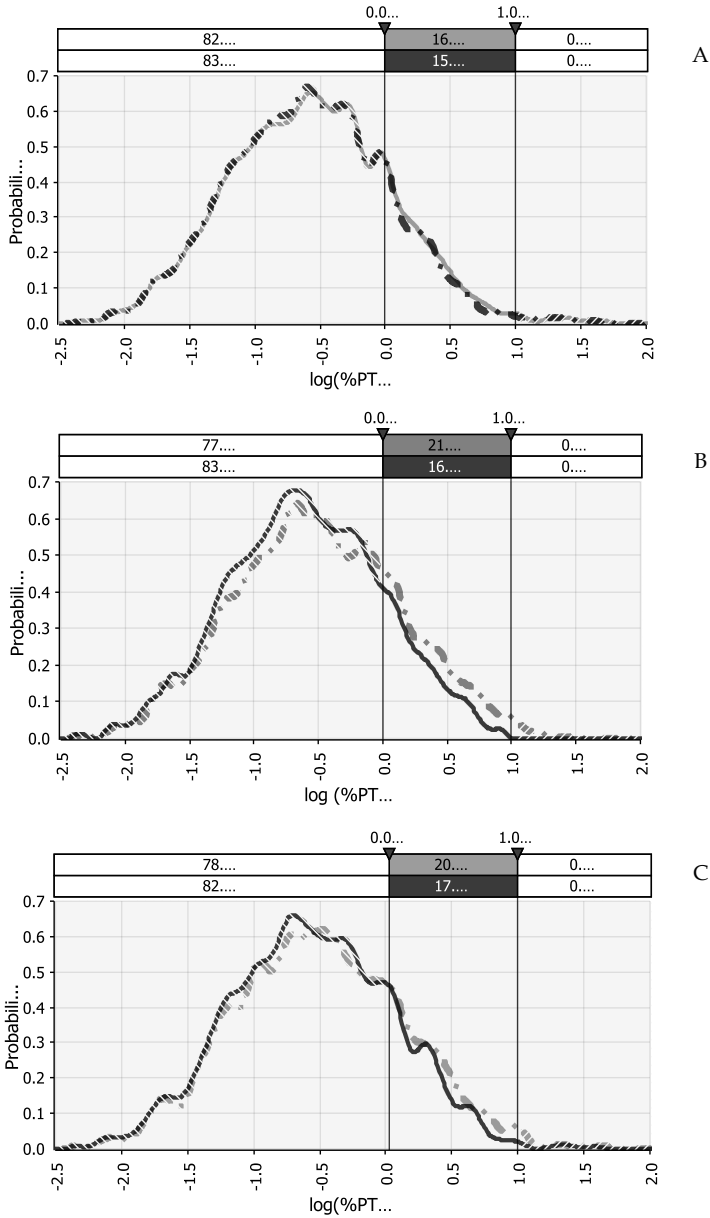


Figura 34. Distribución simulada del porcentaje de ingesta de cadmio (% TWI) en la población *no-cazadores* (distribución completa  y truncada ), respecto al consumo de carne de ciervo (A); de jabalí (B) o ambos tipos de carne (C).

Se puede observar que la mayor parte de la población *no cazadora y cazadora*, consumidora bien de carne de ciervo, de jabalí o ambos tipos de carne está por debajo del 10% de la ingesta semanal tolerable (TWI), siendo superior el tamaño de la población por debajo de este porcentaje de la TWI, cuando se consideró la distribución truncada (figura 34). En todo caso la ingesta de cadmio de la población consumidora de carne de caza mayor no excedía del límite toxicológico de referencia.

La aplicación del modelo de análisis de riesgo probabilístico para las poblaciones de *cazadores y no-cazadores* indicó que en ningún escenario estudiado se superó la ingesta toxicológica de referencia establecida para el cadmio (TWI), independientemente del tipo de consumo ,y en ambos tipos de distribuciones (completa y truncada), encontrándose una parte muy significativa de la población por debajo del 1% del límite toxicológica de referencia.



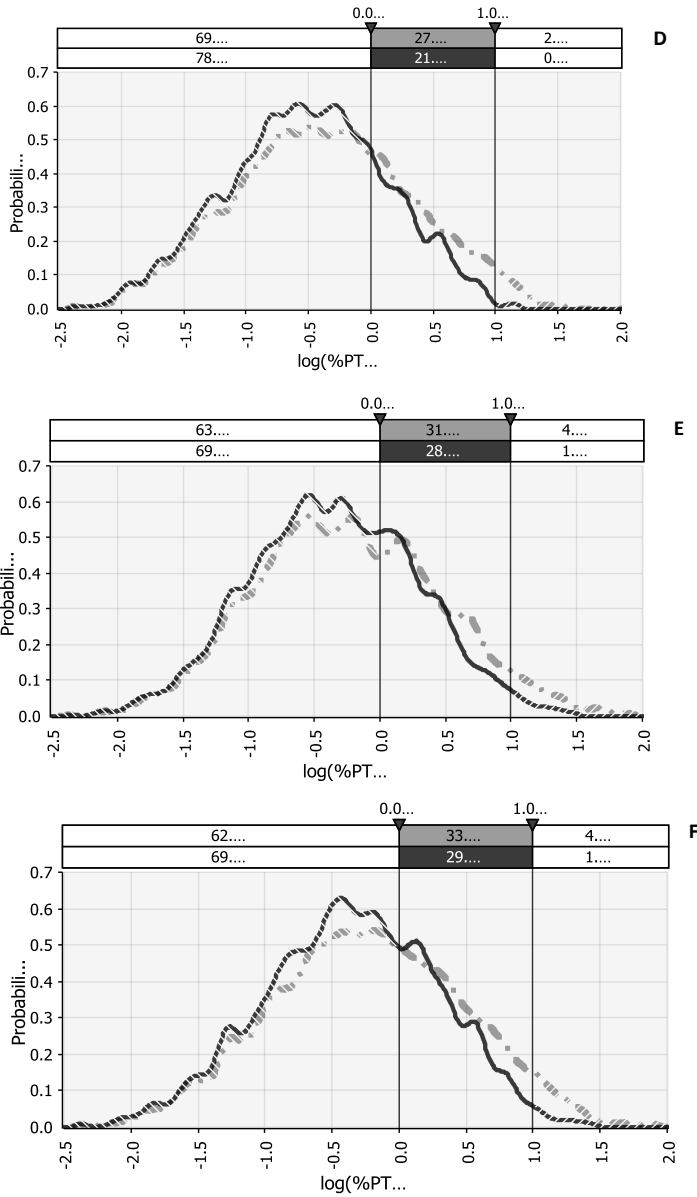


Figura 35. Distribución simulada del porcentaje de ingesta de cadmio (% TWI) en la población cazadores (distribución completa  y trunca ), respecto al consumo de carne de ciervo (D); de jabalí (E) o ambos tipos de carne (F).

Recientemente, Danieli y cols., (2012), estudiando la exposición de plomo y cadmio por consumo de carne de jabalí, en Italia, informaron que la exposición media y percentil 95 de plomo y cadmio, en consumidores adultos representaba entre un 0,87-1,81% de la PTWI y para el cadmio un 5,5-12,7% de la TWI respectivamente. Estos datos son algo inferiores a los determinados por nuestro estudio en el caso del plomo, que varía entre un 5-23,24% de la PTWI (tabla 52) y ligeramente superiores respecto a la ingesta de cadmio que varían entre un 2-8,8% de la TWI (tabla 53) de media y percentil 95 respectivamente para el consumo de carne de jabalí en la población de *cazadores* y su entorno familiar.

#### 5.3.4.3 *Estudio comparativo de los modelos determinista y probabilístico*

Si realizamos un estudio comparativo de ambos modelos, determinista y probabilístico, en relación con la evaluación de la exposición, se observan similitudes entre los diferentes escenarios utilizando la media y los valores medios obtenidos de la simulación. Este patrón se repite tanto para el plomo (ver tablas 46 y 52) como para el cadmio (ver tablas 47 y 53).

Tabla 54.- Estudio comparativo de evaluación de la exposición ( $\mu\text{g}/\text{kg p.c./semana}$ ) modelo determinista (escenario 1) y modelo probabilístico (distribución completa).

Consumidor	Modelo	Pb			Cd		
		Ciervo	Jabalí	Ciervo + jabalí	Ciervo	jabalí	Ciervo + jabalí
<b>Cazador</b>	Determinista	0,5	1,9	1,9	0,05	0,08	0,11
	Probabilístico	0,3	1,25	0,89	0,04	0,05	0,05
<b>No cazador</b>	Determinista	0,2	0,8	0,9	0,02	0,03	0,05
	Probabilístico	0,18	0,5	0,36	0,02	0,02	0,02

La similitud entre los datos fue más acentuada para los modelos de simulación con distribuciones completas y los del enfoque determinista en el escenario 1, aunque por lo general los resultados probabilísticos fueron ligeramente inferiores (tabla 54).

Por ejemplo, los valores de ingesta obtenidos para *cazadores* a partir de la estimación puntual (escenario 1) variaron entre un 0,5-2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  para el plomo; y de 0,05-0,1  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  para el cadmio. Por otra parte, en el modelo probabilístico, las ingestas de plomo y cadmio estuvieron en el mismo rango, variando entre un 0,3-1,25  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  y 0,04-0,05  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  respectivamente.

En no cazadores, los datos de ingesta de plomo y cadmio fueron igualmente inferiores en el modelo probabilístico, excepto para el consumo de carne de ciervo, en el que prácticamente no había diferencia.

Por el contrario, las estimaciones en el escenario 4 (utilizando los valores de percentil 95) desde el enfoque determinista fueron muy superiores a valores de percentil 95 del enfoque probabilístico, lo que demuestra que el enfoque determinista utilizando percentiles extremos puede llevar a sobreestimar el riesgo.

Por ejemplo, los valores de ingesta de plomo obtenidos a partir del modelo determinista (escenario 4) para *cazadores*, fueron casi diez veces superiores para el consumo de carne de ciervo (13  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ ) y de ambos tipos de carne (36,6  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ )

respecto a los datos de la simulación probabilística cuyos valores se situaron, para este tipo de consumo de carne de caza, en 1,3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  y 3,9  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ , respectivamente (tablas 46 y 52).

Igualmente, los niveles de ingesta de cadmio para el consumo de carne de ciervo y jabalí, en el modelo determinista, llegaron a ser hasta siete veces superiores que en el modelo probabilístico, siendo de 1,6  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  y 0,2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$  en sendos enfoques respectivamente. Repitiéndose este mismo patrón en ambos metales también en *no-cazadores* (tabla 47 y 53)

Sin embargo cuando se consideran los valores máximos de ingesta en el modelo probabilístico, las estimaciones del riesgo fueron mayores que las obtenidos en el enfoque determinista dado que en este último modelo sólo se utilizaron valores puntuales correspondientes al percentil 95 y no valores máximos. Por ejemplo, en el caso de la ingesta de plomo, el modelo determinista para *cazadores*, en los diferentes escenarios, mostró que aquellos que consumen sólo carne de jabalí y los que consumen ambos tipos de carnes en el escenario 4 tienen un cierto riesgo al superar la PTWI (129 y 147% respectivamente; figura 27). Mientras que el modelo probabilístico, basado en distribuciones completas y datos máximos en esta misma población y consumo, llevó a mayores niveles de riesgo (224% PTWI, tabla 46).

Sin embargo, ambos enfoques coinciden en el hecho de que el nivel de consumo más importante asociado a la población de *cazadores* fue el responsable de los altos niveles de ingesta de plomo frente a los *no-cazadores*, y por lo tanto ambos modelos señalan específicamente a la población de *cazadores* como una población de mayor riesgo respecto a la ingesta de este metal derivado del consumo de carne de caza.

Además, es importante hacer hincapié en la idea de que, a diferencia del cálculo determinista, el modelo probabilístico permitió cuantificar qué porcentaje de la población está expuesta a niveles de riesgo (por encima de los valores de referencia toxicológicos) utilizando el concepto de PI (probabilidad o porcentaje de la población que puede exceder los límites toxicológicos) y en qué niveles fueron expuestos.

Así, el modelo probabilístico permitió determinar el porcentaje de la población que excedía de la PTWI por ingesta de plomo derivado del consumo de carne de jabalí o ambos tipos de carne (0,4 y 0,2% respectivamente), o el porcentaje de la población que estaba por debajo del 1-10% de los valores de referencia toxicológica por ingesta de plomo (PTWI) o de cadmio (TWI) derivado del consumo de carne de caza.

Mientras que el análisis con un enfoque determinista puede ser útil para profundizar en los rangos o valores de la ingesta y en las variables que más podrían contribuir al riesgo final. Este modelo

permitió establecer, en cada caso, la mayor o menor influencia del consumo o de la concentración de metal en el porcentaje final de ingesta y, por tanto, de la caracterización del riesgo.

Así la ingesta de plomo en el escenario 2 (datos medios de consumo y datos de concentración extrema de metal) es superior que la derivada del escenario 3 (datos de consumo extremo y datos medios de concentración de metal), lo que podría indicar una mayor contribución a la ingesta de plomo por parte de la concentración de metal frente al consumo de carne de caza. Por otra parte el modelo señalaba que las ingestas este metal, derivadas del consumo de carne de jabalí y del consumo de ambos tipos de carne, fueron muy similares para cazadores y no cazadores, lo que podría deberse a la mayor influencia del consumo de la carne de jabalí que presenta mayores concentraciones de plomo.

#### *5.3.4.4 Influencia del consumo de carne de caza en la ingesta diaria de plomo y de cadmio*

Los estudios de dieta total constituyen una herramienta de gran valor para la determinación de la exposición a diferentes sustancias químicas a través de la dieta. Por ello resultan de gran utilidad en la evaluación del riesgo alimentario causados por la presencia de contaminantes en los alimentos (AESAN 2012).

Han sido numerosos los estudios que han valorado la ingesta de plomo o de cadmio a través de la dieta en la población española

(Cuadrado y cols. 1995; LLobet y cols., 2003; Rubio y cols., 2004; Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria 2000-2002; 2005-2007 y 2008), o en la población europea (EFSA, 2012) aunque en ninguno de ellos se hace referencia, a la ingesta de estos metales pesados derivada del consumo de carne de caza. Recientemente, la EFSA (2010) y la AESAN (2012) han publicado sendos informes; en los que se estima la ingesta de plomo en varios tipos de consumidores, incluida la población de cazadores, y se analiza el riesgo derivado del plomo por consumo de carne de caza, aunque no se hace referencia a la ingesta total.

Como una primera aproximación para estimar el riesgo, en esta tesis se intenta determinar la posible contribución del consumo de carne de caza mayor (ciervo y jabalí) a la ingesta total de plomo y cadmio en poblaciones consumidoras de este tipo de carne (diferenciando *cazadores* y *no cazadores*), considerándose exclusivamente la vía alimentaria como fuente de exposición a estos metales pesados.

La bibliografía señala diferentes procedimientos, para estimar la ingesta total de metales considerando el aporte por consumo de carne de caza, sin que haya que determinar valores medios de contenido de estos metales en suero sanguíneo de los consumidores. Uno de estos métodos sería calcular la ingesta del metal objeto de estudio a partir de datos de ingesta derivada de la dieta total en la población general, a la que se le sumaría la ingesta derivada del



consumo de carne de caza (AESAN 2012). Otro consistiría en calcular la ingesta total del metal en estudio, asumiendo que una parte de dicha ingesta (la derivada del consumo medio de carne y productos cárnicos) corresponde al consumo de carne de caza (Pain y cols., 2010).

En este trabajo se ha optado por aplicar la primera de las estrategias por ser la situación más extrema, al considerar el aporte de ingesta de metales derivado del consumo de carne de caza como un aporte adicional a la ingesta de estos metales derivada del consumo del resto de los alimentos.

En este sentido, primeramente se calculó la exposición al plomo y al cadmio por consumo de carne de caza, de acuerdo al procedimiento descrito anteriormente (apartado 4.7.3 de materiales y métodos). Se ha considerado el consumo máximo, medio y percentil 95 de ambos tipos de carne de caza (ciervo y jabalí), diferenciando entre consumidores *cazadores* y *no-cazadores* (tabla 41) y los datos medios de concentración de plomo y cadmio en músculo de ciervo y jabalí respectivamente (tabla 23). Posteriormente, se determinó la ingesta total de plomo y cadmio, sumando la ingesta obtenida por consumo de carne de caza y la ingesta media de estos metales por consumo de alimentos en la población española. Finalmente, la caracterización del riesgo se realizó comparando la ingesta total con los valores de referencia toxicológicos para plomo (JECFA 1999) y cadmio (EFSA 2010) ya descritos (tabla 45). Por

tanto, el riesgo fue expresado en %PTWI para plomo y %TWI para cadmio (tablas 55 y 56).

El valor de ingesta de plomo usado en nuestro estudio se corresponde con el valor medio de ingesta de plomo en la población general española de 48  $\mu\text{g Pb/persona/día}$  (es decir 5,6  $\mu\text{g/kg p.c./semana}$  para un peso medio de 60 kg) indicado por Rubio y cols., (2004). Este valor fue similar al determinado por Marti Cid y cols. (2008) en la población catalana (45,13  $\mu\text{g/persona/día}$ ) y próximo también a los datos facilitados por la EFSA (2012) para la población europea.

Los resultados de ingesta total de plomo y de estimación del riesgo (tabla 55) considerando el aporte derivado del consumo de carne de ciervo y jabalí, no superan, en ningún caso, la ingesta semanal tolerable provisional (PTWI=25  $\mu\text{g/kg p.c.}$ ), ni siquiera cuando se considera un consumo máximo de este tipo de carne de caza en la población de *cazadores* (84% PTWI).

Tabla 55.- Ingesta total de plomo en la población española ( $\mu\text{g}/\text{kg p.c}/\text{semana}$ ) y estimación del riesgo (%PTWI), considerando la influencia del consumo de ambos tipos de carne de caza (ciervo/jabalí, en  $\text{kg}/\text{año}$ ) en cazadores y no-cazadores.

Consumidores	Nivel de consumo de carne de caza	Ingesta de Pb por consumo de carne de caza	Ingesta de Pb por alimentos (Rubio y cols. 2004)	Ingesta total de Pb y riesgo (%PTWI)
	Máximo (26,67/30,00)	15,4		21 (84)
Cazadores	Medio (4,6/3,8)	1,9	5,6	7,5 (30)
	Percentil 95 (19,4/15,9)	7,9		13,5 (54)
	Máximo (50,00/5,00)	6,7		12,3 (49)
No Cazadores	Medio (2,85/1,56)	0,9	5,6	6,5 (26)
	Percentil 95 (6,4/5,00)	2,5		8,1 (32)

Además, los datos señalan que la ingesta fué siempre superior en la población de *cazadores* en relación con los *no-cazadores*, señalando de nuevo a la población *cazadora* como grupo de especial riesgo. Por otra parte, se pone de manifiesto que el riesgo alimentario por ingesta de plomo, considerando el consumo medio de carne de ciervo y jabalí, es relativamente bajo, variando entre 26%-30% de la PTWI para población *no-cazadores* y *cazadores* respectivamente.

Además, los datos señalan que la ingesta fué siempre superior en la población de *cazadores* en relación con los *no-cazadores*, señalando de nuevo a la población *cazadora* como grupo de especial riesgo. Por otra parte, se pone de manifiesto que el riesgo alimentario por ingesta de plomo, considerando el consumo medio de carne de ciervo y jabalí, es relativamente bajo, variando entre 26%-30% de la PTWI para población *no-cazadores* y *cazadores* respectivamente.

Igualmente se observa que la ingesta de plomo a partir de la carne de caza podría tener una gran influencia en la ingesta total de este metal para la población consumidora de esta carne. Si se considera el escenario de consumo máximo, la ingesta de plomo por consumo de carne de caza (15,4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c./semana) llegó casi a triplicar la ingesta media de plomo por alimentos (5,6  $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c./semana) en la población de *cazadores*.

Además se observa que la carne de jabalí podría tener una mayor contribución a la ingesta total de plomo que la carne de ciervo. Pues en la población de *cazadores* la ingesta máxima de plomo (21  $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c./semana), se obtuvo para un consumo máximo de carne de caza (26,67 kg de ciervo/30,00 kg de jabalí), mientras que en la población de *no-cazadores*, la ingesta máxima de plomo (12 kg p.c./semana) se obtuvo para un consumo máximo de casi el doble de carne de ciervo (50 kg) y prácticamente la sexta parte de carne de jabalí (5 kg). Es decir, en la población de *cazadores*, con un consumo de la mitad de carne de ciervo y seis veces el consumo de carne de jabalí que en la población de *no-cazadores*, prácticamente se ha duplicado la ingesta total de plomo. Esta mayor influencia de la carne de jabalí parece lógica ya que este tipo de carne fue la que presentó mayores niveles de plomo.

Para que un consumidor de carne de ciervo y jabalí, en nuestro país, alcance el valor máximo del límite toxicológico para el plomo (100% de la PTWI, es decir 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c./semana), considerando los datos medios de ingesta total de plomo en la población general española, y los porcentajes de consumo de este tipo de carne en las poblaciones de *cazadores* (55% ciervo/45% jabalí) y *no cazadores* (65% ciervo/35% jabalí), debería consumir, aparte del consumo medio de carne y productos cárnicos, aproximadamente 47 kg de carne de carne ciervo (129 g/día) y 39 kg de carne de jabalí (107 g/día) al año si es *cazador*, y en torno a 63 kg de carne de ciervo (173 g/día) y 34,5 kg de carne de jabalí (95 g/día) al año si es *no cazador*. Estas cifras

son a priori ciertamente lejanas de los datos publicados del consumo de carne de caza en nuestro país.

De acuerdo a estos datos, y considerando que la situación más ajustada a la realidad estaría por debajo de estas condiciones de consumo algo excepcionales, se podría afirmar que aún existiría un cierto margen para el consumo de este tipo de carne, mayor en la población general de consumidores *no-cazadora* que en *cazadores*, sin que ello signifique sobrepasar los límites toxicológicos de referencia, aunque actualmente se está revisando el límite toxicológico para plomo utilizado en este estudio.

Respecto al cadmio, los resultados de ingesta total y de estimación del riesgo (%TWI), considerando el aporte derivado del consumo de carne de ciervo y jabalí, se indican en la tabla 56. La valoración de la ingesta total de cadmio se ha realizado utilizando el límite superior analítico (2,81 µg/kg p.c) de la ingesta media de cadmio para la población general española indicada por la AESAN (2012).

Los resultados indican que la ingesta total de cadmio superó el nivel de TWI en todos los casos, alcanzándose porcentajes máximos del 143% en la población de *cazadores* y del 135% en *no cazadores*, para un consumo máximo de carne de caza. Sin embargo, la ingesta total de cadmio, para un consumo máximo, medio y percentil-95 de carne de ciervo y jabalí, fué prácticamente similar en la población de *cazadores* (3,58; 2,92 y 3,25 µg/kg p.c), y *no cazadores*

(3,37; 2,86 y 2,95  $\mu\text{g}/\text{kg p.c}$ ), a pesar de las diferencias existentes en el consumo. Ello podría poner de manifiesto una influencia menor del consumo de carne de caza respecto a la ingesta total de cadmio. Además, la ingesta total de cadmio en la población española indicada por la AESAN (2012) ya supera, por sí sola, la ingesta semanal tolerable para este elemento establecida por la EFSA (2,5  $\mu\text{g}/\text{kg p.c}$ ).

Tabla 56.- Ingesta total de cadmio en la población española ( $\mu\text{g}/\text{kg p.c}$ ) y estimación del riesgo (%TWI), considerando la influencia del consumo de ambos tipos de carne de caza (ciervo/jabalí, en  $\text{kg}/\text{año}$ ) en *cazadores* y *no-cazadores*.

Consumidores	Nivel consumo carne de caza	Ingesta de Cd por consumo carne de caza	Ingesta de Cd en la población española (AESAN 2012)	Ingesta total de Cd en la población y riesgo.(%TWI)
	Máximo (26,67/30,00)	0,77		3,58 (143)
Cazadores	Medio (4,6/3,8)	0,11	2,81	2,92 (117)
	Percentil 95 (19,4/15,9)	0,44		3,25 (130)
	Máximo (50,00/5,00)	0,56		3,37 (135)
No Cazadores	Medio (2,85/1,56)	0,05	2,81	2,86 (114)
	Percentil 95 (6,4/5,00)	0,14		2,95 (118)



Por lo tanto, se podría admitir que el mayor aporte de cadmio era debido al consumo general de alimentos y no al aporte derivado del consumo de carne de ciervo y jabalí, aunque el consumo de este tipo de carne incrementaba el aporte de cadmio, como era de esperar por otra parte.

Al objeto de extraer conclusiones, sería recomendable señalar los siguientes aspectos:

- Se ha considerado el límite superior de ingesta de cadmio en la población general española indicado por la AESAN (2012).
- Se ha estimado que la población española consumidora de carne de caza mayor lo es de ambos tipos de carne (ciervo y jabalí).
- El consumo de carne de caza, en sendos tipos de poblaciones consumidoras, es adicional al consumo medio de carne y derivados cárnicos en la dieta total de la población española.

Es por ello que la ingesta total de cadmio de la población española, consumidora de carne de ciervo y jabalí, podría estar, posiblemente, por debajo de los valores indicados. No obstante, sería necesario seguir avanzando en este tipo de análisis que permitiera conocer con una mayor aproximación la ingesta total de cadmio.

## **Estudio Epidemiológico**

---



#### 5.4 ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO

Este estudio es una primera aproximación, siendo la primera vez que se aborda un estudio epidemiológico respecto a la acumulación de metales en especies cinegéticas de caza mayor.

El objetivo es evaluar los factores de riesgo determinantes de la acumulación de metales pesados por especies cinegéticas de caza mayor en relación con su medio, es decir, desde una perspectiva eco-patológica.

Durante el muestreo se administró un cuestionario epidemiológico al gestor del acotado (anexo 1). Este cuestionario fue diseñado para obtener información acerca de los factores de riesgo que pudieran influir en la acumulación de metales pesados en las especies cinegéticas. Estos factores se pueden clasificar fundamentalmente en factores de riesgo endógenos (especie, sexo y edad), y factores de riesgo exógenos (vinculados a la localización geográfica, estacionalidad, actividad antropogénica y actividad y gestión cinegéticas).

Con los datos epidemiológicos obtenidos en los cuestionarios y los resultados de acumulación de metales pesados (variables dependientes) se elaboró una base de datos sobre la que se llevaron a cabo los análisis estadísticos correspondientes utilizando el programa SPSS 12.0 para Windows.

#### 5.4.1 Codificación de variables y análisis univariante.

Inicialmente se hizo una prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar el ajuste de los datos a la normalidad, comprobándose que sólo se ajustaban a la normalidad los valores de hierro y de cadmio, realizando una transformación logarítmica normal de los valores de plomo, cobre y zinc.

Posteriormente y con el fin de poder abordar la acumulación de metales pesados en especies cinegéticas de caza mayor desde una perspectiva epidemiológica, se realizó un estudio descriptivo de los valores de metales pesados con el objetivo de determinar en qué órganos se acumulan los diferentes metales y considerar los mismos como órganos diana.

Los resultados indicaron que el plomo se acumula principalmente en el músculo, el cadmio en el riñón y el cobre, zinc y hierro en el hígado, tal y como establecía *el Análisis de homogeneidad de medias a posteriori de Tukey* ya descrito en el análisis estadístico de distribución de metales por órganos (tabla 23).

A continuación, había que establecer los valores de concentración a partir de los cuales se considera a un individuo como positivo respecto a la acumulación de cada uno de los metales pesados.

A la hora de encontrar estos valores de referencia de positividad a la acumulación de metales pesados en ciervo y jabalí, se debía tener presente que, en las especies de vida libre, la toxicidad de estos contaminantes puede verse incrementada por circunstancias tales como, la disminución en cantidad o calidad del alimento, o las interacciones entre los propios metales pesados. Por lo tanto, es complicado extrapolar las concentraciones de metales en órganos a posibles efectos sobre la salud y la condición de las especies de fauna salvaje (Pedersen y Lierhagen, 2006; Tom y cols., 2006). Además, las concentraciones en tejidos que son indicativas de exposición excesiva, intoxicación subletal e intoxicación aguda varían según la taxonomía de la especie considerada (Schuehammer, 1987). No obstante, no hemos encontrado en la literatura, valores que indiquen acumulación anormal de los metales estudiados en ciervo o jabalí.

Por todo ello, se decidió considerar como individuos positivos a la acumulación de un metal, aquellos individuos que presentaban, en el órgano diana, una concentración de metal que estuviera por encima de los valores en los que se concentraban la mayoría de los datos (último cuartil). De esta forma podríamos obtener variables nominales para la acumulación de los distintos metales pesados con dos categorías: positivo y negativo, para cada una de las especies. Para ello se elaboraron gráficas Q-Q que permitieron indicar, para cada especie y metal, aquellos valores considerados excesivamente elevados (positivos) para cada uno de los metales (figuras 36 y 37).

Posteriormente, la distribución de frecuencias determinó la prevalencia de dicha acumulación. Las prevalencias de muestras positivas para el ciervo y jabalí, para cada uno de los metales estudiados, así como los valores de concentración a partir de los cuales un individuo se considera positivo, se indican en la tabla 57, destacando el valor de prevalencia de plomo (22%) en músculo y de zinc (18%) en hígado de jabalí, así como la prevalencia de cobre (29%) en hígado de ciervo.

Tabla 57.- Prevalencia de animales considerados positivos con respecto a la acumulación de metales pesados en ciervo y jabalí.

Especie	Metal	analizados	positivos	Positividad >mg/kg	prevalencia
<b>Ciervo</b>	Pb	41	2	0,78	4.9
	Cd	100	3	0,88	3
	Cu	99	29	11,6	<b>29.2</b>
	Zn	99	5	63	5.1
	Fe	99	1	382	1
<b>Jabalí</b>	Pb	64	14	1,44	<b>21.9</b>
	Cd	99	4	0,89	4
	Cu	106	2	11,8	1.9
	Zn	106	19	74	<b>17.9</b>
	Fe	106	5	378,5	4.7

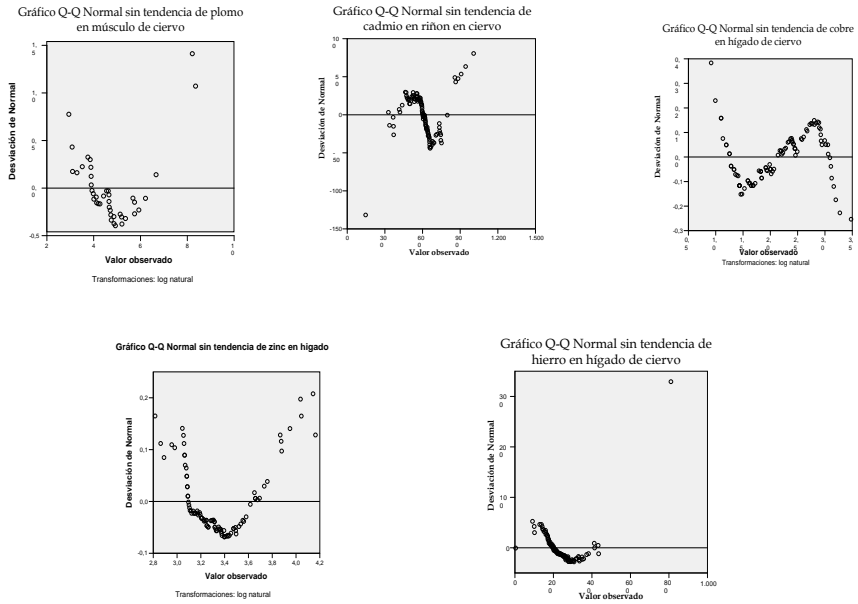


Figura 36. Gráficas Q-Q de metales pesados en ciervo.

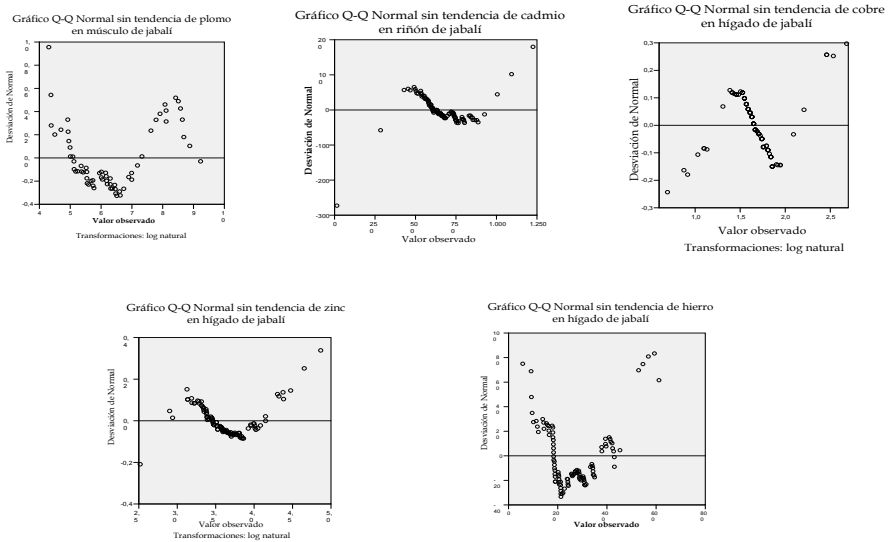


Figura 37. Gráficas Q-Q de metales pesados en jabalí.



#### 5.4.2 Análisis bivariante

Mediante el estudio bivariante se pretende contrastar la hipótesis de independencia entre las variables de acumulación de metales pesados y las variables que contienen la información relativa a cada ítem del cuestionario. Para ello se empleó la prueba *Chi Cuadrado* ( $\chi^2$ ), evaluando su significación mediante su valor  $p$  asociado, aplicando *la corrección de Pearson*, y considerando significativos los resultados cuyo valor  $p$  fue menor o igual a 0,05.

Para medir el grado de asociación entre las variables categóricas dicotómicas se emplearon el *Coficiente Phi* y la estimación de la *Odds Ratio* (OR) con sus valores de  $p$  asociados para un nivel de confianza del 95%. Los valores positivos de *Phi* y los valores superiores a la unidad de la *Odds ratio* se interpretan como una asociación directa, actuando estas variables como factores de riesgo, lo que indica que esta característica (variable) por el hecho de estar presente aumenta la probabilidad de que un individuo acumule más metal. Por el contrario, valores negativos de *Phi* o valores inferiores a la unidad de la *Odds ratio* determinan que la variable actúa como un factor de protección, es decir la presencia de tal característica aumenta la probabilidad de que un individuo no acumule el metal en estudio.

En las variables categóricas nominales (con más de dos categorías) se utilizó la *V de Cramer*, un parámetro estadístico similar a *Phi*, salvo que no posee un sentido directo o inverso.

Las variables numéricas fueron categorizadas. Y para estas variables se estimó la *V de Cramer* y su *p* asociada, que indican si una categoría supone un riesgo o una protección significativamente mayor que el resto. Igualmente se determinó la *Tau-b de Kendall* y su *p* asociada, que expresa la existencia de un “orden significativo” entre las distintas categorías definidas.

A continuación, se muestran los estadísticos de análisis bivalente, de aquellas variables que mostraron significación para la acumulación de metales pesados.

#### 5.4.2.1 *Plomo en músculo*

Para el plomo en músculo sólo mostraron significación ( $p \leq 0,05$ ) en la prueba *Chi cuadrado* los siguientes factores: *especie, año, edad, otros puntos de agua, construcción de vivares y presencia de ganado caprino* (tablas 58a y 58b).

Tabla 58a.- Factores significativos hallados en relación a la acumulación de plomo.

Variable	Categorías	Prevalencia %	Phi		OR	Odds ratio I. confianza 95%
			Phi	p		
Especie	Ciervo	5	-.231	0,018	0,183	0,039-0,854
	Jabalí	22				
edad	Joven	26	-.206	0,035	0,32	0,11-0,95
	Adulto	10				
Otros puntos de agua	no	21	-.256	0,009	0,69	0,60-0,79
	si	0				
Cabras	no	10	0,236	0,016	3,68	1,22-11,11
	si	30				
Vivares	no	12	0,223	0,022	4,04	1,14-14,27
	si	36				

Tabla 58b.- Factor agua en relación a la acumulación de plomo.

Año	Prevalencia (%)	tau b de Kendall	
		$\tau$	p
2003	25	-0.216	0.01
2004	16		
2005	0		

De todas ellas *la presencia de cabras* (OR=3,68) y *la construcción de viveares* (OR=4,04) tienen una asociación directa y son factores de riesgo (OR>1) respecto a la acumulación de plomo.

Entre tanto, las variables *especie (ciervo)*, *edad (adulto)* y el hecho de que los animales dispongan de múltiples puntos de agua en el coto (*otros puntos de agua*) son factores que protegen frente a la acumulación de plomo.

Por otra parte el *año de muestreo*, variable nominal de más de dos categorías, no se ha mostrado como factor de riesgo para la acumulación de Pb en músculo (*V de Cramer* de 0,232,  $p= 0,059$ ), no obstante el valor de la *Tau-b de Kendall* ( $\tau_b=-0,216$ ;  $p= 0,01$ ) indica que la acumulación de plomo ha disminuido significativamente durante los años de muestreo (tabla 58 b).

#### 5.4.2.2 Cadmio en riñón

En el caso del cadmio, para todos los factores analizados, la prueba *Chi cuadrado* fue significativa sólo para el factor *presencia de bebederos de cemento* en el acotado, considerado como un factor de riesgo, con un valor de *Odds ratio* de 4,91 (tabla 59).

Tabla 59.- Factores significativos hallados en relación a la acumulación de cadmio.

Variable	Cat.	Preval. (%)	Phi		OR	
			Phi	p	OR	I.C. 95%
<b>Bebederos de cemento</b>	No	1,9	0,158	0,026	4,91	1,06-22,8
	si	8,9				

Cat. (categoría), Preval.(prevalencia), I.C. (Intervalo de Confianza)

### 5.4.2.3 Cobre en hígado

En el caso del cobre, la prueba *Chi cuadrado* fue significativa para los factores endógenos *especie* y *sexo*, y para los siguientes factores exógenos: *la estación, el cultivo de cereales, suplemento de pienso, existencia de matorral y presencia de ganadería equina* en el coto.

Parece que las variables *la estación y la presencia de matorral* en el acotado actúan como posibles factores de protección (OR<1), mientras que *la especie (ciervo), sexo (macho), suplemento de pienso, presencia de ganadería equina y cultivo de cereales* actúan como posibles factores de riesgo (OR>1) respecto a la acumulación de cobre (tabla 60).

Tabla 60.- Factores significativos hallados en relación a la acumulación de cobre.

Variable	Cat.	Preval. (%)	Phi		OR	
			Phi	p	OR	I.C. 95%
Especie	Ciervo	29,3	0,382	0,000	21,54	4,98-93,19
	Jabalí	1,9				
Sexo	Macho	21,9	0,213	0,002	3,98	1,56-10-18
	Hembra	6,6				
Estación	Invierno	8,5	0,150	0,032	0,39	0,16-0,94
	Otoño	19,5				
Suplem. de pienso	NO	11,8	0,177	0,011	2,8	1,24-6,35
	SI	27,3				
Cereales	NO	13,8	0,157	0,024	4,15	1,10-15,67
	SI	40				
Matorral	No	37,5	0,182	0,009	0,25	0,09-0,76
	SI	13,2				
Caballos	NO	10,5	0,160	0,022	2,44	1,12-5,31
	SI	22,2				

Cat. (categoría), Preval.(prevalencia), I.C. (Intervalo de Confianza)

#### 5.4.2.4 Cinc en el hígado

La prueba *Chi cuadrado* para el zinc determinó como significativa la variable *especie* (jabalí) que actúa como factor de riesgo (OR=4,09) (tabla 61).

Tabla 61.- Factores significativos hallados en relación a la acumulación de cinc.

Variable	Cat.	Preval. (%)	Phi		OR	
			Phi	p	OR	IC 95%
Especie	Ciervo	5,1	-0,200	0,004	0,244	0,09-0,68
	Jabalí	17,9				

#### 5.4.2.5 Hierro en el hígado

No se encontró ninguna variable significativa a la acumulación de hierro utilizando pruebas de *Chi cuadrado*.

#### 5.4.3 Análisis multivariante

A través del análisis multivariante se ha estudiado la posibilidad de establecer un modelo con el que mejorar la estimación de las relaciones entre las variables de resultado y los factores de riesgo (variables predictoras), es decir, un modelo que sea capaz de determinar qué variables presentan una influencia significativa sobre la acumulación de metales pesados y cuáles son meras variables confundentes. Para ello se utilizó la *regresión logística binomial*.

La *regresión logística binomial* era el modelo más sencillo y que mejor describía la relación existente entre un efecto o variable dependiente (la acumulación de metales pesados) y una serie de variables independientes o covariables (variables predictoras).

En el proceso de construcción del modelo predictivo, a priori todas las variables tienen el mismo peso, por lo que se trata de encontrar cuáles son las que, de entre todas ellas, proporcionan la mejor estimación de que un animal o un grupo de animales resulten positivos a la acumulación de alguno de los metales pesados analizados.

En el presente estudio se decidió emplear un método de selección de las variables paso a paso hacia atrás para la construcción del modelo predictivo, tomando como parámetro de selección el *estadístico de Wald*. Este modelo proporcionará, además de la identificación de las variables definitivas asociadas al estado de acumulación de metales pesados, la fuerza con que cada variable se relaciona realmente con la variable dependiente, eliminando el efecto de las variables confundentes.

En cada paso del proceso de selección de variables, la candidata a ser seleccionada será la que presente el mínimo valor de  $p$  asociado al estadístico *Puntuación Eficiente de Rao*. La variable será seleccionada si dicho valor es inferior a un valor crítico prefijado ( $p < 0,05$ ). De este modo, la primera variable en ingresar en el modelo será aquella con el valor  $p$  asociado al estadístico *Puntuación Eficiente de Rao* más bajo.

Así se van seleccionando variables hasta que, en alguna de ellas, el máximo valor  $p$ , asociado al *estadístico de Wald* para las variables previamente incluidas en el modelo, verifica el criterio de



eliminación, sacándola del modelo antes de proceder a la selección de una nueva variable. El valor  $p$  para este nivel de confianza ha de ser menor de 0,05, al menos en una de las categorías, para que la variable resulte incluida en el modelo.

### 5.4.3.1 Plomo en músculo

La codificación de las diferentes variables categóricas estudiadas por su posible relación como factores de riesgo y/o de protección con la acumulación del plomo se indica en la tabla 62.

Tabla 62.- Codificaciones de variables categóricas.

Variable	Categoría	Frecuencia	Codificación de parámetros	
			(1)	(2)
Año	2003	28	1,000	,000
	2004	57	,000	1,000
	2005	20	,000	,000
Construcción de vivares	no	91	1,000	
	si	14	,000	
Edad	joven	70	1,000	
	adulto	35	,000	
Otros puntos de agua	no	77	1,000	
	si	28	,000	
Caprino	no	78	1,000	
	si	27	,000	
Especie	jabalí	41	1,000	
	ciervo	64	,000	

El modelo de análisis de regresión binaria logística (condicional hacia atrás) identificó como variables predictoras la especie (*jabalí*) y la presencia de vivares en el coto (tabla 63).

Tabla 63.- Regresión binaria logística de plomo en músculo.

	Varibales	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 9(a)	especie (jabalí)	1,84	,847	4,73	1	,030	6,298
	Agua (no)	19,54	7182,2	,00	1	,998	3E+008
	Vivares (no)	-1,46	,74	3,9	1	,047	,233
	Constante	-21,11	7182,2	,00	1	,998	,000

Para *la especie*, los datos indican que si un animal es jabalí (OR=6,30) tiene una probabilidad de acumular plomo seis veces superior que si es ciervo (OR=0,159), lo que parece estar en concordancia con otros datos estadísticos ya descritos, y pudiera explicarse por las diferencias en los hábitos alimentarios de sendas especies cinegéticas.

Igualmente, los animales que habitan en acotados en los que se han construido *vivares en el coto* tienen una probabilidad mayor de acumular plomo (OR=4,29) frente a aquellos que viven en fincas en las que no hay presencia de vivares (OR=0,233).

Una posible explicación de la influencia de la *presencia de vivares* en el coto respecto a la acumulación de plomo podría estar asociada a un cierto interés por mejorar la gestión cinegética en el coto y por tanto a la mayor presencia de otras especies de caza, concretamente los vivares están dirigidos a mejorar las poblaciones

de conejos. Ello significaría mayor población de conejos en el coto, que se podría traducir también en una mayor presión cinegética, al practicarse otras modalidades de caza como la caza del conejo. La práctica de la caza del conejo generaría una mayor dispersión de perdigones de plomo en el hábitat y por tanto una mayor presencia de este contaminante en el medio ambiente. Esto se traduciría en una mayor transferencia de este metal a los sistemas biológicos, y podría justificar la mayor probabilidad de acumular plomo por parte de ciervos y jabalíes que habiten en fincas con presencia de vivares.

La capacidad de predicción del modelo para el plomo fue del 85% (tabla 64). El análisis de regresión logística binaria indica que la  $R^2$  de Nagelkerke tiene un valor de 0,302 y que el test de Hosmer y Lemeshow para la bondad de ajuste mostró un valor de  $\chi^2$  igual a 3,159 en la prueba con una significación de 0,676.

El modelo predice que un individuo ciervo en un coto donde no hay presencia de vivares, tiene muy poca probabilidad de acumular plomo.

Tabla 64.- **Tabla de clasificación para el modelo de acumulación de plomo.**

	Observados	Esperados		Porcentaje correcto
		Pb		
		Negativo	Positivo	
<b>Pb</b>	negativo	89	0	100
	positivo	16	0	0
	<b>Porcentaje total</b>			84,8

#### 5.4.3.2 Cadmio en riñón

La presencia de bebederos de cemento se codificó en el modelo como (0) y la no presencia de bebederos de cemento en el coto como (1).

Para el cadmio el modelo identificó *la presencia de bebederos de cemento* como una variable predictora (tabla 65).

Tabla 65.- **Regresión binaria logística para cadmio en riñón.**

	variables	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
<b>Paso 1(a)</b>	Bebedero cemento (no presencia)	-1,59	,784	4,122	1	,042	,204
	Constante	-2,32	,524	19,739	1	,000	,098

Los datos indican que los animales que viven en fincas con *presencia de bebederos de cemento* tienen casi cinco veces más probabilidad de acumular cadmio (OR= 4,9) que aquellos animales

que habitan en fincas donde no existen bebederos de cemento (OR=0,204).

No se ha encontrado una explicación adecuada para estos resultados. No obstante, la bibliografía ha indicado una cierta relación entre la exposición al cemento y mayores niveles de cadmio en sangre. Savedra y cols., (2010) indicaron que las personas con exposición laboral al cemento presentan elevados niveles de cadmio en sangre, incluso llegando a sobrepasar el límite ambiental-exposición diaria y el límite biológico. El polvo de los residuos del horno durante el proceso de elaboración del cemento, e incluso el mismo cemento, pueden tener ciertos metales pesados, incluido el cadmio. En este sentido, el cemento de los bebederos se podría considerar una posible fuente de contaminación del agua de bebida, si bien, en nuestro estudio no se analizó el agua de los bebederos.

La capacidad de predicción del modelo para el cadmio fue del 97% de los casos (tabla 66). *La R<sup>2</sup> de Nagelkerke* tiene un valor de de 0,077.

Tabla 66.- **Tabla de clasificación para el modelo de acumulación de cadmio.**

Observados	Esperados		Porcentaje correcto
	Cd negativo	Cd Positivo	
Cd negativo	192	0	100
Cd positivo	7	0	0
<b>Porcentaje total</b>			<b>96,5</b>

El modelo predice con un alto porcentaje que un animal que habita en un coto donde no hay bebederos de cemento acumula menos cadmio.

#### 5.4.3.3 Cobre en hígado

La codificación para el cobre en hígado según regresión binaria logística (condicional hacia atrás), fue para los siguientes factores de riesgo: *especie* (ciervo (0), jabalí (1)), y la *presencia de caballos* (0) y no presencia de caballos (1).

El modelo identificó como variables predictoras *la especie y presencia de caballos* en la finca, actuando como factores de riesgo para la acumulación de cobre en el hígado de especies cinegéticas de caza mayor (tabla 67).

Tabla 67.- Regresión binaria logística para el cobre en hígado.

	variables	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 1(a)	Especie (Jabalí)	-3,124	,753	17,227	1	,000	0,044
	Caballos (no)	-1,010	,434	5,422	1	,020	,364
	Constante	-0,329	0,314	1,100	1	,294	,72

Para *la especie*, los datos indican que si un animal es ciervo (OR= 22,73) tiene una probabilidad de acumular cobre casi veintitrés veces superior que si es jabalí (OR=0,044), lo que está en consonancia con otros datos estadísticos ya descritos. Pudiera explicarse por las diferencias en los hábitos alimentarios de sendas especies cinegéticas, específicamente en lo que se refiere a los mayores requerimientos de cobre en ciervos por el desarrollo de la cornamenta.

La mayoría de las muestras de ciervo de este estudio procedían de fincas con un cierto nivel de calidad cinegética relacionado con algún posible manejo nutricional de la población de ciervos, en especial con la suplementación de cobre que corregiría las deficiencias nutricionales en determinadas épocas del año y favorecería el desarrollo de la cuerna.

Igualmente, se indica que ciervos y/o jabalíes que viven en fincas donde además existen caballos tienen una mayor probabilidad de acumular cobre (OR=2,75), hasta tres veces

superior, frente a aquellos animales que viven en fincas sin la presencia de caballos. (OR=0,36).

Se sabe que la existencia de ganadería en una finca con explotación cinegética, también la equina, podría tener determinados efectos sobre las propias especies de caza (Duarte 2001). Por otra parte, Enríquez (2007) sugirió que la presencia de ganado equino podría asociarse con la suplementación de cobre a estos animales.

En este sentido, algunos veterinarios, recomiendan la suplementación de la alimentación de los equinos con cobre para reducir el daño en enfermedades como la osteoartrosis u osteocondrosis en caballos (Hernández Vidal, G. 2011). Este aspecto podría implicar que su estiércol fuera rico en este elemento y, por tanto, el suelo donde se aplica y las plantas que crecen en él podrían tener mayores niveles de cobre, lo que podría explicar una mayor acumulación de este metal en el ciervo.

La capacidad de predicción del modelo para el cobre fue del 85% (tabla 68). La  $R^2$  de Nagelkerke tiene un valor de de 0,311. Los resultados del test de de Hosmer y Lemeshow para la bondad de ajuste fueron un valor de  $\chi^2$  igual a 0,160 con una significación de 0,923.



Tabla 68.- Tabla de clasificación para el modelo de acumulación de cobre.

Observados	Esperados		Porcentaje correcto
	Cu negativo	Cu Positivo	
Cu negativo	174	0	100
Cu positivo	31	0	0
<b>Porcentaje total</b>			<b>84,8</b>

El modelo indica que si un animal jabalí vive en un coto donde no hay presencia de caballos, la probabilidad de que acumule cobre es muy baja.

#### 5.4.3.4 Zinc en hígado.

La codificación de las diferentes variables categóricas estudiadas por su posible relación como factores de riesgo y/o de protección con la acumulación del cinc se indica en la tabla 69.

Tabla 69.- Codificaciones de variables categóricas.

Variable	Categorías	Frecuencia	Codificación de parámetros		
			(1)	(2)	(3)
año	2003	45	1,000	,000	,000
	2004	81	,000	1,000	,000
	2005	66	,000	,000	1,000
	2006	13	,000	,000	,000
plaguicidas/ fertilizantes	0	148	1,000		
	1	57	,000		
sexo	hembra	114	1,000		
	macho	91	,000		
actividad industrial	no	83	1,000		
	si	122	,000		
suplemento herbáceas	no	168	1,000		
	si	37	,000		
especie	jabalí	99	1,000		
	ciervo	106	,000		

El modelo identificó sólo como variable predictora *la especie*, y los datos indican que si un animal es jabalí (OR=4,01) tiene una probabilidad de acumular cinc en el hígado cuatro veces superior que si es ciervo (OR=0,249) (tabla 70).

Tabla 70.- Regresión binaria logística para cinc en hígado.

	variables	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Paso 5(a)	Especies (jabalí)	1,389	,527	6,943	1	,008	4,012
	Heno (no)	1,696	1,045	2,635	1	,105	5,452
	Constante	-4,441	1,095	16,642	1	,003	,012

Estos resultados podrían estar relacionados con la fisiología del jabalí, aunque serían necesarios estudios posteriores para encontrar una explicación a este modelo predictivo. En general, el

contenido medio de cinc en hígado de cerdos es superior al de vacuno. López Alonso y cols., (2000 y 2007) estimó un contenido de zinc en hígado de cerdos (81 mg/kg) dos veces superior al de bovino (39 mg/kg).

La capacidad de predicción del modelo para el cinc fue del 88% de los casos (tabla 71). La  $R^2$  de Nagelkerke tiene un valor de 0,119, y los resultados del *test de Hosmer y Lemeshow* para la bondad de ajuste indicaron un valor de  $\chi^2$  igual a 0,325, con una significación de 0,850.

Tabla 71.- Tabla de clasificación para el modelo de acumulación de cinc.

Observados	Esperados Zn		Porcentaje correcto	
	negativo	Positivo		
Zn	negativo	181	0	100
	positivo	24	0	0
<b>Porcentaje total</b>				88,3

El modelo señala que si un animal es ciervo y tiene alimentación suplementada con herbáceas, no tiene una probabilidad alta de acumular cinc.

Este primer análisis epidemiológico identificó como factores de riesgo respecto a la acumulación de metales: *la especie* (jabalí) y *la presencia de viveares* en el coto para la acumulación de plomo; *la presencia de bebederos de cemento* para el cadmio; *la especie* (ciervo) y *la presencia de ganadería caballar* para el cobre, y *la especie* (jabalí) para el

zinc. No obstante sería necesario realizar posteriores análisis para avanzar en el conocimiento de la influencia de estos factores.



## CONCLUSIONES





## 6 CONCLUSIONES

**PRIMERA.-** La especie y el órgano son los dos factores que mayor influencia muestran sobre la presencia de metales pesados en ciervo y jabalí.

**SEGUNDA.-** Si bien no ha sido posible establecer un modelo común de acumulación de metales pesados entre especies, sí destaca el jabalí con mayores niveles de plomo y cadmio, encontrando el mayor contenido de plomo en el músculo de jabalí.

**TERCERA.-** Los porcentajes de muestras de músculo de ciervo y jabalí que superaron los límites máximos de plomo y cadmio establecidos por la legislación europea para carne de animales de abasto permitirían afirmar que, en consonancia con lo descrito por otros autores, la autoridad sanitaria competente debería establecer medidas específicas para la gestión del riesgo alimentario por la presencia de plomo y cadmio en carne de caza.



**CUARTA.-** El consumo medio de carne de ciervo y jabalí es bajo respecto a la ingesta per cápita de carne en la población española, siendo mayor el consumo de carne de ciervo. El consumo de la población de *cazadores* y su entorno familiar, es mayor que el de los *no cazadores*, siendo estadísticamente significativo el consumo de carne de jabalí, de chorizo y de salchichón de ciervo.

**QUINTA.-** La caracterización del riesgo, realizada tanto por el modelo determinista como por el modelo probabilístico, identificó a la población de *cazadores* como un grupo específico de mayor riesgo sanitario derivado de la ingesta de metales pesados. Especialmente relevante fue el mayor riesgo asociado a la ingesta de plomo por el consumo de carne de jabalí y ambos tipos de carne de caza.

**SEXTA.-** La aplicación de los modelos deterministas y probabilístico para la evaluación del riesgo por presencia de metales pesados en carnes de ciervo y jabalí indican resultados similares cuando se utilizan datos medios, si bien el modelo determinista tiende a sobreestimar el riesgo. Mientras el modelo probabilístico permite cuantificar el porcentaje de la población que estaría expuesta a niveles de riesgo, el enfoque determinista sería útil para

profundizar en las variables más influyentes sobre el riesgo.

**SÉPTIMA.-** En estudios de dieta total, el riesgo sanitario debido a la ingesta de plomo por consumo de carne de ciervo y jabalí estaba siempre por debajo del límite toxicológico de referencia, a pesar de los altos niveles de plomo hallados en carne de jabalí. Sin embargo, la ingesta total de cadmio supera el valor de referencia toxicológico en todos los consumidores, independientemente del nivel de consumo de carne de caza y a pesar de la menor aportación de cadmio a la ingesta total por la carne de ciervo y jabalí.

**OCTAVA.-** La carne de ciervo y jabalí no representa un riesgo sanitario para los niveles de consumo medio establecido por las encuestas alimentarias. En el caso de la ingesta plomo, para que supusiera un riesgo sanitario en *cazadores* habría que consumir 10 veces el valor medio de consumo, y en el caso de *no cazadores* 20 veces dicho valor. En el caso del cadmio, la contribución de la carne de ciervo y jabalí no es significativa.

**NOVENA.-** El estudio epidemiológico determinó bajas prevalencias de acumulación de metales pesados para ciervo y jabalí. Y estableció como factores predictivos la especie (jabalí) para la acumulación de plomo y zinc, la presencia de vivares en el coto sólo para plomo, la presencia de bebederos de cemento para el cadmio, y la especie (ciervo) y la presencia de ganadería caballar para el cobre.

## RESUMEN//ABSTRACT





## 7 RESUMEN.

### **1. - Introducción o motivación de la tesis.**

Las especies cinegéticas son un eslabón importante en la transferencia de contaminantes ambientales, incluidos los metales pesados, desde el medio natural donde viven. Con el tiempo pueden acumular parte de estos contaminantes y representar, a largo plazo, un riesgo potencial para la salud pública como consecuencia del consumo de su carne y productos cárnicos (Andrée y cols. 2010), lo que supone, actualmente, una gran preocupación para las autoridades sanitarias competentes.

Por la falta de datos, la preocupación por la seguridad alimentaria y la salud pública y el papel que España, y más concretamente Andalucía, representan desde el punto de vista cinegético, este trabajo de investigación se ha planteado como objetivos: estudiar la presencia de metales pesados en especies cinegéticas de caza mayor (ciervo y jabalí); estimar la influencia de factores de riesgo determinantes en la acumulación de metales en estas especies cinegéticas, y valorar el riesgo sanitario para la salud pública que supone el consumo de este tipo de carne, específicamente entre los cazadores y su entorno familiar.

### **2.- Contenido de la investigación.**

Se muestrearon 101 ciervos y 107 jabalíes procedente de animales abatidos en cacerías organizadas en 21 acotados de cuatro áreas

geográficas diferenciadas de Sierra Morena (Córdoba) donde la caza mayor adquiere una gran importancia (Alto Guadalquivir; Pedroches; Alto Guadiato y Vega del Guadalquivir). Los animales fueron diferenciados por sexos y edades en base a características morfológicas y dentarias indicados por Sáenz de Buruaga y cols., (2001).

Las muestras de hígado, riñón, músculo, corazón y pulmón, previamente liofilizadas, fueron sometidas a un proceso de mineralización por vía húmeda con una mezcla de ácido nítrico y peróxido de hidrógeno. El análisis de cobre, hierro y zinc se realizó por espectrofotometría de absorción atómica con llama, y el de cadmio y plomo por espectrofotometría de absorción atómica con cámara de grafito.

Previamente a la evaluación de riesgos, se estimó los hábitos de consumo de carne y productos derivados de la caza mediante la implementación de una encuesta alimentaria (301) a aquellas personas que manifestaron consumir algún tipo de carne de caza. La evaluación de riesgos se realizó siguiendo el procedimiento propuesto por el Codex Alimentarius, diferenciándose cuatro etapas: 1) identificación del peligro; 2) caracterización del peligro 3) evaluación de la exposición y 4) caracterización de riesgo. La evaluación de la exposición y la caracterización del riesgo se realizaron aplicando dos enfoques diferentes: uno determinista o puntual (Pocas y Hogg, 2009) y otro probabilístico simulado

mediante la aplicación del análisis de Monte-Carlo (Metropolis y Ulam, 1949). Igualmente se estimó la influencia del consumo de carne de caza en la ingesta total de plomo y de cadmio en la población consumidora de este tipo de carne.

El estudio epidemiológico se realizó a través de un cuestionario diseñado para obtener información sobre posibles factores de riesgo que pudieran influir en la acumulación de metales pesados en especies cinegéticas de caza mayor (ciervo y jabalí). Estos factores se clasificaron en endógenos (especie, sexo y edad) y exógenos (vinculados a la localización geográfica, actividad antropogénica y actividad y gestión cinegética).

### **3.- Conclusión.**

En general la especie y el órgano son los dos factores que mayor influencia muestran sobre la presencia de metales pesados en ciervo y jabalí, encontrándose los mayores niveles de plomo y cadmio en el jabalí, destacando el mayor contenido de plomo en el músculo de jabalí (1,29 mg/kg w/w). Respecto al sexo se observa una cierta tendencia de mayores niveles de metales en las hembras, principalmente en el jabalí, encontrándose diferencias significativas en las concentraciones de cadmio ( $p < 0,001$ ), cobre ( $p < 0,001$ ) y zinc ( $p < 0,01$ ). El contenido de cadmio varía significativamente respecto a la edad ( $p < 0,05$ ) y en función del área geográfica ( $p < 0,001$ ), encontrándose los mayores niveles de cadmio en las áreas del Alto Guadiato y la Vega del Guadalquivir (0,37 mg/kg).



Por otra parte, el consumo medio de carne de ciervo (3,9 kg/persona/año) y jabalí (3,2 kg/persona/año) es relativamente bajo comparado con la ingesta media *per cápita* de carne de la población española (50,6 kg), siendo mayor el consumo de carne de ciervo. La mayoría de los consumidores (71%) lo eran de ambos tipos de carne de caza (ciervo+jabalí) manifestaron consumir este tipo de carne durante todo el año (60%). Además el consumo de la población de *cazadores* y su entorno familiar es mayor que el de los *no cazadores*, siendo estadísticamente significativo el consumo de carne de jabalí ( $p<0,05$ ), de chorizo ( $p<0,01$ ) y de salchichón de ciervo ( $p<0,01$ ).

La evaluación de riesgos indica que las ingestas de plomo y de cadmio, derivado del consumo medio de carne de ciervo (5,44//1,83 kg/persona/año), jabalí (4,97//2,02 kg/persona/año) o ambos tipos de carne (4,58+3,82//2,85+1,56 kg/persona/año) para *cazadores* y *no cazadores* respectivamente, está por debajo de los valores toxicológicos de referencia y no representa un riesgo sanitario para estos niveles de consumo. Y sólo los cazadores, consumidores de ambos tipos de carne y en un escenario extremo, fueron expuestos a la máxima ingesta de plomo alcanzando un 147% de la PTWI. El modelo probabilístico identifica la población de *cazadores* y su entorno familiar como la población de consumidores con un mayor riesgo, asociado posiblemente a un mayor consumo de este tipo de carne, siendo especialmente relevante el mayor riesgo derivado de la ingesta de plomo (0,4% de los *cazadores*

superaron la PTWI de plomo) cuando se consume carne de jabalí y ambos tipos de carne (ciervo y jabalí).

La ingesta total de plomo, considerando el consumo de carne de ciervo y jabalí, estaba igualmente por debajo del límite toxicológico (alcanzando valores máximos del 84% de la PTWI en la población de *cazadores* y del 49% en la población de *no cazadores*), a pesar de los altos niveles de plomo hallados en la carne de jabalí. Sin embargo, la ingesta total de cadmio supera el valor de referencia toxicológico en todos los consumidores, independientemente del nivel de consumo de carne de caza, encontrándose un nivel mínimo del 114% de la TWI en la población de *no cazadores* y considerando un consumo medio de ambos tipos de carne. Así mismo, los datos señalan que el aporte de estos metales es relativamente bajo y tiene una influencia menor en la ingesta total, siendo mayor cuando se considera un consumo máximo de este tipo de carne de caza en la población de cazadores.

Por otra parte, el estudio epidemiológico determinó que las prevalencias de acumulación de metales pesados estimadas para ciervo y jabalí fueron bajas, destacando la prevalencia de plomo (22%) y zinc (18%) en jabalí y de cobre en ciervo (29%). Y se estableció como factores predictivos la especie (jabalí) para la acumulación de plomo y zinc, la presencia de vivares en el coto sólo para plomo, la presencia de bebederos de cemento para el cadmio, y la especie (ciervo) y la presencia de ganadería caballar para el cobre.

## 8 ABSTRACT

### 1. Introduction or motivation of the thesis.

The hunting species are an important link in the transfer of environmental pollutants, included the heavy metals, from the natural way where they live.

With the time they can accumulate part of these pollutants and represent, in the long term, a potential risk for the public health as consequence of the consumption of his meat and meat products (Andrée and cols. 2010), which supposes, nowadays, a great worry for the sanitary competent authorities.

For the lack of information, the worry for the safety of the food and the public health, and the relevancy that Spain, and more concretely Andalusia, they represent from the hunting point of view, this work of investigation has appeared as aims: to study the presence of heavy metals in big game hunting species (deer and wild boar); to estimate the influence of determinant risk factors of metal accumulation in these species, and to value the risk for the public health that supposes the consumption of this type of meat, specifically between the hunters and his familiar environment.

### 2.-Content of the investigation.

101 deer and 107 wild boars were sampled from animals brought down in hunts organized in four geographical areas separated from Sierra Morena (Cordova) where the big game hunting acquires a

great importance (Alto Guadalquivir; Pedroches; Alto Guadiato y Vega del Guadalquivir). The animals were differentiated by sexes and ages on the basis of morphologic and teeth characteristics indicated by Sáenz de Buruaga and cols., (2001).

The samples of liver, kidney, muscle, heart and lung, before lyophilized, were submitted to a process of humid mineralization by a mixture of nitric acid and peroxide of hydrogen. The analysis of copper, iron and zinc was realized for atomic absorption by flame, and cadmium and lead for atomic absorption by graphite.

Before the risk evaluation, the habits of consumption of meat and products derived from the hunt were estimated by means of the implementation of a food survey (301) to those persons who demonstrated to consume some type the hunting meat. The risk evaluation was realized following the procedure proposed by the Codex Alimentarius, differentiating four stages: 1) hazard identification; 2) hazard characterization 3) exposure evaluation and 4) risk characterization.

The exposure evaluation and the risk characterization were realized applying two different approaches: one determinist (Pocas y Hogg, 2009) and another probabilistic simulated by the application of Monte-Carlo's analysis (Metropolises and Ulam, 1949). Also hunting meat consumption influence was estimated in the total ingestion of lead and cadmium in the population consuming this type of meat.

The epidemiological study was realized by mean of a questionnaire designed to obtain information about possible risk factors that could influence the accumulation of heavy metals in big game hunting species (deer and wild boar).

### **3.- Conclusion.**

Specie and organ are two factors that show major influence on the presence of heavy metals in deer and wild boar, being the major levels of lead and cadmium in the wild boar, emphasizing the major content of lead in the muscle of wild boar (1,29 mg/kg w/w).

Regarding to the sex is observed a certain trend of major levels of metals in the females, principally in the wild boar, being significant differences in the concentrations of cadmium ( $p < 0,001$ ), copper ( $p < 0,001$ ) and zinc ( $p < 0,01$ ). The content of cadmium changes significantly with the age ( $p < 0,05$ ) and the geographical area ( $p < 0,001$ ), being the major levels of cadmium in the areas of Alto Guadiato and Vega del Guadalquivir (0,37 mg/kg).

On the other hand, the average consumption of deer (3,9 kg/person/year) and wild boar meat (3,2 kg/person/year) is relatively low compared with the average ingestion *per capita* of meat of the Spanish population (50,6 kg), being major the consumption of deer meat.

The majority of the consumers (71%) were of both types of hunting meat (deer+wild boar) and were consuming all along the year (60%).

The consumption of the population of hunters and his familiar environment is higher than non hunters, being statistically significant the consumption of meat of wild boar ( $p < 0,05$ ), of sausage ( $p < 0,01$ ) and of salami of deer ( $p < 0,01$ ).

The risk evaluation, indicates that the intake of lead and cadmium, derived from the average consumption of meat of deer (5,44/1,83 kg/person/year), wild boar (4,97/2,02 kg/person/year) or both types of meat (4,58+3,82/2,85+1,56 kg/person/year) for hunters and not hunters respectively, it is below the toxicological values of reference, and does not represent a sanitary risk for these levels of consumption. And only the hunters, consumers of both types of big game meat and in an extreme scene, were exposed to the maximum ingestion of lead reaching 147 % of the PTWI.

The probabilistic model identifies the population of hunters and his familiar environment as the population of consumers with higher risk, associated possibly with a major consumption of this type of meat, being specially relevant the higher risk derived from the intake of lead (0,4 % of the hunters overcame the PTWI of lead), when there are consumed meat of wild boar and both types of meat (deer and wild boar).

The total intake of lead, considering the consumption of deer and wild boar meat, was equally below the toxicological limit (reaching maximum values of 84 % of the PTWI in the population of hunters and of 49 % in the population non hunters), in spite of the high levels of lead found in the wild boar meat.

Nevertheless, the total intake of cadmium overcomes the toxicological value of reference in all the consumers, independently of the level of consumption hunting meat, being a minimal level of 114% of the TWI in the population of non hunters and considering an average consumption of both types of meat.

Likewise the data indicate that the contribution of these metals is relatively low and has a minor influence in the total intake, being higher when it is considered to be a maximum consumption of this type of hunting meat in hunters.

On the other hand, the epidemiological study determined that the prevalences of accumulation of heavy metals estimated for deer and wild boar were low, emphasizing the prevalence of lead (22 %) and zinc (18 %) in wild boar and of copper in deer (29 %). And there was established as predictive factors the specie (wild boar) for the accumulation of lead and zinc, the presence of vivares in the area only for lead, the presence of cement drinking-troughs for the cadmium, and the specie (deer) and the presence of horse breeding for the copper.

**ANEXOS**







## Anexo 1: Cuestionario epidemiológico

---



**Cuestionario epidemiológico proyecto:  
Metales pesados en especies cinegéticas**

Encuestador.....

.....

Encuestado.....

.....

Fecha realización de la encuesta.....

Nº de encuesta .....

1. Nº de COTO.....

2. Finca.....

3. Mancha.....

4. Municipio más cercano .....

.....

5. Localización geográfica A1 A2

Zona Sierra B1 B2  
B3 B4

A1 (Campiña); A2 (Subbética); B1 (Alto Guadalquivir); B2 (Valle  
Pedroches); B3 (Alto Guadiato) y B4 (Valle del Guadalquivir).

6. Superficie finca(Has) .....

7. Nº de cazadores y jornadas de caza:

Tipo de Caza Nº Cazadores Jornadas

Caza Mayor .....

Caza menor .....

8. Resultados cinegéticos:

Especie Nº de piezas:

Ciervo (Cr) .....

Jabalí (Ja) .....

Perdiz (Pe) .....

Conejo (Co) .....

9. Explotación cinegética:

Caza Mayor

Caza Menor

10. Régimen de Explotación:

Coto Privado de caza

Coto intensivo de caza

Coto deportivo de caza

11. Modalidades de caza:

Montería

Batida

Rececho

Caza Selectiva.

Gancho

Ojeo

Reclamo

Al salto

Descaste

Aguardo

12. Tipo de explotación agrícola:

Secano

Regadío

13. Tipología de los cultivos predominantes:

Cereales

Leguminosas

Olivar

Viñas

Otros

14. Actividad industrial dentro o en las  
proximidades del coto:

Actividad minera

Industrias energéticas

Industrias químicas

Actividad militar

Presencia de Maquinaria pesada

Otras

15. Acuíferos Permanente No permanente

Ríos/ arroyos.

Pantanos/ lagunas

Otros puntos de agua

16. Tipología del Suelo

Arenoso

Arcillos

17. Red viaria:

Alta . Media . Baja .

18. Bebederos artificiales:

Cemento

Metálicos

Plástico

**Metales pesados en especies cinegéticas de caza mayor**

**19. Suplementa alimentación:**

Alimento/especie	Co	Pe	Cr	Ja
Sal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Grano	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pienso	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Herbáceas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**20. Vegetación característica de la superficie acotada:**

Alcornoques	<input type="checkbox"/>
Encinas	<input type="checkbox"/>
Matorral	<input type="checkbox"/>
Pastizales	<input type="checkbox"/>
Pinos	<input type="checkbox"/>
Cultivos	<input type="checkbox"/>

**21. Explotaciones ganaderas:**

Especie	Intensivo	Extensivo	Permanente	Temporal
Vacuno	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ovino	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Caprino	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Porcino	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Equino	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aviar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**22. Mejora de las poblaciones:**

Tratamiento/especie	Co	Pe	Cr	Ja
Repoblaciones	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sueñas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
C. depredadores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mejora Habitat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
C.Vivares	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**23. Control sanitario por especies:**

Tratamiento/especie	Co	Pe	Cr	Ja
Vacunaciones	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Desparasitac	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fumigaciones	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**24. Estado Sanitario:**

Causa	Especie	Incidencia		
		Alta	Media	Baja
Tuberculosis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mixomatosis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hemorr. Virica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Triquinelosis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sarna	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Parásitos Ext.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Otras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

25. Cercada

26. Recogida de setas

**27. Uso de Plaguicidas/Fertilizantes**

Uso de Plaguicidas	<input type="checkbox"/>
Uso de Fertilizantes	<input type="checkbox"/>

28. Presencia de predadores

Especie	Alta	Media	Baja
Zorro	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gato Montés	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Jineta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Meloncillo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rapaces	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lince	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Otros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**29. Número de muestras recogidas.....**

Sexo/especie	Co	Pe	Cr	Ja
Macho:	.....	.....	.....	.....
Hembra:	.....	.....	.....	.....

**30. Recogida de Muestras.**

Mes: 1-2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12

Estación: Invierno Primavera  
Verano Otoño

Año: 04 05  
06 07

**31. Lindes:**

Sur.....  
Norte.....  
Este.....  
Oeste.....

## Anexo 2: Encuesta de consumo

---



ENCUESTA DE CONSUMO DE CARNE DE CAZA EN LA PROVINCIA  
DE CÓRDOBA

Proyecto de investigación

***Metales pesados en especies cinegéticas***

Nº de encuesta: \_\_\_\_\_

Municipio de residencia \_\_\_\_\_

¿Es cazador? \_\_\_\_\_

Zona de caza menor \_\_\_\_\_

Zona de caza mayor \_\_\_\_\_

Tipo de caza	Cantidad	Unidad ó kg	Nº comensales por unidad familiar	Periodo del año en que consume*
<b>CONSUMO CARNE DE CAZA MENOR</b>				
Carne de conejo				
Carne de perdiz				
Hígado de conejo				
Hígado de perdiz				
Riñón de conejo				
Riñón de perdiz				
Otras vísceras de conejo				
Otras vísceras de perdiz				
<b>CONSUMO DE CARNE DE CAZA MAYOR</b>				
Carne de jabalí				
Carne de ciervo				
Hígado de jabalí				
Hígado de ciervo				
Riñón de jabalí				
Riñón de ciervo				
<b>CONSUMO DE PRODUCTOS DERIVADOS</b>				
Chorizo de jabalí				
Salchichón de jabalí				
Chorizo de ciervo				
Salchichón de ciervo				
Otros				

\*1) Temporada de caza; 2) Durante todo el año; 3) Ocasionalmente





## BIBLIOGRAFÍA





## 9 BIBLIOGRAFÍA

Association of American Feed Control Officials. (1996). Official Publication. Inc. Office of the Indiana State Chemist, West Lafayette.

Aastrup, P; Riget, P; Dietz, R; Asmund, G. (2000). Lead, zinc, cadmium, Mercury, selenium and Koper in Greenland caribou and reindeer (*Rangifer tarandus*). *The Science of the Total Environment*, 245: 149-159.

Abou-Arab, A. (2001). Heavy metal contents in Egyptian meat and the role of detergent washing on their levels. *Food and Chemical Toxicology*, 39: 593-599.

Adrian, F. (1986). In Search of biomonitors for cadmium: Cadmium content of wild Swedish Fauna during 1973-1976. *The Science of the Total Environment*, 57: 57-65.

Adriano, D.C. (1986). Trace elements in terrestrial environments. Edto. Springer-Verlag.

Agencia Catalana De Seguridad Alimentaria. (2005). Contaminantes químicos. Estudio de dieta total en Cataluña 2000-2002. ISBN 84-393-6781-3.

Agencia Catalana De Seguridad Alimentaria. (2010). Contaminantes químicos. Estudio de dieta total en Cataluña 2005-2007.

Agencia Española De Seguridad Alimentaria y Nutrición (2011). ENIDE: Encuesta Nacional de Ingesta Dietética (2009-2010). Resultados sobre datos de consumo.

Agencia Española De Seguridad Alimentaria y Nutrición (2012). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición sobre el riesgo asociado a la presencia de plomo en carne de caza silvestre en España. AESAN 2012-002:131-159.

Agency For Toxic Substances and Disease Registry. (1993). Toxicological profile for lead. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta.

Alonso,, J.I. *Contenido y Distribución de los Metales Pesados en los suelos de Navarra*. Tesis doctoral. Universidad de Navarra, 1998.

Álvarez, G; Martínez, T; Martínez, E. (1991). Winter diet of red deer stag (*Cervus elaphus* L.) and its relationship to morphology and habitat in central Spain. *Folia Zoology*, 40: 117-30.

Andrée, S; Jira, W; Schwind, K.H; Wagner, H; Schwägele, F. (2010). Chemical Safety of meat and meat products. *Meat Science*, 86: 38:48.

Bartolomé Rodríguez, D.J; Pérez Garrido, J.A; Díez Valle, C. (2006). Inspección, comercio y consumo de Venado. *Linde y Rivera* 56-63.

Berti, P; Receveur, O; Chan, H.M; Kuhnlein, H.V. (1998.) Dietary exposure to Chemical Contaminants from Traditional Food among Adult Dene/Métis in the Western Northwest Territories, Canada. *Environmental Research* , section A, 76: 131-142.

Bilandzic, N; Sedak, M; Vratarić, D; , T; Simić B. (2009). Lead and cadmium in red deer and wild boar from diferent hunting grounds in Croatia. *Science of The Total Environment*, 407: 4243-4247.

Boletín Oficial del Estado (1989). Real Decreto 1262/1989, de 20 de octubre, por el que se aprueba el Plan Nacional de Investigación de residuos en los animales y en las carnes frescas. *Boletín Oficial del Estado*, 26 de octubre de 1989, núm. 257

Boletín Oficial del Estado (2000). Real Decreto 403/2000, de 24 de marzo, por el que se prohíbe la comercialización de gasolinas de plomo. *Boletín Oficial del Estado*, de 12 de abril de 2000, núm 88.

Boletín Oficial del Estado (2001). Real Decreto 581/2001, de 1 de junio, por el que en determinadas zonas húmedas se prohíbe la tenencia y el uso de municiones que contengan plomo para el ejercicio de la caza y el tiro deportivo. *Boletín Oficial del Estado*, de 16 junio de 2001, núm. 143).

- Brekken ,A; Steinnes, E. (2004). Seasonal concentrations of cadmium and zinc in native pasture plants: consequences in grazing animals. *Science of the total environment*, 326: 181-195.
- Burger, J; Kennamer, R.A; Lehr Brisbin, I.Jr; Gochfel, D.M. (1997). Metal Levels in Mourning Doves from South Carolina: Potential Hazards to Doves and Hunters. *Environmental research*, 75: 173-186.
- Burger, J; Kennamer, R.A; Brisbin, JI; Gochfeld, M. (1998). A Risk Assessment for Consumers of Mourning Doves. *Rysk Analysis*, 18: 5.
- Cameron and Baldock. (1998). A new probability formula for survey substantiate freedown for diseases. *Preventive Veterinary Medicine*, 24: 1-17.
- Comisión del Codex Alimentarius (1999). Principios y directrices para la aplicación de la evaluación de riesgos microbiológicos. CAC/GL-30, 1999.
- Comisión de las Comunidades Europeas (2000). Libro Blanco sobre Seguridad Alimentaria. COM (1999) 719 final.
- Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente De La Junta De Andalucía. (2005). Estadística de caza y actividades cinegéticas de Andalucía.
- Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente De La Junta De Andalucía. (2006). Estadística de caza y actividades cinegéticas de Andalucía.
- Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente De La Junta De Andalucía. (2007). Estadística de caza y actividades cinegéticas de Andalucía.
- Craste, L; Burgatsacaze, V. (1995). Wild cervidae as bioindicators os cadmium pollution. *Revue de Medecine Veternaire*,146 (8-9): 583-592.
- Craig, L.M; Mark, R.E; David, E.S. (1993). Cadmium contamination of deer livers in Connecticut. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 51: 838-845.

- Créte, M; Potvin, F; Walsh, P; Benedetti, J.L; Lefebvre, M.A; Weber, J.P; Paillard, G; Gagnon, J. (1987). Pattern of cadmium contamination in liver of moose and white tailed deer in Québec. *The Science of the Total Environment*, 66: 45-53.
- Cuadrado, C; Kumpulainen, J; Moreiras, O. (1995). Lead, cadmium and mercury contents in average Spanish market basket diets from Galicia, Valencia, Andalucía y Madrid. *Food Additives and Contaminants*, 12 (1): 107-118.
- Custer, T.W; Franson, J.C; Pattee, O.H. (1984). Tissue lead distribution and hematologic effects in American kestrels (*Falco sparverius* L.) fed biologically incorporated lead. *Journal of Wildlife Diseases*, 20: 39-43.
- Danieli, P.P; Serrani, F; Primi, R; Ponzeta, M.P; Ronchi, B; Amici, A. (2012). Cadmium, Lead, and Chromium in Large Game: A local-scale Exposure Assessment for Hunters Consuming Meat and Liver of Wild Boar. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 63: 612-627.
- Diario Oficial de las Comunidades Europeas (2002). Reglamento (CE) N° 178/2002. Principios generales de legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan los procedimientos relativos a la Seguridad Alimentaria. *Diario Oficial* L 31 de 1.2.2002.
- Diario Oficial de la Unión Europea (2004). Reglamento (CE) N° 854/2004. Normas específicas para la organización de los control oficiales en productos de origen animal destinados a consumo humano. *Diario oficial* L 139/206 de 30.4.2004.
- Diario Oficial de la Unión Europea (2006). Reglamento (CE) N° 1881/2006. Contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. *Diario Oficial* L 364/5 de 20.12.2006.
- Díaz, P; Rendón, M.A; Lorenzo, F.G; Buenestado, C; Cardo, M. (1997). Manual del Cazador en Andalucía. Ed. EGMASA. 1ª ed. Málaga. ISBN 84-922973-0-1.

- Dobrowolska, A; Melosik, M. (2008). Bullet-derived lead in tissues of the wild boar (*Sus scrofa*) and red deer (*Cervus elaphus*). *European Journal of Wildlife Research*, 54: 231-235.
- Drozd, L; Karpinski, M. (1997). Heavy metal content in farming red deer (*Cervus elaphus*) and fallow deer (*Dama dama*) tissues. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska. Sect. EE*. 15:309-314.
- Duarte, J. (2001). ¿Cómo afecta la ganadería a la caza?. *Trofeo*, julio: 33-39.
- Eens, M; Pinxten, R; Verheyen, R.F; Blust, R; Bervoets, L. (1999). Great and Blue Tits as Indicators of Heavy Metal Contamination in Terrestrial Ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 44: 81-85.
- Eira, C; Torres, J; Viganda, J; Miquel, J. (2005). Concentration of some toxic elements in *Oryctolagus cuniculus* and its intestinal cestode *Mosgovoyia ctnoides*, in Dunas de Mira (Portugal). *The Science of the Total Environment*, 346: 81-86.
- Eisler, R. (1993). Zinc hazard to fish, wildlife, and invertebrates: a synotic review. *Biological Report 10*. Fish and Wildlife Service, US Dept of the Interior. Washington, DC, 106.
- Elkin, B.T; Bethke, R.W. (1995). Environmental contaminants in caribou in Northwest Territories, Canada. *Science of the Total Environment*, 160 (16): 307-321.
- European Food Safety Authority. (2009). Scientific opinion . Cadmium in food. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *The EFSA Journal*; 980:1-139.
- European Food Safety Authority. (2010). Scientific opinion of lead in food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal*; 8 (4):1570.



- European Food Safety Authority. (2011). Statement on tolerable weekly intake for cadmium. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal*; 9 (2):1975.
- European Food Safety Authority. (2012). Lead dietary exposure in the European population. *EFSA Journal*; 10 (7): 2831.
- Enriquez-García I. *Metales pesados en especies cinegéticas de caza menor*. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, 2007.
- Falandysz, J; Kotecka, W; Kannan, K. (1994). Mercury, lead, cadmium, manganese, copper, iron and zinc concentrations in poultry, rabbit, and sheep from the northern part of Poland. *The Science of the Total Environment*, 141: 51-57.
- Falandysz, J; Szymezyk-Kobrzynska, K; Brzostowski, A; Zalewski, K; Zasadowski, A. (2005). Concentrations of heavy metals in the tissues of red deer (*Cervus elaphus*) from the region of Warmia and Mazury, Poland. *Food Additives and Contaminants*. 22 (2): 141-149.
- Fisher, I; Pain, D.J; Thomas, V.G. (2006). A review of lead poisoning from ammunition sources in terrestrial birds. *Biological conservation*, 131: 421-432.
- Frosli, A; Haugen, A; Holt, G; Norheim, G. (1986). Levels of cadmium in liver and kidneys from Norwegian cervides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 37: 453-460.
- Gallego-Rodríguez, M.E. *Evaluación de la contaminación por plomo y cadmio en ciervo y jabalí en Extremadura*. Tesis doctoral. Universidad de Extremadura, 2012.
- García-Fernández, A.J; Sánchez García, J.A; Jiménez-Montalbán, P; Luna, A. (1995). lead and cadmium wild birds in Southeastern Spain. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 14 (12): 2049-2058.

- García-Fernández, A.J; Motas-Guzmán, M; Navas, I; María Mojica, P; Luna, A; Sánchez García, J.A. (1997). Environmental exposure and distribution of lead in four species of raptors in Southeastern Spain. *Archives of environmental contamination and toxicology*,33 (1): 76-82.
- Gasparik, J; Massanyi, P; Slamecka, J; , M; Jurcik R. (2004). Concentration of selected metals in liver, kidney, and muscle of the red deer (*Cervus elaphus*). *Journal of Environmental Science and Health part a-toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 39 (8): 2105-2111.
- Goyer, R.A; Clarksen, T.W. (2001). Toxic effects of metals. Casarett and Doull's Toxicology: *The basic Science of Poisons*, 811-868.
- González-Arenas, J; Arias De Reyna Martínez, L.M; Ruiz-Avilés, P. (2004). La actividad cinegética en Córdoba. Ed. Diputación de Córdoba. 1ª ed. Córdoba. ISBN 84-8154-096-X.
- González-Muñoz, M.J; Peña, A; Meseguer, I. (2008). Monitoring heavy metal contents in food and hair in a sample of young Spanish subjects. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 3048-3052.
- Guitart, R. (2001). La España del plomo. *El Ecologista*, 3-5.
- Guitart, R. (2002). Los residuos de metales en los alimentos. *Diario de la Seguridad alimentaria*.
- Guitart, R; Thomas, V.G. (2005). ¿Es el plomo empleado en deportes (caza, tiro y pesca deportiva) un problema de salud pública infravalorado?. *Revista Española de Salud Pública*, 79: 621-632.
- Gus, (1991). Rocznik Statystyczny 1990. Główny Urząd Statystyczny, Warszawa.
- Haldimann, M; Baungartner, A; Zimmerli, B. (2002). Intake of lead from game meat: a risk to consumers' health? *European Food Research and Technology*, 215: 375-379.
- Halliday, J; Powell, L. (1982). *Seminairie Hematology*:19-42.

Hermoso de Mendoza, M; Hernández, D; Soler, F; López-Beceiro, A; Fidalgo, L.E; Pérez-López, M. (2011). Sex-and age-dependent accumulation of heavy metals (Cd, Pb y Zn) in liver, kidney and muscle of Roe deer (*Capreolus capreolus*) from NW Spain. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 46: 109-116.

Hernández, L.M; González, M.J; Rico, M.C; Fernández, M.A; Baluja, G. (1985). Presence and biomagnificación of organochlorine pollutants and heavy metals in mammals of Doñana National Park Spain 1982-1983. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 20 (1): 633-650.

Hernández, L.M; Gomara, B; Fernández, M.A; Jiménez, B; González, M.J; Baos, R; Hiraldo, F; Ferrer, M; Benito, V; Suñer, M.A.; Dehesa, V; Muñoz, O; Montoro R. (1999). Accumulation of heavy metals and As in wetlands birds in the area around Doñana National Park affected by the Aznalcollar toxic spill. *The Science of the Total Environment*, 242: 293-308.

Hernández, G; Rodríguez, L.E; Mora, F.A; Ramirez, R. (2011). Etiología, patogénesis, diagnóstico y tratamiento de osteocondrosis. *Veterinaria México*, 42 (4): 311-329.

Hernando, R; Hernando, J.L. (2003). La cuenca carbonífera Peñarroya-Belmez-Espiel (Córdoba). Reseña geológico-minera y corpus bibliográfico, *Boletín de la Real Academia de Ciencias, Bellas Letras y Nobles Artes*, 144. Herrera A., Ariño A., Conchello M.P., Lázaro R., Bayarri S., Yagüe C., Peiro J.M., Aranda S., Simon M.D. (2000). Red-legged partridges (*Alectoris rufa*) as bioindicators of persistent chlorinated chemicals in Spain. *Archives of Environmental Contamination and toxicology*, 38, 114-120.

Herrera, A; Ariño, A; Conchello, M.P; Lázaro, R; Bayarri, S.; Yagüe, C; Peiro, J.M; Aranda, S; Simon, M.D. (2000). Red-legged partridges (*Alectoris rufa*) as bioindicators of persistent chlorinated chemicals in Spain. *Archives of Environmental Contamination and toxicology*, 38, 114-120.

- Herrera, J; Rodríguez, S. (2010). Validación de un método de análisis para la determinación de metales pesados en partículas PM 10 colectadas en aire ambiente. *Tecnología en Marcha*, 23, (3): 33-46.
- Herver, Rfm. (2004). Cadmium, en Merian E; Anke M; Ihnat M; Stoeppler M. (eds), *Elements and their compounds in the environment*, 2nd edición, Wiley, Weinheim: 689-708 .
- Hogstad, O. (1996). Accumulation of cadmium, copper and zinc in the liver of some passerine species wintering in Central Norway. *The Science of the Total Environment*, 183: 187-194.
- Holm, J. (1993). Investigation of roe deer-criteria for use as a bioindicator in specimen banking. *The Science of the Total Environment*, 140: 237-249.
- The International Union of Pure And Applied Chemistry (1995). Recommendations. *Pure and applied Chemistry*, 67: 1699-1723.
- The International Union of Pure And Applied Chemistry. (2002). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of analysis. *Pure and applied Chemistry*, 74 (5), 835-855.
- Jambu, M. (1991). Exploratory and multivariate data analysis. *Academia Press*, London.
- Jarzynska, G; Falandysz, J. (2011). Selenium and 17 other largely essential and toxic metals in muscle and organ meats of Red Deer (*Cervus elaphus*)-Consequences to human health. *Environment International*, 37: 882-888.
- Johansen, P; Asmund, G; Riget, F. (2004). High human exposure to lead through consumption of birds hunted with lead shot. *Environmental pollution*, 127: 125-129.
- Johansen, P; Pedersen, H.S; Asmund, G; Riget, F. (2006). Lead shot from hunting as a source of lead in human blood. *Environmental Pollution*, 142: 93-97.

Joint Fao/Who Expert Committee on Food Additives. Food Additives Series for JECFA 4.1972.

Joint Fao/Who Expert Committee on Food Additives. Food Additives Series for JECFA 17.1982.

Joint Fao/Who Expert Committee on Food Additives. Food Additives Series for JECFA 18.1983.

Joint Fao/Who Expert Committee on Food Additives. Food Additives Series for JECFA 53.1999.

Joint Fao/Who Expert Committee on Food Additives. Food Additives Series for JECFA 64.2005.

Joint Fao/Who Expert Committee on Food Additives. Seventy-Third meeting Geneva, 8-17 june 2010.

Kahn, A.T; Diffay, B.C; Bridges, E.R; Mielke, H.W. (1995). Cadmium and other heavy metals in the livers of white-tailed deer in Alabama. *Small Ruminant Research*,18 (1): 39-41.

Kålås, J.A; Lierhagen, S. (1992). Terrestrial monitoring of ecosystems. Metal concentrations in the liver of hares, black grouse and willow ptarmigan in Norway. *NINA Oppdragsmeld*, 137: 1-72.

Kalisińska, E; Salicki, W; Myslek, P; Kavetska, K; Jackowski, A. (2004). Using the mallard to biomonitor heavy metal contamination of wetlands in north-western Poland. *The Science of the Total Environment*, 320: 145-161.

Karpinski, M. (1999). Concentrations of selected macro and microelements in tissues of red deer (*Cervus elaphus*) and roe deer (*Capreolus capreolus*) from central-eastern region of Poland. *II Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska*,17: 311-316.

- Kierdorf, H; Kierdorf, U. (2002). Reconstruction of a decline of ambient lead levels in the Ruhr area (Germany) by studying lead concentrations in antlers of roe deer (*Capreolus capreolus*). *The Science of the Total Environmental*, 296: 153-158.
- Kim, C; Chan, M; Receveur, O. (1998). Risk assessment of cadmium exposure in Fort Resolution, Northwest Territories, Canada. *Food Additives and Contaminants*, 15(3): 307-317.
- Kottferová, J; Koréneková, B. (1998). Distribution of Cd and Pb in the tissues and organs of free-living animals in the territory of Slovakia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60: 171-176.
- Kramarova, M; Massanyi, P; Slamecka, J; Tataruch, F; Jancova, A; Gasparik, J; Fabis, M; Kovacik, J; Toman, R; Galova, J; Jurcik, R. (2005). Distribution of cadmium and lead in liver and kidney of some wild animals in Slovakia. *Journal of Environmental Science and Health, Part A. Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 40 (3): 593-600.
- Kreuzer, W; Kracke, W; Sansoni, B; Wifsmath, P. (1978). Untersuchungen fiber den Blei- (Pb)- und Cadmium-(Cd)-Gehalt in Fleisch und Organen von Schlachtrindern. 1. Rinder aus einem wenig umweltbelasteten Gebiet. (Lead (Pb) and cadmium (Cd) contents in the meat and organs of slaughter cattle. Cattle from an area with little). *Environmental contamination. Fleischwirtschaft*, 58: 1022-1030.
- Kuiters, A.T. (1996). Accumulation of cadmium and lead in red deer and wild boar at the Veluwe, the Netherlands. *The Veterinary Quarterly*, 18 (3): 134-135.
- Larter, N.C; Nagy, J.A. (2000). A comparison of heavy metal levels in the kidneys of High Arctic and mainland caribou populations in the Northwest Territories of Canada. *The Science of the Total Environment*, 246: 109-119.

- Lazarus, M; Vickovic, I; Sostaric, B; Blanusai, M. (2005). Heavy metal levels in tissues of red deer (*Cervus elaphus*) from Eastern Croatia. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 56 (3), 233-240.
- Lazarus, M; Orct, T; Blanusai, M; Vickovic, I; Sostaric, B. (2008). Toxic and essential metal concentrations in four tissues of red deer (*Cervus elaphus*) from Baranja, Croatia. *Food Additives and Contaminants*, 25 (3), 270-283.
- Lessire, F; Delaunois, A; Gustin, P; Ansay, M. (1995). Biomarkers and bioindicators in vertebrates: importance in evaluation of quality of an ecosystem. *Annales de Medecine Veterinaire*, 141 (4): 281-290.
- Linder, M. (1988). Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos. *Eunsa (Ediciones Universales de Navarra)*. Pamplona, España.
- Llobet, JM; Falco, G; Casas, C; Teixido, A; Domingo, JL. (2003). Concentrations of arsenic, cadmium, Mercury and lead in common foods and estimated daily intake by children, adolescents, adults and seniors of Catalonia. Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 838-842.
- López Alonso, M; Benedito, J.L; Miranda, M; Castillo, C; Fernández, J; Shore R.F. (2000). The effect of pig farming on copper and zinc accumulation in cattle in Galicia (North-Western Spain). *The Veterinary Journal*, 160: 259-266.
- López-Alonso, M; Miranda, M; Castillo, C; Hernandez, J; Garcia-Vaquero, M; Benedito, J.L.(2007). Toxic and essential metals in liver, kidney and muscle of pigs at slaughter in Galicia, north-west Spain. *Food Additives And Contaminants* 24 (9): 943-954.
- López Sánchez, N. (2009). El mercado de la carne de caza en Francia. Insituto Español de Comercio Exterior.
- Lücker, E; Failing, K; Lange, K; Walker, G; Bülte, M. (1998). Content and distribution of iron in rabbit meat. A model study on nutritional values and bio-analytical variance. *Food Science and Technology- Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*, 31(2): 150-154.

- Markov, G.G. (1995). Heavy metal residues in deer-Indicators for environmental pollution in Bulgaria. *Institute Zoology, Sofia, Bulgaria*: 292-293.
- Martí-Cid, R; Llobet, JM; Castell, V; Domingo, JL. (2008). Dietary Intake of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead by the Population of Catalonia, Spain. *Biological Trace Element Research*, 125:120-132.
- Martín Cerdeño, V.J. (2012). Consumo de embutidos y salazones en España. *Distribución y consumo*: 100-104.
- Martínez, TM. (2002) Comparison and overlap of sympatric wild ungulate diet in Cazorla, Segura and las Villas Natural Park. *Pirineos*, 157: 103-15.
- Mateo, R; Martínez-Villalta, A; Cortes Dolz, J; Beliurre, J; Aguilar Serrano, J.M; Guitart, R. (1994). Estudio de la problemática del plumbismo en aves acuáticas de diferentes humedales españoles. Ministerio de Medio Ambiente.
- Mateo, R; Guitart, R. (2002). Heavy metals in livers of waterbirds from Spain. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44: 398-404.
- Mateo ,R; Rodríguez de la Cruz, M; Vidal, D; Reglero, M; Camarero, P. (2007). Transfer of lead from shot pellets to game meat during cooking. *Science of the Total Environment*, 372: 480-485.
- Mateo, R; Baos, A.R; Vidal, D; Camarero, P.R; Matínez-Haro, M; Taggart ,M.A. (2011). Bioaccessibility of Pb from ammunition in game meat is affected by cooking treatment. *PloS ONE*
- Medvedev, N. (1999). Levels heavy metals in Karelian wildlife, 1989-1991. *Environmental monitoring and assessment*, 56: 177-193.
- Mena, Y; Molera, M. (1997). Bases biológicas y gestión de especies cinegéticas en Andalucía. *Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba*. 1ª ed., Córdoba. ISBN 84-7801-362-8



- Metropolis, K.L; Ulam, S. (1949). The Monte Carlo method. *Journal of American Statistical Association*, 44: 335-341.
- Meyer, I; Heinrich, J; Lippold, U. (1999). Factors affecting lead, cadmium, arsenic levels in house dust in a smelter town in Eastern Germany. *Environment Research Sect*, 81:32-44.
- Michalska, K; Zmudzki, J. (1992). Metal concentrations in wild pig, roe and deer tissues of the Wielkopolska region. *Medycyna Weterynaryjna*, 48:160-162.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2003). Anuario Estadístico 2003: Datos de peso y valor de piezas cobradas según especies, 2002. España.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2004). Anuario Estadístico 2004: Datos de peso y valor de piezas cobradas según especies, 2003. España.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2005). El libro de la Alimentación en España. Anuario Estadístico Agroalimentario, 2006.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2008). Anuario Estadístico 2008: Datos de peso y valor de piezas cobradas según especies, 2006. España.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2009). Anuario Estadístico 2009: Datos de peso y valor de piezas cobradas según especies, 2008. España.
- Ministerio de Medio Ambiente Y Medio Rural y Marino (2008). Consumo Alimentario en España. Gobierno de España.
- Miranda, M; López-Alonso, M. (2006). Copper, Zinc, Iron, and Manganese Accumulation in Cattle from Asturias (Northern Spain). *Biological Trace Element Research*, 109: 135-143.
- Moore, C. (1973) Iron, in Goodhart, R; Shils, M., *Modern nutrition in health and disease*, 5th ed, Philadelphia, eds. Lea and Febiger: 297-323.
- Moreno-Rojas, R; Sánchez Segarra, P.J; Cámara Martos, F; Amaro López, M.A. (2010). Heavy metal levels in Spanish cheeses: influence of manufacturing conditions. *Food Additives and Contaminants: parte B*,3 (2): 90-100.

- Nziguheba, G; Smolders, E. (2008). Inputs of trace elements in agricultural soils via phosphate fertilizers in European countries. *Science of the Total Environment*, 390: 53-57.
- Notten, M.J.M; Oosthoek, A.J.P; Rozema, J; Aerts, R. (2005). Heavy metal concentrations in a soil-plant-snail food chain along a terrestrial soil pollution gradient. *Environmental Pollution*, 138: 178-190.
- Ocaña-Ortiz, J. (2005). Una provincia cinegética por excelencia: la caza en Córdoba. *Linde y Rivera*, 19: 76-79.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (2007). Evaluación de riesgos. Análisis de Riesgos relativos a la inocuidad de los Alimentos: 43-72.
- Pain, D.J; Cromie, RL; Newth, J. Brown, M.J; Crutcher, E; Hardman, P; Hurst, L; Mateo, R; Meharg, A.A; Moran, A.C; Raab, A; Taggart, M.A; Green, R.E. (2010). Potential Hazard to Human Health from Exposure to Fragments of Lead Bullets and Shot in the Tissues of Game Animals. *Plos One*, 5 (4), e10315: 1-17.
- Pacyna, J.M. (1991). Emission factors of atmospheric Cd, Pb and Zn for major source categories in Europe in 1950 through 1985. Norwegian Institute for Air Research, NILU Report OR 30 y 91, Lillestrom, Norway.
- Pascoe, G.A; Blancher, R.J; Linder, G. (1996). Food Chain Analysis of exposures and risks to wildlife at a metals-contaminated Wetland. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 30: 306-318.
- Parker, G.H; Hamr, J. (2001). Metal levels in body tissues, forage and fecal pellets of elk (*Cervus elaphus*) living near the ore smelters at Sudbury, Ontario. *Environmental Pollution*, 113: 347-355.
- Pedersen, S; Lierhagen, S. (2006). Heavy metal accumulation in arctic hares (*Lepus arcticus*) in Nunavut, Canada. *The Science of the Total Environment*, 368: 951-955.

- Pérez-Gutiérrez J.F; Pérez-Pérez F. (2001). Ecopatologías. Influencia en la salud pública y en la sanidad animal. *Observatorio Medioambiental*, 4: 113-149.
- Piskorová, L; Vasilková, Z; Krupicer, I. (2003). Heavy metal residues in tissues of wild boar (*Sus scrofa*) and red fox (*Vulpes vulpes*) in the Central Zepelim region of the Slovak Republic. *Czech Journal of Animal Science*, 48: 134-138.
- Pocas, M.F; Hogg, T. (2009). Predictive Modeling and Risk Assessment. New York (USA): Springer. Chapter 7, *Exposure Assessment of Chemical from Packaging Contaminants*: 125-141.
- Pokorny, B. (2000). Roe Deer (*Capreolus capreolus*) as an accumulative bioindicator of heavy metals in Slovenia. *Web Ecology*, 1: 54-62.
- Pokorny, B; Ribaric-Lasnik, C. (2002). Seasonal variability of mercury and heavy metals in roe deer (*Capreolus capreolus*) Kidney. *Environmental Pollution*, 17: 35-46.
- Pokorny, B; Sayegh-Petkovsek, S.A; Ribaric-Lasnik, C; Urtânik, J.; Doganoc, D.Z; Adamic, M. (2004). Fungi ingestion as an important factor influencing heavy metal intake in roe deer: evidence from faeces. *Science of the Total Environment*.
- Pomeranz, Y; Meloan, C.E. (1994). Food Analysis: Theory and Practice. 3rd ed. Chapman and Hall. New York. ISBN 0-8342-1826-7.
- Prasad, A. (1976). Deficiency of zinc in man and its toxicity. En: Trace elements in health and disease, 1: 1-20. *Academic Press*, New York.
- Puls, R. (1994). Mineral levels in animal health: diagnostic data. *Sherpa International*. Clearbrook BC, 356.
- Reglero, M.M; Monsalve-González, L; Tagart, Ma; Mateo, R. (2008). Transfer of metals to plants and red deer in an old lead mining area in Spain. *Science of the Total Environment*, 406: 287-297.

- Reglero, M.M; Tagart, M.A; Monsalve-González, L; Mateo, R. (2009). Heavy metal exposure in large game from a lead mining area: effects on oxidative stress and fatty acid composition in liver. *Environmental Pollution*, 157: 1388-1395.
- Reid, T.C; McCallum, H.J; Johnstone, P.D. (1980). Liver copper concentrations in red deer (*Cervus elaphus*) and wapiti (*C. Canadensis*) in New Zealand. *Research in Veterinary Science* 28 (2): 261-2.
- Reilly, C. (2002). Metal contamination of food. *Elsevier Applied Science*: 3-151.
- Renwick, A.G; Barlow, S.M; Hertz-Picciotto, I; Boobis, A.R; Dybing, E; Edler, L; Eisenbrand, G; Greig, J.B; Kleiner, J; Lambe, J. (2003). Risk characterisation of chemicals in food and diet. *Food and Chemical Toxicology*, 41: 1211-1271.
- Rikmus, G; Wolf (1987). Schadstoffbelastung von Wild aus Schleswig – Holstein 4. Blei-, Cadmium- und Quecksilbergehalte *Fleisch und Innereien von Haar und Federwild. Fleischwirtsch*, 67:1-5.
- Robards and Worsfold (1991). Cadmium: toxicology and analysis. *Analyst*, 116: 549-568.
- Rubio, C; Gutiérrez, A.J; Martín-Izquierdo, R.E; Revert, C; Lozano, G; Hardisson, A. (2004). El plomo como contaminante alimentario. *Revista. Toxicológica*, 21: 72-80.
- Rubio, C; González-Iglesias, T; Revert, C; Reguera, J.I; Gutiérrez, A.J. (2005). Lead Dietary intake in a Spanish Population (Canary Islands). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (16): 6543-6549.
- Rudy, M. (2010). Chemical composition of wild boar meat and relationship between age and bioaccumulation of heavy metals in muscle and liver tissue. *Food Additives And Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 27 (4): 464-472.

- Saavedra, L; Capacho, G; Contreras, J; Noriega, S; Rozo, C. (2010 ). Análisis de cadmio en sangre en personas con exposición laboral, por espectrofotometría de absorción atómica de llama y horno de grafito. Actas del XXIX Congreso Latinoamericano de Química, Cartagena de Indias, Colombia de 27 de septiembre a 1 de octubre de 2010.
- Saenz de Buruaga, M; Lucio Calero, A; Purroy Iraizoz, F.J. (2001). Reconocimiento del sexo y edad en las especies cinegéticas. Diputación Foral de Avila. Victoria. España. ISBN 84-8012-371-O.
- Saenz Pérez, B. (2003). Preocupación de los consumidores por la seguridad alimentaria. *Monografía XIII: Temas escogidos de Seguridad Alimentaria*. Real Academia Nacional de Farmacia.
- Saenz Pérez, B. (2007). Riesgos sanitarios de los contaminantes y residuos químicos, medicamentosos y ambientales en los alimentos. *Monografía XXIII: Contaminación y Salud*. Real Academia Nacional de Farmacia.
- Santiago, D; Motas-Guzman, M; Reja, A; María-Mojica, P.; Rodero, B; García-Fernández, A.J. (1998). Lead and cadmium in red deer and wild boar from Sierra Morena mountains (Andalusia, Spain). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 61: 730-737.
- Sawicka-Kapusta, K. (1979). Roe deer antler as bioindicators of environmental pollution in southern Poland. *Environmental Pollution*, 19 (4): 283-293.
- Scientific Committee on Animal Nutrition (2003). Opinion of the on Undesirable Substances in Feed, adopted on 25 April 2003. (<http://europa.eu.int/comm/food/fs/se.scan.out>).
- Schuehammer, A.M. (1987). The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds. A review. *Environmental Pollution*, 46: 263-295.

- Schuehammer, A.M. (1991). Effects of acidification on the availability of toxic metals and calcium to wild birds and mammals. *Environmental Pollution*, 7: 329-375.
- Schuehammer, A.M; Perrault, J.A; Routhier, E; Braune, B.M; Campbell, G.D. (1998). Elevated lead concentrations in edible portions of game birds harvested with lead shot. *Environmental Pollution*, 102: 251-257.
- Sharma, R.P; Shupe, J.L. (1977). Lead, cadmium, and arsenic residues in animal tissues in relation to those in their surrounding habitat. *The Science of the Total Environment*, 7: 3-62.
- Sobanska, M.A. (2005). Wild boar hair (*Sus scrofa*) as a non-invasive indicator of mercury pollution. *Science of The Total Environment*, 339: 81-88.
- Soler, F; Oropesa, A.L; García, J.P; Pérez, M. (2004). Lead exposition by gunshot ingestion in red-legged partridge (*Alectoris rufa*). *Veterinary & Human Toxicology*, 46 (3): 133-134.
- Soler, F; Gallego, E; Hernández, R.T; Pérez, M. (2007). Metales pesados en la carne de caza. *Linde y Rivera*, 45: 78-85.
- Stansley, W; Roscoe, D.E; Hazen, R.E. (1991). Cadmium contamination of deer livers in New Jersey; human health risk assessment. *The Science of the total environment*. 107: 71-82.
- Swiergosz, R; Perzanowski, K; Makosz, U; Bilek, I. (1993). The incidence of heavy metals and other toxic elements in big game tissues. *The Science of the Total Environment*, 1: 225-231.
- Szkoda, J; Zmudzki, J. (2001). Toxic elements in tissues of game animals. *Medycyna Weterynaryjna* 57:883-880.
- Szymczyk, K; Zalewski, K. (2001). Content of copper, zinc, lead and cadmium in some tissues of red deer (*Cervus elaphus*) in Warmia and Mazury in 1999. *Acta Toxicologica Poloniae*, 9: 105-114.

- Taggart, M.A; Mateo, R; Charnock, J.M; Bahrami, F; Green, A.J; Meharg, AA. (2009). Arsenic rich iron plaque on macrophyte roots – an ecotoxicological risk? *Environmental Pollution*; 157: 946–54.
- Taggart, M.A; Reglero, M.M; Camarero, P.R; Mateo, R. (2011). Should Legislation regarding maximum Pb and Cd levels in human food also cover large game meat? *Environment International*, 37: 18-25.
- Tataruch, F; Kierdorf, H. (2003). Mammals as biomonitors. In *Bioindicators and biomonitors* B.A. Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister, editors. Elsevier Science Ltd.
- Thomas, V.G; Guitart, R. (2005). Priority contribution. Role of international conventions in promoting avian conservation through reduced lead toxicosis: progression towards a non toxic agenda. *Bird Conservation International*, 15: 147-160.
- Toman, R; Massányi, P. (1996). Cadmium in selected organs of fallow-deer (*Dama dama*), sheep (*Ovis aries*), brown hare (*Lepus europeaus*) and rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Environmental Science and Health*, 31 (5), 1043-1051.
- Tom, D; Bervoest, L; Janssens, E; Pinxten, R; Blust, R; Eens, M. (2002). Great and blue tit feathers as biomonitors for heavy metal pollution. *Ecological indicators*, 1: 227-234.
- Tom, D; Janssens, E; Eens, M. (2006). Effects of heavy metal exposure on the condition and health of adult great tits (*Parus major*). *Environmental pollution*, 140: 71-78.
- Tressou, J; Crepet, A; Bertail, P; Feinberg, M.H; Leblanc, J.C.H. (2004). Probabilistic exposure assessment to food chemicals based on extreme value theory. Application to heavy metals from fish and sea products. *Food Chemical Toxicology*, 42: 1349–1358

- Vahteristo, L; Lytikäinen, T; Venäläinen, E; Estola, M; Lindfors, E; Pohjanvirta ,R; Maijala, R. (2003). Cadmium intake of moose hunters in Finland from consumption of moose meat, liver and kidney. *Food Additives and Contaminants*, 20(5): 453-463.
- Vengust,V; Vengust, A. (2004). Some minerals as web as trace and toxic elements in fibres of fallow deer (*Dama dama*) in Slovenia. *European Journal of Wildlife Research*, 50: 59-61.
- Vikoren T.; Bernhoft A.; Waaler T.; Handeland K (2005). Liver concentrations of copper, cobalt, and selenium in wild Norwegian red deer (*Cervus elaphus*).*Wildl Dis.*, 41 (3): 569-79.
- Vikoren, T; Bernhoft, A; Waaler, T; Handeland, K. (2005). Liver concentrations of copper, cobalt, and selenium in wild Norwegian red deer (*Cervus elaphus*).*Wildlife Diseases*, 41 (3): 569-79.
- Walter, T; Hertrampf, E; Pizarro, F; Olivares, M; Llaguno, S; Letelier, A; Vega, V; Steckel, A. (1993). Effect of bovine-haemoglobin-fortified-cookies on iron status of schoolchildren: a nationwide program in Chile. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57(2):190-194.
- Wolkers, H; Wensing, T; Geert, W.T.A. (1994). Heavy metal contamination in organs of red deer (*Cervus elaphus*) and wild boar (*Sus scrofa*) and the effect on some trace elements. *The Science the Total Environment*, 144 (1-3): 191-199.
- WHO. Food Safety and Foodborne Illness. Fact Sheet n°237. Revised January (2002).
- Wren, C.D; Nygård, N; Steinnes, E. (1994). Willow ptarmigan (*Lagopus lagopus*) as a biomonitor of environmental metal levels in Norway. *Environmental pollution*, 85: 291-295.
- Xuebin,Y; Lijun, X; Liguang, S; Honghao, L; Yuhong, W. (2008). Animal excrement: A poyrntial biomonitor of heavy metal contamination in the marine environment. *Science of the Total Environment*, 399: 179-185.



Zaccaroni, A; Andreani, G; Zucchini, M; Merendi, F; Simoni, P. (2003). Heavy metals in wild boar (*Sus scrofa*) and related lesions. *Hystrix, It. J. Mamm. (n.s.) supp. IV Cong. It. Teriologia*, 174-75.

Zurera-Cosano, G; Moreno-Rojas, R; Amaro-López, M.A. (1994). Effects of processing on the concentration of lead in Manchego-type cheese. *Food Additives and Contaminants*, 11 (1): 91-96.