

Aplicación de las técnicas de inmunoensayo (ELISA) para el muestreo de atrazina y sus productos de degradación en aguas del acuífero y de la zona no saturada. Aplicación al Empordá (Girona)

L. Candela¹, A. Cortes², M. Hidalgo³ y V. Salvadó³

1 Dep. de Ingeniería del Terreno y Geociencias-UPC. C/Gran Capitán s.n. 08034-Barcelona. Lucila.candela@upc.es

2 Dep. Productos Naturals, Biología Vegetal Sanitaria i Edafología- UB. Av. Diagonal 643-Barcelona.

3 Dep. de Química. UG. Pza Hospital 6, 17004-Girona.

ABSTRACT

A sensitive Enzyme Lynked ImmunoSorbent Assay (ELISA) based on policlonal antibodies was tested in a water sampling exercise at field scale. In the absence of deethylatrazine (DEA), results indicate that the method is useful for the determination of atrazine concentrations ranged between 0,1 and 10 µg/l. When compared with gas chromatographic analysis, ELISA overestimates atrazine concentration. If these tests are used as a semiquantitative screening tool, this tendency for overprediction does not diminish the test's usefulness. The test appears to be a valuable method for monitoring triazine herbicides in water samples from wells and soil water suction cups.

Key words: atrazine; ELISA, unsaturated zone, groundwater.

INTRODUCCIÓN

El uso de plaguicidas con el objeto de incrementar la producción agrícola goza de una gran tradición. En principio, dadas las características de estas sustancias, cabe esperar una posible afección a los recursos hídricos en todas aquellas zonas donde dichos productos puedan ser manufacturados, almacenados, transportados o utilizados, así como a los ecosistemas acuáticos y a la salud humana a través del medio acuático. Una de las principales causas de la aparición de estos compuestos en el medio es su utilización en las actividades agrícolas, como herbicida de pre-emergencia en el caso de las triazinas. Atrazina y simazina, dos de los integrantes de la familia de las triazinas figuran entre los 20 compuestos prioritarios de la nueva propuesta comunitaria de control de la calidad de las aguas.

Los métodos habitualmente utilizados para el análisis de dichos compuestos se basan en la utilización de técnicas HPLC y GC/MS que implican la utilización de grandes volúmenes de agua, purificación y derivatización, además de la utilización de un costoso equipo. Debido a estas restrictivas condiciones, la utilización de las técnicas inmunoenzimáticas ELISA, se plantean como una excelente alternativa, al menos para la realización de controles rutinarios de las aguas. Según las referencias bibliográficas, ELISA constituye un método relativamente simple, rápido y especialmente efectivo cuando se deben analizar residuos

de plaguicidas en un pequeño volumen de agua. Los protocolos analíticos y de muestreo se validaron para atrazina y DEA en agua de la zona no saturada y en aguas del acuífero en una zona experimental situada en L'Empordá (Girona).

METODOLOGÍA

L'Alt Empordá está situado en la provincia de Girona, a unos 200 km al N de Barcelona. En dicha zona, caracterizada por una abundante actividad agrícola se pueden distinguir un acuífero Neógeno y uno Cuaternario de naturaleza detrítica. Sobre el acuífero Cuaternario se seleccionó un área experimental de 1.364 ha, en la que también se dispuso de un pozo. El nivel freático osciló entre 0,5 y 1,5 m durante todo el periodo experimental. En la parcela se instalaron tensiómetros a diversa profundidad con el objeto de controlar el potencial de presión del agua en el suelo y cápsulas de succión para la toma de muestras de agua en la zona no saturada. También se procedió a la toma de muestras con técnicas destructivas, mediante la realización de sondeos con toma de muestras a intervalos constantes, hasta una profundidad de 2 m. Las muestras de agua se recogieron en las cápsulas de succión y en el pozo. El periodo de muestreo comprendió desde Noviembre de 1994 hasta Junio de 1995. La dosis de aplicación de atrazina sobre el terreno fue de 1,44 kg/ha, cantidad correspondiente a las prácticas agronómicas habituales en la zona.

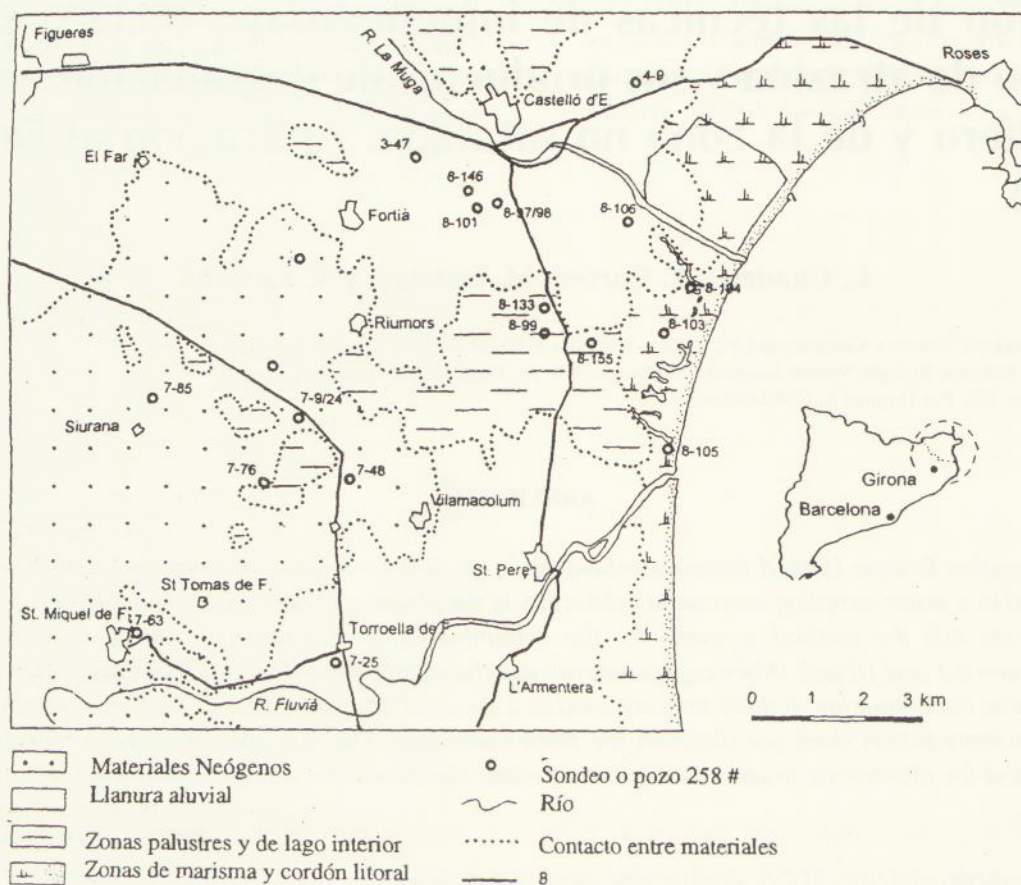


FIGURA 1: Marco geológico.

El análisis de atrazina y sus metabolitos en agua se realizó mediante cromatografía (cromatógrafo de gas HP 5890, serie II) y mediante el kit de inmunoensayo Envirogard High Sensitivity Triazine Plate Kit (ENVR P0048 de Millipore®). Según las características del kit, la mínima dosis de detección (LDD) para atrazina es de 0,01 µg/l y puede presentar reacción cruzada con otros metabolitos de la atrazina (DEA, DIA y DAA). Para la aplicación del test se siguieron las instrucciones especificadas por el fabricante y la precisión del kit se verificó mediante la realización de los ensayos por cuadruplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La validación de los resultados se realizó mediante la comparación de los valores obtenidos mediante GC y ELISA en muestras procedentes de las cápsulas de succión a 100, 150 y 200 cm de profundidad y agua procedente del pozo (Tabla 1). En el ejemplo estudiado sólo se detectaron atrazina y su metabolito DEA.

Como se observa en la tabla 1, el test ELISA predijo en todos los casos la presencia de atrazina en todas las muestras y no se detectó ningún falso negativo. Además en la ausencia de DEA, los resultados obtenidos mediante la aplicación de ELISA son generalmente mayores a los obte-

nidos por GC. Este dato concuerda con los obtenidos por otros autores en similares estudios.

Cuando atrazina y DEA se presentan simultáneamente, dado que los anticuerpos policlonales no son capaces de distinguir los distintos tipos de triazinas, los analitos muestran diversos grados de reactividad. En esta situación, los valores obtenidos de atrazina mediante la aplicación de ELISA son el resultado final de la combinación lineal de las concentraciones de atrazina y DEA (Candela *et al.*, 1998).

CONCLUSIONES

La evaluación de la metodología ELISA mediante un experimento de campo ha permitido concluir que las técnicas ELISA constituyen una técnica semi-cuantitativa de gran utilidad en controles rutinarios de las aguas para la detección de triazinas.

La aplicación de ELISA en muestras de pequeño volumen, permite la rápida detección de atrazina-DEA en concentraciones superiores a 0,1 µg/l, límite fijado por las normas europeas.

Los análisis realizados con ELISA siempre sobrestiman los valores obtenidos mediante cromatografía gaseosa, sin embargo, es de destacar que en ningún caso se

Tabla 1
Resultados de los análisis de atrazina y DEA efectuados por GC y ELISA

ANÁLISIS DE MUESTRAS DE AGUA			
	GC:Atrazina (µg/L)	GC:DEA (µg/L)	ELISA (µg/L)
22/2/95			
C100	0,08	0,26	0,10
C150	0,10	n.d	0,08
C'150	0,09	0,10	0,06
C200	0,08	n.d	0,14
C'200	n.d	n.d	n.d
Pozo	0,06	0,10	0,09
APLICACIÓN DE ATRAZINA			
22/5/95			
C100	12,57	0,00	>10
C150	0,45	0,12	0,63
C'150	16,57	0,27	>10
C200	0,17	n.d	0,53
C'200	n.d	n.d	*
29/5/95			
C100	n.d	n.d	*
C150	0,34	0,20	0,42
C'150	11,12	0,28	*
C200	1,23	n.d	1,98
C'200	n.d	n.d	*
7/6/95			
C100	0,18	0,41	0,30
C150	0,13	0,10	0,50
C'150	8,16	0,25	*
C200	n.d	n.d	0,20
C'200	n.d	n.d	0,09
20/6/95			
C100	0,86	0,35	2,01
C150	0,14	n.d	0,28
C'150	3,06	n.d	4,13
C200	n.d	n.d	0,09
C'200	n.d	n.d	0,20
Pozo	0,72	n.d	*
26/6/95			
C100	0,75	0,72	0,95
C150	0,24	n.d	0,35
C'150	3,15	n.d	3,48
C200	n.d	n.d	0,15
C'200	n.d	n.d	n.d
Pozo	n.d	n.d	0,23

(C100, C150, C200 cápsulas de succión a las profundidades de 100, 150 y 200 cm; C' valor duplicado)

*Valores anómalos; n.d. no detectado.

detectó la presencia de un falso negativo. Este hecho demuestra la utilidad de dicha técnica para controlar la presencia de estos compuestos en las aguas subterráneas y en la zona no saturada.

AGRADECIMIENTOS

El apoyo para la realización de este proyecto de investigación fue en parte financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) en el marco del proyecto AMB97-859.

REFERENCIAS

Boulding, J.R. (1995): Practical handbook of soil, vadose zone and groundwater contamination. Assessment, prevention and remediation. Lewis Publishers, Boca Raton, 948 p.

Bushway, R.J., Perkins B., Sabage S.A., Lokousi S.J. y Ferguson, B.S. (1988): Determination of Atrazine Residues in Water and soil by Enzyme Immunoassay. Bull Environ. Contamin. and Technology. 40: 647-654.

Candela, L., Caballero, Melo, T. y Torres, E. (1998): Evaluation of an enzyme linked immunoassay technique for the analysis of atrazine and deethylatrazine (DEA) in water with application to unsaturated zone monitoring at L'Empordá, Spain. Journ of environ. Hydrol. Vol. 6, paper 1, March 1998.

Honeycut, R.C. y Shabacker, D.J. (1994): Mechanisms of pesticide movement into groundwater. Lewis Publishers, Boca Raton, 189 p.

Millipore (1991): EnviroGard Triazine Plate Kit. Extraction and quantitation for triazine residues in soil.

Paya-Pérez, A.B., Cortes, A., Sala, M.N. y Larsen, B. (1992): Organic matter fractions controlling the sorption of atrazine in sandy soils. Chemosphere. 25(6): 887-898.

Thurman, E.M., Goolsby, D.A., Meyer, M.T., Mills, M., Pomes, M.L. y Kolpin, D. (1992): A reconnaissance study of herbicides and their metabolites in surface water in the midwestern United States using immunoassay and gas chromatography/mass spectrometry. Environ. Sci. Technol., 26(12): 2440-2447.

Wittmann, C. y Hock, B. (1990): Evaluation and performance characteristics of a Novel ELISA for the quantitative analysis of Atrazine in water, plants and soil. Food & Agricultural Immunology, 29: 65-74.