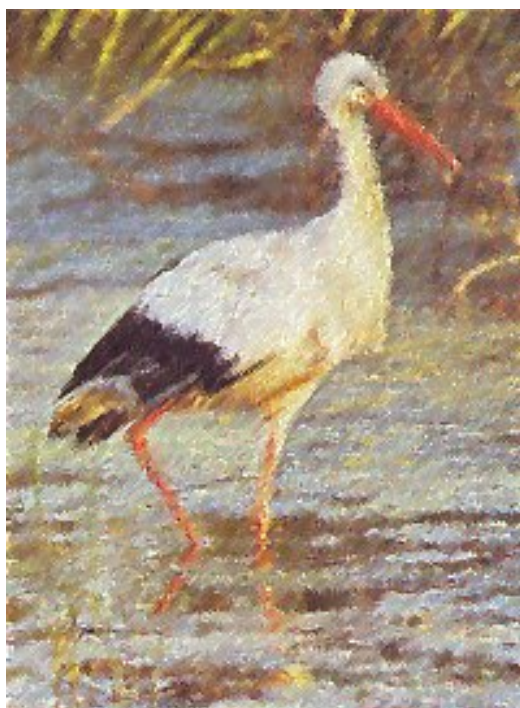




Instituto de Química Orgánica General del CSIC  
Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid



**METALES PESADOS Y ORGANOCLORADOS EN SANGRE DE CIGÜEÑAS DE  
ZARAGOZA.**

**Informe final  
Mayo de 2008**

**Contrato de la Asociación Naturalista de Aragón-ANSAR, domiciliada en Zaragoza, con el Instituto de Química Orgánica General, del CSIC para un trabajo de apoyo tecnológico relativo a “ANÁLISIS DE METALES PESADOS Y ORGANOCOLORADOS EN SANGRE DE CIGÜEÑAS DE ZARAGOZA”.**

**COORDINADOR Y EQUIPO RESPONSABLE.**

**Coordinador del proyecto:**

**Dra. Begoña Jiménez Luque.**

Investigador Científico.

Instituto de Química Orgánica General (IQOG) del CSIC.

Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid.

Tel. 91 5622900

Fax. 91 5644853

e-mail: [bjimenez@iqog.csic.es](mailto:bjimenez@iqog.csic.es)

**Resto de miembros del equipo:**

Enrique Blázquez Blázquez. IQOG, CSIC.

## ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
<b>II.</b>	<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1.</b>	<b>Trabajo de campo</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2.</b>	<b>Análisis de contaminantes</b> .....	<b>8</b>
2.2.1.	Metales pesados .....	8
2.2.2.	Compuestos organoclorados (DDTs, PCBs) .....	12
<b>III.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>14</b>
<b>3.1.</b>	<b>Metales pesados</b> .....	<b>14</b>
<b>3.2.</b>	<b>Compuestos organoclorados</b> .....	<b>15</b>
<b>IV.</b>	<b>RESUMEN Y PROPUESTAS DE ACTUACIÓN FUTURAS</b> .....	<b>17</b>
<b>V.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>19</b>

## **I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.**

### **Antecedentes.**

Durante las últimas décadas muchas poblaciones silvestres han experimentado ciertos descensos que, en algunos casos, han llevado a su extinción. Mientras que algunos de estos descensos son atribuibles a eventos biológicos naturales, como epidemias causadas por agentes microbianos patógenos y causas humanas bien establecidas, en otros casos los motivos no son tan bien conocidos. A raíz del desarrollo industrial, numerosos compuestos fabricados por el hombre se han introducido en el medio, causando el descenso de algunas poblaciones silvestres, a través de mortandad tanto de adultos como de embriones. Una gran variedad de contaminantes pueden alterar el desarrollo embrionario y postnatal y las consecuencias de estas interferencias pueden ser irreversibles, llevando en algunos casos a la muerte prematura y en otros casos no manifestándose hasta que el individuo alcanza la edad adulta, con las consiguientes pérdidas de fertilidad.

Un gran número de trabajos científicos demuestran que la fauna silvestre está expuesta a una gran variedad de compuestos que tienen el potencial de alterar el desarrollo de los sistemas reproductor, inmunológico, nervioso, y endocrino, pudiendo comprometer la estabilidad de la población. En particular, los contaminantes químicos afectan mayoritariamente a procesos moleculares y celulares que regulan el desarrollo así como las funciones endocrinas e inmunológicas. Mediante sutiles cambios bioquímicos y fisiológicos, los contaminantes interfieren en el desarrollo de los sistemas reproductor, endocrino, inmunológico, y nervioso de los embriones y por tanto son elementos claros de la causa de la disminución y fracaso de algunas poblaciones silvestres, incluso después de la prohibición reguladora de estos compuestos. Muchos de los contaminantes químicos ambientales tienen la capacidad de imitar o interferir con las hormonas naturales masculinas o femeninas, modificando, por tanto, el crecimiento y la reproducción.

Existe una preocupación especial con relación a las especies de larga vida media, ya que éstas en algunos casos muestran señales evidentes de daños reproductivos, siendo un

claro ejemplo de este fenómeno lo que ha estado ocurriendo con las poblaciones de águila de cabeza blanca de la región de los Grandes Lagos del continente Norteamericano, que han experimentado un acusado declive. La presencia de jóvenes en buen estado de salud no significa necesariamente una población en buen estado. Son necesarios análisis detallados de la población para determinar si la prole tiene la capacidad funcional para sobrevivir y reproducirse.

Actualmente la contaminación en la fauna ha incrementado en algunas regiones en las cuales se conocen efectos subletales suficientes para dañar la población. A menos que el continuo incremento de los contaminantes de origen humano sean prohibidos o regulados y controlados de una forma eficiente en los sistemas naturales, bien conocidos, de numerosas regiones, ciertas poblaciones situadas en los niveles más altos de la red trófica podrían llegar a ser eliminadas.

Las aves han demostrado ser buenos indicadores de contaminación y de salud global de un ecosistema. Es por esto, y por la importancia de la conservación de la avifauna, que resulta recomendable su uso como objeto de estudio. La cigüeña blanca (*Ciconia ciconia*), haciendo hincapié en el papel de rasgos particulares de su historia vital, y las relaciones con las actividades humanas y las posibles fuentes de contaminación, representa una especie que, por sus características ecológicas, constituye un excelente organismo centinela que nos puede proporcionar una indicación muy fiable del alcance de la contaminación química.

En este sentido hay que tener en cuenta que la cigüeña común es una especie migradora transahariana que, sin embargo, está abandonando cada vez más sus hábitos migratorios coincidiendo con la utilización de los basureros como fuentes de alimentación durante el otoño e invierno de manera que una gran parte de ellas, que va en aumento, ha dejado de migrar y se queda en la península. La utilización de los basureros como fuentes de alimentación puede estar contribuyendo a la contaminación de los individuos de forma que en el futuro puedan repercutir negativamente en su reproducción y supervivencia. Los basureros pueden ser una fuente importante de contaminación por metales pesados y

contaminantes orgánicos, especialmente si se asocian con la incineración de basuras que liberan y dispersan los contaminantes. Por otra parte las cigüeñas son en gran medida aves urbanas que utilizan edificios históricos, como iglesias, para nidificar y que por lo tanto pueden servir de bioindicadores de contaminación urbana. En base a estas consideraciones, las cigüeñas pueden ser un valioso objeto de estudio para investigar diversos aspectos de los efectos de los contaminantes en los seres vivos. Esta especie habita en terrenos llanos y abiertos, en vegas de ríos, en zonas cultivadas con abundancia de humedales, en prados y pastizales. Nidifica tanto sobre edificios como sobre árboles, normalmente de forma colonial o en ocasiones de forma aislada. La cigüeña blanca es una especie que se ha adaptado muy bien a las transformaciones que el hombre ha efectuado en el medio.

### **Objetivos.**

Este proyecto ha perseguido evaluar la presencia de contaminantes químicos en la cigüeña blanca, especie elegida por representar un excelente bioindicador. Para ello se han elegido, dentro de las provincias de Zaragoza y Huesca, varias zonas con características fisiográficas y agroambientales distintas que albergan poblaciones de esta especie. Con todo ello se pretende adquirir un conocimiento más detallado del estado actual de la presencia de contaminantes en ecosistemas de especial interés que permita tomar las medidas oportunas para una correcta gestión de los recursos naturales y agrícolas.

De forma sintética, el objetivo general en el presente proyecto, cuyo informe final se presenta, ha perseguido la determinación del contenido de contaminantes tóxicos y persistentes (metales pesados y organoclorados) en muestras no destructivas obtenidas de Cigüeña blanca (*Ciconia ciconia*) en las provincias de Zaragoza y Huesca.

## **II. METODOLOGÍA.**

### **2.1. Trabajo de campo.**

Se han recogido muestras de sangre en pollos de cigüeña blanca en diferentes localidades de las provincias de Huesca y Zaragoza, en colonias cercanas a potenciales fuentes de contaminación. Cuando los pollos tenían alrededor de tres semanas de vida se tomaron entre 2,5 y 3,5 ml de sangre de la vena ulnar del ala, que se conservaron en tubos heparinizados y en contenedores con hielo seco hasta su traslado al laboratorio de Química Ambiental en el Instituto de Química Orgánica General del CSIC. De todos los pollos, se tomaron los correspondientes datos biométricos y se anillaron para su posterior seguimiento.

En la Tabla 1a se presenta la relación de todas las muestras recogidas durante el año 2005 correspondientes a sangre de cigüeña blanca para llevar a cabo los análisis de compuestos organoclorados y metales pesados.

En la Tabla 1b se presenta la relación de todas las muestras recogidas durante el año 2006 correspondientes a sangre de cigüeña blanca para llevar a cabo los análisis de compuestos organoclorados y metales pesados.

**Tabla 1a. Información relativa a las muestras de C. ciconia obtenidas durante la campaña de anillamiento del 2005.**

<b>A. metal</b>	<b>A. PVC</b>	<b>Fecha</b>	<b>Localidad y provincia</b>	<b>Ala</b>	<b>Peso</b>	<b>Pico</b>
9046447	WH44	02/06/2005	Ejea de los Caballeros (Z)	345	3290	97.5
9046449	WH6A	02/06/2005	Ejea de los Caballeros (Z)	348	3650	102
9046453	WH9C	02/06/2005	Ejea de los Caballeros (Z)	316	3500	95.5
9046456	WHC8	02/06/2005	Ejea de los Caballeros (Z)	378	3435	104
9046459	WHFX	02/06/2005	Ejea de los Caballeros (Z)	337	3720	98
9046462	WHNF	02/06/2005	Ejea de los Caballeros (Z)	270	2825	90.5
9046465	WHVS	02/06/2005	Ejea de los Caballeros (Z)	359	3290	97.5
9046468	WM07	02/06/2005	Ejea de los Caballeros (Z)	275	2915	91
9046471	WM26	02/06/2005	Ejea de los Caballeros (Z)	320	3585	104
9046474	WM3V	03/06/2005	Sariñena (Hu)	220	2355	86
9046477	WM6V	03/06/2005	Capdesaso (Hu)	381	3815	119
9046479	WM7X	03/06/2005	Sariñena (Hu)		1930	66.5
9046480	WM8X	03/06/2005	Poleñino (Hu)	337	2870	94.5
9046483	WMC0	03/06/2005	Poleñino (Hu)	380	3995	107
9046485	WMF1	03/06/2005	Poleñino (Hu)	422	3355	114
9046494	WMWX	04/06/2005	Monzón (Hu)	368	3010	106
9046495	WMXV	04/06/2005	Monzón (Hu)	415	3710	121
9046497	WS13	04/06/2005	Monzón (Hu)	353	3160	98.5
9046499	WS24	04/06/2005	Monzón (Hu)	471	3435	129
9046501	WS36	04/06/2005	Monzón (Hu)	441	3940	124
9046503	WS47	04/06/2005	Monzón (Hu)	385	3380	106
9046506	WS78	04/06/2005	Monzón (Hu)	351	2865	101
9046508	WS8V	04/06/2005	Monzón (Hu)	370	3480	115
9046512	WSCA	04/06/2005	Monzón (Hu)	372	3285	108
9046515	WSH2	04/06/2005	Monzón (Hu)	330	3345	107
9046518	WSS1	04/06/2005	Alcolea de Cinca (Hu)	407	3380	113
9046520	WSVA	04/06/2005	Alcolea de Cinca (Hu)	291	2610	85
9046521	WSW1	04/06/2005	Alcolea de Cinca (Hu)	414	3600	119
9046524	WV0A	04/06/2005	Alcolea de Cinca (Hu)	311	2825	101
9046526	WV1C	04/06/2005	Alcolea de Cinca (Hu)	397	3490	112



**Tabla 1b. Información relativa a las muestras de *C. ciconia* obtenidas durante la campaña de anillamiento del 2006.**

A. metal	A. PVC	Fecha	Localidad	Municipio y provincia	Ala	Peso	Pico
9049320	23M9	03/06/2006	Osso de Cinca	Osso de Cinca (Hu)	382	3520	109.5
9048320	1XCA	27/05/2006	Alcolea de Cinca	Alcolea de Cinca (Hu)	356	2750	100
9049313	23AN	02/06/2006	Samper de Calanda	Samper de Calanda (Te)	477	3320	123
9048317	1X9W	26/05/2006	La Alfranca	Pastriz (Z)	357	3830	114
9049332	240N	04/06/2006	Azaila	Azaila (Te)	313	2770	95
9049309	238H	02/06/2006	Hijar	Hijar (Te)	237	2605	87
9049336	242V	04/06/2006	Mazaleon	Mazaleon (Te)	422	2820	113.5
9049340	244X	04/06/2006	La Alfranca	Pastriz (Z)	407	3640	116.5
9048313	1X7S	26/05/2006	La Cartuja Baja	Zaragoza (Z)	219	2620	87
9049322	23NA	03/06/2006	Belver de Cinca	Belver de Cinca (Hu)	442	3695	118
9049293	22X4	01/06/2006	Barbastro	Barbastro (Hu)	449	3345	126.5
9049316	23F7	03/06/2006	Fraga	Fraga (Hu)	367	3425	113
9049308	2382	02/06/2006	Alcañiz	Alcañiz (Te)	403	4005	122
9048350	2086	27/05/2006	Santalecina	San Miguel de Cinca (Hu)	360	3685	112
9048344	2042	27/05/2006	Pueyo de Santa Cruz	Pueyo de Santa Cruz (Hu)	412	3410	111
9049203	209V	27/05/2006	Santalecina	San Miguel de Cinca (Hu)	336	3300	107.5
9049303	234A	01/06/2006	Selgua	Monzon (Hu)	442	3600	114
9048342	2031	27/05/2006	Alcolea de Cinca	Alcolea de Cinca (Hu)	391	3065	103.5
9049317	23FV	03/06/2006	Torrente de Cinca	Torrente de Cinca (Hu)	355	3370	102
9048318	1XA9	26/05/2006	La Alfranca	Pastriz (Z)	388	3230	111

## **2.2. Análisis de contaminantes químicos.**

### **2.2.1. Análisis de Metales Pesados y metaloides en sangre.**

#### **Tratamiento de muestra en la determinación de: Cu, Cd, Zn, Pb y As.**

Esta determinación se realiza mediante una digestión vía húmeda de la muestra. Para ello, en un reactor de teflón (#561R2, Savillex), se mezcla 1 ml de sangre, 0,5 ml de ácido nítrico concentrado 69% (Trace Pur, Merck) y cuatro gotas de peróxido de hidrógeno (Panreac). Se cierra herméticamente el reactor de teflón y se introduce en la estufa

durante cinco horas a una temperatura aproximada de unos 100°C para favorecer ataque ácido de la muestra. Una vez finalizado este proceso, se deja enfriar el reactor y se filtra la digestión, en un matraz aforado, con papel de filtro sin cenizas (Whatman). Tras sucesivos lavados del reactor de teflón con agua Milli-Q, se enrasa a un volumen de 10 ml.

Posteriormente se analiza el Cd, Pb y As por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Cámara de Grafito con corrección Zeeman mediante el método de adición patrón y el Cu y Zn por Espectrofotometría de Absorción Atómica de llama, mediante calibración con patrón externo.

#### **Tratamiento de muestra para la determinación de Hg.**

En tubos de polipropileno de 50 ml, se añade 1 ml de Tritón X-100 al 0,2%, 0,5 ml de sangre, 0,1 ml de disolución estabilizadora ( $\text{KMnO}_4$  al 0,5%; en  $\text{HNO}_3$  50% (v/v)), 1 ml ácido nítrico concentrado 65% (Suprapur, Merck) y 2 ml de ácido sulfúrico concentrado 96% (Pro Analysis, Merck). Una vez cerrados los tubos se introducen en la estufa a 60°C durante 12 horas. Pasado este tiempo, se dejan enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente y se enrasan a un volumen de 10 ml con la disolución diluyente ( $\text{HNO}_3$  al 10% (v/v);  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 20% (v/v)). Los patrones para la realización de la recta de calibrado se digieren mediante la misma técnica.

Posteriormente se analiza por Espectrofotometría de Absorción Atómica mediante la técnica de vapor frío (CVAAS) por calibración con patrón externo.

#### **Determinación instrumental.**

##### **Determinación de As, Cd y Pb.**

La cuantificación de As y los metales pesados Cd y Pb se realiza mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica con Cámara de Grafito (AAAnalyst 600, equipado con un corrector de fondo Zeeman y un automuestreador AS-800, Perkin Elmer), aplicando para la determinación analítica el método de adición patrón.

El equipo realiza las diluciones necesarias (a partir del patrón más concentrado), para obtener la recta de calibrado (adición patrón), debido a la alta precisión observada. Como diluyente utiliza ácido nítrico al 1%. La medida de la señal de la muestra, se realiza en área de pico, así mismo, se hacen dos réplicas para cada medida, tanto de los patrones como de las muestras

Para chequear la sensibilidad del equipo, se usa la masa característica. Así, para cuantificar el As, la masa característica es 40,0 pg/0,0044 A-s y se emplea un patrón de As de 50 µg/L para el que se consideran correctas las variaciones de  $\pm 20\%$  en su masa característica. Para la cuantificación de Cd, la masa característica es 1,3 pg/0,0044 A-s y se emplea un patrón de Cd de 2 µg/L para el cual se consideran correctas variaciones de  $\pm 20\%$  en su masa característica. En el caso del Pb, la masa característica es 30,0 pg/0,0044 A-s y se utiliza un patrón de Pb de 50 µg/L para el cual se consideran correctas variaciones de  $\pm 20\%$  en su masa característica. Los límites de detección instrumental establecidos han sido de 0,008 µg/L para Cd, 0,06 µg/L para Pb y 0,2 µg/L para As.

### **Determinación de Cu y Zn.**

La cuantificación de estos metales pesados se lleva a cabo mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica con llama (Spectra AA-100, Varian), utilizando para cuantificar la muestra el método de patrón externo. La recta de calibrado para el Cu y el Zn se realiza a partir de un patrón de 10 ppm que se prepara con una disolución concentrada de 1000 ppm (Merck) y considerando que el rango de la recta de calibrado está en función de la identidad y de la concentración esperada para cada analito.

Para chequear el equipo, se usa un patrón acuoso de Cu de 1,5 ppm que con un flujo de 10 ml/min, debe dar aproximadamente 0,200 unidades de absorbancia. Como diluyente se utiliza ácido nítrico al 1%. La medida de la señal de la muestra, se realiza en área de pico, así mismo, se hacen tres réplicas para cada medida, tanto de los patrones como de las muestras.

## **Determinación de Hg.**

La determinación se realiza en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica con Sistema de Inyección de Flujo de mercurio de Perkin Elmer FIMS-400 mediante la técnica de vapor frío (CVAAS) equipado con un Automuestreador Perkin Elmer AS-900.

La medida de la señal de la muestra, se realiza en altura de pico, así mismo, se hacen dos réplicas para cada medida, tanto de los patrones como de las muestras. Para la cuantificación se utiliza el método de la adición de patrón. Se utilizan rectas de calibrado con patrones entre 1 y 5 ppb, preparados diariamente.

Como disolución portadora se utiliza el HCl al 10% y como disolución reductora ( $\text{NaBH}_4$  al 0,2 % (p/v); NaOH al 0,005 (p/v) solución antiespumante 100 A PerKin-Elmer al 0,1 %), el borohidruro libera hidrógeno en contacto con los ácidos de la digestión y el  $\text{Hg}^{2+}$  se reduce a su estado metálico. Como el  $\text{Hg}^0$  metálico tiene una gran volatilidad, incluso a temperatura ambiente, éste se libera de la solución con una corriente de argón y se transporta a una célula de medida que está situada a lo largo de la trayectoria de la radiación emitida por la lámpara de mercurio, donde se produce la absorción y por tanto la medida.

## **Control de Calidad de los Resultados**

Para controlar la calidad de los resultados obtenidos, se siguen dos estrategias simultáneas. El análisis de material de referencia certificado: Seronorm™ Trace Elements Whole (SERO AS, Norway), nivel 2 (MR9067) y la participación en ejercicios interlaboratorio.

Los análisis se llevaron a cabo en diferentes series y cada una de ellas incluía un blanco de reactivos. Solo se consideran válidas las cuantificaciones cuyas desviaciones estándar relativas (RSD) fueron inferiores al 10%, en caso contrario se reanaliza.

Cuando la concentración de la muestra fue mayor del 115% del rango de calibración, se realizaron las diluciones necesarias hasta que la concentración entró dentro del intervalo de la recta de calibrado.

### 2.2.2. Análisis de PCBs y DDTs en plasma

Para el caso de las muestras de plasma sólo se analizaron los orto PCBs y los DDTs, ya que para analizar también las PCDDs y los PCDFs harían falta volúmenes mínimos de 50-80 ml frente a los 1-2 ml de los que pudo disponerse. En el caso de las aves, el volumen máximo de sangre que puede extraerse a un individuo varía entre el 1 y el 3% de su peso corporal, y sólo la mitad de ese volumen es plasma. Los compuestos organoclorados analizados fueron los orto PCBs (congéneres número: 28, 52, 95, 101, 123, 149, 118, 114, 153, 132, 105, 138, 167, 156, 157, 180, 170, 189 y 194) y los DDTs (*p*, *p'*-DDT y sus dos metabolitos: el *p*, *p'*-TDE y el *p*, *p'*-DDE). El tratamiento de la muestra se basa en la extracción líquido-líquido. Para realizar la extracción se utilizaron aproximadamente unos 300 µl de plasma, que fueron pesados en un tubo de centrifuga y suplementados con 10 µl de PCB 209 (250 ng/ml) que sirvió como patrón de recuperación. Una vez pesado y suplementado el plasma se añadieron al tubo 3 ml de hexano (Hexano Unisolv<sup>®</sup>, Merck) seguidos de 2 ml de ácido sulfúrico (Ácido sulfúrico pro-analysis, Merck), mezclando todo ello durante 0,5 min con ayuda de un vortex para finalmente centrifugarlos a 4000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se transfirió a otro tubo de centrifuga y el pellet restante se re-extrajo dos veces más añadiendo en cada ocasión 2 ml de hexano y repitiendo las operaciones previas para obtener un volumen final aproximado en el segundo tubo de 7 ml, al que se añadieron finalmente 2 ml de ácido sulfúrico para llevar a cabo una última etapa de purificación. Tras haberlo mezclado todo en el vortex durante 1,5 min se repitió la etapa de centrifugado para obtener el sobrenadante final con los organoclorados y libre de materia grasa. Este sobrenadante se llevó a sequedad bajo una corriente de nitrógeno. Antes de cuantificar los analitos de interés, éstos se reconstituyeron en una disolución de TCN, que sirvió como patrón de inyección. La separación de los compuestos organoclorados se llevó a cabo mediante un cromatógrafo de gases de alta resolución (Hewlett Packard 6890 HRGC) equipado con un micro detector de captura de electrones (<sup>63</sup>Ni-µECD) y empleando una columna capilar de sílice DB-5. Las condiciones cromatográficas son las que aparecen reflejadas en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones cromatográficas empleadas en el análisis de los congéneres de orto-PCBs y DDTs.

<b>Columna</b>	DB-5 (J&W Scientific, Folsom, USA) 5% fenil metilpolisiloxano, 60 m x 250 µm i.d., 0,25 µm espesor de fase		
<b>Gas portador</b>	Nitrógeno		
<b>Modo de trabajo</b>	Flujo constante (1,5 ml/min)		
<b>Temperatura Inyector (°C)</b>	270		
<b>Inyección</b>	Splitless (1 min)		
<b>Vol. Inyección (µl.)</b>	1		
<b>Programa de temperaturas:</b>			
Temperatura inicial (°C)	Rampa (°C/min)	Temperatura final (°C)	Mantenimientos (min)
80			2
	30	185	3
	1,5	230	15
	5	270	25
<b>Detector</b>	<sup>63</sup> Ni-µECD		
<b>Temperatura detector (°C)</b>	300		
<b>Gas de make-up</b>	Nitrógeno		
<b>Flujo de make-up (ml/min)</b>	30		

Las cuantificaciones se realizaron en base a los RRFs, calculados respecto al TCN. Cuando los compuestos estuvieron por debajo del límite de detección se les asignó el valor de LOD/2, estando el intervalo de dicho límite entre 0,02 y 0,10 ng/g. Rutinariamente se utilizó el procedimiento de blancos analíticos en cada batería de muestras a fin de verificar que no se producía una contaminación cruzada o interferencias en las muestras a la hora de ser analizadas. Los valores de recuperación del PCB 209 se utilizaron para comprobar la validez de la extracción, de manera que cuando éstos fueron inferiores al 90% se repitió el análisis.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1.1. Metales pesados y metaloides

En la Tabla 3a se presentan los valores de concentraciones de elementos traza (Hg, Cu, Cd, Zn, Pb y As) analizados en cada una de las muestras de sangre de cigüeña blanca, recogidas durante el año 2005 y para el año 2006, estos valores se presentan en la Tabla 3b.

**Tabla 3. Valores de concentración de elementos traza en las muestras estudiadas correspondientes al año 2005.**

Código	Localización	Hg (ppb)	Cu (ppm)	Cd (ppb)	Zn (ppm)	Pb (ppb)	As (ppb)
WH44	Ejea de los Caballeros (Z)	38.10	n.d.	n.d.	1.352	14.35	29.8
WH6A	Ejea de los Caballeros (Z)	24.17	0.29	1.786	2.6	60.49	23.68
WH9C	Ejea de los Caballeros (Z)	39.60	0.22	1.479	3.07	50.1	42.39
WHC8	Ejea de los Caballeros (Z)	31.60	0.229	2.016	3.171	60.76	14.34
WHFX	Ejea de los Caballeros (Z)	39.12	0.273	1.988	4.318	9.88	39.74
WHNF	Ejea de los Caballeros (Z)	33.44	0.25	1.045	3.19	26.73	25.15
WHVS	Ejea de los Caballeros (Z)	36.62	0.316	2.463	3.361	8.168	20.67
WM07	Ejea de los Caballeros (Z)	102.23	0.26	3.448	3.598	78.17	4.83
WM26	Ejea de los Caballeros (Z)	49.61	0.27	0.2	2.678	37.33	28.32
WM3V	Sariñena (Hu)	22.55	0.15	1.155	1.825	20.38	57.13
WM6V	Capdesaso (Hu)	16.70	0.31	2.732	3.044	46.52	16.73
WM7X	Sariñena (Hu)	25.30	0.2	1.446	3.886	37.3	11.44
WM8X	Poleñino (Hu)	39.03	0.31	2.042	2.575	10.88	23.42
WMC0	Poleñino (Hu)	27.08	0.25	1.494	3.28	26.66	30.56
WMF1	Poleñino (Hu)	27.69	0.41	0.642	3.14	57.07	12.02
WMWX	Monzón (Hu)	309.41	0.2	2.225	2.019	30.82	86.05
WMXV	Monzón (Hu)	22.53	0.35	3.139	3.723	92.07	12.52
WS13	Monzón (Hu)	39.81	0.41	2.079	3.029	147.8	26.72
WS24	Monzón (Hu)	369.31	0.27	0.856	3.579	44.56	25.53
WS36	Monzón (Hu)	34.46	0.58	0.787	3.17	70.26	19.95
WS47	Monzón (Hu)	17.74	0.27	2.156	3.06	33.9	24.46
WS78	Monzón (Hu)	402.37	0.42	1.743	3.356	29.71	40.67
WS8V	Monzón (Hu)	15.63	0.21	1.142	3.767	50.78	22.42
WSCA	Monzón (Hu)	65.98	0.32	2.591	3.554	46.88	16.91
WSH2	Monzón (Hu)	124.28	0.59	0.528	3.613	61.06	44.98
WSS1	Alcolea de Cinca (Hu)	256.28	0.3	1.914	3.205	13.26	6.33
WSVA	Alcolea de Cinca (Hu)	362.08	0.276	0.77	2.744	40.72	16.7
WSW1	Alcolea de Cinca (Hu)	104.07	0.29	1.48	3.46	86.83	24.98
WV0A	Alcolea de Cinca (Hu)	125.67	0.324	2.235	3.738	73.02	4.84
WV1C	Alcolea de Cinca (Hu)	93.60	0.19	1.578	3.067	41.26	6.88
	<b>Promedio</b>	<b>96.53</b>	<b>0.30</b>	<b>1.70</b>	<b>3.14</b>	<b>46.92</b>	<b>25.34</b>
	<b>Mínimo</b>	<b>15.63</b>	<b>0.15</b>	<b>0.20</b>	<b>1.35</b>	<b>8.17</b>	<b>4.83</b>
	<b>Máximo</b>	<b>402.37</b>	<b>0.59</b>	<b>3.45</b>	<b>4.32</b>	<b>147.80</b>	<b>86.05</b>

**Tabla 3b. Valores de concentración de elementos traza en las muestras estudiadas correspondientes a la campaña de campo del año 2006.**

Código	Localidad y provincia	Hg (ppb)	Cu (ppm)	Cd (ppb)	Zn (ppm)	Pb (ppb)	As (ppb)
<b>22X4</b>	Barbastro (Hu)	36.38	0.35	1.61	4.79	8.82	9.4
<b>234A</b>	Monzon (Hu)	37.97	0.3	2.38	3.46	48.31	8.7
<b>2042</b>	Pueyo de Santa Cruz (Hu)	184.46	0.34	2.95	4.91	47.76	22.58
<b>2086</b>	San Miguel de Cinca (Hu)	130.59	0.27	4.29	3.35	44.55	N.D
<b>209V</b>	San Miguel de Cinca (Hu)	820.86	0.27	1.62	3.25	4.31	8.53
<b>1XCA</b>	Alcolea de Cinca (Hu)	118.76	0.37	1.98	16.12	3.64	16.19
<b>2031</b>	Alcolea de Cinca (Hu)	789	0.36	3.22	3.14	20.18	1.33
<b>23NA</b>	Belver de Cinca (Hu)	614	0.42	1.56	4.02	3.35	26.11
<b>23M9</b>	Oso de Cinca (Hu)	153.46	0.43	1.60	4.42	22.13	1.943
<b>23FV</b>	Torrente de Cinca (Hu)	100.84	0.31	1.65	2.60	98.9	68.84
<b>23F7</b>	Fraga (Hu)	172.5	0.31	3.55	3.67	53.19	187.53
<b>1X9W</b>	Pastriz (Z)	76.1	0.285	1.57	3.28	69.32	62.25
<b>244X</b>	Pastriz (Z)	57.07	0.4	1.62	3.26	88.09	123.3
<b>1XA9</b>	Pastriz (Z)	72	0.24	2.06	3.59	27.99	29.35
<b>1X7S</b>	Zaragoza (Z)	64.6	0.27	2.00	2.16	42.41	78.04
<b>2382</b>	Alcañiz (Te)	437.8	0.33	2.2	4.38	N.D	74.88
<b>242V</b>	Mazaleon (Te)	148.23	0.4	0.97	4.24	5.31	5.97
<b>240N</b>	Azaila (Te)	75.86	0.34	0.84	4.71	21.88	17.84
<b>23AN</b>	Samper de Calanda (Te)	66.44	0.35	2.26	7.33	10.33	6.08
<b>238H</b>	Hijar (Te)	51.07	0.32	0.84	2.87	8.87	40.91
	Promedio	<b>210.3995</b>	<b>0.33325</b>	<b>2.038485</b>	<b>4.47695</b>	<b>33.1231579</b>	<b>41.567</b>
	Mínimo	<b>36.38</b>	<b>0.24</b>	<b>0.839</b>	<b>2.164</b>	<b>3.35</b>	<b>1.33</b>
	Máximo	<b>820.86</b>	<b>0.43</b>	<b>4.29</b>	<b>16.12</b>	<b>98.9</b>	<b>187.53</b>

De manera general, los valores medios encontrados para todos los elementos analizados, en muestras del año 2005, no exceden los valores subletales establecidos para la mayor parte de los elementos estudiados y esto se cumple para todos los individuos estudiados en el caso del Cu, Cd, Zn y Pb. Si bien hay que destacar que la información que se extrae de los valores medios debe ser tomada con precaución en el caso concreto del mercurio, ya que destacan varios individuos que presentaron valores superiores a 200 ppb, considerado como tóxico en sangre de individuos adultos. Además cabe señalar que los individuos en los que se han encontrado estos valores particularmente altos de mercurio, proceden de las localidades de Monzón y Alcolea de Cinca. En el caso del As, valores por encima de 50 ppb se consideran resultantes de una exposición excesiva a este metaloide y en el presente estudio, dos de los individuos, procedentes de las localidades de



Sariñena y Monzón, exhibieron valores superiores al nivel guía establecido. Si bien este estudio se ha llevado a cabo con un número muy limitado de individuos para sacar conclusiones definitivas, si puede indicarse que elementos como el mercurio y el arsénico podrían representar un problema para la especie en algunas de las localidades en las que se ha llevado a cabo este estudio y por tanto sería importante tratar de investigar los posibles focos de emisión de estos elementos contaminantes.

Los análisis llevados a cabo en las muestras recogidas durante el año 2006, han detectado un valor enormemente elevado de mercurio en San Miguel de Cinca, correspondiendo de nuevo a la misma zona de estudio detectada problemática en las muestras analizadas en el 2005. Asimismo hay que añadir en el caso del 2006 un valor anómalo de Hg en la muestra tomada en Alcañiz, en la provincia de Teruel. En cuanto al arsénico, se detectaron varios individuos con valores superiores al valor guía establecido en 50 ppb en individuos de las localidades de Torrente de Cinca, Fraga, Pastriz, Zaragoza y Alcañiz.

### **3.1.2. Compuestos organoclorados**

Los valores de concentración de PCBs totales y DDTs para cada una de las muestras de sangre de cigüeña analizadas, se presentan en la Tabla 4. En el caso de los PCBs, el valor medio es de 2.20 ppb, y el valor máximo que ha llegado a encontrarse está muy próximo, con 3.42 ppb. Estas concentraciones corresponden a valores bajos que no suponen un nivel de riesgo para los individuos expuestos y representan los valores habituales de “background” que presentan numerosas especies debido al fenómeno de exposición generalizada a este tipo de contaminantes. Al igual que ocurre con los PCBs, el grupo de DDTs también presenta unos valores de concentración bajo, con un valor medio de 0.82 ppb, correspondiendo el valor máximo a 7.70 ppb.

En la Tabla 4 se presentan los valores de porcentaje de contribución del DDE, como principal metabolito del DDT, a las concentraciones totales de DDTs y puede observarse que estos porcentajes en todos los casos son altos, lo que indica una escasa presencia de DDT como compuesto original. Además, los valores encontrados para el ratio DDE/DDT son en todos los casos superiores a 1, lo que confirma que el uso de este pesticida, prohibido en la actualidad, en la zona no es de origen reciente.

**Tabla 4. Concentraciones de compuestos organoclorados (PCBs y DDTs).**

	Localización	Suma PCBs	Suma DDTs	% DDE	Ratio DDE/DDT
WH44	Ejea de los Caballeros (Z)	2.21	0.11	46.07	1.39
WH6A	Ejea de los Caballeros (Z)	1.73	0.06	58.94	2.19
WH9C	Ejea de los Caballeros (Z)	2.06	0.08	57.40	2.21
WHC8	Ejea de los Caballeros (Z)	1.68	0.10	76.53	3.95
WHFX	Ejea de los Caballeros (Z)	2.26	0.05	53.58	1.31
WHNF	Ejea de los Caballeros (Z)	2.04	0.04	59.65	3.69
WHVS	Ejea de los Caballeros (Z)	2.20	0.10	49.60	1.52
WM07	Ejea de los Caballeros (Z)	2.23	0.09	87.39	15.05
WM26	Ejea de los Caballeros (Z)	1.91	0.09	77.89	6.41
WM3V	Sariñena (Hu)	1.84	0.16	72.85	3.14
WM6V	Capdesaso (Hu)	2.20	0.22	93.25	17.96
WM7X	Sariñena (Hu)	2.71	0.30	91.93	27.57
WM8X	Poleñino (Hu)	2.39	0.10	72.55	3.75
WMC0	Poleñino (Hu)	2.36	0.12	73.01	3.31
WMF1	Poleñino (Hu)	2.34	0.09	89.71	26.14
WMWX	Monzón (Hu)	2.02	2.15	98.91	157.89
WMXV	Monzón (Hu)	1.69	0.16	83.44	12.33
WS13	Monzón (Hu)	2.02	0.51	92.37	16.04
WS24	Monzón (Hu)	2.17	2.75	98.71	110.14
WS36	Monzón (Hu)	1.98	0.08	72.00	4.63
WS47	Monzón (Hu)	3.42	0.08	75.68	6.96
WS78	Monzón (Hu)	2.32	7.70	99.56	537.34
WS8V	Monzón (Hu)	1.91	0.07	81.52	8.14
WSCA	Monzón (Hu)	2.04	0.43	96.06	43.43
WSH2	Monzón (Hu)	1.81	0.91	97.46	78.67
WSS1	Alcolea de Cinca (Hu)	2.89	0.83	96.23	37.64
WSVA	Alcolea de Cinca (Hu)	2.67	6.43	99.45	366.55
WSW1	Alcolea de Cinca (Hu)	2.08	0.13	89.31	18.67
WV0A	Alcolea de Cinca (Hu)	2.23	0.56	94.79	48.64
WV1C	Alcolea de Cinca (Hu)	2.62	0.16	79.47	4.54
<b>PROMEDIO</b>		<b>2.20</b>	<b>0.82</b>		
<b>MINIMO</b>		<b>1.68</b>	<b>0.04</b>		
<b>MAXIMO</b>		<b>3.42</b>	<b>7.70</b>		

Con objeto de visualizar mejor los resultados comentados, en la Figura 1 se presentan los niveles totales de PCBs y DDTs para cada uno de los individuos estudiados en las diferentes localidades. Los valores totales de PCBs son muy similares en todos los individuos, mientras que en el caso de los DDTs puede comprobarse que algunos

individuos destacan por presentar valores más elevados, correspondientes a las zonas de Monzón y Alcolea de Cinca.

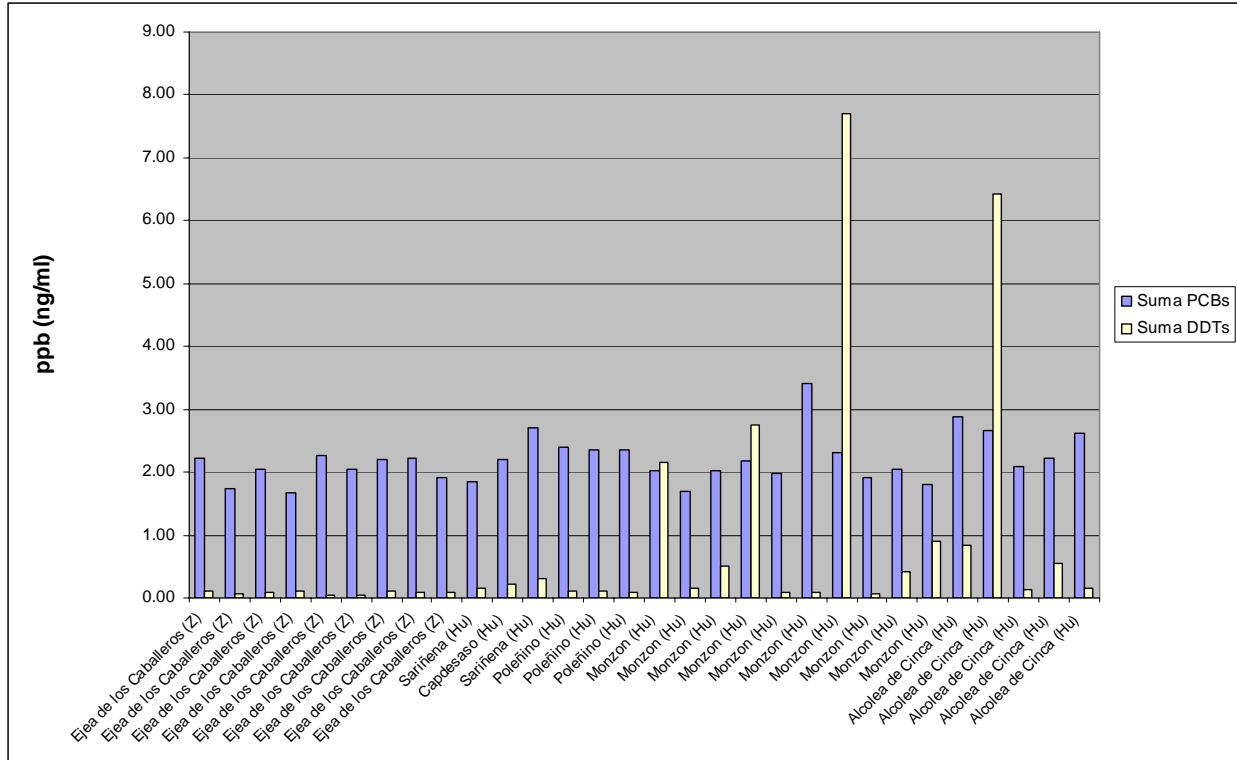


Figura 1. Representación gráfica de los niveles totales de PCBs y DDTs en sangre de cigüeña procedente de diferentes localidades de las provincias de Huesca y Zaragoza.

#### IV. Resumen y propuestas de actuación futuras.

El presente estudio, teniendo en cuenta la limitación en el número de muestras estudiadas para cada localidad, indica que contaminantes organoclorados como los PCBs o DDTs no presentan niveles de riesgo en los pollos de cigüeña blanca monitorizados. Si bien, elementos como el mercurio y arsénico han presentado valores que superan los umbrales de riesgo toxicológico en alguno de los individuos estudiados. La ausencia de una información detallada sobre las posibles actividades responsables de la presencia de estos elementos en la zona de estudio, impide trazar un cuadro más detallado de la problemática que puedan representar estos elementos. No obstante esta información debería servir como base para establecer un programa de seguimiento y evaluación más detallado particularmente en las zonas donde se han detectado individuos expuestos. En

concreto se observa que las localidades de Monzón y Alcolea de Cinca son las que tienen los individuos de Cigüeña blanca con mayores niveles de contaminación y por tanto se recomienda llevar a cabo un estudio más exhaustivo en estas zonas. De hecho, a este informe, correspondiente al convenio firmado para las muestras tomadas en el año 2005, se ha añadido como información extra todos los resultados analíticos obtenidos para muestras tomadas también durante el año 2006 y actualmente se ha iniciado una campaña de recogida de muestras en el año 2008 que se analizarán con el objeto de tener un seguimiento temporal más adecuado.

De estas observaciones se derivan conclusiones de interés aplicables en situaciones en que debe establecerse un programa de monitorización de contaminantes químicos en una especie dada. Es importante conocer qué tipo de muestra se selecciona para analizar tóxicos. La sangre representa la matriz ideal desde el punto de vista de muestreo “no destructivo” pero presenta la limitación de disponibilidad de pequeñas cantidades de un individuo dado, lo que normalmente impide hacer un barrido analítico completo de todos los contaminantes químicos que interese estudiar y además la información que proporciona es variable en función de la edad de los individuos cuando estamos trabajando con contaminantes bioacumulables. Así, la sangre de adultos sería la matriz más recomendable ya que además de darnos información del estado actual de contaminación de un individuo dado, al igual que la sangre de pollos, permite a la vez obtener información sobre fenómenos de bioacumulación. Si trabajamos con la sangre de pollos, hay que tener en consideración que la información que se obtiene no nos va a proporcionar una idea del fenómeno de biomagnificación, debido a la corta edad del individuo.

Los huevos infértiles, presentan la ventaja de que la cantidad de muestra disponible es mayor, lo que permitiría trazar un cuadro más completo de todos los contaminantes químicos que vayan a analizarse dentro de un programa de monitorización, pero su limitación es que suponen un muestreo muy sesgado de la población a estudiar y no nos dan información en tiempo real de los individuos presentes en una población dada, sino que nos proporcionan los datos de contaminantes acumulados por la hembra que produce

el huevo y que podrían pasar a sus descendientes. Las muestras de huevos infértiles, en lo que al perfil de PCBs se refiere, tienen la ventaja de ofrecer la misma información que la sangre de adultos, aunque como ya se comentó previamente proporcionan una información muy sesgada de la población. La ventaja que prevalece frente al resto de muestras es que al haber mayor disponibilidad de muestra, el número de analitos que puede estudiarse es mayor (e.g. PCDDs y PCDFs solo pueden analizarse en este tipo de muestras dado los bajos niveles a los que se encuentran).

En definitiva, para trazar un cuadro completo del estado de contaminación de una población dada, inicialmente es necesario abordarlo desde un punto de vista más amplio, pudiendo diseñarse posteriormente estudios más centrados en parámetros concretos.

## **V. BIBLIOGRAFÍA.**

Fernández, M., Cuesta, S., Jiménez, O., García, M.A., Hernández, L.M., Marina, M.L. & González, M.J., 2000. Organochlorine and heavy metal residues in the water/sediment system of the Southeast Regional Park in Madrid, Spain. *Chemosphere* 41, 801-812.

Jiménez, B., R.Rodríguez-Estrella, R. Merino, L. Rivera, G. Gómez, E. Abad and J. Rivera, 2005. Preliminary evaluation of organochlorine contaminants (PCDDs, PCDFs, PCBs and DDTs) and heavy metals in birds from Baja California, Mexico. *Environmental Pollution* 133: 139-146.

Jiménez, B., Mori, G., Concejero, M.A., Merino, R., Casini, S. and Fossi, M.C., 2005. Vitellogenin and Zona Radiata Proteins as biomarkers of endocrine disruption in Peregrine falcon (*Falco peregrinus*). *Chemosphere*, submitted April 2005.

Merino, R., De Coen, W. and Jiménez, B. 2005. RNA isolation from avian blood. Does the collection method affect RNA yield?. *Analytical biochemistry*. Submitted.