

R-2648

T. 59

INVESTIGACION TOXICOLOGICA DEL PARAQUAT

CONCEPCION DOMINGUEZ URIARTE

1979

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
BIBLIOTECA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA - FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO

DE TOXICOLOGIA

Trabajo presentado por Concepción
Domínguez Uriarte para optar al
grado de Licenciada en Farmacia

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Concepción Domínguez Uriarte', with a large, stylized flourish underneath.

Sevilla , Septiembre 1979

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
BIBLIOTECA

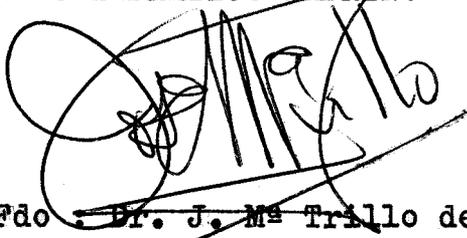
UNIVERSIDAD DE SEVILLA - FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO

DE TOXICOLOGIA

Vº Bº

EL CATEDRÁTICO PADRINO



Fdo : ~~Dr. J. María Trillo de Leyva~~

Catedrático Química Inorgánica

Vº Bº

EL DIRECTOR



Fdo : Dr. M. Repetto

Prof. de Toxicología

Deseo expresar especialmente mi agradecimiento al Dr. Manuel Repetto por su dirección y eficaz ayuda y al Dr. José María Trillo por apadrinar esta tesina.

Mi más sincero agradecimiento a la Dra. M^a Paz Giménez por su constante ayuda y estímulo.

Mi reconocimiento a la Dra. Pilar Sanz por la ayuda que en todo momento me ha prestado .

Mi agradecimiento al Dr. Domingo Martínez , a la Dra. M^a Angeles Rodríguez y a la Dra. Manuela Rueda , por su ayuda y sugerencias en el curso del trabajo.

Gracias así mismo a todo el equipo del Instituto Nacional de Toxicología de Sevilla por su colaboración .

I INTRODUCCION

El paraquat es el herbicida más importante del grupo biperidilo , por ser el más activo ; es una sal del 1,1'-di metil-4,4'-biperidilio , cuyos átomos de nitrógeno adquieren el carácter de amonio cuaternario , es decir catiónico , por lo que se prepara en forma de sales con diversos aniones , como bromuro , cloruro , yoduro , metil-sulfato ó sulfato .

Se describió por primera vez en 1933 por Michaelis y Hill , quienes descubrieron que estas sales eran capaces de adicionar un electrón y producir radicales libres intensamente coloreados ; por ello la primera aplicación del paraquat fue como indicador de óxido reducción , con el nombre de metilviológeno. La actividad herbicida no se descubre hasta 1950 , aplicándose desde entonces como herbicida , defoliante , desecante no selectivo en viñas , praderas y semilleras y para el control de plantas acuáticas .

En 1972 se acepta en ciento treinta países del mundo y su producción aumenta desde nueve mil litros en el periodo 1964 - 1965 hasta dos millones ochocientos mil litros en 1972-1973 .

Desde 1966 empieza a recogerse en la literatura la aparición de casos de intoxicación por paraquat , cuyo mecanismo fisiopatológico consiste en la iniciación de una reacción en cadena de peroxidación de los lípidos de la membrana celular , que conduce , especialmente , a la destrucción progresiva del parénquima pulmonar .

Debido a la gravedad de esta intoxicación, que se presenta con una etiología de carácter ocupacional o en intentos de suicidio , hemos intentado contribuir con el presente trabajo a mejorar los procedimientos actuales de diagnóstico analítico . Para ello se han estudiado independientemente técnicas de separación de los bupiridilos a partir de muestras biológicas, y por otro lado se han ensayado modificaciones a los procedimientos de identificación y cuantificación .

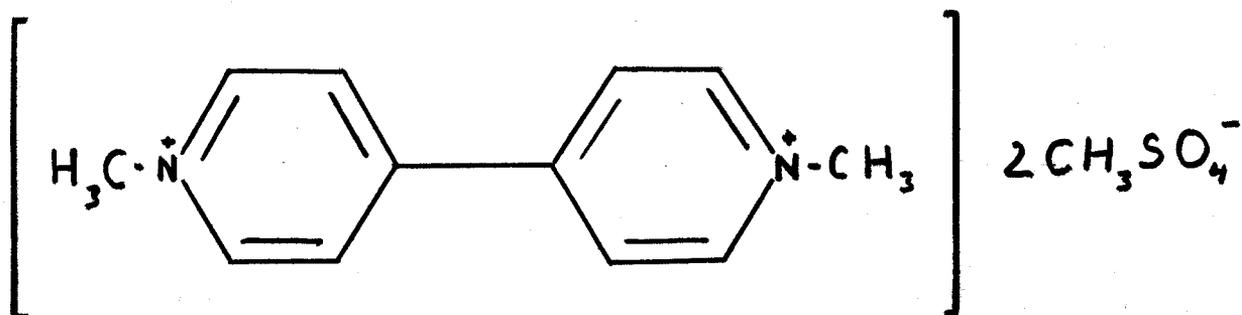
II PARTE TEORICA

II-1 NATURALEZA QUIMICA DEL PARAQUAT

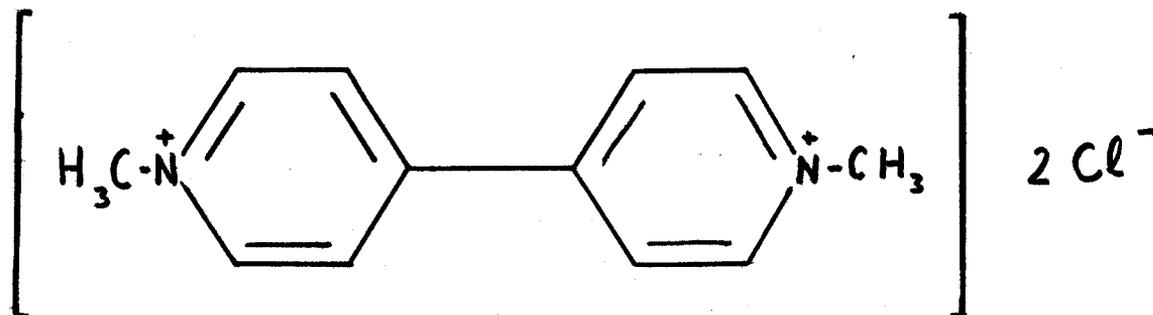
Estructura química

La fórmula empírica del paraquat es $C_{12}H_{14}N_2$, de Pm = 186,3 ; es una sal del 1,1' dimetil - 4,4' biperidilio, el anión que forma la sal puede ser : bromuro, cloruro, yoduro, metil-sulfato ó sulfato, pero éstos no influyen en la actividad herbicida ; siendo los más usados :

-- Dimetil sulfato de 1,1' dimetil - 4,4' biperidilio de fórmula empírica $C_{14}H_{20}N_2O_8S_2$ y Pm = 408,5



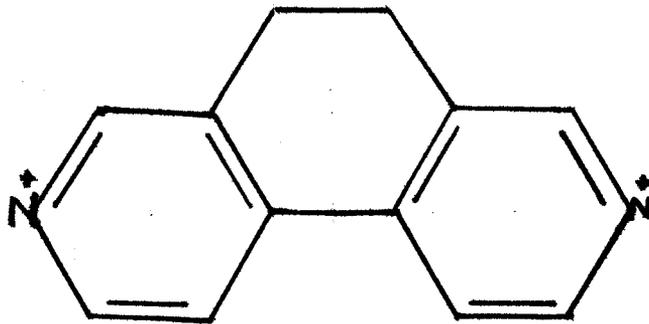
-- Dicloruro de 1,1' dimetil - 4,4' biperidilio de fórmula empírica $C_{12}H_{14}Cl_2N_2$ y Pm = 256,2



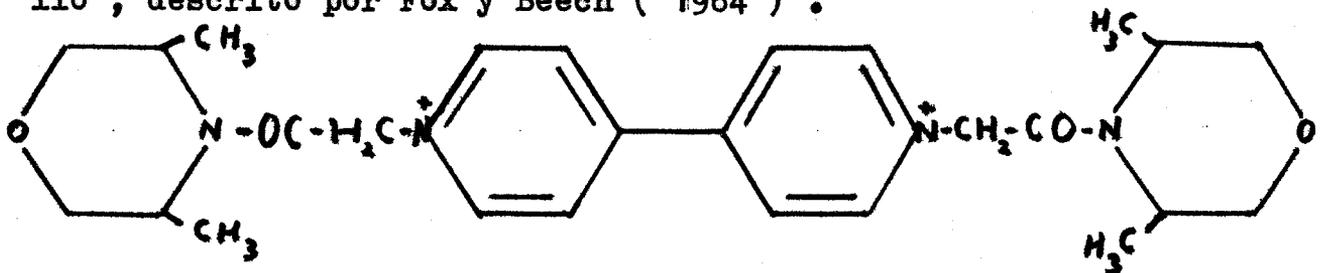
Grupo biperidilo

El paraquat es el más destacado de este grupo de herbicidas porque es el más activo y el primero que se introdujo en la agricultura .

El diquat de fórmula química : 1,1' etileno biperidilio , tiene unas propiedades muy parecidas al paraquat , pero menos enérgico .



Otro herbicida más reciente es el morfamquat : 1,1' bis (3 - 5 dimetil morfolino carbonil metil) 4,4' biperidilio , descrito por Fox y Beech (1964) .



Nombres comerciales

Entre los más conocidos podemos citar :

- "Gramoxone W" es un líquido oscuro al 20% de paraquat en agua .
- "Weedol" es un sólido granulado al 5 % en paraquat .
- "Préglone" es una solución al 5 % de paraquat y al 5 % de diquat .
- "pp 745" compuesto por morfamquat .

Existen también otras marcas que son el resultado de la combinación de estos herbicidas con otras sustancias químicas . A veces contiene tetrahidrotiofeno como agente de alerta olfatorio para prevenir la intoxicación (KNOWLES y ROBSON , 1976) .

Historia

Se describen por primera vez las sales de 4,4' bipiridilio por Michaelis y Hill (1933) estudiando el grupo denominado viológenos como indicador redox .

Las propiedades herbicidas se descubren en 1950 por científicos de Plant Protection Ltd. , empresa subsidiaria del Imperial Chemical Industries Ltd. ; por esta época recibe el nombre de paraquat , presentándose ya como el herbicida más importante del grupo bipiridilo y el más efectivo .

Aplicándose desde entonces como herbicida , de foliante , desecante no selectivo en viñas , praderas , semilleros y para el control de plantas acuáticas .

En 1962 se aplica en el Reino Unido ; en Francia se comercializa en 1965 ; en 1972 se acepta en ciento treinta países del mundo .

La producción de sales de paraquat aumenta desde nueve mil litros en el periodo 1964 - 1965 hasta dos millones ochocientos mil litros en 1972 - 1973 .

Dosis usuales

Se han indicado las dosis mínimas para que el paraquat sea activo , evitando aquellas concentraciones que puedan producir una cuantía elevada de residuos .

Entre las dosis más utilizadas mencionamos :

-- Como herbicida total : 1 - 2 Kg / ha

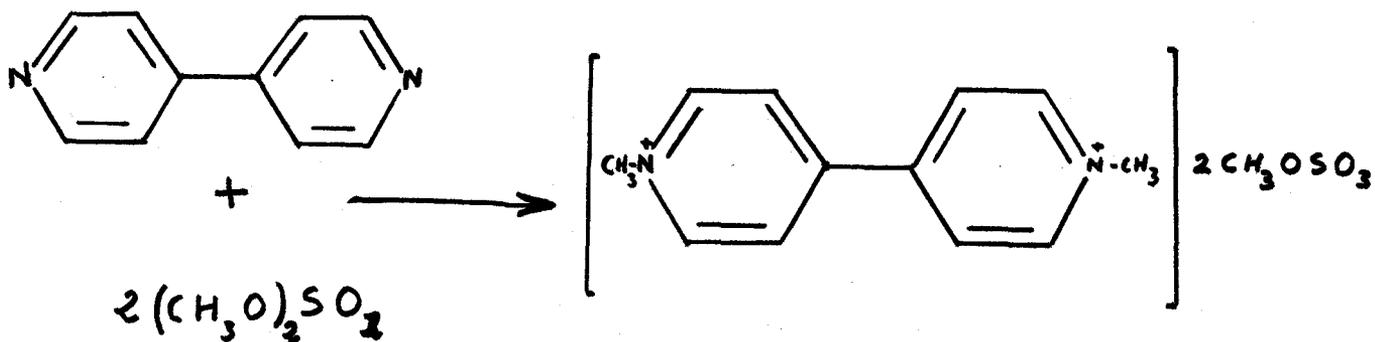
-- Como herbicida de preemergencia : 0,5 - 1 Kg / ha

-- Para el control de plantas acuáticas : de 0,4 a 0,8 Kg / m³

Se establece oficialmente 0,2 ppm de catión como margen de tolerancia para los residuos de los compuestos calificados como desecantes (ANNON , 1975) .

Obtención

El método más directo de obtener el paraquat es haciendo reaccionar el 4,4' bupiridilo con dimetil sulfato o cloruro de metilo , obteniéndose metil sulfato o cloruro de paraquat , respectivamente , esta reacción tiene un rendimiento del 90 - 95 % (FISHBEIN , 1975) .



Tambien se obtiene a partir del 1,1' diacetil 4,4' bupiridina en solución acuosa de NaOH - MeOH que reacciona con 4,4' bupiridina , Me_2SO_4 y cloróformo en reflujo, produce un 90 % de paraquat (DING , 1972) .

Se determina el calor de formación a partir de la energía de combustión en oxígeno y de la entalpía de soluciones acuosas de dicloruro de paraquat . El valor de ΔH_f° es $183,2 \pm 3,7 \text{ KJ mol}^{-1}$ para la formación del catión (GUNDRY , HARROP , HEAD , 1978) .

El diquat se produce al reaccionar el 2,2' bupiridilo con el dibromuro de etileno en agua , obteniéndose un 95 % de pureza (FISHBEIN , 1975) .

Propiedades químicas

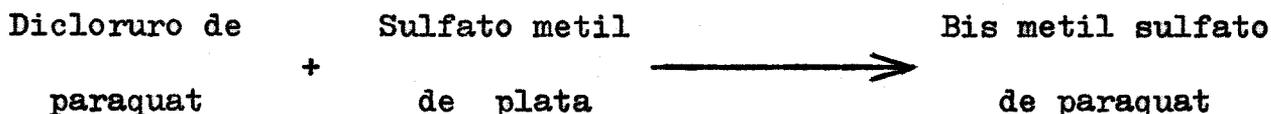
Las sales de paraquat puras son un sólido blanco, cristalino, el material técnico sólo es útil en solución acuosa, es de color pardo rojizo, higroscópico, especialmente las sales de bis metil sulfato, por ello debe secarse a 110 °C durante varias horas y se almacena desecado.

Las sales ni son volátiles, ni inflamables, ni explosivas y funden de 175 a 180 °C. Estas sales son de base fuerte, por ello son muy solubles en agua, ligera solubilidad en etanol, metanol, en los alcoholes en general, pero insolubles en disolventes orgánicos inmiscibles con agua. Son muy estables en medio ácido pero se hidrolizan en medio básico. Atacan al hierro y al aluminio.

Son amonios cuaternarios que tienen la facultad de formar, al reducirse, unos radicales libres estables, que son muy coloreados y permiten su determinación; la toxicidad más específica es debido a estos radicales libres.

El paraquat presenta las reacciones clásicas de los cationes alquil piridilio, tales como oxidación y ataque por nucleófilo, algunas veces con apertura de ciclo.

Las sales en disolución están completamente ionizadas, el anión puede cambiarse por otros aniones mediante las reacciones inorgánicas usuales:



Y el bis metil sulfato de paraquat con una resina de intercambio aniónico se convierte en dicloruro de paraquat (ZWEIG , 1967) .

Se degrada por radiación UV , formando primero sales de 1 metil 4 carboxi piridilio que por irradiación posterior forma metil amina (ZWEIG , 1967) .

BENCHENASE , BERNARD y THEOPHANIDES (1975) estudian soluciones de paraquat y derivados por espectroscopía Raman .

Muchos autores han estudiado las reacciones y productos finales de la formación de complejos a partir del paraquat :

-- Las sales de paraquat con las de clorometalatos tales como : CoCl_4^{2-} , $[\text{CuCl}_2]_n^{n-}$ y PdCl_4^{2-} forman unas estructuras moleculares cristalinas en las que el catión paraquat es plano en los dos casos primeros , pero en el último los planos de los grupos N metil piridilio están inclinados con un ángulo de 50° uno con respecto a otro (PROUT y MURRAY-RUST , 1969) .

-- MACFARLANE y WILLIAMS (1969) analizan las estructuras formadas a partir de una serie de sales dicatiónicas, N,N' dimetil 4,4' bipyridilio , con aniones del tipo MX_4^{n-} , cuan-

do M puede ser mono , di ó trivalente y X es cloruro , bromuro , yoduro .

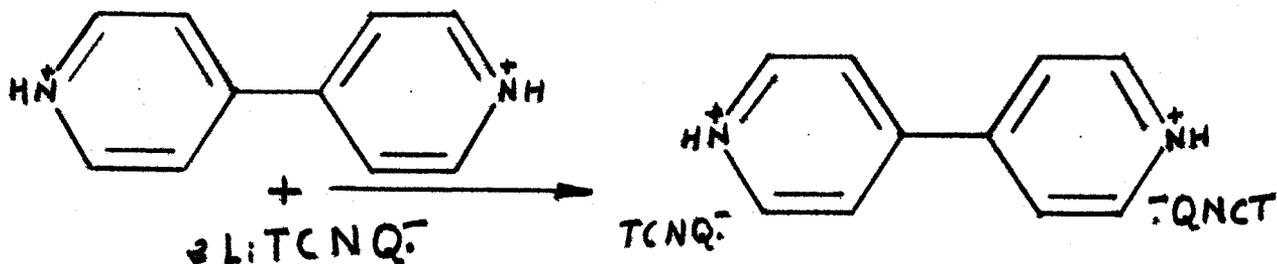
-- WHITE (1969) estudió el compuesto formado a partir de dicloruro de paraquat con :

- una serie de donadores π
- una serie de donadores capaces de la participación $n\pi$

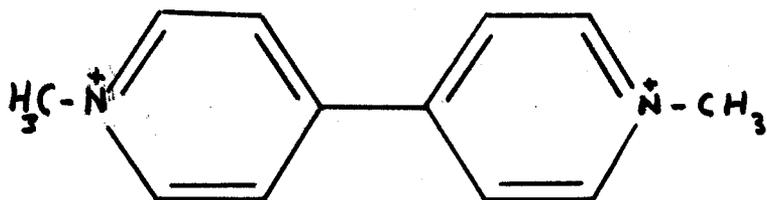
Encontró una correlación lineal entre la frecuencia de banda y la transferencia de carga para los dos tipos de complejos . El caso típico de la hidroquinona como donador cambia la entalpía , entropía y energía libre en los complejos, es tos valores pueden ser determinados .

-- El paraquat y diquat forman complejos de tipo transferencia de carga con los iones yoduro y ferrocianuro , mientras que con el ion ferricianuro forman complejos de tipo con enlaces de pares iónicos (HAQUE , COSHOW y JOHNSON , 1969) .

-- El N,N' dihidro - 4,4' bipyridilio se trata con dos moles de 7,7,8,8, tetraciano quindimetán de litio(LiTCNQ⁻) que por transferencia de carga da una sal .



Esta transferencia electrónica no se observa con N,N' dimetil - 4,4' bipyridilio (REMBAUM , HADECK , YEN 1971) .



-- HAQUE y LILLEY (1972) estudian la formación de complejos por transferencia de carga entre paraquat y diquat y un haluro (cloruro , bromuro , yoduro) ; la frecuencia vibracional de las bandas depende de la naturaleza del anión .

Pero indiscutiblemente la reacción más importante desde el punto de vista toxicológico es la reducción :

-- Por reducción suave , tal como Zn o ditionito sódico, se forma un radical iónico azulado al producirse un compuesto monohidrobipiridílico (CALDERBANK , 1961) .

-- Mediante una transferencia electrónica del radical catiónico paraquat se reduce el radical tert-butoxi , formándose el ion tert butóxido (LEDWITH , HOPKINS , 1971) .

-- El dicloruro de paraquat y diquat sufre una fotorreducción debido a los radicales catiónicos bipyridilos (BARNETT , HOPKINS , LEDWITH , 1973) .

-- BROWN , COWLEY y MURPHY (1973) estudian la oxidación de los alcoholes primarios y secundarios por para-

quat .

-- Se mide por radiolisis la proporción constante de ion paraquat (1,1' dimetil - 4,4' bipyridilio) que se reduce a radical paraquat (FARRINGTON , EBERT , LAND , FLETCHER, 1973) .



-- Se determina la cantidad de radical catiónico formada en la fotorreducción de sales de paraquat, en esta reacción se oxida el propan-2-ol (Me_2CHOH) en medio acuoso en presencia de un fotocatalizador como la benzofenona y otras cetonas (HYDE , LEDWITH , 1974) .

-- BROWN , COWLEY y MURPHY (1976) estudian la oxidación de los alcoholes alifáticos en solución acuosa de dicloruro de paraquat en presencia de irradiación con longitud de onda de 254 nm . La proporción de oxidación depende del tipo de alcohol :

- Los alcoholes de tipo $\text{Me}(\text{CH}_2)_n\text{OH}$, siendo $n = 13 , 15 , 19 , 23$, son oxidados completamente .

- El ciclododecanol , hexadecan-2-ol y octadecan - 2 - ol son oxidados en un 30 - 70 % .

-- EVANS , DODSON y RESS (1976) investigan la reacción del radical catiónico del paraquat con oxígeno en metanol desde temperaturas de 40° a -80° y la reacción de dicho radical con ion crómico en metanol desde 0° a 40° . Los datos ESR muestran que este radical es paramagnético por encima de -20° en metanol , pero al disminuir la temperatura aparece una segunda especie paramagnética .

Propiedades edafológicas

La utilización del paraquat en la agricultura tiene una serie de ventajas :

-- El paraquat es muy estable en suelos . Si adicionamos al suelo soluciones de paraquat con diferentes concentraciones y condiciones distintas de tratamiento, despues aparecerá un efecto acumulativo que depende del tipo de suelo ; la mayor actividad se produce cuando el herbicida se administra con 24h de desecación (RADAELLI , MARTELLI , 1969) .

-- El tratamiento herbicida no afecta la concentración de nitrógeno y fósforo útil o la proporción de carbónico (MATHUR , BELANGER , KHAN y col. , 1976) .

-- No producen residuos en uva , no dejan residuos en el suelo despues de cuatro años de aplicación (ZIVANOVIC , 1976) .

-- Tiene un gran valor económico porque evita la erosión del suelo (TEARE , 1976) .

Uno de los problemas de los herbicidas es su adsorción y desorción en los suelos, que en el caso del paraquat se ha estudiado ampliamente .

-- KHAN (1974) investiga la variación de ad

sorción del catión paraquat o diquat por distintas sales de ácido húmico, dependiendo de los cationes que forman las sales, el aumento de adsorción sigue la secuencia: $Al^{3+} < Fe^{3+} < Cu^{2+} < Ni^{2+} < Zn^{2+} < Co^{2+} < Mn^{2+} < H^+ < Ca^{2+} < Mg^{2+}$.

-- JUO y OGinni (1978) analizan seis tipos de suelos, concluyendo que las tierras ricas en óxido de hierro derivadas de basaltos, adsorben más que el suelo de ácido fuerte derivado de rocas sedimentarias; se recupera del 40 al 70% mediante 12 extracciones sucesivas con solución diluida de cloruro cálcico.

-- Según SMITH y MAYFIELD (1978) la extracción depende de la capacidad de adsorción del suelo y de las concentraciones del catión. La adsorción en suelos no se afecta por el pH, pero sí por la porosidad, contenido de humedad, tiempo y capacidad de adsorción del suelo; el herbicida se desplaza por concentraciones altas de cationes: NH_4^+ , K^+ , Na^+ y Ca^+ . El paraquat no se degrada químicamente o microbiológicamente en suelos durante periodos de incubación de 16 días a 25°C.

-- KARICKHOFF y BROWN (1978) indican un nuevo factor que influye en la adsorción: el tamaño de partícula; aunque el tamaño sea homogéneo en suelos puros como hectorita y montmorillonita el paraquat no debe distribuirse uniformemente. La máxima concentración es con un tamaño medio de 0,065 - 0,44µm y disminuye uniformemente en partículas grandes y pequeñas.

Se han realizado numerosos ensayos de la acti

vidad y adsorción de estos herbicidas en distintos tipos de suelos :

-- HAQUE , LILLEY y COSHOW (1970) demuestran que la adsorción del paraquat y diquat en la superficie de la montmorillonita es debida a la formación de complejos . El espectro UV de paraquat tiene un pico a 258 m μ y el de diquat tiene dos picos a 309 y 318 m μ , al adicionar montmorillonita se produce un cambio de 20 m μ en el primero y de 10 m μ en el segundo .

-- Esta fuerte adsorción es tambien verificada por MITHYANTHA y col. (1974) al comprobar que el paraquat y la montmorillonita se han unido y no puede ser extraido con sales de cloruro amónico .

-- MITHYANTHA y PEKUR (1975) comparan varios tipos de suelos , demostrando que la capacidad de adsorción del suelo negro es diez veces mayor que la del suelo rojo; los minerales en las arcillas de los suelos negros son principalmente montmorillonita , mientras que el complejo de arcilla de los suelos rojos y ferruginosos es dominado por minerales de caolinita. Por tanto la capacidad de desactivación es : suelo negro > rojo > ferruginoso .

-- Estudios dirigidos por RADAELLI y MARTELLI (1971) comprobaron que en ausencia de suelo 5 ppm de paraquat en semilla inhiben la germinación , pero 450 mg de paraquat/100g de suelo producen poca inhibición ; debido a la desactivación estos mismos ensayos en suelos de illita - montmorillonita permiten

un mayor porcentaje de germinación .

-- La adsorción del paraquat y del diquat por muestras de sales de sodio producen cambios de entalpía a 25°C que difieren de los producidos por muestras de montmorillonita o vermiculita (HAYES , PICK , STACEY y TOMS , 1973) .

-- BURDON , HAYES y PICK (1977) estudian la distribución de carga en los cationes de paraquat y diquat , las cargas se distribuyen alrededor de las moléculas siendo mayores en la posición orto ; los procesos de transferencias de carga se relacionan con la adsorción en montmorillonita y vermiculita seca .

En los suelos orgánicos varía mucho la actividad de los herbicidas :

-- El paraquat y diquat persisten más en suelos con alto contenido en materia orgánica que en suelos arcillosos o arenosos , ambos herbicidas tienen el mismo efecto fitotóxico (STECKO y AKERBLOM , 1976) .

-- Según STECKO y SVENSSON (1976) la fitotoxicidad depende del tipo de suelo : suelos orgánicos > suelos arenosos > suelos de arcillas y disminuye con el espesor del suelo.

-- Si el paraquat se aplica a suelos orgánicos de un 83 a un 6 % de la cantidad inicial permanece a los cuatro meses , recuperándose aproximadamente un 50 % a los 15 meses.

Los residuos son muy pequeños ; si el tratamiento es de 2,24 Kg por ha , en cebolla se pueden encontrar 0,001 ppm y en lechuga 0,011 ppm (KHAN y col. , 1976) .

II-2 TOXICIDAD

Los efectos del paraquat se manifiestan tanto en hombres como en animales y en plantas ; éstos se han estudiado y debatido ampliamente .

Este herbicida es muy tóxico , pero no está clasificado entre los compuestos de mayor toxicidad , aunque el desarrollo de la intoxicación finaliza frecuentemente con la muerte ; ello es debido a que la dosis aguda es de efecto tardío porque el parámetro tiempo influye en el mecanismo de acción .

Para descubrir una terapéutica adecuada se observan los procesos de la intoxicación en el hombre , para conocer el mecanismo de acción se investiga la intoxicación experimental en animales , para argumentar y concretar los conocimientos se fracciona el análisis en plantas . Por estas razones trazamos el siguiente esquema :

-- Toxicidad en plantas .

-- Toxicidad en animales .

-- Toxicidad en hombres .

Toxicidad en plantas

NEUVILLE , DASTE y LONG-CHAMP en 1974 ensayaron ocho pesticidas , siendo el paraquat y la atrazina los de mayor toxicidad .

El mecanismo de toxicidad del paraquat ha sido muy estudiado debido al interés que presenta :

- En la reducción de los herbicidas por el fotosistema I, el catión pasa al estado de radical libre , este es reoxidado por el oxígeno molecular dando lugar al radical superóxido y al peróxido de hidrógeno que son enormemente tóxicos (BALDWIN , DODGE , HARRIS , 1968 ; BESCOL-LIVERSAC , PAQUELIM , GILLIUM , 1975) .

- Disminuye la relación clorofila a/b , inhibiéndose el fotosistema II antes que el fotosistema I donde se produce una ruptura del flujo electrónico del aceptor primario de electrones (BALDWIN , DODGE , HARRIS , 1968 ; ZWEIG, 1969; KRIEGER , LEE , BLACK , FUKUTO , 1973) .

- BALDWIN , DODGE , HARRIS (1968) demuestran la oxidación de los lípidos insaturados en las células ; el radical superóxido formado inicia la peroxidación de los lípidos insaturados de la membrana produciendo la ruptura (FARRINGTON , 1971 - 1976) .

- KRIEGER , LEE , BLACK , FUKUTO (1973) com

prueban que los herbicidas estimulan el NADP oxidasa microsomal y confirman la formación de los radicales libres del paraquat y diquat en condiciones anaeróbicas , pero FISHER y GARY en 1976 afirman que el paraquat requiere la presencia del oxígeno en las plantas verdes y bacterias para ser activo .

VAN RENSEN (1975) estudia la influencia de de terminados compuestos en la actividad del diquat : Los antioxidan tes químicos como butilato hidroxitolueno no afectan la peroxidación lipídica ni los niveles de clorofila .

En 1977 VANSTONE y STOBBE comprueban que aumen ta la conductividad eléctrica en plantas pulverizadas con para -- quat .

Toxicidad en animales

A INVERTEBRADOS

A-1 Artrópodos-Clase Crustáceos - Subclase Malacostráceos - Orden Anfípodos .

Aplicando 2 ppm de paraquat , tres veces en 30 minutos , el número de anfípodos se reduce un 5 % (BURNET ,1972)

Los anfípodos en un medio de 0,1 ppm de dicloruro de paraquat , despues de diez horas , un 70 % acumulan una dosis letal de paraquat (HUNT , 1974) .

A-2 Artrópodos - Clase Insectos

MOFFETT , MORTON y MAC DONALD en 1972 demostraron que la adición de paraquat en la miel de abeja es muy tóxica para los insectos .

Después de 12 h de tratamiento con una mezcla de diquat - endotal en un pantano , de diquat hay 0,03 ppm en la profundidad y 73 ppm en la superficie . Este tratamiento no causa directamente un perjuicio en la población invertebrada (BERRY , SCHRECK , VAN HORN , 1975) .

Los insectos acuáticos son más sensibles al diquat adicionado con cobre que los peces (YEV , DECHORETZ , 1977)

B VERTEBRADOS

B-1 Clase Peces

NIEHUSS y BOERNER (1971) expusieron el Lebister reticulatus a la acción de varios herbicidas : dalapon , diuron , paraquat , durante periodos de tiempo variables ; ningunó resultó tóxico .

Sin embargo , ensayos con : Tinca tinca , Carassius carassius y Cobitis taenia , en medios con 250 ppm de paraquat , muestran lesiones localizadas especialmente en la piel (MUSCARELLA y GALOFARO , 1973) .

KRIEGER y LEE (1973) sugieren como mecanismo de toxicidad , para el diquat y otros dipiridilios , una ruptura del transporte electrónico a nivel microsomal .

El paraquat una vez absorbido por el organismo se acumula en los tejidos de los peces (SHAW , HOPKE , 1975).

La adición de cobre en las fórmulas herbicidas influye en la actividad :

-- Para la especie Poecilia mexicana la CL_{50} de paraquat es 12,53 ppm y la de sulfato de cobre - paraquat en la proporción 4 : 1 es 1,32 ppm (SUN y GORMAN , 1973) .

-- Empleando concentraciones de diquat superiores a las usadas para el control de algas y con adición de cobre no hay alteración en una población de truchas , pero no se pueden exponer muchas horas a estas concentraciones (YEV y DECHORETZ , 1977) ,

B-2 Clase Anfibios

Después de una aplicación de diquat en el campo , COOKE (1977) estudió los efectos en rana (Rana temporaria) , sapo (Bufo bufo) , renacuajo y tritón (Triturus vulgaris) observando algunas modificaciones .

El paraquat altera el modelo de las proteínas electroforéticas tanto en renacuajos (Rana temporaria) como en adultos . Concentraciones de 1 , 10 y 100 ppm producen un 100 % de mortalidad en renacuajos al cabo de 6,5 , 5 y 4 días respectivamente (PAULOV , 1977) .

B-3 Clase Aves

DUNACHIE y FLETCHER (1970) observan la toxicidad de veinticinco herbicidas , resultando el dicloruro de paraquat el más tóxico .

La DL_{50} de paraquat en gallina es 260 mg / Kg por vía oral (GAGE , 1969) ; en pavos es 100 mg / Kg por vía i. p. , 20 mg / Kg por vía i.v. , 290 mg / Kg por vía oral y 500 mg / Kg en aplicación dérmica (SMALLEY , 1973) .

SMALLEY (1973) señala algunos síntomas de la intoxicación de paraquat en pavos :

-El herbicida administrado por vía oral produce : diarrea fétida , somnolencia , anorexia y gastroenteritis .

-La aplicación dérmica causa : enflaquecimiento , ampollas y agrietamientos en la piel .

Tratando los embriones de pollo y codorniz de ambos sexos con paraquat , OSTERTAG y HENOU (1974) observaron:

-Una disminución de gonocitos.

-Una pseudofeminización en los machos al inhibirse la regresión del conducto de Müller y alterándose específicamente las gónadas , dependiendo de la especie .

-En las hembras , una alteración en la estructura de los ovarios y malformación en el conducto de Muller .

En 1975 , OSTERTAG y HENOU siguen el mismo trabajo y analizan los efectos pulmonares observando que no se producen las funciones alveolares , el mesénquima no retrocede y la zona subepitelial conjuntiva (sic) se espesa .

VERNE y col. (1975) estudian un cultivo de hepatocitos de embrión de pollo al adicionar 100 μ paraquat/2ml , disminuye el índice mitótico desde 40 / 1000 a 20 / 1000 y disminuye la actividad enzimática de los lisosomas .

El diquat tiene efectos similares pero menos potentes , LEAHEY , HEMINGWAY (1975) administran en gallinas dosis repetidas de 4 - 5 μ g de diquat / g , se elimina un 70 - 80% por heces , 4 h después de la última dosis se acumula en : pulmón , riñón , hígado , músculo de la pechuga , grasa y sangre.

B-4 Clase Mamíferos

B-4.1 Subclase Placentarios

B-4.1.1. Orden Artiodáctilos-Suborden Rumiantes

VERMA y BAHGA (1976) administraron a búfalos por vía oral una dosis de 100 mg de paraquat / Kg , al cabo de 6 h observaron :

Respiración alterada , latidos del corazón débiles e irregulares , panza hinchada , éstasis de sus funciones , somnolencia , depresión , marcha tambaleante, incordinación, grave debilidad muscular , postración , convulsiones , coma y muerte . Aumenta la actividad del glutámico-oxalacético-transaminasa y glutámico-pirúvico-transaminasa ; disminuye la fosfatasa alcalina en suero y la glucosa en sangre ; aumenta el valor de leucocitos totales , de eritrocitos totales y de hemoglobina .

Los búfalos se trataron con glucosa salina y sulfato de atropina , esta terapéutica aumenta el periodo de supervivencia , pero los animales mueren .

La intoxicación de diquat en los rumiantes presenta unos síntomas parecidos (CLARK y HURST, 1970; SCHULZ, KIRCHNER , MUELLER y ROTHE , 1976) .

B-4.1.2 Orden Roedores

a DL₅₀

DEMIDENKO (1972) compara diversos factores en rata , de siete desecantes y defoliantes : DL₅₀ oral , DL₅₀ por aplicación dérmica , acumulación , localización de la lesión y dosis máxima permitida , demostrando que el paraquat y el pentaclo-

rofenol son los más tóxicos .

La DL_{50} varía dependiendo de la vía de administración , de la especie animal tratada y del autor ; las diferencias suelen ser grandes , incluso algunos investigadores (SHARP y col. , 1972) expresan la DL_{50} con amplios márgenes; exponemos como ejemplos :

El valor de este factor en ratas por vía oral según los diferentes autores es : 157 mg de paraquat / Kg (JENNINGS , 1967) ; 80 mg / Kg (BAINOVA , 1969 ; BAINOVA y VULCHEVA , 1974) para rata adulta hembra 106 mg / Kg y para macho 110 mg / Kg (KIMBROUGH y GAINER , 1970) ; 126 mg / Kg (MURRAY y GIBSON , 1972) 60 - 180 mg / Kg (SHARP y col. , 1972) ; 150 mg / Kg (MEHANI , 1972) .

En las mismas condiciones, los valores con diquat aumentan considerablemente : 400 - 450 mg / Kg (JENNINGS , 1967) ; 130 mg / Kg (BAINOVA , 1969 ; BAINOVA y VULCHEVA , 1974) 281,9 mg / Kg (PUSHKAR , 1969) ; 231 mg / Kg (CLARK y HURST , 1970) .

Los valores de CL_{50} por inhalación en ratas son : 10 mg Gramoxone / m^3 y 83 mg Reglone / m^3 (BAINOVA , 1974)

En ratones , por i.v. la DL_{50} es 16 - 225 mg de paraquat / Kg (SHARP y col. , 1972) ; por vía i.p. es 20mg de paraquat / Kg (ROSE y col. , 1974) ; 30 mg / Kg (CAGEN y GIBSON , 1977) .

En conejillos de india por vía oral es 30 mg paraquat / Kg (GAGE , 1969) ; 22 mg paraquat / Kg (MURRAY, GIBSON , 1972) ; 100 mg diquat / kg (CLARK y HURST , 1970) .

En conejos , si la administración es oral, la DL_{50} es 50 mg paraquat / Kg (MEHANI , 1972) ; 101 mg diquat/Kg (CLARK y HURST , 1970) .

b Absorción

El paraquat no es volátil , se absorbe , lentamente , una cantidad mínima por la piel (GAGE , 1969) .

Si la administración es oral se absorbe escasamente por el intestino (GAGE , 1969) ; la absorción se localiza en el tracto gastrointestinal (MURRAY y GIBSON, 1974; LIFCHFIELD , DANIEL , LONGSHAW , 1973) .

BURTON , GARDINER y SCHANKER en 1974 emplean para la administración del diquat un catéter con ajuste perfecto a una cánula traqueal y comprueban que para la absorción del 50% en pulmones de ratas se necesitan 51 minutos .

c Distribución

Tanto si la absorción es por vía indirecta como por vía directa los herbicidas pasan a la sangre y se distri-

buyen en el organismo .

LITCHFIELD , DANIEL y LONSHAW (1973) investigaron la distribución en los tejidos de ratas y ratones después de la inyección i.v. , tanto el paraquat como el diquat son rápidamente distribuidos por los tejidos , excepto en el cerebro y médula espinal .

SHARP , OTTOLENGHI y POSNER (1972) aseguran que la mayor concentración se encuentra en pulmón .

Mientras que LITCHFIELD , DANIEL y LONGSHAW , (1973) lo localizan preferentemente en hígado y cartílagos , el paraquat es selectivamente retenido en pulmón y músculo esquelético desde donde se excreta lentamente , mientras que el diquat se elimina rápidamente .

El diquat y el morfamquat se mide en homogenizados de vísceras de ratas tratadas, la acumulación en orden decreciente es : hígado > pulmón > riñón (BALDWIN , PASI , MAC GREGOR , HINE , 1975) .

Media hora después de la administración por vía oral de paraquat en ratas y conejillo de indias se obtienen valores altos en suero , más tarde la concentración de paraquat en suero disminuye vertiginosamente (MURRAY y GIBSON , 1974) .

Durante las primeras treinta horas la concentración de paraquat en el pulmón sube progresivamente (SMITH , WRIGHT , WYATT y ROSE , 1974 ; SMITH , WYATT , ROSE , 1978) .

ROSE , LOCK , SMITH y WYATT (1976) estudian in vitro la acumulación en tejidos de ratas , el pulmón expuesto más de 2 h a una concentración de 10^{-6} M acumula una concentración de paraquat 10 veces superior a la del medio , en cerebro se llega a una concentración doble . Esta misma experiencia con diquat no es significativa .

Según los estudios de ROSE , SMITH y WYATT , (1974) la acumulación de paraquat en pulmón depende de la energía , ya que los inhibidores metabólicos tales como iodoacetato y KCN impiden la acumulación de paraquat , igual sucede al adicionar un inhibidor de la respiración mitocondrial como es la rotenona .

La acumulación en pulmón de rata también se inhibe cuando en el plasma existen sustancias como : noradrenalina , 5 hidroxitriptamina oxalato , clorhidrato de betazol (LOCK, SMITH y ROSE , 1976) .

El paraquat se acumula en la melanina de los tejidos (OSKARSSON , TJALVE , 1976) .

LARSSON , OSKARSSON , TJALVE (1977) estudiaron este acúmulo en la melanina tanto in vivo como in vitro ; los experimentos demuestran que la asimilación es inhibida por Na^+ y K^+ así como por cationes divalentes .

d Metabolismo

SHARP , OTTOLENGHI y POSNER (1972) exponen que el periodo de desintegración inicial de paraquat en plasma y en tejidos es de 20 - 30 minutos y en el músculo es de 4 - 5 días.

Después de la administración de paraquat por vía parenteral , LIFCHFIELD , DANIEL , LONGSHAW (1973) demostraron que el herbicida no se había metabolizado .

En 1973 HUGHES , MILLBURN y WILLIAMS observaron que el paraquat y el morfamquat se excretaba sin alteración en bilis y orina , mientras que el diquat fue metabolizado sólo en el conejo .

Si administramos paraquat en ratas por vía oral no se detectan metabolitos en la orina (MURRAY y GIBSON, 1974).

e Eliminación

Después de la administración oral , del 6 al 22 % de paraquat se elimina por orina (DANIEL y GAGE , 1966; GAGE , 1969 ; DE LAVAUUR y col. , 1973 ; HUGHES , MILLBURN y WILLIAMS , 1973 ; LIFCHFIELD , DANIEL , LONGSHAW , 1973) .

Pero si la administración es s.c. se elimina un 96 % (DANIEL y GAGE , 1966).

La excreción renal va acompañada de una excreción por el tubo digestivo , se elimina un 9,6 % de paraquat en las heces y un 5,5 % de diquat durante cuatro días (LIFCHFIELD, DANIEL , LONGSHAW , 1973) .

Tratando ratas y conejillos de india con paraquat por vía oral se elimina un 17 % en heces y un 14 % en orina (MURRAY , GIBSON , 1974) .

En rata , conejillo de india , conejo , el grado de excreción biliar de paraquat , diquat y morfamquat es menor de un 10 % (HUGHES , MILLBURN y WILLIAMS , 1973) .

f Aparato respiratorio

El paraquat y el diquat difieren en los efectos pulmonares (SHARP , OTTOLENGHI y POSNER , 1972) .

El carácter más típico de la intoxicación se repite aunque varíe la vía de administración . Se altera el parénquima pulmonar , esto se manifiesta por adenomatosis después de la administración de diquat y por proliferación papilomatosa del epitelio bronquial después de la administración de paraquat (BAINOVA , 1969) .

El pulmón de conejo es muy sensible al paraquat administrado por vía intrabronquial , moderadamente sensible si es i.v. y algo más resistente si es i.p. ó s.c. ; la lesión pulmonar consiste en hemorragia focal , congestión de ma--

crófos en capilares intraalveolar y moderado espesamiento del séptum alveolar (ZAVALA , RHODES , 1978) .

En ratas hembras se inyectan 35 mg / Kg por vía s.c. , de 12 a 24 H después aparecen signos de deficiencia respiratoria , con un aumento proporcional de ventilación por espasmos de los músculos intercostales y atelectasia pulmonar (ROBERTSON , ENHORNING , IVEMARK , MALMQUIST , MODEE , 1970; CEGLA, KROIDL , KRONBERGER , WEBER , 1975) .

Administrando paraquat por vía i.p. produce congestión broncopulmonar (CAMBAR , AVIADO , 1970) .

La lesión pulmonar se desarrolla en 4 días , consiste en colapso alveolar , alteración de la membrana hialina o inflamación intersticial (GAGE , 1969 ; ROBERTSON , ENHORNING , IVEMARK , MALMQUIST , MODEE , 1970 - 1971 ; THURBECK y THURLBECK 1976 ; GREENBERG y EISENBERG , 1977) .

Tambien se produce hiperpnea , disnea , hipoxia (ROBERTSON , ENHORNING , IVEMARK , MALMQUIST , MODEE , 1970; MURRAY y GIBSON , 1972 ; VIZEK , MOLUSA , PALECER , 1975 ; RHODES, ZAVALA , BROWN , 1976) y lesión alveolar con sustancia osmofl_ica (KIMBROUGH y LINDER , 1973) .

A pesar de que disminuye el peso corporal un 25% , el peso pulmonar aumenta más de un 7 % (FISHER , CLEMENTS, WRIGHT , 1973 ; FISHER , CLEMENTS , TIERNEY , WRIGHT , 1975) .

El estudio del tejido pulmonar con microscopio--

pía electrónica , después de una dosis oral , indica que el primer cambio discernible es el edema pulmonar (KIMBROUGH y GAINES 1970) .

Estudios microscópicos muestran una hemorragia intraalveolar de tipo petequias , edema , fibrosis extensiva y alteraciones en el epitelio (KIMBROUGH y GAINES , 1970 ; BUTLER , 1975 ; FISHER , CLEMENTS , TIERNEY , WRIGHT , 1975 ; TSUNENARI , MUTO , INOVE , ZUGITA , KANDA , 1975 ; GREENBERG , EISENBERG , 1977) .

Después de una inyección i.p. en ratas , los estudios microscópicos indican una sintomatología similar con congestión , exudados alveolares , infiltrado en los intersticios inflamados (VIJEYARATMAN y CORRIN , 1971 ; WITSCHI , KACEW , 1974 ; MEERBACH y GRAEBNER , 1978) .

MEHANI (1972) compara la intoxicación de paraquat en ratas y conejos , el herbicida implica trastornos en la función pulmonar de ratas pero esta alteración no se produce o es muy moderada en conejos .

SMITH , HEATH y KAY (1974) observan que en ratas , pero no en conejillos de indias , la infiltración va a dar lugar a una fibrosis intraalveolar que progresa en los intersticios inflamados ; la fibrosis alveolar en ratas sólo se encuentra en estado crónico , en ella los macrófagos están alterados y tienen un epitelio continuo de neumocitos granulares .

La mitosis es evidente en las células inters-

ticiales y cuboideas de los alveolos , los cambios degenerativos del epitelio alveolar progresan en tres días a necrosis completa, la alteración de los capilares es menos importante , la reacción inflamatoria produce diferencia del tejido conectivo que por proliferación y maduración contribuyen a las alteraciones alveolares (VIJEYARATNAN y CORRIN , 1971 ; BROOKS , 1971) .

BOJAN , HAGY , HERMAN (1978) administraron en ratones por vía i.p. 100 mg butilato hidroxitolueno / Kg y 20 mg de paraquat / Kg, comprobando un aumento en el efecto carcinogénico del uretano al aumentar la actividad mitótica de las células alveolares tipo II .

BROOKS (1971) estudia la alteración en las células endoteliales y en la lámina basal . Se produce lesión en los neumocitos de tipo I y II (ROUJEAU ; NOGUES , LECRERC,1974; NEORAL , DUSEK , SMYSL , 1977) .

Se forman pequeños agregados de eritrocitos y plaquetas en venas y capilares , exudación en los espacios alveolares , alveolos y lámina bronquial , los macrófagos y neutrófilos invaden los tabiques alveolares así como los espacios alveolares (BROOKS , 1971 ; WISTSCHI y KACEW , 1974 ; SMITH , HEATH y KAY , 1974 ; SMITH y ROSE , 1977 ; SYKES , PURCHASE , SMITH,1977)

STYLES (1974) comprueba que el paraquat y el diquat , en un cultivo de tejidos , ejercen efectos tóxicos irreversibles similares en macrófagos alveolares y peritoneales .

Aumenta el número de fibroblastos en el tabi-

que alveolar y en el infiltrado exudativo del hinchazón alveolar (BROOKS , 1971 ; STYLES , 1974) .

Estas alteraciones no se dan simultáneas :

MODEE , IVEMARK y ROBERTSON (1972) comprobaron que al inyectar paraquat por vía s.c. a las 12-18h en la pared alveolar había una obstrucción capilar y edema intersticial, después de 24 h se produce una degeneración mitocondrial y vacuolización citoplasmática en neumocitos granulares , neumocitos membranosos y células endoteliales de los capilares ; pasadas 48 h aparece una descamación y necrosis de las células epiteliales alveolares .

MEERBACH y GRAEBNER (1978) observan que al producirse la infiltración inflamatoria inicialmente dominan los granulocitos , después de 8 h hay elementos linfoides e histiocitos .

GARDINER y SCHANKER (1976) estudiaron la absorción de diversos compuestos en pulmones de rata in vivo antes y después de la administración oral de 250 mg de paraquat , observando que aparentemente aumenta la porosidad del epitelio pulmonar en los pulmones dañados .

A las 12 h de la intoxicación el revestimiento de la capa alveolar se contamina con desechos celulares de la desintegración del epitelio alveolar ; esto es consecuencia de la inactivación del sistema surfactante pulmonar (ROBERTSON, ENHOR

NING , IVEMARK , MALMQUIST , MODEE , 1971 ; ROBERTSON , GROSS--
MANN , IVEMARK , 1976) .

En la intoxicación hay alteraciones bioquímicas pero éstas no indican la gravedad de la lesión pulmonar .

Hay un desorden del sistema surfactante de los pulmones , causado por la fosfolipasas liberadas y por la disminución de la síntesis de surfactante . Los resultados indican que el paraquat interfiere en el metabolismo de la lecitina del sistema surfactante (ROBERTSON , ENHONING , IVEMARK , MALMQUIST , MODEE , 1970 ; MALMQUIST , GROSSMANN , IVEMARK , ROBERTSON , 1973 ; ROBERTSON , ENHORNING , IVEMARK , MALMQUIST , MODEE , 1971 ; MEERBACH , GRAEBNER , 1978) .

El paraquat puede producir un gran aumento del ácido araquidónico y un pequeño incremento en la fracción éster del colesterol , pero no varía la fracción fosfolipídica (FLETCHER y WYATT , 1970) .

Disminuye la actividad de arilhidrocarburo-hidroxilasa y monoamino-oxidasa , en cambio casi no varía la utilización de glucosa , la biosíntesis de macromoléculas y la actividad de los enzimas (WITSCHI y KACEW , 1974) .

Tejidos aislados muestran un aumento en $^{14}\text{CO}_2$ formado desde $[1^{14}\text{C}]$ glucosa , pero no desde $[6^{14}\text{C}]$ glucosa , sugiriendo un aumento de la utilización de la vía de la pentosa fosfato por oxidación de la glucosa $[1^{14}\text{C}]$ acetato (FISHER , CLE-

MENTS , TIERNEY , WRIGHT , 1975) . La actividad de la vía de la pentosa fosfato en ratas con diquat es mayor que la producida con paraquat (ROSE , SMITH y WYATT , 1976) .

Se observan continuos aumentos en el colágeno del tejido conectivo (KIMBROUGH y GAINÉ , 1970 ; CEGLA , KROIDL, KRONBERGER , WEBER , 1975 ; GREEMBERG , REISER , LAST , 1978) .

HOLLINGER , ZUCKERMANN y GIRI (1978) ensayaron con distintas dosis de paraquat : Una dosis de 35 mg /Kg produce un aumento transitorio de la síntesis de colágeno en los primeros días , al cabo de 18 días se acumula un 9 % de colágeno . Tres inyecciones de 25 mg / Kg produce un 31 % en pulmón al 24 º día .

Dosis altas de paraquat produce un aumento de prolil-hidroxilasa , a los 21^º día el colágeno total aumenta y la prolil-hidroxilasa vuelve ^{a la} normalidad (HOLLINGER y CHVAPIL, 1977) .

THOMPSON , PATRICK (1978) miden la actividad de la colágeno-prolil-hidroxilasa en varias vísceras de rata después de una dosis letal de paraquat , el nivel del enzima en pulmón se eleva 5 veces .

La incorporación de L-leucina en la proteína aumenta , así como la síntesis de proteínas , en cambio la biosíntesis de DNA y RNA disminuyen significativamente (VAN OSTEN y GIBSON , 1975 ; HOLLINGER y GIRI , 1978) .

La inhibición del sistema enzimático desatura

sa de ácido graso pulmonar puede explicar los efectos anoréxicos (MONTGOMERY , 1976) .

La incorporación de timidina en DNA pulmonar disminuye significativamente tanto con paraquat como con diquat, pero se eleva más tarde en las ratas que han recibido paraquat (SMITH y ROSE , 1977) .

WITSCHI , KACEW , HIRAI , COTE (1977) inyectan en ratas por vía i.p. paraquat , éste implica una disminución del cociente NADPH / NADP en pulmón .

Se alteran los valores de superóxido - dismutasa y catalasa (MONTGOMERY , 1977 ; REDDY , LITOV y OMAJE,1977) observan que la inyección i.p. de paraquat produce un aumento de superóxido-dismutasa (82 %) , glutatión-peroxidasa (32,8 %) , y glutatión-reductasa (36 %) en los pulmones de ratas .

SCIDENFELD , WYCOFF , ZAVALA y RICHESON(1978) trabajaron con conejos expuestos a distintas dosis de paraquat , advirtieron una disminución significativa de la tensión de oxígeno arterial y un aumento de la inhalación de oxígeno arterial alveolar .

Pulmones de conejos con paraquat in vitro , en un medio con glucosa , aumentan el contenido de oxígeno que disminuye después de una hora (ROSSOW , ENGELBRECHT , 1978) .

El 50 % de ratas alimentadas con una dieta ba

sal deficiente en selenio durante 40 días , muere 4 horas después de ser inyectadas i.p. con 25 mg paraquat / Kg ; si se trata un nuevo grupo de ratas en las mismas condiciones , pero con una dieta suplementaria con selenio , sobreviven cortos periodos de tiempo ; los síntomas de la intoxicación son idénticos en ambos gru--pos (OMAYE , REDDY , CROSS , 1978) .

MALING , SUUL , WILLIAMS , BROWN , GILETTE , (1978) administran en ratas paraquat e isoproterenol , disminuyendo la excreción urinaria de paraquat y aumentando las concentraciones en el tejido .

HOLLINGER , GIRI , FREYWALD (1977) determinaron el aumento de Zn en pulmón , administrando por vía i.p. paraquat y sulfato de zinc , comprobando que dosis de 80 mg de sulfato de zinc / Kg aumenta un 81 % el contenido pulmonar de Zn.

En 1978 comprobaron que administrando 50 mg / Kg , el Zn pulmonar disminuye un 25 % ; este efecto es reversible .

g Aparato urinario

En la intoxicación con paraquat se observa inducción del retículo endoplasmático liso y la presencia de citosomas en las células del túbulo proximal ; FOWLER y BROOK ,(1971) sugieren que estas unidades poseen un carácter lisosomal .

BUTLER y KLEINERMAN (1971) ensayaron con co

nejos comprobando alteraciones a nivel renal .

THOMPSON y PATRICK (1978) midieron la actividad del colágeno-prolil-hidroxilasa en ratas , pero en el riñón no se producen cambios .

Según SHARP , OTTOLENGHI y POSNER (1972) la toxicidad está relacionada con la concentración en pulmón y riñón .

Después de 126 mg de paraquat / Kg por vía oral , aumenta la incorporación de L-leucina en la proteína en el riñón , a las 64h disminuye la biosíntesis del DNA y a las 16 h se reduce la síntesis de RNA (VAN OSTEN y GIBSON , 1975 ; HOLLINGER , GIRI , 1978) .

ECKER , GIBSON , HOOK (1975) estudian la acumulación de paraquat en la zona cortical renal del ratón que inutiliza la influencia del p-amino hipurato (PAH) sobre la acumulación de N-metil-nicotinamida (NMN) , se propone para el análisis de la intoxicación :

-La concentración del PAH y NMN sirven para medir la función del túbulo proximal en cortes corticales . La función tubular in vivo se ha medido por la desaparición del plasma de fenolsulfoftaleina (PSP) y [^{14}C] paraquat . La función glomerular in vivo se ha medido por la desaparición del iodotalamato del plasma .

La superóxido-dismutasa es activa en los mi-

cromosomas del riñón (MONTGOMERY , 1977) .

Un pretratamiento con: BeSO_4 , CaSO_4 , $\text{Cr}(\text{SO}_4)_3$ no afecta la DL_{50} oral de paraquat en ratón, las alteraciones histológicas en riñón son más marcadas (BERENCSI , NAGYMAJTENYI , 1977 ; NAGYMAJTENYI , BERENCSI , 1977) .

HOLLINGER , GIRI y FREYWALD (1978) estudian las alteraciones en el contenido de Zn renal en ratas intoxicadas con paraquat .

Al tratar las ratas con isoproterenol disminuye la excreción urinaria de paraquat, ya que el fluido renal efectivo es menor (MALING , SUUL , WILLIAMS , BROWN , GILLETTE, 1978).

h Aparato digestivo

Tracto gastrointestinal

Las ratas tratadas con diquat experimentan una rápida acumulación de agua en el lumen del tracto gastrointestinal ; poco antes de morir se observa una disminución de agua en el lumen (CRABTREE , LOCK y ROSE , 1977) .

Hígado

La administración de paraquat por vía oral disminuye la colinesterasa en el tejido hepático (BAINOVA , 1969) .

CAGEN , GIBSON (1977) determinan la función hepática evaluando la actividad en plasma del glutámico-pirúvico-transaminasa (SGPT) y la concentración plasmática de indocianina verde (ICG) ; el ratón tratado con paraquat tiene un aumento significativo de la actividad SGPT y retiene en plasma ICG .

MONTGOMERY (1977) estudia la actividad de la superóxido-dismutasa en hígado de rata tratada .

La lesión producida en hígado se potencia en ratón si se trata simultáneamente con sulfato drómico , sulfato de berilio o sulfato de cadmio , pero no con sulfato de níquel (BERENCSI , NAGYMAJTENYI , 1977 ; NAGYMAJTENYI, BERENCSI, 1977).

THOMPSON y PATRICK (1978) miden la actividad del colágeno-prolil-hidroxilasa en hígado de rata , la actividad enzimática inicial es baja .

HOLLINGER , GIRI , FREYWALD (1978) administran por vía i.p. paraquat comprobando un aumento de Zn en hígado , este efecto es reversible .

i Aparato circulatorio

El paraquat produce focos necróticos en miocardio de ratas (PUSHKAR , 1969) y taquicardia en ratas y conejillos de indias (MURRAY y GIBSON , 1972) . No tiene efectos sobre el contenido de Zn en corazón (HOLLINGER , GIRI , FREY --

WALD , 1978) .

El paraquat y el diquat producen irritación tóxica en el sistema hematopoyético , en sangre hay un aumento de hemoglobina , de eritrocitos y de leucocitos (BAINOVA, 1969;PUSHKAR , 1969) .

BAINOVA y PUSHKAR , así mismo , comprobaron un aumento de la actividad de la catalasa sanguínea , aumento de la glucosa-6 fosfato-isomerasa y ligera hipoglucemia . En cambio ROSE , CRABTREE , FLETCHER y WYATT (1974) después de 1 h advierten una hipoglucemia que al cabo de 7 h se normaliza .

Se elevan los valores de corticosteroides y ACTH en plasma (ROSE , CRABTREE , FLETCHER y WYATT , 1974 ; CRABTREE , ROSE , 1976) .

RESTUCIA , FOGLINI , DE ALBINTIS (1974) estudian conejos con dosis de paraquat , destacando un aumento en la absorbancia a 232 nm y 282 nm al analizar los lípidos séricos en espectrofotometría de UV .

La concentración de paraquat en plasma permanece relativamente constante en las primeras 30 h (SMITH, WRIGHT, WYATT , ROSE , 1974) produciendo cambios histológicos en el miocardio (BAINOVA y VULCHEVA , 1974) .

CAGEN , JANOFF , BUS , GIBSON (1976) administran paraquat con bromosulfoftaleína (BSP) o indocianina veru

de (ICG) , el BSP ó ICG se acumula en plasma ; 24 h después del tratamiento disminuye la temperatura . Se piensa que la retención se relaciona con la temperatura , pero no sucede así con la bromosulfoftaleína .

j Sistema nervioso

El paraquat produce alteración en el tejido cerebral , así como focos necróticos (BAINOVA, 1969 ; PUSHKAR, 1969)

Con pequeñas dosis de Gramoxone , se desarrolla , en ratas , un reflejo de huida condicionado , al disminuir la dosis , disminuye la respuesta (BILLEWICZ - STAMKIEWICZ, PAWLOWSKI , 1971) .

k Sistema endocrino

Pequeñas dosis de paraquat administrado en conejos atrofian el timo (BUTLER y KLEINERMAN , 1971) .

ROSE , CRABTREE , FLETCHER , WYATT (1974) después de tratar ratas con dosis i.p. de paraquat o diquat observan un aumento de respuesta de la corteza suprarrenal al ACTH , aunque ambos aumentan la síntesis de los esteroides suprarrenales suponen que el efecto es debido a un aumento de la respuesta de la corteza suprarrenal al ACTH , pero en 1976 , CRABTREE y ROSE admiten que puede ser causado por una descarga pituitaria .

Después de una dosis de paraquat por vía oral

en ratones machos , no se alteran las gónadas (BAINOVA y VULCHEVA , 1974) .

No se han encontrado efectos mutagénicos en las fases de espermatogénesis en ratones machos CD - 1 tratados. No es de efecto antifértil en estos animales (ANDERSON , Mc GREGOR y PURCHASE , 1976) .

1 Sistema sensorial

Gusto

Liebres tratadas con dosis normal de paraquat presentan una ulceración grave en la membrana de la mucosa lingual (DE LAVAUR , GROLLEAU y col. , 1973 ; RAMACHANDRAN y col., 1974) .

Tacto

Mc ELLIOT (1972) estudia la toxicidad dérmica del dicloruro de paraquat en conejo .

El concentrado líquido irrita la piel y las membranas mucosas , produciendo ampollas e irritación local (CARSON y CARSON , 1976) .

Olfato

Aunque el paraquat no es volátil , en su atmos

fera puede sangrar la nariz de forma transitoria (GAGE , 1969).

Vista

SINOW y WEI (1973) administraron diferentes dosis de paraquat en los ojos de conejos :

Con dosis pequeñas (12 %) se lesiona la cornea , produciéndose un enrojecimiento típico de los vasos conjuntivales e hinchazón , implicando un cierre característico de párpados, descargas mucopurulentas , aros difusos de opacidad corneal . Con dosis mayores (25 %) el iris se hincha y queda congestionado , el grado y el area de opacidad corneal aumenta. Con un 50 % de concentrado puede darse una opacidad corneal completa, una iritis grave y una conjuntivitis .

Se produce catarata experimental en ratones mediante la administración de diquat (PIRIE , REES , HOLMBERG, 1969 ; PIRIE , REES , 1970) .

La adición en saco conjuntival de conejo irrita el ojo (CLARK , HURST , 1970 ; PIRIE , REES , HOLMBERG, 1970).

Así mismo se ha estudiado la opacidad cristalina en ratas a las que se les había administrado diquat en las dietas (STANCLIFFE y PIRIE , 1971) .

11 Efectos embrionarios

Dosis altas de paraquat en el 6º día, o diversas dosis repetidas, implican teratogénesis, pero los efectos son menos pronunciados que los producidos por diquat (KHERA, WHITTA, CLEGG, 1970).

BAINOVA y VULCHEVA (1974) al administrar 0.5 de la DL₅₀ oral en ratas preñadas en los días 6º y 9º después de la concepción no detectan malformación en el embrión.

PASI, EMBREE y col. (1974) observan en estado de preimplantación, pérdida del huevo y en estado de post-implantación puede producir muerte fetal. No obstante, tanto el paraquat como el diquat disminuye el índice de preñez.

Pero ANDERSON, Mc GREGOR y PURCHASE (1976) piensan que estos efectos no son evidentes. Según LUTY, CIZAK, LATUZYNSKA y PRAYLEPA (1978) con pequeñas dosis no tienen efecto en el desarrollo embrionario en ratas.

La toxicidad fetal del diquat es superior a la del paraquat; si se administra en el día 21º de gestación se acumula en el tejido pulmonar fetal, pero esto no sucede si el tratamiento es en el día 16º (BUS y GIBSON, 1975; BUS, PREACHE, CAGEN, POSNER y col., 1975).

m Mecanismo de acción

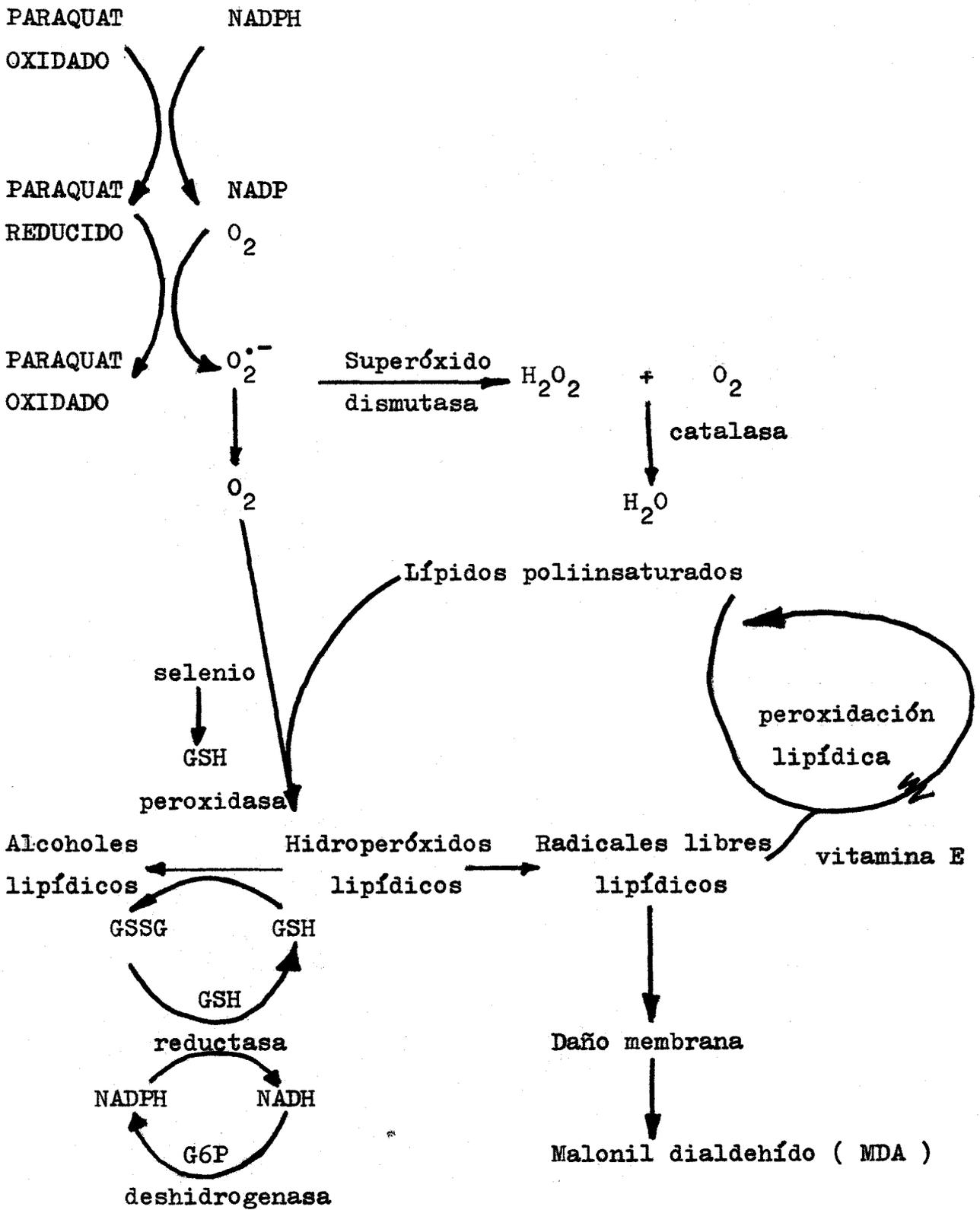
KLIEGER y col. (1973) adicionaron paraquat en la fracción microsomal hepática de rata , produciendo:

- Una inhibición de la epoxidación microsomal, desorganizando el sistema de transporte electrónico microsomal .

- In vitro se observa una peroxidación lipídica que aumenta en presencia de NADPH y NADPH dependiente de citocromo c reductasa .

El paraquat estimula la generación microsomal del radical superóxido y del peróxido de hidrógeno en pulmón de rata , éstos se eliminan por la superóxido-dismutasa y catalasa respectivamente (ILETT , STRIP y col, , 1974 ; MONTGOMERY, 1977; MEERBACH y GRAEBNER , 1978) .

BUS , CAGEN , OLGAARD y GIBSON (1976) expusieron un mecanismo de iniciación de la peroxidación lipídica : El paraquat se reduce con NADPH formándose el radical reducido, pero éste es rápidamente reoxidado por moléculas de oxígeno, formándose en esta reacción radicales superóxidos . Estos se rompen de forma no enzimática , produciéndose un singulete de oxígeno , molécula muy reactiva , que ataca a los lípidos no saturados de las membranas celulares , formando hidroperóxidos lipídicos ; éstos , espontáneamente , se descomponen , en presencia de trazas de iones metálicos de transición , en radicales lipídicos libres, iniciando la reacción de la peroxidación lipídica .



Tambien observaron , al tratar ratas y ratones con paraquat , una disminuci3n de antioxidantes hidrosolubles (Glutaci3n reducido) en h3gado y de antioxidantes liposolubles (Tocoferoles) en pulm3n . La administraci3n a ratas de 100 ppm de paraquat en el agua de bebida durante tres semanas aument3 significativamente la G6P-deshidrogenasa y la GSH-reductasa pulmonares , pero no la GSH-peroxidasa , lo que indica la lesi3n oxidativa provocada por el paraquat .

Recientemente se ha comprobado que ratones y ratas pretratados con dietil maleato y dietas deficientes en selenio o vitamina E son m3s sensibles a la intoxicaci3n del paraquat , porque aumenta la lesi3n hep3tica , de tal forma que la DL₅₀ s.c. (en ratones) es 30 mg / Kg y se convierte en 10,4 mg por Kg (BUS , AUST y GIBSON , 1975) .

n Tratamiento:

CLARK (1971) utiliza como tratamiento la administraci3n oral de adsorbente como bentonita , tierra de Fullers SMITH , WRIGHT , WYATT y ROSE (1974) adicionan a la bentonita un lavado estomacal y purgantes . VAN DIJK y col. (1974) aconsejan estos adsorbentes combinados con hemodi3lisis .

COMBAR y AVIADO (1979) administraron por v3a oral cinco expectorantes :

El gliceril guayacolato previene la disminuci3n en la actividad del sistema surfactante en pulm3n . La esen-

cia de aniz realiza el mismo efecto y aumenta la resistencia pulmonar. El cloruro amónico o yoduro potásico afecta el sistema surfactante pulmonar.

Hay una potenciación de los efectos tóxicos si los animales intoxicados se exponen en atmósfera de oxígeno con proporciones más altas de lo normal (FISHER , CLEMENTS , WRIGHT , 1973 ; RHODES , ZAVALA y BROWN , 1976; DOUZE y VAN HEIJTS , 1977; NEORAL , DUSEK , SMYSL , 1977 ; WITSCHI , KACEW y col., 1978).

Al administrárles a los ratones fenobarbital y paraquat se observa un aumento de la DL_{50} siempre que se continúe el tratamiento con fenobarbital .

Este fármaco compite por los electrones que podrían ser utilizados en la reducción del paraquat , disminuyendo por tanto la toxicidad (BUS , AUST , GIBSON , 1975 ; BUS y col. , 1976 ; MONGOMERY , 1976) .

El ácido ascórbico previene la toxicidad del paraquat en ratón (BARABAS , SUVEGES , 1978) .

B-4.1.3 Orden Carnívoros - Suborden Fisípedos

En perros el paraquat se absorbe mejor que el diquat , dependiendo de la dosis , se asimila de un 8% a un 66 %

(BENNET , DAVIES , HAWKESWORTH , 1976) .

El proceso de acumulación en perros es similar al producido en ratas (ROSE , LOCK , SMITH y WYATT , 1976) y la intoxicación presenta los mismos efectos (HOESCI , 1977 ; KELLY , MORGAN y col. , 1978) .

CLARK (1971) , MAINI y WINCHESTER (1975) administraron por vía oral diferentes adsorbentes en gatos intoxicados , comprobaron que la bentonita y la tierra de Fullers son los más efectivos .

Se trataron perros intoxicados con diuresis salina , comprobando una reabsorción del paraquat en riñón , probablemente por el túbulo proximal (FERGUSON , 1971) .

B-4.1.4.1 Orden Primates - Suborden Pitecoideos - Monos antropomorfos

La DL_{50} por vía oral es 50 mg / Kg , en monos, los síntomas son comunes a los que se presentan en roedores , pero no sobreviene una disfunción hepática y renal . (MURRAY y GIBSON , 1972 - 1974 ; ROSE , LOCK , SMITH y WYATT , 1976) .

B-4.1.4.2 Orden Primates-Suborden Pitecoideos-El hombre

a DL₅₀

Es difícil conocer la dosis que el paciente ha ingerido , el análisis de orina suministra alguna información; el valor de la dosis letal no se ha concretado .

Por unanimidad los riesgos existentes en casos de suicidio se consideran grandes , la polémica se produce en los casos accidentales .

La intoxicación con paraquat es mortal , pero el desarrollo del proceso es lento .

Una dosis pequeña produce la muerte (BULLIVANT , 1966 ; MALONE y col. , 1971 ; STAIFF , IRLE , FELSENSTEIN 1973 ; RAMACHANDRAN , 1974) MASTERTON y ROCHE (1971) concretan más porque se refieren a tres ml .

NIENHAUS y EHRENFELD (1971) trataron a un paciente que tomó 2 g y murió , BONINI y col. (1973) atendieron un intoxicado que había tomado 5 g .

Con 500 ml aproximadamente se puede sobrevivir de 16 h a 23 días (RAMACHANDRAN y col. , 1974) . Un caso de suicidio con una dosis de 300 mg / Kg evolucionó rápidamente , muriendo a las 23 h (GUYON y BISMUTH , 1974) . En una intoxica--

ción con paraquat se puede producir la muerte a las 8,5 h (TSUNENARI y col. , 1975) . MUKADA , SASANO y SATO (1978) describen el proceso y autopsia de un intoxicado accidental con 2-3 ml al 20 % .

b Absorción:

MATTEW (1969) considera el paraquat como un herbicida de fácil absorción por el hombre , pero otros investigadores (GAGE , 1961 ; VAN DIJK y col. , 1975) estiman que sólo de un 5 a un 10 % de la dosis ingerida es absorbido .

Hay que evitar las partículas muy pequeñas ya que pueden ser inhalados y penetrar en las regiones alveolares pulmonares (KIMBROUGH y GAINÉ , 1970 ; STAIFFF , COMER , ARMS--TRONG , WOLFE , 1975) .

También existen preparados granulados en el comercio , pero al presentar un estado sólido disminuyen las posibilidades de ingestión accidental (CARSON y CARSON , 1976) .

El paraquat también se puede absorber por la piel (GAGE , 1969) FELDMAN y MAIBACH (1974) aplicaron al antebrazo humano doce herbicidas y pesticidas , entre ellos el diquat , eliminándose por orina un 0,3 % .

c Distribución

El paraquat si se inyecta directamente en la circulación sanguínea , ésta se encarga de distribuirlo por todo el organismo , pero si la vía de administración es indirecta, pasa a sangre desde donde se distribuye .

No hay evidencias de que el tejido más afectado contenga mayor concentración de paraquat , aunque la acumulación de tóxico es un factor que favorece la lesión .

Principalmente se acumula en pulmón , hígado, riñón , cartílagos y músculo esquelético (CARSON , 1972) .

TSUNENARI , MUTO y col. (1975) en el examen histopatológico valora la concentración de tóxico en distintos órganos : 2,67 mg / 100 mg contenido gástrico ; 1,83 mg / 100 mg contenido intestinal ; 2,88 mg / 100 mg sangre ; 6,43 mg / 100mg orina ; 0,51 mg / 100 mg cerebro ; 0,64 mg / 100 mg pulmón; 2,40 mg / 100 mg hígado ; 7,35 mg / 100 mg riñón .

Es evidente después de estos estudios que el paraquat puede ser detectado en un gran número de tejidos .

d Metabolismo

El paraquat no es metabolizado en el hombre y el compuesto inalterado se detecta en orina (CARSON y CARSON ,

1976) .

e Eliminación

La mayoría de los investigadores afirman que se elimina por vía urinaria : con rapidez (MATTEW , 1969) y en pequeñas cantidades (FELDMANN y col. , 1974) que son cada vez menores a lo largo del proceso (GAGE , 1969 ; BONY y col., 1971; CARSON , 1972) .

Algunos autores sugieren que se excreta principalmente en las heces (GUYON y col. , 1974 ; VAN DIJK y col., 1975) .

Lo que parece evidente es que no se elimina por vía respiratoria ya que no es volátil .

f Aparato respiratorio

Hay una sorprendente disociación entre los ca rácteres clínicos , la patología descubierta y los cambios radio lógicos porque no reflejan la naturaleza y severidad de la le sión pulmonar .

Los estudios de transferencias radiológicas están correlacionados con la naturaleza y gravedad de la le sión pulmonar .

La reacción más típica es el efecto pulmonar, causa una degeneración progresiva de los pulmones , produciéndose una fibrosis alveolar e intersticial irreversible (HEYNDRICKX SHEPENS , SCHEIRIS , 1969 ; BONY y col. , 1971; MURRAY y GIBSON, 1972 ; ALMOG y SIEGELHAUM, 1974 ; KODAGODA y col. , 1974; GULIC, y col. , 1975 ; CEGLA , KROIDL y col. , 1975 ; THURLBECK y THURLBECK , 1976 ; HARLEYI, GINSPAN y ROOT , 1977) .

La evolución clínica de esta neumopatía tóxica recuerda las formas agudas de la enfermedad de Hamman Rich , de las proteínas alveolares de Delarue , del síndrome de membrana hialina o del síndrome de Mendelson , pero las lesiones histológicas son diferentes (GUYON y col. , 1974) .

MATTEW (1969) trata un paciente intoxicado accidentalmente , al poco tiempo de ser ingresado , presenta lesión pulmonar . La radiografía torácica era normal , pero una exploración respiratoria funcional revela una afección obstructiva.

La auscultación descubre sonidos de bronquitis difusa , con silbidos en el campo superior izquierdo (GUYON y col. , 1974) .

Dos días más tarde la función respiratoria empeora encontrándose una granulación fina en el pulmón izquierdo, desapareciendo completamente la estructura normal del pulmón (MATTEW , 1969 ; BONY y col. , 1971) .

Muestra una progresiva destrucción de los al-

veolos pulmonares , la intoxicación afecta las arteriolas , veni-
llas y bronquiolos terminales , produciendo una cirrosis pulmonar,
lesionando así mismo las membranas basales y epitelio alveolar de
los pulmones (VAN DER HARDT , 1971) .

Después de 4 a 7 días en el que hay un periodo
de latencia es evidente un impedimento respiratorio, la respira-
ción puede no afectarse en esta etapa , los signos clínicos pue-
den ser pequeños , pero las pruebas de la función pulmonar es li-
geramente anormal y los cambios pueden ser visibles en RX . Se de-
sarrolla cianosis progresiva (RAMACHANDRAN y col. , 1974 ; CAR-
SON y CARSON , 1976) .

Entra en coma , con hiporeflexia y polipnea in-
tensa , polipnea superficial con un ritmo de 40 / min. , no hay
perturbación metabólica que pueda explicar el coma . La sintomato-
gía pulmonar es muy pobre fuera de la polipnea , pero la radiogra-
fía pulmonar muestra imágenes difusas bilaterales de condensación
(BONY y col. , 1971) .

Las características de esta intoxicación en la
autopsia han sido estudiadas por : GUYON y col. , 1971 ; RAMACHAN-
DRAN y col. , 1974 ; TSUNENARI y col. , 1975 ; CARSON y CARSON ,
1976 ; MUKADA , SASANO y SATO , 1978 ; entre otros :

-El pulmón está congestionado y presenta edema
microscópico , un aspecto próximo a la neumonía , son frecuentes
las hemorragias pulmonares .

-La sección revela claramente una estructura

fibrótica , un tejido anormal con abundante fibrosis , los fibroblastos se observan en la pared alveolar y espacio alveolar y se desarrolla una proliferación característica del epitelio bronquial, produciéndose una disminución de ventilación en los tejidos pulmonares .

-En los alveolos los macrófagos se cargan de lisosomas , raramente hay multinucleados , a veces predominan neutrófilos , polinucleares .

-Un signo notable es el revestimiento alveolar , pocas veces totalmente descamado , reemplazado o sustituido por un depósito fibrinoso .

-Las células endoteliales son turgentes .

-En los intersticios se esparcen trozos de colágeno con finos hilos fibrinosos .

-En zonas localizadas se observan granuloma inflamatorio formado por polinucleares , histiocitos , mastocitos .

-La luz de los bronquiolos contiene residuos celulares : macrófagos y polinucleares .

-La pleura lleva células endoteliales , globulares , a veces descamadas reemplazadas por un conducto fibrinoso . El tejido subpleural contiene unos vasos dilatados y presentes .

ta inhibición edematosa marcada .

g Aparato urinario

Los pacientes intoxicados con paraquat presentan primero una lesión renal reversible , después un periodo de latencia y sobrevienen todas las alteraciones pulmonares .

Desde un principio se observa una insuficien-
cia renal , oliguria , hipercatabolismo , deshidratación (BONY
y col. , 1971 ; ALMOG y SIEGELHAUM , 1974 ; RAMACHANDRAN , RAJA-
PAKSE , PERERA , 1974 ; PROCHICHA y col. , 1977 ; MUKADA , SASA-
BO y SATO , 1978) ,

Usualmente , la anuria se atribuye a una ne-
crosis corticorrenal , pero en esta intoxicación la alteración
es debida a una hemorragia glomerular y tubular (KODAGODA , JA-
YEWARDENE , ATTYGALLE , 1973) .

A simple vista , el riñón está un poco hincha
do y pálido (CARSON y CARSON , 1976) .

Un análisis más detallado muestra lesiones di
fusas debido a las alteraciones celulares asociado con quemadu--
ras . La luz de algunos túbulos disminuye por los desechos celu-
lares y albúmina . Hay congestión en los glomérulos y en el teji-
do intersticial aparece edema (GUYON y col. , 1973) .

Los túbulos colectores proximales están dilatados por contener sustancias albuminosas o desechos celulares ; el epitelio es casi normal , así como el glomérulo de Malpigio . (BESCOL y col. , 1975)

h Aparato digestivo

Tracto gastrointestinal

Las manifestaciones gastrointestinales agudas no son de carácter prominente . Por administración oral es un corrosivo potente , produciendo quemaduras (MATTEW , 1969 ; GUYON y col. , 1974 ; RAMACHANDRAN y col. , 1974 ; CARSON y CARSON , 1976) .

GUYON y col. (1974) estudian las quemaduras epigástrica , el dolor abdominal y la diarrea acuosa persistente. Observan el edema del corión de la mucosa esofaríngea , mientras que el epitelio pavimentoso se desgasta debido a una serosidad externa . Se producen úlceras gástricas , vellosidades intestinales tumefactas . A veces los efectos necróticos están acompañados de una reacción inflamatoria .

Hígado

Los enfermos presentan en el comienzo de la intoxicación una lesión hepática y renal con ictericia y alteraciones transitorias y reversibles (GUARDASCIONE , DI BOSCO, 1969; BONY y col. , 1971 ; KODAGODA y col. , 1973 ; RAMACHANDRAN , RA-

JAPAKJE , PERERA , 1974 ; ALMOG y SIEGELHAUM , 1974 ; CARSON y CARSON , 1976 ; MUKADA , SASANO y SATO , 1978) .

VERNE y col. (1975) al tratar enfermos intoxicados con paraquat observaron que :

La luz de los vasos contiene hematíes y desechos celulares de origen hepatocitario . Los sinusoides están dilatados y los hepatocitos que lo bordean se transforman debido a necrosis . Los síntomas y características pueden ser interpretados como resultado de un colapso , pero también puede ser causado por la presencia de numerosos desechos celulares en las luces vasculares .

Se produce necrosis en los hepatocitos , ésta es biliar con notable aumento de los valores de la fosfatasa alcalina (RAMACHANDRAN y col. , 1974) .

i Aparato circulatorio

El paraquat puede producir paro cardíaco (CARSON , 1972 ; KODAGODA , JAYEWARDENE , ATTYGALLE , 1973 ; TSUNENARI y col. , 1975) .

El examen cardiovascular realizado por GUYON y col. , (1974) revela :

-La presión arterial es 150 / 100 mm Hg

-Presión venosa a 6 m de agua

-Una imagen cardíaca de radiografía normal: LCG , QRS a 12 / 100 , QRS a 8 / 100 , un ritmo sinusal a 160 , gran onda SP en D₂ D₃ , VF , gran onda T en todas las desviaciones .

-Después de una transfusión no existe ninguna mejoría, sin modificación del trazado electrocardiográfico excepto la normalización de las ondas T .

-El pulso de las carótidas se percibe , pero se anula el femoral .

-Arteria pulmonar : 7,5 mm Hg

-Ventrículo derecho : 12,5 mm Hg

-Aurícula derecha : 2,5 mm Hg con un déficit cardíaco a 21 .

Una ingestión de 300 mg de paraquat / Kg en un caso de suicidio evolucionó hacia una insuficiencia circulatoria refractaria (GUYON y col. , 1974) .

En principio , la intoxicación muestra un aumento de urea y de creatinina en sangre (GULIC , HOJS y ROGL , 1975) .

Entre el nono y décimotercer día se produce una disminución de bilirrubina en suero y valores de urea en sangre ; más tarde aparece una grave hiperbilirrubinemia simultánea al fallo renal agudo (RAMACHANDRAN y col. 1974) .

j Sistema nervioso

Es así mismo tóxico para el SNC (MATTEW, 1969) Se detecta en las cubiertas neurológicas (HEYNDRINCKX , SHEPENS , SHEIRIS , 1969), pero no se detecta el paraquat en el cerebro en el caso traído por KODAGODA y col. (1974) .

El examen neurológico realizado por GUYON y col. (1974) revela :

-Conciencia normal , el enfermo responde las preguntas con gran agitación , de modo agresivo y eufórico .

-Reflejos neos-tendinosos vivos y difusos .

-Mioclonias predominantemente de los miembros inferiores .

-La zona cutánea de la planta del pie izquierdo es indiferente , pero la derecha está en flexión .

MUKADA , SASANO y SATO (1978) tratan a un enfermo intoxicado accidentalmente con paraquat, observan una he

morragia purpúrica especialmente en la materia blanca del cerebro y nervios ; el efecto del paraquat en los vasos sanguíneos cerebrales es directo .

k Sistema endocrino

Se produce necrosis córticosuprarrenal (NAGI, 1970 ; BONY y col. , 1971 ; KODAGODA , JAYEWARDENE , ATTYGALLE , 1974 ; GUYON , BISMUTH y col. , 1974 ; MUKADA , SASANO y SATO , 1978) .

Es una necrosis eosinófila total con marcada infiltración de neutrófilos polinucleares (GUYON y col. , 1974).

En el tiroides , el paraquat produce lesión moderada (MUKADA , SASANO y SATO , 1978) .

l Sistema sensorial

Gusto

En administración oral es un potente corrosivo en la boca , produciendo quemaduras (MATTEW , 1969 ; TSUNENARI , MUTO y col. , 1975) , en los labios se produce cianosis (GUYON y col. , 1974) .

Tacto

El líquido concentrado irrita la piel (GAGE,

1969 ; CARSON y CARSON , 1976) .

Olfato

Si la intoxicación ha sido por inhalación, de forma transitoria , la nariz sangra (GAGE , 1969 ; CARSON y CARSON , 1976) .

Vista

El trauma corneal en agricultores es relativamente frecuente (GAGE , 1969 ; GUARDASCIONE , DI BOSCO , 1969 ; BONY y col. , 1971) .

Así mismo , el diquat causa trastornos oculares ; el diquat y el oxígeno oxidan el ácido ascórbico produciendo peróxido de hidrógeno en el humor acuoso o vítreo (PIRIE , REES y HOLMBERG , 1970) .

El paraquat , generalmente , no causa trastornos visuales , tan solo hay lesión ocular en los casos de aplicación local (KODAGODA y col. , 1974) .

Pero la toxicidad ocasionada en la vista es grave porque la lesión es irreversible , si la dosis ha sido muy leve puede causar una inflamación temporal (CARSON y CARSON , 1976) .

ll Mecanismo de acción

La acción selectiva del paraquat es probablemente debida a la formación de hidroperóxidos inestables que reaccionan con el tejido alveolar (NIENHAUS y EHRENFELD , 1971) .

Se supone una peroxidación lipídica responsable de las anomalías pulmonares (POUZE y col. , 1974) .

El paraquat estimula la generación microsomal de los radicales superóxidos y peróxido de hidrógeno , estos dos oxidantes se inhiben por superóxido-dismutasa y por catalasa, respectivamente (MONTGOMERY , 1977) .

m Tratamiento

Esta intoxicación no tiene un buen tratamiento, pero si son efectivas las medidas profilácticas : para evitar los riesgos se utilizan envases etiquetados , se aconseja el uso de máscara facial (MALONE y col. , 1971) , el uso de guantes protectores (STAUFF y col. , 1975) .

MATTEW (1969) ante la gravedad de una intoxicación estimó conveniente un trasplante pulmonar . Una semana después de la operación sobrevino de nuevo las dificultades respiratorias al nivel del pulmón trasplantado y muere veinte días después .

Varias fueron las hipótesis propuestas, demostrándose que a pesar de la excreción, teóricamente rápida, del paraquat, la cantidad existente en el momento de la operación es suficiente para dañar el pulmón trasplantado.

Bajo el tratamiento de oxígeno, el enfermo se recupera, las lesiones localizadas cicatrizan (BONY y col., 1971) pero es necesario mantener una tensión de oxígeno ideal y no utilizarlo como tratamiento ya que la oxigenoterapia agrava la lesión pulmonar (NIENHAUS y col., 1971; FISHER, CLEMENTS, WRIGHT, 1973; GUYON y col., 1974; DOUZE y VAN HEIJTS, 1977).

POUZE y col. (1974) sugieren que la tensión de oxígeno arterial esté comprendida entre 50 y 70 mm de Hg mediante la disminución de oxígeno alveolar y la administración de prednisona en dosis de 1000 mg / 24 h .

La utilización de corticoides eventualmente disminuye las lesiones pulmonares ; el uso de antimitóticos e inmunosupresores no mejora el pronóstico (BONY y col. , 1971 ; GUYTON y col. , 1974) .

Las dosis masivas del ácido ascórbico pueden ser un tratamiento preventivo de la intoxicación de paraquat (HALLIVELL , 1976 ; BARABAS , SUVEGES , 1978) .

HARLEYI , GIINSPAN , ROOT (1977) administran superóxido-dismutasa , α -tocoferol , ácido ascórbico y prednisona , pero no es efectivo .

Generalmente , se aconseja la diuresis administrando diurético como Furosamida (BONY y col. , 1971 ; GUYON y col. 1974 ; ALMOG y col. , 1974 ; CARSON y CARSON , 1976).

STAIFF y col. (1973) aconsejan eliminar las toxinas del tracto gastrointestinal por un lavado catártico y adsorbente , como adsorbente : el carbón activo (OKONEK , HOFMANN HENNINGSSEN , 1976) la bentonita y la tierra de Fuller (CLARK , 1971 ; POUZE y col. , 1974 ; VAN DIJK y col. , 1975 ; CARSON y CARSON , 1976) , la resina de Amberlita CG-120 (STAIFF y col. , 1973) .

El lavado estomacal y del tracto gastrointestinal es un tratamiento sintomático de poco efecto (BONY y col. 1971 ; STAIFF , IRLE , FELSENSTEIN , 1973 ; GUYON y col. , 1974 ; SMITH , WRIGHT , WYATT , ROSE , 1974 ; CARSON y CARSON , 1976 ; OKONEK , HOFMANN , HENNINGSSEN , 1976) .

Otros tratamientos de menor interés son : la diálisis peritoneal (GUYON y col. , 1974 ; CARSON y CARSON , 1976) la hemoperfusión (BONY y col. , 1971 ; OKONEK y HOFMANN 1975) la hemodiálisis (ALMOG y col. , 1974 ; POUZE y col. , 1974 ; OKONEK y HOFMANN , 1975 ; OKONEK , HOFMANN y HENNINGSSEN , 1976) .

II-3 ANTECEDENTES ANALITICOS

El paraquat se detecta en orina , sangre , tejidos orgánicos , pero no es posible relacionar la concentración con la gravedad de la intoxicación (BERRY y GROVE , 1971) .

A Preparación de la muestra

A-1 Desproteínización

RADEELLI y BOSETTO (1968) para una muestra de 1 a 10 g de suelo adicionan unas gotas de H_2SO_4 al 50 % y 10 ml de HF , después de evaporar se repite dos veces más , al residuo se adicionan 100 ml de H_2SO_4 y centrifugan, al sobrenadante le añaden EDTA .

En cambio, ZHEMCHUZHIN , MARKOVA (1969) tratan la fracción de suelo con piridina y cloruro amónico .

El tratamiento varía en muestras vegetales ; AKERBLIOM (1974) determina la concentración en semilla de colza basándose en el proceso original de CALDERBANK y col.(1961), modificado por KIRSTEN (1966) .

Los residuos de las plantas se obtienen por el procedimiento de hidrólisis ácida con sulfúrico (ZWEIG, 1967; KHAN , 1975 ; ALARY , VERGNES , COEUR y CANTIN , 1975) .

Las muestras biológicas se desproteínizan con ácido en caliente , se centrifuga , se lava el precipitado con

ácido , se reúnen los lavados con el líquido centrifugado.

TADJER (1967) trata 100 - 200 g de tejido orgánico con 200 ml de tetracloruro de carbono .

Otros autores lo tratan con un ácido fuerte como sulfúrico y lo mantienen a ebullición durante 3 h (HEYNDRICKX , SHEPENS , SCHEIRIS , 1969 ; BEYER , 1970).

CARSON (1972) prepara la muestra adaptando los métodos de DANIEL y GAGE (1966) descritos anteriormente para el análisis de residuos de paraquat en cosechas de alimentos (CALDERBANK y YUEN , 1965) .

Pero el método más usado es con ácido tricloroacético usando primeramente 40 ml al 5 % y en los lavados 25 ml al 5 % (LIFCHFIELD , DANIEL , LONGSHAW , 1973 ; GUYON y col. 1974 ; MARTENS , VAN BEELEGHEM , HEYNDRICKX , 1975 ; VAN DIJK y col. , 1977) pero también utilizan el ácido tricloroacético al 10 % (LIFCHFIELD , DANIEL , LONGSHAW , 1973) ó al 20 % (BONINI , SAUX y LARCEBAN , 1973) .

A-2 Paso por columna

La muestra preparada se pasa por columna de intercambio iónico con una velocidad de 5 ml / min , la columna previamente se lava con agua destilada , HCl 2 N , agua , cloruro amónico al 2,5 % y agua destilada . Se eluye con cloruro amónico saturado en una proporción de 1 ml / min ; TSUNENARI (1975)

eluye con HCl 5N ; CARSON (1972) eluye con cloruro amónico 5M.

HEYNDRICKX , SHEPENS , SCHEIRIS (1969) trabajaban con carbón activo y con florisil activo , obteniendo malos resultados , el mejor resultado lo obtiene con columna de resina Zeokarb 225, la muestra la introduce a pH 8 para reducir la ionización de las bases orgánicas débiles ; el rendimiento es de un 80 % .

La resina de Zeokarb 225 se utiliza frecuentemente para el paraquat (LIFCHFIELD , DANIEL , LONGSHAW , 1973 ; GUYON y col. , 1974) .

La resina de intercambio catiónico IR-120 permite buenos resultados (BEST , WEBER , WEED , 1972 ; VAN PETEGHEN , HEYNDRICKX , 1975) , BONINI , SAUX , LARCEBAN (1973) aconsejan un pH entre 5,5 y 6 para obtener una fijación mejor .

BEST , WEBER y WEED (1972) realizaron estudios con la resina de tipo IR , concluyendo que tanto la IR-120 como la IRC-50 tienen una proporción de purificación del diquat superior al paraquat .

Otras resinas utilizadas son: Dowex AG-50 (BONINI , SAUX , LARCEBAN , 1973) , Dowex 50w-4 (TSUNENARI , 1975) y Dowex AG 50w - x8 (RADEELLI , BOSETTO , 1968; FISHBEIN , 1975).

B Determinación

B-1 Espectrofotometría de UV - visible

La determinación colorimétrica se puede realizar debido a la propiedad que presenta el paraquat de reducirse formando un radical coloreado . El 1,1' dimetil-4,4' bipyridilio se reduce formando un derivado monohidrobipiridilo .

El método fue empleado por CALDERBANK y YUEN (1965) , modificado por KIRSTEN (1966) , por YUEN , BAGNESS , MYLER (1967) y por YUEN (1968) .

El método colorimétrico fue adoptado como oficial por la Association of American Pesticide Control Officials (CARLSTROM , 1971) .

La reducción se realiza mediante la adición al residuo de eluato de 2 ml de una solución de ditionito de sodio al 1% en NaOH y midiendo a 600 nm (ZWEIG, 1967 ; RADELLI , BOSETTO , 1968 ; CARLSTROM , 1968 ; ZHEMCHUZHIM y col. , 1969 ; BONINI , SAUX , LARCEBAN , 1973 ; RIVERA , 1973 ; PAYNE , PODE , BENNER , 1974 ; GUYON y col. , 1974 ; VAN DIJK y col. , 1975 ; KNEPIL , 1977) .

CARSON (1972) adiciona el ditionito de sodio en la proporción de 0,2 % .

TOMPSETT (1970) por cada 0,1 g de ditioni--

to sódico añade 0,1 g de bicarbonato sódico ; la absorbancia se mide a 625 nm , el color permanece una hora .

HEYNDRICKX , SHEPENS , SCHEIRIS (1969) modifica la longitud de onda porque a 392-401 nm los constituyentes orgánicos en determinadas muestras interfieren menos , tambien se ha medido a 250 nm pero esto no es adecuado por la absorción de la materia orgánica .

A 396 nm miden la concentración algunos investigadores (BEYER , 1970 ; KLISENKO , CHMIL , 1973 ; ALARY y col. 1975) .

Al agitar la muestra reducida puede provocar la desaparición del color , tambien influye el tiempo y la concentración de reductor , esto puede haber influido en la búsqueda de nuevos reductores .

VENGERSKAYA y col. (1972) usan el reactivo de Nessler's en medio ácido . GAMESAN y col. (1979) utiliza la solución de tetraiodomercurato potásico neutro dando un compuesto de composición paraquat-HgI₄

Para medir el diquat CARLSTROM (1968) mide la absorbancia a 310 nm , el método se recomienda oficialmente. VENGERSKAYA (1972) emplea el reactivo de Nessler's en medio alcalino formándose un complejo coloreado del diquat . La muestra de diquat se trata con 0,2 g de metabisulfito sódico en 100 ml de sosa 0,3 N , la absorbancia se mide a 179 nm (KLISENKO , CHMIL,

1973) Como agente reductor se puede utilizar 2 ml de ditionito sódico al 0,2 % con tetraborato de sodio al 5% (LIFCHFIELD y col. , 1973) .

B-2 Cromatografía en capa fina

Las placas utilizadas pueden ser de silicagel G (TADJER y col. , 1967 ; KOSMATYI , CHEBOT'KO y col. , 1968 ; COHA , 1969 ; SHARP y LORES , 1974 ; TSUNENARI , 1975 ; FISHBEIN 1975) de celulosa (SHARP y LORES , 1974 ; TSUNENARI , 1975) de celulosa MN 3000 (HEYNDRICKX , SHEPENS , SCHEIRIS , 1969) de silicagel KSK (KOSMATYI , CHEBOT'KO , 1972) .

Las cantidades aplicadas varían desde 5 μg (HEYNDRICKX , SHEPENS , SCHEIRIS , 1969) a 30 μg (KOSMATYI , CHEBOT'KO , 1972) .

Como sistema de solventes para el desarrollo TADJER y col. (1967) emplean : cloroformo : diisopropil éter (3:2) ; ciclohexano : diisopropil éter (5 : 1) ; metanol ; n-hexano ; metanol : cloroformo (1 : 1) ; metanol : cloroformo (13 : 2) ; metanol : cloroformo (19 : 1) ; metanol : cloroformo : n-hexano (18 : 1 : 1) .

HEYNDRICKX , SHEPENS , SCHEIRIS (1969) utilizan metanol : ácido fórmico : agua (85 : 5 : 10) . El Rf para el paraquat es 0,62 y para el diquat es 0,55 .

VILCEANU , NEAMTIV , KNEJEV (1971) ensayan

con cloruro amónico 2,5 % : dioxano : tert BuOH (7:2,5:0,5) .

KOSMATYI , CHEBOT'KO (1972) usan etanol :
agua : butanol (1:0,5:1) obteniendo un Rf de 0,7 .

SHARP y LORES (1974) emplean benceno : pentil
alcohol : metanol : HCl N en las proporciones (1 : 1 : 2 : 1) ,
(1,3 : 4 : 8 : 8) , (1,4 : 7 : 14 : 5) ; butanol : metanol :
HCl 6N (3 : 3 : 2) ; cloruro amónico 5M : butanol : HCl 5N(2:23)
alcohol pentil : HCl 2N (3:97) .

TSUNENARI (1975) desarrolla con metanol: clo
rhídrico 6N (20 : 30) , (35 : 16) ; metanol : H₂SO₄ 6N(40:10)

FISHBEIN (1975) prueba con doce disolventes:
cloroformo ; cloroformo : acetona (9 : 1) ; hexano : acetona ,
(9 : 1) ; cloroformo : acetona (8 : 2) ; hexano : acetona ,
(8 : 2) ; dioxan ; benceno ; benceno : acético glacial (15:1)
isopropanol : amoníaco 25% : agua (8 : 1 : 1) ; isopropanol :
ácido clorhídrico : agua (6 : 1 : 3) ; etanol : ácido clorhí-
drico concentrado : agua (6 : 1 : 3) ; metanol : ácido clorhí-
drico concentrado : agua (6 : 1 : 3) y concluyen que sólo con
siguen desplazar al paraquat y al diquat los tres últimos siste-
mas ; el Rf para el paraquat es 0,26 ; 0,19 ; 0,11 respectivamen-
te y para el diquat es 0,25 ; 0,22 ; 0,10 respectivamente .

Se visualiza al pulverizarlo con reactivo de
Dragendorff's apareciendo (en los solventes alcohólicos) una
mancha anaranjada o rojiza anaranjada (TADJER y col. , 1967; TSU

NENARI , 1975) , en caso de que no se distinga la misma placa puede pulverizarse con iodoplatinato (4 % KI , 0,4 % PtCl₄) (TADJER y col., 1967 ; HEYNDRICKX , SHEPENS , SCHEIRIS , 1969) Tambien se puede pulverizar con alizarina azul (1 % en cloroformo , NaOH 1N) (HEYNDRICKX , SHEPENS , SCHEIRIS , 1969) .

Se puede pulverizar la placa con iodo en cloroformo o bien colocarla en un tanque saturado de vapor de iodo, dan manchas pardo oscuras , estas manchas se suprimen al calentar a 80°C o por exposición al aire (TADJER y col. , 1967) .

Una vez desarrolladas las placas tambien se pueden detectar por fluorescencia bajo luz UV (VILCEANU , NEAMTIV , KNEJEV , 1971 ; BONINI , SAUX , LARCEBAN , 1973) .

B-3 Cromatografía gaseosa

Se ha utilizado para el análisis de agua (SO DERQUIST , CROSBY , 1972 ; UKAI , HIROSE , KAWASE , 1973 ; MARTENS , HEYNDRICKX , 1974) , para el análisis de suelos (KHAN , 1974 ; PAYNE , PODE , BENNER , 1974) , para tejidos orgánicos (KHAN , 1975 ; MARTENS , VAN PETEGHEM , HEYNDRICKX , 1975 ; DRAFFAN , CLARE y col. , 1977 ; UKAI , HIROSE , KAWASE , 1977) .

La técnica requiere reducción previa que se hace mediante NaBH₄ y NiCl₃ (UKAI , HIROSE , KAWASE , 1977) o rohidruro de sodio (DRAFFAN , CLARE y col. , 1977) .

La columna de separación puede contener mez-

cla de Tritón x-100 y KOH en DMCS sobre Chromosorb G (SODERQUIST, CROSBY , 1972) Chromosorb WAW DMCS (MARTENS , HEYNDRICKX , 1974) 3% SE , 30,5% Reoplex 400 , 3% Carbowax 20 M ó 3 % Carbowax 20 M y 1% KOH (KHAN , 1974) .

Según la reducción empleada por UKAI , HIROSE, KAWASE (1973) del paraquat se aísla : 1,1',2,2',3,3',6,6'-octa hidro-4,4'-bipiridilo ; del diquat se aísla : N,N'-etileno .

En el tratamiento propuesto por UKAI, HIROSE, KAWASE (1977) obtuvieron desde el paraquat : 1,1' dimetil 4,4' bipiridina y desde el diquat: trans,cis-dodecahidrodipiridilo-pi razina .

DRAFFAN y col. (1977) concluyen que todos los borohidruros de sodio producen hexahidro derivados .

El gas portador es nitrógeno y se utiliza detector de ionización de llama .

La sensibilidad varía para cada uno de los autores: 0,1 ppm (SODERQUIST , CROSBY , 1972) , 5,65 ppm (UKAI, HIROSE y KAWASE , 1973) , 0,01 ppm (KHAN , 1974) , 0,05 ppm (KHAN , 1975) .

Se recupera un 84% en muestras de suelos (KHAN 1974) en tejidos varía de un 75 % a un 86 % (KHAN , 1975) y en orina de un 89% a un 95% (MARTENS , VAN PETEGHEM , HEYNDRICKX , 1975) .

La cromatografía de gases se puede acompañar por espectroscopía de masas (MARTENS , VAN PETEGHEM, HEYNDRICKX 1975 ; DRAFFAN , CLARE y col. , 1977) .

B-4. Cromatografía líquida

Tanto el paraquat como el diquat se determinan por cromatografía líquida usando un detector de UV .

PRYDE y DARBY (1975) no encuentran interferencias con el diquat en el análisis de paraquat , ni con el paraquat en el análisis del diquat .

Se puede usar una columna compacta con aminopropil trietosililano unida a la alúmina y como fase móvil MeOH buffer (14 : 11) (PRYDE , 1975) .

El límite de detección es : 100 μg / l (KAWANO , AUDINO , EDLUND , 1975 ; PRYDE , 1975 ; PRYDE y DARBY , 1975 ; VAN DIJK , EBBERINK y col. , 1977) .

B-5 Otros métodos

Bioensayo

El método es aplicar inhibidores fotosintéticos en discos de cotiledones , se ensaya con herbicidas fuertes de diversos modo de acción ; es positivo tanto para el paraquat como para el diquat (DA SILVA , FADAYOMI , WARREN , 1976) .

Antibiograma

REPETTO y SANZ (1976) adaptaron este método para el análisis toxicológico mediante la difusión en placa de agar inoculado con algas unicelulares ; se colocan discos de papel de filtro impregnados en las muestras problemas , si la muestra es de paraquat el halo de inhibición es grande aunque la concentración sea pequeña .

Radioinmunoensayo

LEVITT (1977) aplica esta técnica para la determinación de paraquat ; el diquat y el morfamquat no dan reacciones cruzadas con el antisuero .

III PARTE EXPERIMENTAL

III-1 MATERIAL Y METODOS

En primer lugar , iniciamos nuestro trabajo experimental poniendo a punto las técnicas de detección y determinación de paraquat , intentando conseguir aportaciones o mejoras en las mismas .

Se realizaron numerosas pruebas con reductores, probándose así mismo el reactivo clásicamente utilizado (el di--tionito sódico) , midiendo las densidades ópticas y comprobando si son proporcionales a las concentraciones .

Examinamos los sistemas de líquidos de desarrollo y revelados empleados por distintos investigadores en la cromatografía en capa fina . Se aplicaron al revelado aquellos reactivos que anteriormente nos dieron reacciones coloreadas .

En la práctica no determinaremos el paraquat en soluciones puras sino que es necesario extraerlo de muestras biológicas , proceso que se lleva a cabo mediante resinas .

Para la separación del paraquat se emplean resinas de intercambio catiónico , por lo que reproducimos los tratamientos efectuados en la resina de Amberlita IR-120 por diversos autores .

Por otra parte hemos estudiado la aplicación de la resina XAD-2 al aislamiento del paraquat .

III - 1 Reactivos

- Paraquat (Gramoxone)
- o-Tolidina (Schuchardt)
- o-Dianisidina (Merck)
- Yoduro potásico (Merck)
- Fenol (Merck)
- Hidroquinona (Panreac)
- Formaldehído 35 - 40 % (Panreac)
- Acido pirogálico (Probus)
- Nicotinamida (Merck)
- Sulfosalicílico (Merck)
- Oxalato disódico (Merck)
- Cloruro crómico (Riedel)
- Fosfato de piridoxal (Merck)
- Resorcinol (Yudex)

-Clorhidrato de hidroxilamina (Merck)

-Sulfato de hidracina (Merck)

-Ferrocianuro potásico (Panreac)

-Cloruro estannoso (Panreac)

-Hidrosulfito sódico (Panreac)

-Acido ascórbico (Merck)

-Sulfato ferroso (Mallinckrodt)

-Ditionito sódico (Merck)

-Hidróxido sódico (Panreac)

-Molibdato amónico (Panreac)

-Cloruro bórico (Merck)

-Bicarbonato sódico (Panreac)

-Fluoruro sódico (Merck)

-Glucosa (Merck)

-Tartrato sódico (Panreac)

- Acido tartárico (Panreac)
- Metanol (Panreac)
- Cloroformo (Panreac)
- Acido clorhídrico 35 % (Panreac)
- Iodo (Panreac)
- Glicocola (Panreac)
- Ninhidrina (Merck)
- Etanol (Panreac)
- Cloruro amónico (Panreac)
- Acido tricloroacético (Panreac)
- Resina de Amberlita IR-120 (Mallinckrodt)
- Resina de Amberlita XAD-2 (Mallinckrodt)
- Eter etílico (Panreac)
- Fenolftaleína (Riedel)
- Eter de petróleo (Panreac)

-Sulfato de sodio (Panreac)

III - 2 Reacciones coloreadas

Pretendemos encontrar una sustancia de fácil conservación y manejo , que habitualmente se encuentre en los laboratorios .

Hemos probado con :

- o-Tolidina
- o-Dianisidina
- Yoduro potásico
- Fenol
- Hidroquinona
- Formaldehído
- Acido pirogálico
- Nicotinamida
- Sulfosalicílico
- Oxalato disódico

- Cloruro crómico
- Fosfato de piridoxal
- Resorcinol
- Clorhidrato de hidroxilamina
- Sulfato de hidracina
- Clorhidrato de hidracina
- Ferrocianuro potásico
- Cloruro estannoso
- Hidrosulfito sódico (Ditionito sódico)
- Acido ascórbico
- Sulfato ferroso

De cada reductor preparamos dos concentraciones , porque el color es estable solamente en exceso de reactivo reductor , si está en defecto el radical se oxida .

Una agitación fuerte provoca la desaparición rápida del color porque el oxígeno del aire oxida el radical de paraquat .

Según BONINI , SAUX y LARCEBAN (1973) si la concentración final de reductor es muy superior al contenido de paraquat puede transformarse en un derivado de dihidrobipiridilo menos coloreado .

Trabajamos con soluciones de 25 ppm de paraquat , con objeto de hacer el resultado más evidente .

Tomamos en tubo de ensayo 5 ml de paraquat perfectamente medidos , cambiamos el pH , para observar si se facilita la reacción .

En una de las pruebas adicionamos la base antes que el reductor y en la otra el reductor antes , estudiando los posibles cambios en cada adición .

De forma que con cada suatancia , por regla general , hacemos cuatro análisis :

A 5 ml paraquat 25 ppm
 1 ml NaOH 30 %
 x ml Reductor 1 %

B 5 ml paraquat 25 ppm
 x ml Reductor 1 %
 1 ml NaOH 30 %

C 5 ml paraquat 25 ppm
 1 ml NaOH 30 %
 x ml Reductor 10 %

D 5 ml paraquat 25 ppm
 x ml Reductor 10 %
 1 ml NaOH 30 %

La o-tolidina es poco soluble en agua , por ello empleamos una disolución saturada de la que cogemos 2 ml la disolución no se colorea .

La o-dianisidina es muy poco soluble en agua, por lo que la disolvemos en alcohol , se hacen las pruebas tomando 2 ml , en ninguno de los casos hay reacción coloreada .

A pesar del carácter reductor del anión yoduro , 2 ml de yoduro potásico al 1% o al 10 % en disolución acuosa no forman el radical azulado derivado del paraquat .

El fenol se oxida fácilmente , tomando un ml de una disolución y mezclándolo en las cantidades y en el orden establecido queda incoloro .

La disolución de hidroquinona es incolora , al mezclar 2 ml de ésta con el paraquat y la sosa se torna en

oro viejo , pero el color es debido a la reacción de la hidroquinona con la sosa .

Los aldehídos se oxidan fácilmente , pero 5 ml de formaldehído no dan color siguiendo cualquiera de los cuatro procesos .

La disolución de ácido pirogálico es parda, al adicionar la sosa a un ml de ácido pirogálico se oscurece, la adición de paraquat no altera el color .

Realizamos las cuatro pruebas con un ml de disolución de nicotinamida , con ninguna se obtiene el radical reducido de paraquat .

Las pruebas realizadas con 1,5 ml de sulfosalicílico como agente reductor no producen el resultado esperado , dando incolora la disolución .

Lo mismo sucede si empleamos en la reacción un ml de oxalato disódico .

Un ml de cloruro crómico utilizado como agente reductor no reduce el paraquat y al poco tiempo de hacer las pruebas en los tubos de ensayos aparecen precipitados verdosos .

La disolución de fosfato de piridoxal es amarilla , tomando 1 ml de fosfato de piridoxal lo adicionamos en los tubos de ensayos , las disoluciones se tornan amarillo limón , de

bido a la presencia de sosa .

Un ml de resorcinol adicionado antes de la sosa da un color morado , si lo adicionamos después de la sosa el to no es más claro , pero en ambos el color desaparece es seguida , con disoluciones de paraquat algo más diluida el color no es proporcional .

Tres ml de clorhidrato de hidroxilamina no dan color con ninguno de los cuatro ensayos . Adicionando un ml de mo libdato amónico al 1 % después del reductor da incoloro , al añadir sosa no varía .

Con 4 ml de disolución saturada en sulfato de hidracina no se reduce el paraquat ; si hacemos reaccionar el sul fato de hidracina con cloruro bórico obtendremos el clorhidrato de hidracina , con este nuevo reactivo tampoco se obtiene la diso lución azulada .

En tubo de ensayo con 200 ppm de paraquat y ferrocianuro potásico , se obtiene un color morado , pero al dis minuir la concentración de paraquat es incoloro .

Con 0,2 ml de cloruro estannoso al 1% adicionado después de la sosa da un color azul , sin precipitados , que desaparece al agitar y más tarde resurge . Diez gramos de cloruro estannoso en 100 ml de agua es una disolución saturada . Con 3 ml de cloruro estannoso al 1 % permanece algo más estable , pe ro desaparece al agitar .

Al adicionar 0,2 ml de hidrosulfito sódico al 1 % después de la sosa , da un color azul claro , sin precipitados, que desaparece al agitar .

Si añadimos 0,1 ml de hidrosulfito sódico al 10 % en las mismas condiciones anteriores, es más estable; la Tabla 1 muestra los valores de absorciones .

Tomando 2 ml de ácido ascórbico al 1 % y agregándolo en un tubo de ensayo antes y después de la sosa se manifiesta un color azul que al agitar desaparece .

Si el volumen adicionado es 2,5 ml al 10 % al agitar tarda algo más en desaparecer ; con 3 ml al 10% tarda aún más . El orden de adición de los reactivos no altera los resultados .

Probamos con 3 ml al 20% , realizando la prueba frente a un blanco con 5 ml de agua , 1 ml de NaOH al 30 % y 3 ml de ácido ascórbico al 20 % (Tabla 2) . La prueba en blanco es amarillenta por lo que el color azul que da la muestra con paraquat queda interferido .

Si utilizamos 4 ml de ácido ascórbico al 20 % la medida espectrofotométrica no se puede llevar a cabo , porque al colocar la muestra en la cubeta pierde su color , es decir es más inestable .

El sulfato ferroso es un agente reductor , en

general las sales ferrosas son oxidadas a férricas más fácilmente en medio alcalino , por disminuir el potencial redox .

Si agregamos 1 ml de sulfato ferroso al 0,1 % después de la sosa, aparece un precipitado en exceso , medimos el pH y resulta igual a 11 .

Para disminuir la basicidad cambiamos la cantidad de sosa por 0,5 ml de bicarbonato sódico saturado, en las mismas condiciones , el pH desciende hasta 8, pero el precipitado sigue apareciendo .

Si repetimos la prueba anterior pero con 1 ml de sulfato ferroso al 1 % , el precipitado de color pardo es aún mayor .

Variando la cantidad de sulfato ferroso adicionado poco a poco así como la cantidad de sosa para observar los posibles cambios , nos detenemos cuando el tubo de ensayo contiene: 5 ml de paraquat , 1 ml de NaOH al 30 % y 0,4 ml de sulfato ferroso al 1 % ; queda un tono azul interferido por el precipitado pardo .

Con estas mismas cantidades se prueba en disoluciones de 50 ppm , 25 ppm y 10 ppm de paraquat , pero el precipitado nos impide hacer la medida espectrofotométrica .

Al oxidarse el sulfato ferroso a sulfato férrico se forma el hidróxido férrico que precipita dando un color par

do , pero la precipitación se puede evitar formando complejos estables mediante fluoruros , tartratos y en general compuestos orgánicos polihidroxilados (BURRIEL , LUCENA , ARRIBAS , 1974) .

Los fluoruros alcalinos forman complejos con los cationes trivalentes , adicionando 0,5 ml de fluoruro sódico al 1 % entre la sosa y el sulfato ferroso , hay precipitado , sin agitar el color es muy difuso .

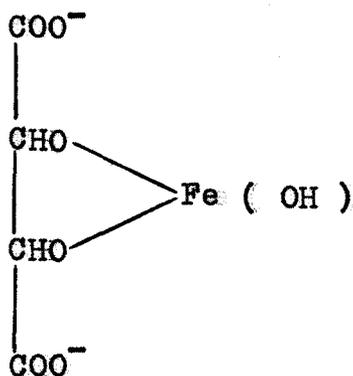
La cantidad de fluoruro es insuficiente , por lo que tomamos : 5 ml de paraquat 5 ppm , 0,5 g NaF , 1 ml de sosa al 30 % y 0,3 ml de sulfato ferroso al 10 % , continua un precipitado verdoso que interfiere el color azul , al disminuir la cantidad de sosa el precipitado sigue apareciendo , pero el color es menos azul .

Tambien podemos utilizar como agente ~~acomple-~~jante la glucosa , si colocamos 5 ml de paraquat 5 ppm , 0,1ml de NaOH al 50 % , 0,5 g de glucosa y 0,3 ml de sulfato ferroso al 10 % se forma un precipitado verde oscuro .

Al disminuir la basicidad porque sólo adicionamos una gota de NaOH al 30 % , es menor el precipitado verde , si la adición es de 1 ml de NaOH 0,2 N , se sigue formando el precipitado verde .

Aumentamos la cantidad de glucosa hasta 1 g y de NaOH 0,2 N sólo adicionamos 2 gotas , pero sigue formándose un precipitado verdoso .

Los tartratos alcalinos tambien forman complejos con los cationes trivalentes (BURRIEL , LUCENA , ARRIBAS , 1974) :



Se adiciona al paraquat : 1 ml de NaOH al 30 % 1 ml de tartrato sódico al 1% y 0,4 ml de sulfato ferroso al 1 %, la reacción no es coloreada pero hay precipitado .

El mismo resultado se obtiene si la cantidad de tartrato sódico al 1 % es 0,5 ml .

Si empleamos 0,5 g de tartrato sódico se disuelve en parte el precipitado , la solución puede ser una mayor cantidad de agente acomplejante y variación de pH .

Por ello probamos con : 5 ml de paraquat 5 ppm 0,5 ml de NaOH al 50 % , 0,5 g de tartrato sódico y 0,6 ml de sulfato ferroso al 10 % , dando un color verdoso .

Si variamos la cantidad de NaOH al repetir el ensayo adicionando 1 ml , la disolución sigue verdosa pero no es transparente .

Por lo tanto mantenemos las condiciones anteriores , pero de sulfato ferroso ponemos 0,3 ml , se observa un verde celestón turbio , el pH es 11 .

Disminuimos el pH colocando sólo 0,5 ml de sosa al 30 % , la disolución es azul , transparente .

Por si se puede mejorar este resultado , cambiamos el volumen de sulfato ferroso al adicionar 0,2 ml pero la disolución presenta un color más pálido .

Tomamos la medida espectrofotométrica (Tabla 3) de : 0,5 ml de NaOH al 30 % , 0,5 g de tartrato sódico , 0,3 ml de sulfato ferroso al 10% y 5 ml de paraquat frente a un blanco realizado con : 0,5 ml de NaOH al 30 % , 0,5 g de tartrato sódico , 0,3 ml de sulfato ferroso al 10 % y 5 ml de agua .

Se puede formar un pequeño precipitado que se filtra; el color inicial del blanco es algo verdoso, el color final es amarillento debido al complejo que forma el tartrato con el hierro .

Para mejorar la disolución de tartrato aumentamos el volumen , puesto que una vez adicionado los 5 ml de paraquat la agitación ha de ser mínima .

Probamos con 0,4 ; 0,5 y 0,6 g de tartrato sódico , de forma que la disolución problema está formada por 1,5ml de NaOH al 10 % , x g de tartrato sódico , 0,3 ml de sulfato ferroso al 10 % y 5 ml de paraquat 10 ppm frente a un blanco respectivo (Tabla 4) según los resultados obtenidos nos decidimos por 0,5 g de tartrato sódico .

Medimos a 600 nm una disolución con: 1,5 ml de NaOH al 10 % , 0,5 g de tartrato sódico , 0,3 ml de sulfato ferroso y 5 ml de paraquat 10 ppm , el resultado es idéntico al que da una solución en la que varía los 2 ml de NaOH al 10 % en lugar de 1,5 ml , por lo que tomamos el primer volumen .

Para determinar paraquat las cantidades de reactivos :

1,5 ml NaOH 10 %

0,5 g $\text{COONa} - (\text{CHOH})_2 - \text{COONa}$

0,3 ml FeSO_4 10 %

Si a ésto le adicionamos 5ml de diferentes disoluciones de paraquat y se mide frente a agua obtenemos unos valores de absorción y estos valores vienen representados en la tabla 5 .

Si disoluciones similares las medimos frente a un blanco formado por los mismos reactivos y 5 ml de agua el valor de absorbancia es más alto y más exacto que en el ensayo an-

terior (Tabla 6) .

Para hacer una representación gráfica se realiza el mismo proceso , pero variando las concentraciones de paraquat , de forma que en las cubetas haya una concentración de : 1 ppm , 2 ppm , 4 ppm , 6 ppm , 8 ppm , 10 ppm , 12 ppm , 14 ppm, 16 ppm . (Tabla 7) con estos resultados se elabora la representación gráfica (Figura 1) .

Una vez tomadas las medidas de absorbancia guardamos las disoluciones y al cabo de media hora y de una hora se miden de nuevo .

En conclusión : este reductor es aplicable para pequeñas concentraciones , con el tiempo disminuyen las D.O. , pero así mismo es utilizable en soluciones diluidas .

Usualmente se utiliza el ditionito sódico como agente reductor , las tablas con los resultados y los estudios para poner a punto esta reacción se explican más adelante .

Tabla 1

D.O. a 600 nm de la Reacción :
Paraquat - Hidrosulfito (Ditionito) sódico

ppm (*)	25	10	5	2
D.O. t=0'	1,220	0,545	0,285	0,105
D.O. t=30'	1,200	0,530	0,280	0,110

(*) : Son las ppm de los 5 ml adicionados a los reactivos.

t : Es el tiempo , en minutos , de las soluciones preparadas.

Tabla 2

D.O. de la Reacción Paraquat - Acido Ascórbico a 600 nm

ppm	2	5	10
(*)			
D.O.	0,060	0,160	0,280

(*) : Son las ppm de los 5 ml adicionados a los reactivos .

Tabla 3

D.O. de la Reacción Paraquat - Sulfato ferroso a 600 nm

ppm (*)	2	5	10
D.O. t=0'	0,100	0,260	0,490
D.O. t=30'	0,100	0,255	0,480
D.O. t=60'	0,090	0,230	0,450

(*) : Son las ppm de los 5 ml adicionados a los reactivos .

t : Es el tiempo , en minutos , de las soluciones preparadas .

Tabla 4

D.O. de la Reacción Paraquat - Sulfato ferroso a 600 nm

g (*)	0,400	0,500	0,600
D.O. t=0'	0,490	0,480	0,450
D.O. t=30'	0,470	0,475	0,430

(*) : g de tartrato sódico adicionado

t : Es el tiempo , en minutos , de las soluciones preparadas

Tabla 5

D.O. de la Reacción Paraquat - Sulfato ferroso a 600 nm

(*)	t=0'	t=30'	t=60'
1 ppm	0,000	0,000	0,000
2 ppm	0,015	0,000	0,000
4 ppm	0,120	0,120	0,110
6 ppm	0,225	0,220	0,210
8 ppm	0,300	0,290	0,275
10 ppm	0,380	0,360	0,345
12 ppm	0,440	0,400	0,380
14 ppm	0,560	0,540	0,515
16 ppm	0,600	0,575	0,540
18 ppm	0,710	0,680	0,650
20 ppm	0,750	0,700	0,655

(*) : ppm de los 5 ml de paraquat adicionados a los reactivos .

t : Tiempo , en minutos , de las soluciones preparadas .

Tabla 6

D.O. de la Reacción Paraquat - Sulfato ferroso a 600 nm .

(*)	t=0'	t=30'	t=60'
1 ppm	0,040	0,040	0,035
2 ppm	0,080	0,075	0,075
4 ppm	0,160	0,160	0,150
6 ppm	0,265	0,260	0,250
8 ppm	0,320	0,310	0,300
10 ppm	0,380	0,375	0,360
12 ppm	0,455	0,440	0,435
14 ppm	0,575	0,570	0,560
16 ppm	0,670	0,655	0,640
18 ppm	0,775	0,755	0,730
20 ppm	0,850	0,835	0,805

(*) : ppm de los 5 ml de paraquat adicionados a los reactivos .

t : Tiempo , en minutos , de las soluciones preparadas .

Tabla 7

D.O. de la Reacción-Paraquat Sulfato ferroso a 600 nm .

(*)	t=0'	t=30'	t=60'
1 ppm	0,055	0,055	0,050
2 ppm	0,110	0,110	0,090
4 ppm	0,230	0,225	0,210
6 ppm	0,350	0,335	0,320
8 ppm	0,450	0,430	0,415
10 ppm	0,550	0,540	0,520
12 ppm	0,750	0,745	0,720
14 ppm	0,900	0,885	0,870
16 ppm	1,200	1,100	1,000

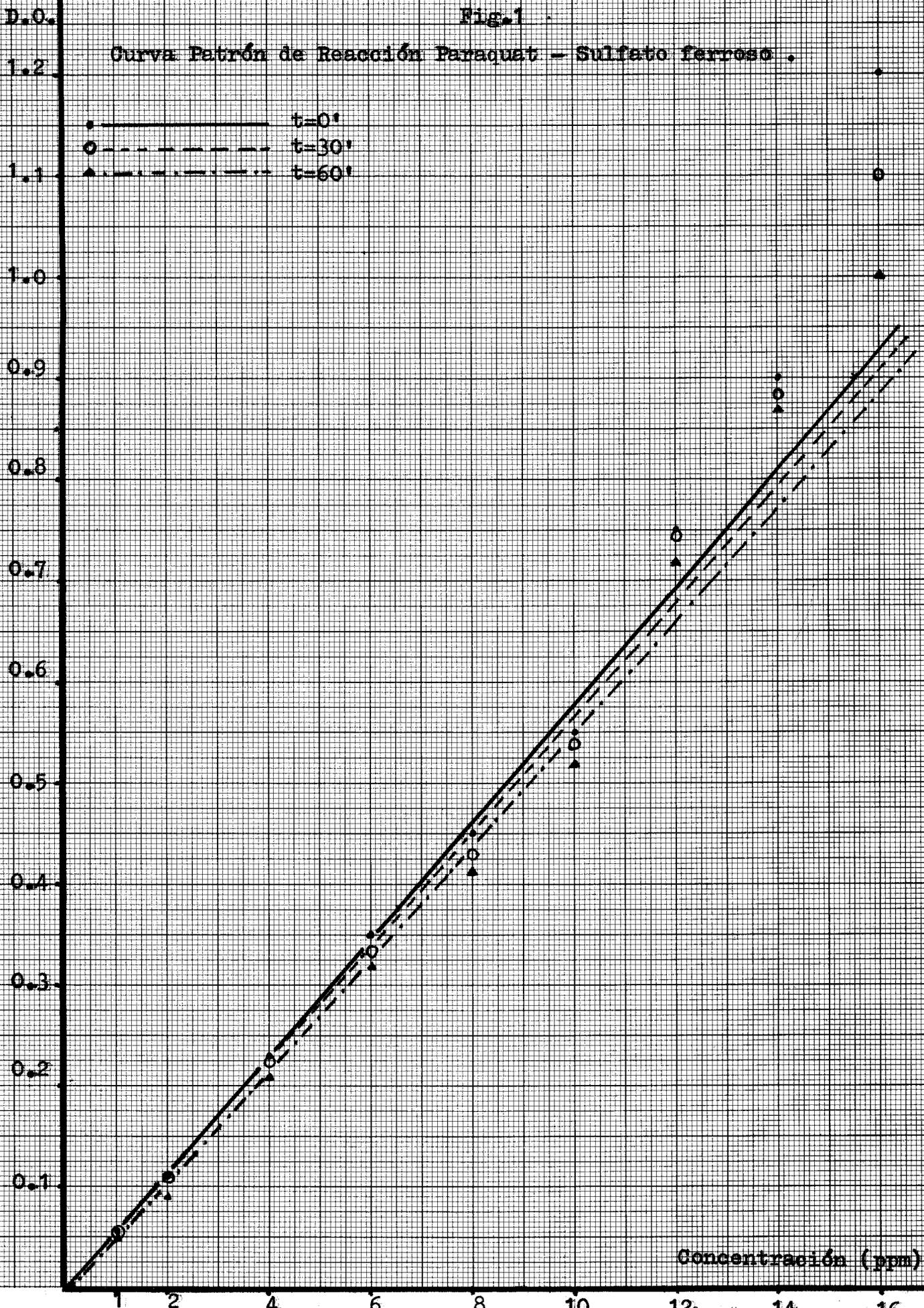
(*) : ppm de la disolución medida .

t : Tiempo , en minutos , de las soluciones preparadas .

Fig.1

Curva Patrón de Reacción Paraquat - Sulfato ferroso .

- ————— t=0'
- - - - - - t=30'
- ▲ ······· t=60'



Concentración (ppm)

III - 3 Cromatografía en capa fina

En la cromatografía en capa fina decidimos utilizar la microplaca como aconseja TSUNENARI (1975) . Las placas de cristal se preparan con silicagel .

Los puntos que se han colocado sobre la microplaca tienen veinte gotas de una disolución de paraquat de concentración 10 ppm . Después de la aplicación de cada gota , se seca la microplaca con aire , porque el disolvente que se ha empleado es agua .

Los sistemas de líquidos de desarrollo empleados son :

- metanol
- cloroformo - metanol (13 : 2)
- cloroformo - metanol (1 : 1)
- cloroformo - metanol (19 : 1)
- metanol - ácido clorhídrico 6 N (20 : 30)
- metanol - ácido clorhídrico 6 N (10 : 30)
- metanol - ácido clorhídrico 6 N (10 : 4)

Las microplacas se vieron con luz UV antes y después del desarrollo , pero no se distinguen las manchas de paraquat .

En principio utilizamos los reveladores que han sido empleados por distintos autores :

- iodoplatinato
- reactivo de Dragendorff's
- vapores de I_2

Con los sistemas 1 , 2 , 3 y 4 al revelar con iodoplatinato aparece la mancha de paraquat en el punto en el que inicialmente se puso .

Al desarrollar con el sistema 6 y pulverizar con el reactivo de Dragendorff's aparece una mancha de color anaranjado desplazada .

Con los sistemas 7 y 8 al revelar con los vapores de iodo las manchas se colorean y se advierte el desplazamiento .

Hemos ensayado numerosos reductores con disoluciones de paraquat en tubo según los resultados obtenidos se aplica en esta técnica .

Empleamos como revelador una disolución con los reactivos utilizados para la reacción del sulfato ferroso en tubo , las manchas no se colorean , repetimos pulverizando en varias fases y cambiando el orden de aplicación , el paraquat no se colorea .

Tampoco sirve como revelador el SnCl_2 , con el que se realizaron , del mismo modo , varias pruebas .

También se probó la ninhidrina al 0,2 % en etanol que se utiliza como reactivo de aminoácidos para cromatografía en papel . Como patrón escogemos la glicocola , las disoluciones de paraquat son de 50 ppm , el desarrollo se realiza con metanol - ácido clorhídrico 6 N (10 : 30) , las manchas no se colorean .

III - 4 Determinación por espectrofotometría UV - visible

La determinación del paraquat es posible debido a la formación de un radical libre intensamente coloreado , a partir de la reducción del paraquat .

Se ha utilizado para llevar a cabo la determinación el Espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 124 y el Espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 200 .

Anteriormente estudiamos diferentes reductores de los que sólo nos dio resultado aprovechable el sulfato ferroso y el ditionito (hidrosulfito) sódico .

Si le adicionamos 0,5 g de tartrato sódico , 1,5 ml de NaOH al 10 % y 0,3 ml de FeSO_4 al 10 % , la disolución de paraquat da un color azul perfectamente medible a 600 nm .

El problema surge cuando empleamos un eluato evaporado ; probamos este reactivo con el residuo del eluato evaporado de una columna en la que habíamos introducido un extracto de vísceras y con el de una columna en la que la muestra era de una disolución patrón, en ambas pruebas permanece incolora la disolución .

En una disolución que contiene paraquat y cloruro amónico, en las mismas proporciones anteriores, se adicionaron los mismos reactivos , no se produce la reacción coloreada.

Después de evaporar el eluato de una columna de resina de amberlita IR-120 , se realiza la prueba y da incolora, es debido a una pequeña cantidad de cloruro amónico que interfiere .

El ion ferroso en presencia de sales amónicas se altera . Las sales ferrosas son reductores más fuertes en presencia de tartratos y en general con sustancias que formen complejos con el catión férrico (BURRIEL , LUCENA , ARRIBAS , 1974)

El ion amonio en medio ligeramente ácido y en presencia de ácido tartárico precipita un bitartrato amónico de color blanco :



El precipitado de bitartrato se disuelve tanto en medio alcalino como en ácido mineral .

Se probó utilizando tartrato y cloruro amónico observándose la precipitación .

En una disolución de paraquat añadimos cloruro amónico , ácido tartárico y sosa , se filtra el precipitado y adicionamos unas gotas de NaOH y sulfato ferroso , dando color azul .

Sabiendo la cantidad que hay de cloruro amónico se puede calcular la que necesitamos de tartárico , si queremos que haya un exceso para que el hidróxido férrico que se forme no precipite .

En un tubo de ensayo se colocan 2 ml de paraquat de 50 ppm , 0,625 g de cloruro amónico , 5 ml de agua y 5 g de ácido tartárico , se va adicionando poco a poco NaOH del 20 % , se va filtrando , se adiciona el sulfato ferroso y unas gotas de sosa , dando color azul .

Se repite con NaOH del 40 % necesitando 3,5 ml para que se efectúe la reacción .

De forma que hacemos una prueba sin pasar por la columna , adicionando a la muestra 0,625 g de cloruro amónico y los eluyentes (de la IR-120) evaporando y añadimos sobre el residuo :

- 5 g $\text{COOH} - (\text{CHOH})_2 - \text{COOH}$

- 3,5 ml NaOH 40 %

- Filtramos y adicionamos 0,3 ml FeSO_4 10 %

La D.O. de esta disolución es 0,49 , según la muestra preparada teóricamente tiene 10 ppm , en la curva patrón (Figura 1) esta concentración corresponde con una D.O. = 0,575 con lo que las pérdidas han sido de 14,79 % .

Se realiza el mismo proceso a partir de un residuo de eluato que proviene de una columna con resina IR-120 , la D.O. medida es 0,365 , comparándola con la curva patrón (Fig. 1) presupone unas pérdidas del 36,53 % .

La determinación de paraquat se ha realizado siempre mediante el ditionito sódico como agente reductor , la técnica es fácil .

Se toman las disoluciones problemas y se les añade 1 ml de ditionito sódico 1 % en NaOH N , produciéndose inmediatamente la coloración azul , que permanece estable al menos una hora .

Determinamos la D.O. a 600 nm de una disolución de paraquat con ditionito sódico frente a un blanco y frente a la cubeta con agua destilada , los resultados son idénticos .

Medimos la absorbancia de la disolución de paraquat con uno y con dos ml de ditionito sódico al 1% en NaOH N, los valores son semejantes .

Tenemos distintas diluciones de 1 ppm , 2 ppm , 4 ppm , 6 ppm , 8 ppm , 10 ppm , 12 ppm , 14 ppm , 16 ppm , 18 ppm y 20 ppm de paraquat, de las que tomamos 5 ml en un tubo de ensayo con 1 ml de reactivo reductor (Tabla 8) , la absorbancia se ha medido inmediatamente después de preparar las disoluciones y pasados 30' y 60' .

Esto mismo se puede hacer partiendo de una disolución de 25 ppm y tomando distintos volúmenes de forma que la concentración final en un matraz de 10 ml sea de 1 ppm , 2ppm , 4 ppm , 6 ppm , 8 ppm , 10 ppm , 12 ppm , 14 ppm de paraquat (Tabla 9) .

A partir de estos valores se ha obtenido una gráfica (Fig. 2) representándose la variación con el tiempo y la absorción con respecto a la concentración .

Tabla 8

D.O. de la Reacción Paraquat - Ditionito a 600 nm

(*)	t=0'	t=30'	t=60'
1 ppm	0,085	0,085	0,085
2 ppm	0,150	0,145	0,140
4 ppm	0,240	0,235	0,235
6 ppm	0,370	0,365	0,360
8 ppm	0,485	0,485	0,480
10 ppm	0,605	0,600	0,595
12 ppm	0,695	0,695	0,675
14 ppm	0,790	0,785	0,780
16 ppm	0,905	0,895	0,895

(*) : ppm de los 5 ml de paraquat adicionados a los reactivos .

t : Tiempo , en minutos , de las soluciones preparadas .

Tabla 9

D. O. de la Reacción Paraquat - Ditionito a 600 nm

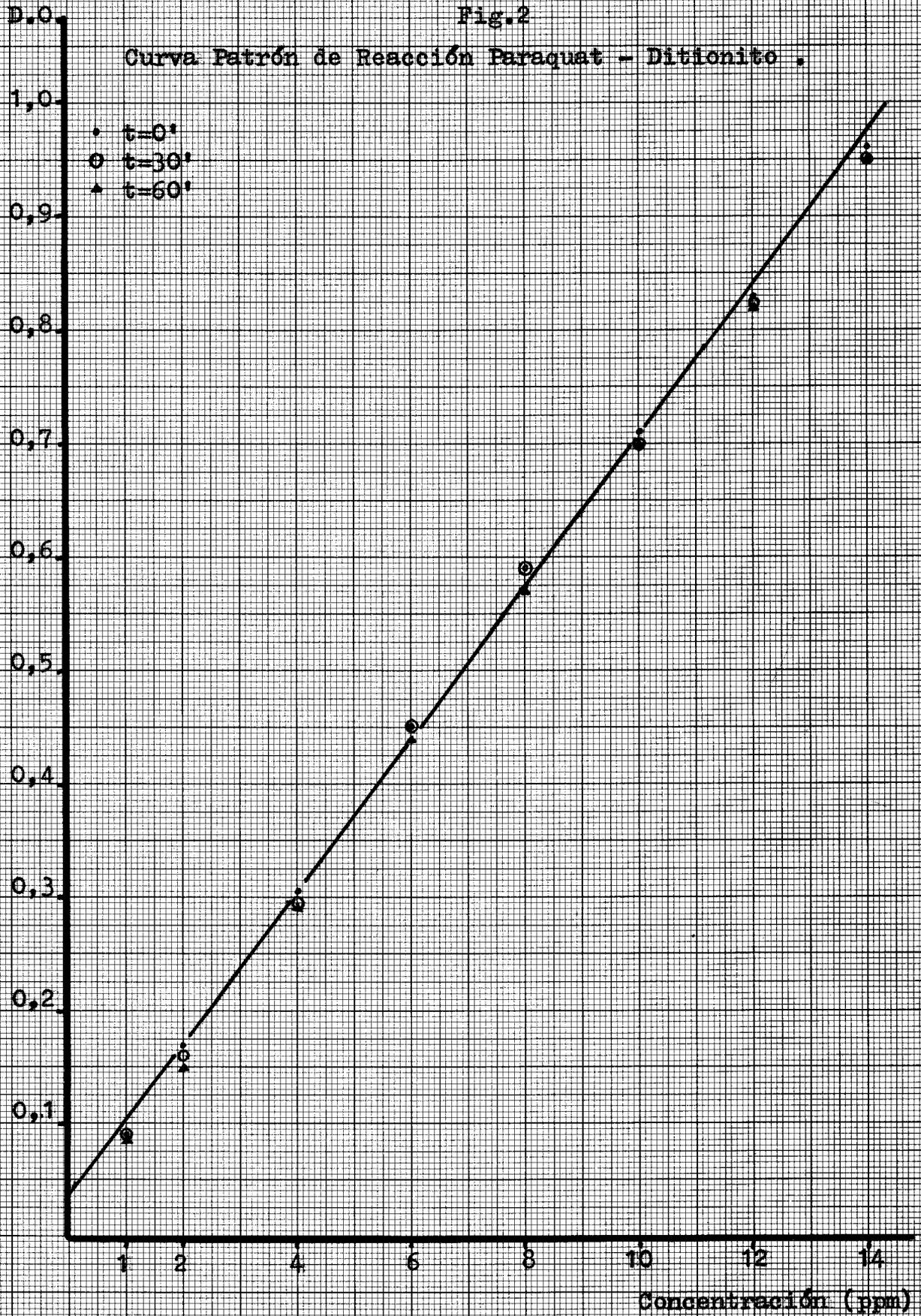
(*)	t=0'	t=30'	t=60'
1 ppm	0,090	0,090	0,085
2 ppm	0,170	0,160	0,150
4 ppm	0,305	0,295	0,290
6 ppm	0,450	0,450	0,440
8 ppm	0,590	0,590	0,570
10 ppm	0,710	0,700	0,700
12 ppm	0,830	0,825	0,820
14 ppm	0,960	0,950	0,950

(*) : ppm de las disoluciones medidas .

t : Tiempo , en minutos , de las soluciones preparadas .

Fig.2

Curva Patrón de Reacción Paraquat - Ditionito .



III - 5 Separación por columna-Ensayos con disoluciones de paraquat

Para las muestras que contengan paraquat el tipo de resina que se ha utilizado es el de intercambio catiónico y concretamente una de las más empleadas es la resina de amberlita IR-120 .

Debido a la gran aceptación que hoy tiene la resina de amberlita XAD-2 hemos estudiado su utilización para el aislamiento de paraquat y para hacerlo comparativamente con la IR-120 , hemos puesto a punto , ésta , previamente .

A Resina de Amberlita IR-120

Utilizamos columnas de 20 x 1 cm , con 10,5 g (15 cm de altura) de resina ; una vez montada se le pasa abundante agua y se deja como mínimo 24 h .

Después de utilizada , la resina se regenera con 90 ml de HCl 1 N y adición de agua hasta neutralidad .

En estos ensayos previos utilizamos como muestra dos ml de solución patrón de paraquat de 50 ppm diluidos hasta 10 ml , el pH de esta disolución es aproximadamente 6 ; se in

troduce en la columna y queda retenida .

Se adiciona agua para ver si arrastra al paraquat ; se analiza ésta con ditionito y permanece incolora .

Probamos , como eluyente , el cloruro amónico saturado , como aconsejan casi todos los autores , se recogen diferentes fracciones eluidas y se someten a reacción con ditionito sódico en medio alcalino , comprobando que el paraquat no pasa .

La mayoría de los investigadores después de regenerar y neutralizar la columna adicionan disolución acuosa de cloruro amónico al 2,5 % y agua hasta neutralidad , preparando la columna en éstas condiciones se extrae algo de paraquat en la tercera fracción .

Repetimos el proceso tratando previamente la columna , introducimos las disoluciones de paraquat , adicionamos agua , eluimos con solución acuosa de cloruro amónico saturado .

Como el volumen de disolución de cloruro amónico utilizado es grande , es necesario evaporar en rotavapor , lavar el precipitado con metanol , filtrar y evaporar de nuevo, en este residuo hacemos la determinación .

Esta serie de procesos implica grandes pérdidas , por ello trabajamos con otros eluyentes . Probamos con so

lución acuosa de cloruro amónico al 2,5 % y da débilmente positivo . Eluimos con ácido clorhídrico 5 N como indica TSUNENARI en 1965 ; La D.O. del residuo del eluato evaporado es 0,63 , lo que representa una recuperación del 88,0 % .

Por el contrario , muestras neutras , al tratarse la disolución de paraquat con NaOH al 10 % , se retenían menos en la resina ; lo mismo sucede si las muestras tienen un pH de 5,5 .

En resumen : podemos deducir que la mejor técnica para la separación del paraquat con resina de amberlita de tipo IR-120 es adicionar 25 ml de cloruro amónico al 2,5 % , agua hasta neutralidad , introducir lentamente la muestra a pH 6 , lavar con 20 ml de agua y eluir con 50 ml de ácido clorhídrico 5 N .

B Resina de Amberlita XAD-2

Esta resina es un copolímero de estirenonilbenceno , fue empleada por primera vez por FUJIMOTO y WANG (1970) y para aislar fármacos de la orina (BASTOS y col. , 1972 ; OSBORNE y GARE , 1973 ; BASTOS y col. , 1973) , posteriormente de los tejidos (PRANITIS y col. , 1974 ; PRANITIS y STOLMAN , 1975 ; STOLMAN y PRANITIS , 1977 ; BOGUSZ y col. ,

1978) .

Las columnas utilizadas miden 20 x 1 cm , se llenan con 10 gramos de resina de amberlita XAD-2 (15 cm de altura) .

La resina se deja en agua al menos 48h antes de su utilización como aconseja OSBORNE y GARE (1973) .

Siguiendo la técnica general , una vez lavada ésta con 100 ml de metanol y 1 ml de ácido clorhídrico concentrado , adicionar agua hasta neutralidad , se introduce la muestra a pH ácido (9,5 ml de paraquat de 10 ppm y 0,5 ml de HCl N) , se lava con agua ; se eluye con éter .

Posteriormente se hace succión para secar la columna y se alcaliniza con corriente gaseosa de amoniaco hasta reacción positiva con fenolftaleína y se eluye nuevamente con éter .

El agua que se desplaza de la columna al introducir la muestra contiene paraquat , así como el agua que sale con el primer eluyente . Los eluatos se secan con sulfato sódico y se evapora a sequedad ; ni en el éter ácido , ni en el éter básico hay paraquat , es decir no queda retenido en la resina .

Se repite la prueba introduciendo las muestras muy lentamente , en las primeras aguas recogidas no apare-

ce paraquat.

Variamos la cantidad de paraquat por si no hay suficiente resina para retenerlo . Utilizamos muestras de dos ml de paraquat con 10 ppm a pH 5-6, pero el resultado es idéntico al anterior . Pensamos que el paraquat no queda retenido en la columna cuando las muestras se introducen a pH ácido . Por ello se intentó alcalinizar las muestras antes de introducir las en la columna (pH 10 - 11) .

Con muestras básicas (pH 10 - 11) no se detecta paraquat ni en el agua de desplazamiento, ni en el agua que contiene el éter ácido , ni en el éter ácido , ni en el éter básico ; es decir queda retenido en la columna .

Después de las eluciones con éter , se lavó la columna con 50 ml de cloruro amónico al 10 % y con 50 ml de cloruro amónico saturado ; no se consigue tampoco la extracción del paraquat .

Aumentamos la concentración de paraquat para asegurarnos de que en las manipulaciones que se realizan no se pierde poco a poco .

Se introduce en la columna 2 ml de paraquat de 50 ppm a pH 11 . La determinación de paraquat en todas las fracciones da negativa .

Como las eluciones con éter no dan resultado

se empieza a eluir con otros disolventes . Probamos con 20 ml de metanol , el residuo del eluato evaporado se trata con ditionito sódico en medio alcalino y la disolución queda incolora . Si probamos con 50 ml de metanol y 0,5 ml de HCl concentrado , en el eluato hay algo de paraquat .

Todos los investigadores al utilizar la resina XAD-2 eluyen con disolventes orgánicos, como éstos no nos han dado resultado probamos con los eluyentes acuosos empleados en la IR-120 .

Después de introducida la muestra (2 ml de paraquat 50 ppm , una gota de NaOH al 30 % y otra 0,1 N) lavamos con agua , eluimos con 50 ml de disolución acuosa al 2,5% en cloruro amónico y obtenemos reacción positiva en el análisis del paraquat en el eluato ; una segunda elución con 30 ml saturados en cloruro amónico no extraen paraquat .

Cambiamos el pH de la muestra , a los dos ml de paraquat se le adicionan dos gotas de NaOH al 30 % y eluimos con 50 ml de cloruro amónico al 3 % , evaporamos el eluato , le añadimos los reactivos y medimos al espectrofotómetro , la D.O. es 0,19 (23 % de recuperación) . Una muestra con la misma concentración pero sin ningún tratamiento al reaccionar con ditionito tiene una D.O. de 0,710 . Si con la disolución inicial realizamos todas las manipulaciones excepto el paso por la columna su D.O. es 0,615 , llevando este valor a la curva patrón indica unas pérdidas del 14 % .

Una vez introducida la muestra eluimos con 50 ml de cloruro amónico saturado y después con 50 ml de metanol y 0,5 ml de HCl concentrado . Evaporamos el primer eluato , el residuo se lava con metanol , se evapora éste y se determina en su disolución acuosa el paraquat , la D.O. es 0,17 , que representa una recuperación de 2 ppm , es decir un 20% . La reacción del ditionito sódico con el residuo del segundo eluato es ligeramente positiva .

Después de regenerada la columna se pasan dos ml de paraquat de 50 ppm y dos gotas del 30 % , se eluye con 50 ml de cloruro amónico saturado , evaporamos el eluato , lavamos el residuo con 20 ml de agua y evaporamos ésta , adicionando al residuo NaOH suficiente para que se disuelva , obtenemos un volumen de 10 ml , la D.O. es 0,190 (23 % de recuperación) . Re-pitiendo todo el proceso menos el paso por la columna, la D.O. es 0,390 , con lo que las pérdidas , sólo en la manipulación , han sido 47,5% .

Siguiendo el proceso que se llevó a cabo con la IR-120 se introduce una nueva modificación : una vez regenerada la columna se lava con solución de cloruro amónico al 2,5 % y a continuación se lava con agua y se introduce la muestra , eluimos igual que antes ; la reacción del ditionito sódico con el residuo del eluato evaporado da una D.O. de 0,260 (que representa 33,5 % de recuperación) , pero en las aguas de regenerado de la columna hay paraquat , es decir que éste no se ha extraído totalmente .

Todos estos resultados demuestran que la elución se ve favorecida en medio ácido , por lo que medimos la acidez de diferentes soluciones saturadas : cloruro amónico pH entre 4 -3 , nitrato amónico pH = 5 - 6 , sulfato amónico pH = 6 - 5 .

Introducimos la muestra con dos gotas de NaOH al 30 % y una 0,1 N , eluimos con 50 ml de HCl 0,1 N ; la D.O. del eluato previamente tratado es 0,1 , lo que indica que se han recuperado 0,95 ppm , es decir 9,5 % , en el regenerado de la columna hay paraquat .

En las mismas condiciones eluimos con 50 ml de cloruro amónico al 2,5 % y 0,5 ml de ácido clorhídrico concentrado ; la D.O. del residuo del eluato con ditionito en 10 ml de disolución es 0,310 , es decir con este eluyente recuperamos un 41 % .

Adicionando a la muestra tres gotas de NaOH al 30 % , la determinación de paraquat en el eluato evaporado da una D.O. de 0,1 ; si la adición es de seis gotas la D.O. es 0,08 Adicionando a la muestra tres gotas al 30 % y eluimos con 50 ml de ácido clorhídrico 2 N , la D.O. del eluato preparado es 0,10, lo que indica grandes pérdidas .

Si eluimos con 50 ml de cloruro amónico al 2,5 % y 1 ml de HCl concentrado , la D.O. del residuo de eluato con ditionito es 0,275 (35,5 % de recuperación) .

Comparando estos resultados con los anterio-

res decidimos añadir menos NaOH .

Adicionando a la muestra dos gotas de NaOH al 30 % y eluyendo con 50 ml de HCl 2 N , la determinación de paraquat nos da una D.O. de 0,120 . Probamos la elución con distintas concentraciones de HCl : 2N , 3N , 3,5N , 4N . Observando los resultados confirmamos que las diluciones de ácido clorhídrico no son buenos eluyentes .

Introducimos la muestra en las mismas condiciones y eluimos con 50 ml de ácido clorhídrico 2N y con cloruro amónico al 2,5 % ; la D.O. del residuo del eluato con el reactivo es 0,195 , lo que nos indica que se ha extraído 23,5 μ g , es decir 23,5 % de recuperación .

Pero si este proceso lo hacemos disminuyendo la velocidad de penetración de la muestra , el resultado mejora. Se deja salir de la columna el líquido sobrenadante y a continuación se introduce poco a poco y goteando la muestra a la velocidad de 1 ml / min . Empleando el mismo eluyente anterior la D.O. es 0,29 (se recupera un 38 %) .

Probamos con el mismo eluyente variando la alcalinidad de la muestra , primeramente repetimos el ensayo anterior (la muestra tiene dos gotas de NaOH al 30 %), la D.O. del residuo del eluato con el reductor es 0,285 (la recuperación es 37 %) , después pasamos por la columna 50 ml de ácido clorhídrico 4N que arrastra algo de paraquat ; un segundo ensayo con cinco gotas de NaOH al 10 % con el mismo eluyente , tratando previa

mente el eluato la D.O. es 0,295 (39 % de recuperación) , a continuación eluimos con 50 ml de ácido clorhídrico 4N , en el eluato se encuentra algo de paraquat . Un tercer ensayo añadiendo a la muestra una gota al 30 % , la D.O. del eluato con ditionito es de 0,49 (67,5 % de recuperación) al eluir con ácido clorhídrico 4N no se extrae paraquat .

Pero nos interesa introducir el paraquat más diluido para asegurarnos de que queda perfectamente retenido en la resina y porque en la práctica los extractos tienen volúmenes mayores .

Si la muestra está formada por : 2 ml de paraquat de 50 ppm , una gota de NaOH al 30 % y 8 ml de agua , eluimos con 50 ml de HCl 3,75 N con cloruro amónico al 2,5 % , la D.O. del residuo del eluato es 0,57 (la recuperación es 79 %) ; el regenerado de la columna no contiene paraquat .

Adicionando a 2 ml de paraquat de 50 ppm una gota de NaOH 0,1 N y 8 ml de agua , al eluir igual que anteriormente la D.O. del eluato previamente preparado es 0,62 (86,5% de recuperación) .

Introducimos en la columna 2 ml de paraquat , 50 ppm , dos gotas de NaOH al 30 % y eluyendo igual que antes , el residuo del eluato tratado con reductor tiene una D.O. de 0,515 (71 % de recuperación) .Lo que nos va indicando como al subir la alcalinidad va disminuyendo la recuperación .

Empleamos las mismas condiciones anteriores pero adicionando a la muestra sólo una gota de NaOH 0,1 N, la D.O. del eluato preparado previamente es 0,625 (es decir se extraen 86 μ g , 86 % de recuperación) .

En resumen , de todas las experiencias realizadas , deducimos que las mejores condiciones de empleo de la resina XAD-2 para separar el paraquat son :

Una vez regenerada la columna con metanol y ácido clorhídrico 4 N , se lava con agua hasta neutralidad , 20 ml de cloruro amónico al 2,5 % y se lava con agua hasta que ésta salga neutra ; la muestra (2 ml de paraquat 50 ppm , una gota de NaOH 0,1 N y 45 ml de agua) ha de introducirse muy lentamente , se lava con 20 ml de agua , se eluye con disolución de cloruro amónico al 2,5 % en clorhídrico 3,75 N .

C Comparación de las dos resinas .

Hemos puesto a punto el aislamiento de paraquat a partir de disoluciones acuosas , pero es necesario conocer si la resina de amberlita XAD-2 presenta mayores pérdidas o mejor proporción de recuperación que la resina de intercambio catiónico IR-120 .

Se hicieron disoluciones acuosas de paraquat de 50 ppm , 40 ppm , 30 ppm , 20 ppm , 10 ppm , 5 ppm de las que se tomaron dos ml para preparar las muestras que se introducen en la columna .

Los dos ml se han diluido en 40 ml de agua a pH adecuado , según la resina empleada, con lo que las disoluciones son de 2,5 ppm , 2,0 ppm , 1,5 ppm , 1,0 ppm , 0,5 ppm y 0,25 ppm .

Estas disoluciones tienen 10 , 20 , 40 , 60 , 80 y 100 μ g , de cada una pasamos seis columnas , tres con la resina XAD-2 y tres con la resina IR-120 . Los resultados obtenidos con la IR-120 se encuentran en la tabla 14 y los obtenidos con la XAD-2 están en la tabla 15.

Además con estas disoluciones se realizaron todas las manipulaciones a que se sometieron las muestras cuando se emplea la resina IR-120 ó XAD-2 , excepto el paso por la columna (tabla 13) .

III - 6 Trabajo con animales

Los animales empleados en este estudio son : ratas y ratones , a los que se les administran distintas dosis de paraquat .

Las ratas y ratones intoxicados sobreviven un determinado tiempo , según la dosis , pero al final mueren todos los animales .

Les extraemos los pulmones , los riñones y los hígados , donde posteriormente determinaremos las concentraciones de paraquat acumulado .

Los animales utilizados son de distintos sexo, edad y peso , ésto influirá en la acumulación de paraquat en los tejidos .

La vía de administración que hemos utilizado es la s.c. , porque se absorbe muy bien el paraquat y de forma rápida .

Las dosis inyectadas varían desde 250 mg / Kg a 22 mg / Kg ; la supervivencia oscila entre varias horas los primeros y cinco días los últimos .

Tambien se han matado animales sin paraquat a

los que se les ha adicionado el tóxico " in vitro " , con objeto de conocer exactamente la concentración de herbicida en las muestras ,

De este modo se utilizaron para el presente estudio :

"In vivo" : 3 ratas con una dosis de 250 mg / Kg
3 ratones ,, ,, ,, ,, 200 mg / Kg
2 ratones ,, ,, ,, ,, 160 mg / Kg
2 ratones ,, ,, ,, ,, 100 mg / Kg
3 ratones ,, ,, ,, ,, 80 mg / Kg
3 ratones ,, ,, ,, ,, 50 mg / Kg
1 rata ,, ,, ,, ,, 35 mg / Kg
2 ratas ,, ,, ,, ,, 30 mg / Kg
5 ratones ,, ,, ,, ,, 25 mg / Kg
3 ratas ,, ,, ,, ,, 25 mg / Kg
3 ratas ,, ,, ,, ,, 22 mg / Kg

"In vitro" : 13 ratas

III - 7 Preparación de la muestra

Las muestras biológicas en nuestro caso serán: pulmones , hígado y riñones de ratas y ratones .

Estas vísceras primeramente , han de pesarse para poder referir posteriormente los resultados en mg de paraquat / Kg .

Los pulmones de rata tienen un peso medio de 4 g , el hígado de 10 g , los riñones de 2 g , los pulmones de ratón de 0,3 g , el hígado de 1 g y los riñones de 0,3 g .

Las vísceras se trocean en pedazos pequeños y se introducen en el homogenizador , se le adiciona 5 ml de ácido tricloroacético al 10 % y se homogeniza , repitiéndolo tres veces más .

El pH es aceptable , puesto que en medio ácido el paraquat es estable , pero al introducir el homogenizado en la columna es necesario cambiar el pH .

Se calienta a 70°C durante 45 minutos, lo centrifugamos 10 minutos , se decanta y el precipitado se lava .

En las primeras pruebas lavábamos con 15 ml de ácido tricloroacético al 10 % , después lo hicimos con 15 ml de agua . Se centrifuga de nuevo y se añaden los líquidos de la

vados al primer sobrenadante .

Estas muestras se pueden pasar directamente por la columna , o bien se pueden guardar en nevera y proseguir el análisis 24 - 48 h después .

En los análisis " in vitro " le adicionamos el paraquat momentos antes de pasar por la columna o bien en el troceado de las vísceras .

III - 8 Separación por columna - Ensayos con animales

Hemos aislado el paraquat de sus disoluciones acuosas , pero debemos conocer el rendimiento de ambas resinas a partir de muestras biológicas .

A Resina de Amberlita IR-120 .

Una vez puesta a punto la técnica de separación con IR-120 , a partir de disoluciones acuosas de paraquat , la aplicamos a la extracción desde medios biológicos ; para ello utilizamos un homogenizado de vísceras de ratas al que añadimos 2 ml de solución patrón de paraquat de 50 ppm que se lleva a pH 6 . Lavamos con 20 ml de agua y eluimos con 50 ml de HCl 5 N , el eluato se evapora a sequedad , al residuo le adicionamos un poco de agua , NaOH para que el pH sea ligeramente alcalino y 1 ml de solución al 1 % de ditionito sódico en NaOH 1 N , se lleva a 10 ml y se mide la D.O. que resulta ser de 0,605 , inferior a la que corresponde a 2 ml de disolución patrón (D.O. 0,71) lo que supone una recuperación del 85,2 % en la extracción .

La columna se regenera con 90 ml de ácido clorhídrico 1 N , agua hasta neutralidad , 25 ml de cloruro amónico

al 2,5 % y lavados con agua .

B Resina de Amberlita XAD-2 - Ensayos " in vitro "

Los extractos se realizaron 24 ó 48 h antes y su elaboración ya ha sido explicada .

Al principio comenzamos con animales a los que se les había inyectado una dosis de paraquat determinada , pero para el conocimiento de las pérdidas es mejor los estudios " in vitro " .

Realizamos un extracto de hígado de rata . Momentos antes de pasar por la columna se neutraliza adicionándose además una gota de NaOH del 30 % . Sobre estos extractos añadimos 2 ml de paraquat 50 ppm .

El extracto de hígado es muy amarillo , por lo que , una vez pasada la muestra , el agua de desplazamiento es amarillenta , el agua de lavado es aún más amarilla , el eluato tiene un ligero tono y el regenerado es amarillo . Por ello al adicionar los reactivos a los líquidos que salen de la columna no podemos asegurar la ausencia de paraquat . Además en los extractos

hay sustancias oxidantes que pasan a estos líquidos , excepto en el eluato , y que interfieren la reacción con ditionito .

Para evitar al máximo el paso de sustancias orgánicas al eluato ensayamos lavar la columna , antes de eluir , con distintas sustancias orgánicas donde el paraquat es menos soluble .

Lavamos con metanol , al salir de la columna se evapora y hacemos reaccionar el residuo con ditionito , dando un intenso color amarillo donde tiene que haber paraquat porque en el eluato no se encuentra .

Si empleamos el metanol como eluyente , lavando previamente con abundante agua, al añadir el reductor al eluato evaporado da un color azul que desaparece muy pronto debido a que extrae de la columna sustancias oxidantes del extracto .

Si lavamos con éter etílico tampoco podemos asegurar que extraiga paraquat porque en la determinación colorimétrica aparece un color amarillo intenso , pero en el eluato no hay la concentración debida .

Pasamos un nuevo extracto por la columna, después de obtener el eluato , lo tratamos en un embudo de decantación con diversos disolventes orgánicos de modo que extraiga el máximo posible de sustancias orgánicas y el mínimo de paraquat.

Este tratamiento lo llevamos a cabo con tres

fracciones de 15 ml cada una de éter etílico , tres fracciones de hexano y tres de éter de petróleo ; hay paraquat en el éter etílico y en el éter de petróleo , por lo que este tratamiento no interesa .

Empleamos el proceso indicado para la separación de paraquat de las disoluciones , pero llevando el extracto a pH 10 , la D.O. del eluato evaporado y tratado convenientemente es 0,56 , lo que significa que se ha extraído 77,5 μ g , es decir 77,5 % de recuperación .

Si el pH del extracto de hígado lo ajustamos a pH 11 aproximadamente , el eluato tratado tiene una D.O. de 0,52 (72 % de recuperación) lo que nos indica que queda más retenido .

Tomamos el extracto de vísceras y con NaOH del 30 % se lleva a pH 5 , con NaOH del 10 % lo ajustamos a pH 6 , la D.O. de la disolución del residuo de eluato y ditionito es 0,640 (89,5 % de recuperación) .

Repetimos el mismo proceso pero llevando el extracto a un pH de 7 , la D.O. de la reacción del ditionito con el eluato evaporado es 0,630 (se recupera un 83 %) .

Para mayor seguridad realizamos otra prueba llevando la muestra a pH 5,5 aproximadamente , la concentración de paraquat extraída ha disminuido , porque la D.O. medida es 0,55 (76,5 % de recuperación) .

Una nueva determinación , pasando la muestra a pH 7 aproximadamente , al reaccionar el reductor con el residuo de eluato nos da una D.O. de 0,635 (89 % ha sido la recuperación). Con lo que queda demostrado que el margen óptimo de pH es entre 6 y 7 .

Por otra parte se pasa un extracto de hígado por columna de resina de KAD-2 , del eluato hacemos dos fracciones . Valoramos una con ditionito sódico , dando de D.O. 0,320 (la recuperación ha sido de 85 %) ; en la otra fracción adicionamos 0,5 g de tartrato , 1,5 ml de NaOH y 0,3 ml de FeSO_4 al 10 % pero da incoloro debido a que el cloruro amónico interfiere en la reacción .

Después de los estudios realizados en el capítulo de determinación por espectrofotometría UV - visible , se pasa un nuevo extracto de hígado y al residuo del eluato se le añade 5 g de ácido tartárico , 3,5 ml de NaOH al 40 % , filtramos y adicionamos 0,3 ml de FeSO_4 al 10 % y completamos hasta 10 ml , la D.O. de esta disolución es 0,355 , que significa un 61,5 de recuperación .

En resumen deducimos que la mejor técnica de empleo de la resina KAD-2 con paraquat es : lavar previamente con 20 ml de cloruro amónico al 2,5 % , neutralizar , añadir la muestra a pH 6 - 7 muy lentamente , lavar con 20 ml de agua , eluir con 50 ml de HCl 3,75 N con cloruro amónico al 2,5 % , la columna se regenera con 30 ml de ácido clorhídrico 4N y 50 ml de meta

nol .

Ensayos "in vivo"

Las vísceras de los animales intoxicados como se expone en el capítulo de preparación de las muestras : se pesan , se homogenizan , se desproteinizan ; llevamos los extractos a pH 6 - 7 .

La columna se regenera , lavamos con agua hasta neutralidad , 20 ml de cloruro amónico al 2,5 % y agua hasta neutralidad .

Se introduce la muestra muy lentamente con una velocidad de 1 ml / min , se eliminan las sustancias no retenidas con 20 ml de agua , eluimos con 50 ml de clorhídrico 3,75 N al 2,5 % en cloruro amónico .

Los extractos contienen en unos casos el pulmón , el hígado y el riñón de una misma rata , en otros sólo una víscera y en aquellos animales a los que se les ha administrado pequeñas dosis o cuando se trataba de ratones con dosis media , los homogenizados los hacíamos con varios pulmones , hígados o riñones .

Los resultados de los análisis realizados en pulmón se encuentran en la tabla 10, en hígado en la tabla 11 y en riñón en la tabla 12 .

En el caso del pulmón, al residuo del eluato evaporado se le adiciona el ditionito sódico en medio alcalino y se lleva a 10 ml , excepto en las muestras cuya dosis fue : 22 , 25 , 30 , 50 y 100 mg / Kg que las llevamos a 5 ml al preveer la menor concentración de paraquat .

En las pruebas de hígado, el residuo del eluato se lleva a 10 ml, excepto en los extractos que provienen de animales a los que se les administró : 22 , 25 , 50 mg / Kg que se llevan a cinco ml y el último eluato que se le adicionó agua hasta 20 ml .

En los extractos de riñón, los residuos se llevan a 10 ml, menos en aquellos animales cuya dosis fue de: 22 , 25 y 50 mg / Kg .

Una vez obtenidas las densidades ópticas, mediante la figura 2 (curva patrón de la reacción de paraquat con ditionito sódico) llegamos a conocer la concentración de paraquat .

C Comparación de las dos resinas .

Anteriormente estudiamos la comparación de am bas resinas a partir de disoluciones acuosas pero es necesario conocer también la diferencia de los rendimientos a partir de los extractos .

Se trataron tres ratas machos con 250 mg de pa raquat por Kg (vía s.c.) , sobrevivieron horas . Se tomó la mitad aproximadamente de cada víscera , se pesó e hicimos un extrac to mixto .

De forma que el primer extracto contiene : 0,21 g de pulmón , 1,85 g de hígado y 0,33 g de riñón ; el segundo : 0,25 g de pulmón , 0,93 g de hígado y 0,30 g de riñón ; el tercero contiene : 0,37 g de pulmón , 1,97 g de hígado y 0,31 g de riñón .

Se homogeniza y desproteíniza como indicamos en el capítulo de la preparación de las muestras ; los volúmenes obtenidos en los extractos son : del primero 34 ml , del segundo 33 ml y del tercero 33 ml .

De estos volúmenes se toman dos fracciones igua les de 15 ml cada una para introducir una en la columna con resina de amberlita XAD-2 y otra en la columna con resina de amberlita IR-120 .

Los resultados de estas pruebas estan reflejados en la tabla 18 .

Tabla 10

Ensayos con columna XAD-2

Determinación de paraquat en vísceras
(pulmón)

Especie	Dosis mg/Kg	Peso Órgano	D.O.. extracto	Paraquat mg / Kg tejido
Rata	22	3,73		
		4,70	0,060	0,163
		3,83		
Rata	25	3,60		
		3,71	0,045	0,083
		4,69		
Ratón	25	0,28		
		0,30		
		0,20	0,030	-----
		0,35		
		0,31		
Rata	30	4,77	0,050	0,129
		4,90		
Ratón	35	5,20	0,090	1,538

Tabla 10 (Continuación)

Ensayos con columna XAD-2

Determinación de paraquat en vísceras
(pulmón)

Especie	Dosis	Peso	D.O.	Paraquat
	mg/Kg	órgano	extracto	mg / Kg tejido
Ratón	50	0,20		
		0,28	0,025	-----
		0,30		
Ratón	80	0,32		
		0,28	0,130	15,053
		0,33		
Ratón	100	0,25	0,270	36,979
		0,23		
Ratón	160	0,29	0,175	72,413
Ratón	160	0,25	0,170	80,000
Ratón	200	0,22	0,200	111,363
Ratón	200	0,30	0,180	71,666
Ratón	200	0,35	0,140	44,285

Tabla 11

Ensayos con columna XAD-2

Determinación de paraquat en vísceras
(hígado)

Especie	Dosis mg/Kg	Peso órgano	D.O. extracto	Paraquat mg / Kg tejido
Rata	22	7,41	0,095	0,195
		8,07		
		7,53		
Rata	25	7,10	0,095	0,199
		7,32		
		8,11		
Ratón	25	0,95	0,045	0,182
		1,32		
		0,43		
		1,62		
		1,15		
Rata	30	13,63	0,065	0,209
		10,23		
Rata	35	10,50	0,130	1,333

Tabla 11 (Continuación)

Ensayos con columna XAD-2

Determinación de paraquat en vísceras
(hígado)

Especie	Dosis mg/Kg	Peso órgano	D.O. extracto	Paraquat mg / Kg tejido
Ratón	50	0,59 0,97 1,36	0,105	1,797
Ratón	80	1,61 1,51 1,67	0,860	25,469
Ratón	100	1,03 1,04	0,900	61,835
Ratón	160	1,10	0,560	70,454
Ratón	160	1,07	0,570	73,831
Ratón	200	1,04	0,660	88,461
Ratón	200	1,12	0,690	86,607
Ratón	200	1,59	0,580	101,257

Tabla 12

Ensayos con columna XAD-2

Determinación de paraquat en vísceras
(riñón)

Especie	Dosis mg/Kg	Peso órgano	D.O. extracto	Paraquat mg / Kg tejido
Rata	22	1,61		
		1,63	0,055	0,284
		2,03		
Rata	25	1,50		
		1,51	0,060	0,391
		2,10		
Ratón	25	0,28		
		0,37		
		0,20	0,050	0,726
		0,47		
		0,40		
Rata	30	3,15	0,055	0,495
		2,90		
Rata	35	3,69	0,045	0,542

Tabla 12 (Continuación)

Ensayos con columna XAD-2

Determinación de paraquat en vísceras
(riñón)

Especie	Dosis mg/Kg	Peso órgano	D.O. extracto	Paraquat mg / Kg tejido
Ratón	50	0,24 0,29 0,39	0,055	3,260
Ratón	80	0,47 0,56 0,32	0,270	30,000
Ratón	100	0,26 0,57	0,465	76,506
Ratón	160	0,25	0,175	82,000
Ratón	160	0,22	0,165	86,363
Ratón	200	0,23	0,195	102,173
Ratón	200	0,40	0,220	68,750
Ratón	200	0,23	0,240	130,434

III-2 RESULTADOS

El sulfato ferroso puede ser utilizado como reductor del paraquat , pero los valores que se consiguen son inferiores a los obtenidos con el ditionito sódico .

Comparamos las pérdidas operativas en las manipulaciones cuando se utiliza la resina IR-120 y XAD-2 , realizando todas las operaciones a que se someterán las muestras , a excepción del paso por la columna , de forma que tomamos las muestras tal como se introducen en las columnas y se adicionan los eluyentes , las disoluciones se evaporan , se les adicionan los reactivos y llevamos a 10 ml, mediante la curva patrón de la reacción paraquat - ditionito (Fig. 2) conocemos los μg recuperados. Hay menos pérdidas en el primer caso (Tabla 13) .

Con objeto de conocer la recuperación de paraquat en ambas columnas se pasaron distintas disoluciones acuosas de paraquat por ambos tipos de resinas , las muestras contenían 10, 20 , 40 , 60 , 80 y 100 μg (Tabla 14 y 15) .

Al comparar estos resultados concluimos que los valores de XAD-2 son siempre mayores que los de IR-120 (Tabla 16) hecho que se hace más patente en el cociente de los rendimientos y en las diferencias de los rendimientos . Observándose mayor sensibilidad para pequeñas concentraciones .

Estas pruebas se han repetido tres veces cada una ; a los valores promedio les calculamos un intervalo de confianza para un coeficiente de seguridad del 95 % , este valor se

halla de la siguiente forma :

Determinamos la media aritmética :

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n}$$

Siendo \bar{X} = media aritmética

X = variable

n = nº de variables

Calculamos la varianza :

$$v = \frac{(X_1 - \bar{X})^2 + (X_2 - \bar{X})^2 + \dots + (X_n - \bar{X})^2}{n}$$

A partir de la varianza determinamos la desviación tipo :

$$\sigma = \sqrt{v}$$

La desviación tipo dividido entre la raíz cuadrada del número de variables menos uno es el error estandar .

$$S_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}}$$

De forma que la media sería :

$$\bar{X} \pm S_m$$

Pero al ser el número de muestras pequeño , conviene además corre
gir este valor :

$$\bar{X} \pm T * S_m$$

El factor T para un coeficiente de seguridad del 95 % es 4,3 , con
lo que sería :

$$\bar{X} \pm 4,3 * S_m$$

Tambien se compararon los resultados con mues-
tras biológicas , a partir de tres ratas macho intoxicadas con pa-
raquat . De cada homogenizado se tomaron volúmenes iguales para
cada una de las columnas (Tabla 18) demostrándose que con la re-
sina XAD-2 se obtienen valores superiores .

Tabla 13

Curva patrón con ditonito y pérdidas en la manipulación .

Muestra patrón µg	D.O.	Recuperación en el tratamiento					
		D.O. (1)	µg (3)	%	D.O.(2)	µg(3)	%
10	0,090	0,088	8,0	80,0	0,085	7,0	70,0
20	0,170	0,165	19,0	95,0	0,160	18,0	90,0
40	0,305	0,300	39,0	97,5	0,295	38,5	96,2
60	0,445	0,435	59,0	98,3	0,430	58,0	96,7
80	0,585	0,570	79,0	98,7	0,540	74,5	93,1
100	0,710	0,700	98,5	98,5	0,640	90,0	90,0

(1) : Se realizan todas las operaciones a que se someterán las muestras cuando se utiliza columna IR-120 , a excepción de paso por ésta .

(2) : Se realizan todas las operaciones a que se someterán las muestras cuando se utiliza columna XAD-2 , a excepción de paso por ésta .

(3) : Según la curva patrón .

Tabla 14

Recuperación en columna IR-120

Muestra		D.O.	ug	%	% promedio (*)
A	B				
10	8,0	0,075	5,5	68,70	} 70,80 ± 8,90
10	8,0	0,075	5,5	68,70	
10	8,0	0,088	6,0	75,00	
20	19,0	0,150	16,5	86,80	} 79,76 ± 16,50
20	19,0	0,130	14,0	73,60	
20	19,0	0,140	15,0	78,90	
40	39,0	0,270	34,5	88,40	} 87,92 ± 18,98
40	39,0	0,290	37,5	95,30	
40	39,0	0,250	31,5	80,07	
60	59,0	0,385	52,0	88,13	} 86,40 ± 4,23
60	59,0	0,375	50,0	84,74	
60	59,0	0,380	51,0	86,44	
80	79,0	0,520	71,5	90,50	} 90,05 ± 9,52
80	79,0	0,535	74,0	93,60	
80	79,0	0,495	68,0	86,00	
100	98,5	0,610	85,0	86,20	} 85,20 ± 4,30
100	98,5	0,610	85,0	86,20	
100	98,5	0,590	82,0	83,20	

A: Cantidad puesta en columna.

B: Idem reducida según pérdidas operativas (tabla 13).

(*): Intervalo de confianza para un coeficiente de seguridad del 95%.

Tabla 15

Recuperación en columna XAD-2

Muestra		D.O.	ug	%	%
A	B				
10	7,0	0,080	6,0	85,70	} 83,30 ± 10,35
10	7,0	0,075	5,5	78,50	
10	7,0	0,080	6,0	85,70	
20	18,0	0,155	17,5	97,20	} 91,60 ± 12,04
20	18,0	0,145	16,0	88,80	
20	18,0	0,145	16,0	88,80	
40	38,5	0,285	37,0	96,10	} 95,23 ± 4,88
40	38,5	0,290	37,5	97,40	
40	38,5	0,275	35,5	92,20	
60	58,0	0,410	55,0	94,82	} 93,38 ± 11,05
60	58,0	0,385	51,5	88,79	
60	58,0	0,415	56,0	96,55	
80	74,5	0,530	73,0	97,90	} 96,80 ± 7,95
80	74,5	0,535	74,0	99,30	
80	74,5	0,505	69,5	93,20	
100	90,0	0,615	86,0	95,50	} 94,40 ± 4,74
100	90,0	0,615	86,0	95,50	
100	90,0	0,595	83,0	92,20	

A: Cantidad puesta en columna .

B: Idem reducida según pérdidas operativas (tabla 13).

(*) :Intervalo de confianza para un coeficiente de seguridad del 95%.

Tabla 16

Comparación de recuperación de ambas columnas.

Muestra (ug)	IR-120 (%)	XAD-2 (%)	Cociente Rendimiento	Media Cociente	Diferencia Rendimiento	Muestra Diferencia
10	68,70	85,70	1,24	} 1,17 ($\pm 0,14$)	17,00	} 12,50 ($\pm 9,76$)
10	68,70	78,50	1,14		9,80	
10	75,00	85,70	1,14		10,70	
20	86,80	97,20	1,11	} 1,14 ($\pm 0,12$)	10,40	} 11,83 ($\pm 7,28$)
20	73,60	88,80	1,20		15,20	
20	78,90	88,80	1,12		9,90	
40	88,40	96,10	1,08	} 1,08 ($\pm 0,16$)	7,70	} 7,31 ($\pm 12,51$)
40	95,30	97,40	1,02		2,10	
40	80,07	92,20	1,15		12,13	
60	88,13	94,82	1,07	} 1,07 ($\pm 0,04$)	6,69	} 6,95 ($\pm 7,56$)
60	84,74	88,79	1,04		4,05	
60	86,44	96,55	1,11		10,11	
80	90,50	97,90	1,08	} 1,07 ($\pm 0,03$)	7,40	} 6,76 ($\pm 7,56$)
80	93,60	99,30	1,06		5,70	
80	86,00	93,20	1,08		7,20	
100	86,20	95,50	1,10	} 1,10 ($\pm 0,00$)	9,30	} 9,20 ($\pm 0,43$)
100	86,20	95,50	1,10		9,30	
100	83,20	92,20	1,10		9,00	

Tabla 17

Tabla resumen de los rendimientos medios de ambas columnas .

Muestra ug	% promedio IR-120	% promedio XAD-2	Relación Rendimiento XAD/IR (1)	Diferencia Rendimiento XAD-IR (2)
10	70,80± 8,90	83,30±10,35	1,17±0,14	12,50±9,76
20	79,76±16,50	91,60±12,04	1,14±0,12	11,83±7,28
40	87,92±18,98	95,23± 4,88	1,08±0,16	7,31±12,51
60	86,40± 4,23	93,38±11,05	1,07±0,04	6,95±7,56
80	90,05± 9,52	96,80± 7,95	1,07±0,03	6,76±2,31
100	85,20± 4,30	94,40± 4,74	1,10±0,00	9,20±0,43

(1) : Cocientes entre porcentajes medios .

(2) : Diferencias entre porcentajes medios .

Tabla 18

Determinación de paraquat en homogenizado de vísceras .

Estudio comparativo de los resultados en ambas columnas .

Muestra	Concentración hallada mg / Kg	
	IR-120	XAD-2
I	203,70	215,90
II	454,70	460,81
III	221,80	224,90

III-3 DISCUSSION

Tanto en la XAD-2 como en la IR-120 se comprobó que lavando previamente las resinas con disolución de cloruro amónico al 2,5 % se consigue un mayor rendimiento .

Al introducir la muestra a pH ácido en la columna XAD-2 , como es habitual en el uso de esta columna , el paraquat no queda retenido ; pero si el pH es muy alcalino se retiene demasiado y es difícil su desorción . Se han trabajado numerosas muestras con pH más o menos próximo a la neutralidad ; la recuperación de paraquat es mayor en el margen de pH 6 - 7 .

Se emplearon diversos eluyentes , al principio se utilizaron los disolventes orgánicos , con los que habitualmente eluye esta resina , el metanol , el éter etílico y el éter de petróleo extraen algo , pero su índice de recuperación es muy bajo. También probamos el cloruro amónico saturado , que es un buen eluyente en las columnas de intercambio catiónico , pero se producen grandes pérdidas . Las disoluciones de ácido clorhídrico a distintas concentraciones no extraen todo el paraquat retenido en la columna . Por último se probaron disoluciones de ácido clorhídrico a distintas concentraciones con cloruro amónico al 2,5 % , si la disolución era débilmente ácida quedaba paraquat en la columna y éste era extraído posteriormente en el regenerado . Al utilizar una disolución de ácido clorhídrico 3,75 N con cloruro amónico al 2,5 % en el regenerado no hay paraquat .

En la técnica general de aplicación de esta re

sina se emplea metanol ligeramente ácido como disolvente de regenerado . Hemos usado ácido 4 N y metanol , porque si queda para--
quat en la columna concentraciones débiles en ácido no son capaces de arrastrarlo .

IV CONCLUSIONES

1ª Puede utilizarse sulfato ferroso como reductor del paraquat para la valoración colorimétrica del mismo . La reacción se inhibe en presencia de cloruro amónico , por lo que no es aplicable a extractos del herbicida separados con disolución de cloruro amónico como eluyente . En tales condiciones sigue siendo el ditionito sódico el reactivo óptimo para la valoración colorimétrica cuantitativa .

2ª La resina XAD-2 no retiene paraquat de disoluciones muy ácidas; cuando el pH de éstas es muy alcalino el herbicida queda tan fuertemente retenido que no se logra posteriormente su desorción completa . Se ha comprobado que el pH ideal de la solución problema debe hallarse entre 6 y 7 .

3ª El mejor eluyente encontrado para la desorción de paraquat de la resina XAD-2 está constituido por ácido clorhídrico 3,75 N que contenga 2,5 % de cloruro amónico .

4ª El rendimiento de la columna de resina XAD-2 es máximo si se lava previamente con disolución acuosa al 2,5 % de cloruro amónico .

5ª Cuando se emplean las condiciones recogidas en las conclusiones 2ª a 4ª , el rendimiento de separación de paraquat con resina XAD-2 llega a ser del 99,30 % .

6ª Comparando los rendimientos que se obtienen en el aislamiento del paraquat , a partir de muestras biológicas,

con fines toxicológicos , utilizando resina IR-120 ó la XAD-2, se demuestra que el rendimiento de esta última es superior al de la IR-120 ; la utilidad es mayor para pequeñas concentraciones de tóxico .

V BIBLIOGRAFIA

-AKERBLOM , M. ; 1974

"Determination of diquat residues in rape seeds"

Pestic. Sci. , 5 (5) , pags. 517 - 526

-ALARY , J. ; VERGNES , J. L. ; COEUR , A. ; CANTIN , D. ; 1975

"Bipyridinium derived herbicide residues in foods II . Detection and determination of diquat and paraquat in potatoes"

Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon , 18 (4) , pags. 138 - 146

-ALMOG , C. ; SIEGELHAUM , Y. ; 1974

"Paraquat poisoning in Israel (Hebrew)"

Harefuah , 87 (9) , pags. 400 - 403 , 437

-ANDERSON , D. ; Mc GREGOR , P. B. ; PURCHASE , I. F. H. ; 1976

"Dominant lethal studies with paraquat and diquat in male CD-1 mice"

Mutat. Res. , 40 (4) , pags. 349 - 358

-ANON , A. ; 1975

"Paraquat"

Fed. Regist., 23 Sept., 40 (185) , pag. 43720

-AUTOR , A. P. ; 1974

"Reduction of paraquat toxicity by superoxide dismutase"

Life Sci. , 14 (7) , pags. 1309 - 1319

-BAINOVA , A. ; 1969

"Chronic oral toxicity of dipyridylum herbicides"

Khig. Zdraveopazware , 12 (4) , pags. 325 - 332

-BAINOVA , A. ; 1974

"Zone of the acute inhalatory effect of Reglone and Gramoxone"
Tr. Inst. Khig. , Okhr. Tr. Zabol. , 22 (1) , pags. 103 - 110

-BAINOVA , A. ; VULCHEVA , V. ; 1974

"Experimental evaluation in the effect of bipyridylum on the go
nads"

Tr. Inst. Khig. , Okhr. Tr. Zabol. , 22 (1) , pags. 111 - 122

-BALDWIN , B. C. ; DODGE , A. D. ; HARRIS , N. ; 1968

"The mode of action of the bipyridinium herbicides"

Proc. Brit. Weed Contr. Conf. , 9 th , 2 , 639 - 44 , Brit. Crop.
Prot. Couc. : Droitwich , Engl.

-BALDWIN , B. C.; PASI , A.; MAC GREGOR , J.T.; HINE , Ch.H.; 1975

"Rates of radical formation from the dipyridylum herbicides para
quat , diquat and morfamquat in homogenates of rat lung , kidney,
and liver . Inhibitory effect of carbon monoxide"

Toxicol. Appl. Pharmacol. , 32 (2) , pags. 248 - 304

-BARABAS , K. ; SUVEGES , G. ; 1978

"The effect of reductant substances on the toxicity of paraquat"

Proc. Hung. Annv. Mect. Biochem. , 18 , pags. 95 - 96

-BARNETT , J. R. ; HOPKINS , A. S. ; LEDWITH , A. ; 1973

"Cation radicals photochemically induced electrons transfer reac-
tions between bipyridylum dications and formate , oxalate , and
benzilate anions"

J. Chem. Soc. , Perkin Trans 2 , (1) , pags. 80 - 84

-BASTOS , M.L.; JUKOFSKY , D.; SAFFER , E.; CHEDEKEL , M. ; MULE ,

- "Modifications of the XAD-2 resin column method for the extraction of drug of abuse from human urine"
J. Chromatogr. , 71 , pags. 549 - 553
- BASTOS , M. L. ; JUKOFSKY , D. ; MULE , S.J. ; 1973
"Identification of drugs of abuse in human urine . Differential elution"
J. Chromatogr. , 81 , pags. 93 - 98
- BENCHENASE , A. ; BERNARD , L. ; THEOPHANIDES , T. ; 1975
"Vibrational study of paraquat"
J. Raman Spectrosc. , 2 (6) , pags. 543 - 553
- BENNETT , P. N. ; DAVIES , D.S. ; HAWKESWORTH , G.M. ; 1976
"In vivo absorption studies with paraquat and diquat in the dog"
Br. J. Pharmacol. , 58 (2) , pags. 284
- BERENCSEI , G. ; NAGYMAJTENYI , L. ; 1977
"Pulmonary injury as mice produced by chronically peroral treatment with different substances"
Zentralbl. Bakteriolog. Parasitenkd. Infektions Kr. Hyg. Abt 1 :
Orig. Reihe B , 164 (3) , pags. 282 -287
- BERRY , D.J. ; GROVE , J. ; 1971
"Determination of paraquat (1,1' dimethyl, 4,4' bipyridinium-cation) in urine"
Clin. Chim. Acta , 34 (1) , pags. 5 - 11
- BERRY , Ch. R. ; SCHRECK , C.B. ; VAN HORN , S. L.;1975
"Aquatic macroinvertebrate response to field application of the

combined herbicides diquat and endothall"

Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 14(3), pags.
374 - 379

-BESCOL-LIVERSAC , J. ; PAQUELIN , A. ; GILLAM , C. ; 1975

"Etude ultrstructurale d'une biopsie rénale chez un patient into
xique par le paraquat"

European Journal of Toxicology , 8 (3) , pags. 236 - 246

-BEST , J. A. ; WEBER , J. B. ; WEED , S. B. ; 1972

"Competitive adsorption of diquat 2^+ , paraquat 2^+ and Ca^{++} en or
ganic matter and exchange resins"

Soil Sci. , 114 (6) , pags. 444 - 450

-BEYER , R. H. ; 1970

"Analytical determination and toxicology of paraquat (Gramoxone)"

Deut. Apoth. Zig. , 110 (18) , pags. 633 - 635

-BOGUSZ , M. ; GIERZ , J. ; BIALKA , J. ; 1978

"Isolation of drugs from blood and tissues with XAD-2 bags"

Forensic Science International, 12 , pags. 73 - 82

-BILLEWICZ-STANKIEWICZ , J. L. ; PAWLOWSKI , L . ; 1971

"Effect of Gramoxone on the nervous-system function of laboratory
animals"

Bromatol. Chem. Toksykol. , 4 (3) , pags. 287 - 292

-BONINI , M. ; SAUX , M. C. ; LARCEBAN , S. ; 1973

"Dosage du paraquat dans les milieux biologiques"

Journal Européen de Toxicologie , IV (4-5) , pags. 237 - 239

-BOJAN , F. ; HAGY , A. ; HERMAN , K. ; 1978

"Effect of butylated hydroxytoluene and paraquat on urethane tumorigenesis in mouse lung"

Bull. Environ. Cotam. Toxicol. , 20 (4) , pags. 573 - 576

-BONY , D. ; FAVAREL-GARRIGUES , J. C. ; CLEDES , J. ; CAMBEIGH , J. ; 1971

"Intoxication par le paraquat"

European Journal of Toxicology , IV (5) , pags. 406 - 411

-BROOKS , R. E. ; 1971

"Ultrastructure of lung lesion produced by ingested chemicals I. Effect of the herbicide paraquat on mouse lung"

Lab. Invest. , 25 (6) , pags. 536 - 545

-BROWN , N. M. D. ; COWLEY , D. J. ; MURPHY , W. ; 1973

"Complex formation and the photochemical oxidation of alcohols by bipyridylium salts in homogeneous solution air water interface"

J. Chem. Soc. , Chem. Commun (16) , pags. 592 - 593

-BROWN , N. M. D. ; COWLEY , D.J. ; MURPHY , W. ; 1976

"The photo-oxidation of aliphatic alcohols as monolayers on aqueous solutions of 1,1' dimethyl-4,4' bipyridylium (paraquat) dichloride"

J. Chem. Soc. , Perkin Trans. 2 , (15) , pags. 1769 - 1773

-BURDON , J. ; HAYES , M. H. B. ; PICK , M. E. ; 1977

"The electron density distribution in pyridinium and bipyridylium compounds and its relevance to their adsorption by expanding lattice clays"

J. Environ. Sci. Health , Part B , B₁₂ (1) , pags. 37 - 51

-BURNET , A. M. R. ; 1972

"Effects of paraquat on invertebrates in a Canterbury stream ,
New Zeland"

N. Z. J. Mas. Frehwater Res. , 6 (4) , pags. 448 - 455

-BURTON , J. A. ; GARDINER , T. H. ; SCHANKER , L. S. ; 1974

"Absorption of herbicides from the rat lung"

Arch. Environm Hith , 29 (1) , pags. 31 - 33

-BURRIEL , F. ; LUCENA , F. ; ARRIBAS S.

"Química Analítica Cualitativa"

Edición 9ª , pags. 163 , 222-228 , 264-271 , Ed. Paraninfo, Madrid

-BUS , J.S. ; AUST , S. D. ; GIBSON , J. E. ; 1975

"Lipid peroxidation . Possible mechanism for paraquat toxicity"

Chem. Pathol. Pharmacol. , 11 (1) , pags. 31 -38

-BUS , J. S. ; GIBSON , J. E. ; 1975

"Postnatal toxicity of chronically administered paraquat in mice
and interactions with oxygen and bromobenzene"

Toxicol. Appl. Pharmacol. , 33 (3) , pags. 461 - 470

-BUS , J. S. ; PREACHE , M.M. ; CAGEN , S.Z. y col. ; 1975

"Fetal toxicity and distribution of paraquat and diquat in mice
and rats"

Toxicol. Appl. Pharmacol. , 33 (3) , pags. 450 - 460

-BUS , J. S. ; CAGEN , S.Z. ; OLGAARD , M. ; GIBSON , L. ; 1976

"A mechanism of paraquat toxicity in mice and rats"

Toxicol. Appl. Pharmacol. , 35 (3) , pags. 501 - 513

-BUTLER , C. ; KLEINERMAM , S. ; 1971

"Paraquat (1,1'dimethyl-4,4'-dipyridylium dichloride) in the rabbit"

Brit. J. Ind. Med. , 28 (1) , pags. 67 -71

-BUTLER , C. ; 1975

"Pulmonary interstitial fibrosis from paraquat in the hamster"

Arch. Path. , 99 (9) , pags. 503 - 507

-CAGEN , S.Z. ; JANOFF , A.S. ; BUS , J.S. ; GIBSON , J. E. ; 1976

"Effect of paraquat (methyl viologen) on liver function in mice"

J. Pharmacol. Exp. Ther. , 198 (1) , pags. 222 - 228

-CAGEN , S. Z. ; GIBSON , J. E. ; 1977

"Liver damage following paraquat in selenium deficient and diethyl maleate pretreated mice"

Toxicol. Appl. Pharmacol. , 40 (2) , pags. 193 - 200

-CALDERBANK , A. ; YUEN , S. H. ; 1965

"An ion-exchange method for determining paraquat residues in food crops"

Analyst , 90 (1067) , pags. 99 - 106

-CAMBAR , P. J. ; AVIADO , D. M. ; 1970

"Bronchopulmonary effects of paraquat and expectorants"

Arch. Environ. Health , 20 (4) , pags. 488 - 494

-CARLSTROM , A.A. ; 1968

"Collaborative study of an ultraviolet method for measuring diquat content in formulations"

J. Ass. Offic. Anal. Chem.,51 (6) , pags. 1304 - 1305

-CARLSTROM , A. A. ; 1968

"Collaborative study of a colorimetric method for paraquat in formulations"

J. Ass. Offic. Anal. Chem. , 51 (6) , pags. 1306 - 1309

-CARLSTROM , A. A. ; 1971

"Collaborative check for paraquat in formulations"

J. Ass. Offic. Anal. Chem. , 54 (3) , pags. 718 - 719

-CARSON , E. D. ; 1972

"Fatal paraquat poisoning in Northern Ireland"

Journal Forensic Science Society , 12 , pags. 437 - 443

-CARSON , D. J. L. ; CARSON , E. D. ; 1976

"The increasing use of paraquat as a suicidal agent"

Forensic Science , 7 , pags. 151 - 160

-CEGLA , V.H. ; KROIDL , R.F. ; KRONBERGER , H. ; WEBER , H. ; 1975

"Experimental animal model of lung fibrosis in the rat by the injection of paraquat"

Pneumonologie , 152 (1 - 3) , pags. 65 - 74

-CLARK , D. G. ; HURST , E. W. ; 1970

"Toxicity of diquat"

Brit. J. Med. , 27 (1) , pags. 51 - 5

-CLARK , D. G. ; 1971

"Inhibition of the absorption of paraquat from the gastrointestinal tract by adsorbents"

Brit. J. Ind. Med. , 28 (2) , pags. 186 - 188

-COHA , F. ; 1969

"Determination of some bipyridinium herbicides by ring-oven techniques"

Anal. Lett , 2 (12) , pags. 623 - 628

-COOKE , A. S. ; 1977

"Effects of field applications of the herbicides diquat and dichlobenil on amphibians"

Environ. Pollut. , 12 (1) , pags. 43 - 50

-CRABTREE , H. C. ; ROSE , M. S. ; 1976

"Early effects of diquat on plasma corticosteroid concentrations in rats"

Biochem. Pharmacol. , 25 (22) , pags. 2465 - 2468

-CRABTREE , H. C. ; LOCK , E. A. ; ROSE , M. S. ; 1977

"Effects of diquat on the gastrointestinal tracts of rats"

Toxicol. Appl. Pharmacol. , 41 (3) , pags. 585 - 595

-DANIEL , J. W. ; GAGE , J. C. ; 1966

"Absorption and excretion of diquat and paraquat in rats"

Brit. J. Ind. Med. , 23 (2) , pags. 133 - 136

-DA SILVA , S. F. ; FADAYOMI , R. O. ; WARREN , G. F. ; 1976

"Cotyledon disk bioassay for certain herbicides"

Weed Sci. , 24 (3) , pags. 250 - 252

-DEMIDENKO , N. M. ; 1974

"Higienic aspects of the use of defoliants and desiccants in co-

ttion farming"

Mater. Uses. Soveshch. Defoliatsii , Desikats si S-Kh Kul't, Edición 1ª , pags. 36 - 40 , Ed. Immaliev , Tashkent

-DE LAVAUUR , E. ; GROLLEAU , G. ; SIOU , G. y col. ; 1973

"Experimental poisoning of hares with paraquat treated alfalfa"
Ann. Zool. Ecol. Anim. , 5 (4) , pags. 609 - 622

-DING , J. ; 1972

"Forest and agricultural chemicals . II synthesis of bipyridine and diphenyl ether herbicides"

Kwo Li Tai Wan Ta Hsuch Nung Hsuch Yuan Shih Yen Lin , Yen Chiu Pao Kuo , 110 , pag. 10

-DOUZE , J. M. C. ; VAN HEIJTS , A. N. P. ; 1977

"The paraquat intoxication-oxygen a real poison"

Acta Pharmacol. Toxicol. Suppl. , 41 (2) , pags. 241 - 245

-DRAFFAM , G. H. ; LLARE , R. A. ; DAVIES , D. L. y col. ; 1977

"Quantitative determination of the herbicide paraquat in human plasma by gas chromatographie and mas spectrometrie method"

J. Chromatogr. , 139 (2) , pags. 311 - 320

-DUNACHIE , J. F. ; FLETCHER , W.W. ; 1970

"Toxicity of certain herbicides to hens'egg assessed by the egg injection technique"

Ann. Appl. Biol. , 66 (3) , pags. 515 - 520

-ECKER , J. L. ; HOOK , J. B. ; GIBSON , J. E. ; 1975

"Nephrotoxicity of paraquat in mice"

Toxicol. Appl. Pharmacol. , 34 (1) , pags. 178 - 186

-EVANS , A. G. ; DODSON , N. K. ; RESS , N. H. ; 1976

"Study of bipyridyl radical cations . Part III . Reaction of paraquat radical cation with oxygen and with chromic ion in methanol"

J. Chem. Soc. , Perkin trans 2 , (7) , pags. 859 - 863

-FARRINGTON , J. A. ; 1971

"Reaction of paraquat radical with oxygen . Nature of the toxicant responsible for herbicidal activity of bipyridylium salts"

Eur. Biophys. Congr. Proc. , Edición 1ª , 2 , pags. 511 -515 ,Ed. Broda , Viena

-FARRINGTON , J. A. ; EBERT , M. ; LAND , E.J. ; FLETCHER , K.;1973

"Bipyridylium quaternary salts and related compounds.Pulse radiolysis studies of the reaction of paraquat radical with oxygen.Im-
plications for the mode of action of bipyridyl herbicides"

Biochem. Biophys. Acta , 314 (3) , pags. 372 - 381

-FARRINGTON , J. A. ; 1976

"Paraquat , peroxide and superoxide"

Proc. Br. Weed Control Conf. 13 , 1 , pags. 225 - 228

-FELDMANN , R. J. ; MAIBACH , H. I. ; 1974

"Percutaneous penetration of some pesticides and herbicides in man"

Toxicol. Appl. Pharmacol. , 28 (1) , pags. 126 - 132

-FERGUSON , D. M. ; 1971

"Renal handling of paraquat"

Brit. J. Pharmacol. , 42 (4) , pag. 636

-FISHBEIN , J. ; 1975

"Chromatography of Environmental Hazards"

vol. III Pesticides, 2^o; pags. 401 - 406 , Elsevier Cientific. Publi
shing Co. , Amsterdan .

-FISHER , H. K. ; CLEMENTS , J. A. ; WRIGHT , R. R. ; 1973

"Pulmonary effects of the herbicide paraquat studied in the first
day after injection in rats"

J. Appl. Physiol. , 35 (2) , pags. 268 - 273

-FISHER , H. K. ; CLEMENTS , J. A. ; WRIGHT , R.R. ; 1973

"Enhancement of oxygen toxicity by the herbicide paraquat"

Amer. Rev. Rev. Resp. Dis. , 107 (2) , pags. 246 - 252

-FISHER , H. K. ; CLEMENTS , J. A. ; TIERNEY , D. F. y col. ; 1975

"Pulmonary effects of paraquat in the first day after injection"

Amer. J. Physiol. , 228 (4) , pags. 1217 - 1223)

-FISHER , H. K. ; WILLIAMS , G. ; 1976

"Paraquat is not bacteriostatic under anaerobic conditions"

Life Sci. , 19 (3) , pags. 421 - 425

-FLETCHER , K. ; WYATT , I. ; 1970

"Composition of lung lipids after poisoning with paraquat"

Brit. J. Exp. Pathol. , 51 (6) , pags. 604 - 610

-FOWLER , B. A. ; BROOKS , R. E. ; 1971

"Effects of the herbicide paraquat (1,1' dimethyl 4,4'-bipyridi-

- nium bis (methilsulfate) on the ultrastructure of mouse kidney)"
Amer. J. Pathol. , 63 (3) , pags. 505 - 520
- FUJIMOTO , J. M. ; WANG , R. I. H. ; 1970
"A method of identifying narcotic analgesics in human urine after
therapeutic doses"
Toxicology and Applied Pharmacology , 16 , pags. 186 - 193
- GAGE , J. C. ; 1969
"Toxicity of paraquat"
Meded. Rijksfac, Landbouwwetensch. , Gent. , 34 (3) , pags.392-
400
- GAMESAN , M. ; NATESUN , S. ; RANGANATHAN V. ; 1979
"Spectrophotometric method for the determination of paraquat"
Analyst,104 , pags. 258 - 261
- GARDINER , T. H. ; SCHANKER , L. S. ; 1976
"Effect of paraquat induced lung damage on permeability of rat lung
to drugs"
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. , 151 (2) , pags. 288 - 292
- GREENBERG , S.R. ; EISENBERG ; G. M. ; 1977
"The pulmonary effects of benzyl viologen in Swiss mice"
Environ. Pollut. , 12 (4) , pags. 255 - 259
- GREEMBERG , D.B. ; REISER , K. M. ; LAST , J. A. ; 1978
"Correlation of biochemical and morphologic manifestations of acu
te pulmonary fibrosis in rat administered paraquat"

Chest , 74 (4) , pags. 421 - 425

-GUARDASCIONE , V. ; DI BOSCO , M. M. ; 1969

"Toxicity of the dipyridyl herbicide , paraquat , to workers"
Folia Med. (Naples), 52 (11) , pags. 728 - 738

-GULIC , F. ; HOJS , M. ; ROGL , F. ; 1975

"Case of paraquat poisoning"

Arch. Hig. Rada Toksikol , 26 (3) , pags. 227 - 232

-GUNDRY , H. A. ; HARROP , D. ; HEAD , A.J. ; 1978

"The standard enthalpy of formation of the 1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium cation (paraquat)"

J. Chem. Thermodyn. , 10 (2) , pags. 203 - 204

-GUYON , F. ; BISMUTH , C. ; LECLERC , J. P. ; DAUCHY , F. ; 1974

"Intoxication massive par le paraquat mortelle en moins de 24 h.
Données toxicologiques et anatomocliniques"

Journal Européen de Toxicologie , 7 (3) , pags. 182 - 187

-HALLIWELL , B. ; 1976

"Ascorbic acid and paraquat toxicity"

Lancet , 2 (7990) , pag. 854

-HAQUE , R. ; COSHOW , W. R. ; JOHNSON , L. F. ; 1969

"Nuclear magnetic resonance studies of diquat , paraquat and their charge-transfer complexes"

J. Amer. Chem. Soc. , 91 (4) , pags. 3822 - 3827

-HAQUE , R. ; LILLEY , S. ; COSHOW , W. R. ; 1970

"Mechanism of adsorption of diquat and paraquat on montmorillonite surface"

J. Colloid Interface Sci. , 33 (1) , pags. 185-188

-HAQUE , R. ; LILLEY , S. ; 1972

"Infrared spectroscopic studies of charge transfer complexes of diquat and paraquat"

J. Colloid Interface Sci. , 20 (1) , pags. 57 - 58

-HARLEYI , J. B. ; GIINSPAN , S. ; ROOT , R. K. ; 1977

"Paraquat suicide in a young woman : results of therapy directed against the superoxide"

Yale J. Biol. Med. , 50 (5) , pags. 481 - 488

-HAYES , M. H. B. ; PICK , M. E. ; STACEY , M. ; TOMS , B.A.;1973

"Microcalorimetric investigation of the interactions between clay minerals and bipyridylum salts"

Proc. Int. Clay Conf. , pags. 675 - 682

-HEYNDRICKX , A.;SCHEPENS , P. ; SCHEIRIS , Ch. ; 1969

"Toxicological analysis of a fatal poisoning by paraquat in man"

European Journal of Toxicology , 4 (2) , pags. 178-181

-HOESCI , J. ; 1977

"Paraquat poisoning in dogs"

Arch. Tierheilkd. , 119 (9) , pags. 377 - 381

-HOLLINGER , M. A. ; CHVAPIL , M ; 1977

"Effect of paraquat on rat lung prolyl hydroxylase"

- Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. , 16 (1) , págs.159-162
- HOLLINGER , M.A. ; GIRI , S.N. ; FREYWALD , M. ; 1977
"Effect of parenteral zinc on paraquat toxicity in the rat"
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. , 18 (4) , págs.689-696
- HOLLINGER , M.A. ; GIRI , S.N. ; 1978
"Binding of radioactivity from ¹⁴C paraquat to rat lung protein,
in vitro"
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. , 19 (2) , págs.329-336
- HOLLINGER , M. A. ; GIRI , S.N. ; FREYWALD , M. ; 1978
"Effect of paraquat on the zinc content of rat lung"
Toxicol. Appl. Pharmacol. , 43 (2) , págs. 259 - 266
- HOLLINGER , M.A. ; ZUCKERMANN , J.E. ; GIRI , S.N. ; 1978
"Effect of acute and chronic paraquat on rat lung collagen content"
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. , 21 (2) , págs. 295-305
- HUGHES , R.D. ; MILLBURN , P. ; WILLIAMS , R.T. ; 1973
"Biliary excretion of some diquaternary ammonium cations in the
rat, guinea pig and rabbit"
Biochem. J. , 136 (4) , págs. 979 - 984
- HUNT , D.M. ; 1974
"Toxicity of paraquat to Paracalliope fluviatilis (Amphipoda)"
Mauri Ora , 2 , págs. 61 - 62
- HYDE , P. ; LEDWITH , A. ; 1974

"Cation-radicals oxidations of propan-2-ol by paraquat dichloride protocatalyzed by benzophenone and other ketons"

J. Chem. Soc. ; Perkin Trans 2 , (15) , pags. 1768 -1772

-ILETT , K.F. y col. ; 1974

"Mechanism of the lung toxicity of paraquat comparison of tissue distribution and some biochemical parameters in rat and rabbits"

Toxicol. Appl. Pharmacol. , 28 (2) , pags. 216 - 226

-JENNINGS , R. C. ; 1967

"Role of bipyridylium herbicides in industrial aced control"

Proc. Brit. Pest. Cont. Conf. , 2^a , pags. 51 - 52 . Ind. Pest. Contr. Assoc. : London

-JUO , A.S.R. ; OGinni , O. O. ; 1978

"Adsorption and desorption of paraquat in acid tropical soils"

J. Environ. Qual. , 7 (1) , pags. 9 - 12

-KARICKHOFF , S. W. ; BROWN , D.S. ; 1978

"Paraquat soption as a function of particle size in natural sediments"

J. Environ. Qual. , 7 (2) , pags. 246 - 252

-KAWANO , Y. ; AUDINO , J. ; EDLUND , M. ; 1975

"Analysis of paraquat formulations by liquid chromatography"

J. Chromatogr. , 115 (1) , pags. 289 - 292

-KELLY , D. F. ; MORGAN , D. G. y col. ; 1978

"Pathology of acute respiratory distress in the dog associated

with paraquat poisoning"

J. Comp. Pathol. , 88 (2) , pags. 275 - 294

-KHAN , S. V. ; 1974

"Determination of diquat and paraquat residues in soil by gas chromatography"

J. Agric. Food Chem , 22 (5) , pags. 863 - 867

-KHAN , S. V. ; 1974

"Absorption of bipyridylum herbicides by humic ac."

J. Environ. Qual. , 3 (3) , pags. 206 - 216

-KHAN , S. V. ; 1975

"Determination of paraquat residues in food crops by gas chromatography"

Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology , 14 (6)
pags. 745 - 749

-KHAN , S. V. ; BELANGER , A. y col. ; 1976

"Residues of paraquat and linuron in an organic soil and their uptake by onions , lettuce and carrots"

Can. J. Soil Sci. , 56 (4) pags. 407 - 412

-KHERA , K. S. ; WHITTA , L.L. ; CLEGG , D.J. ; 1970

"Embryopathic effects of diquat and paraquat in rats"

Inter-Amer. Conf. Toxicol. Occup. , Ed. Deichmann , Willam B. Ha
los , Miami

-KIMBROUGH , R. D. ; GAINES , T. B. ; 1970

- "Toxicity of paraquat to rats and its effect on rat lungs"
Toxicol. Appl. Pharmacol. , 17 (3) , pags. 679 - 690
- KIMBROUGH , R. D. ; LINDER , R. E. ; 1973
"Ultrastructure of the paraquat lung lesion in the rat"
Environ. Res. , 6 (3) , pags. 265 - 273
- KLISENKO , M. A. ; CHMIL , V. D. ; 1973
"Determination of residual quantities of diquat in water"
Metody Opsed. Pestits. Vode , 1 , pags. 112 - 117
- KLISENKO , M. A. ; CHMIL , V. D. ; 1973
"Determination of residual quantities of paraquat in water"
Metody Opsed. Pestits. Vode , 1 , pags. 118 - 123
- KNEPIL , J. ; 1977
"A short , simple method for the determination of paraquat in plasma"
Clin. Chim. Acta , 79 (2) , pags. 387 - 390
- KNOWLES , D.A. ; ROBSON , C. G. ; 1976
"Herbicidal compositions"
Ger. Offen , Brit. Appl. 76 (11) , pags. 144- 157
- KODAGODA , N. ; JAYEWARDENE , R. P. ATTYGALLE, D. ; 1974
"Poisoning with paraquat"
Forensic Science , 2 pags. 107 -111
- KOSMATYI , E. S. ; CHEBOT'KO , K. A. ; GALINSKAYA , U.I. y col.;

1968

"Determination of diquat and paraquat in a mixture of thin-layer chromatography with a specific silicagel"

Zh. Anal. Khim , 29 (1) , pags. 168 - 170

-KOSMATYI , E. S. ; CHEBOT'KO , K. A. ; 1972

"Determination of paraquat residues in water by thin-layer chromatography"

Zasheh. Rast. (Kiev) , 16 , pags. 73 - 76

-KOSMATYI , E. S. ; CHEBOT'KO , K. A. ; 1973

"Determination of diquat residues in water by thin-layer chromatography"

Zasheh. Rast. (Kiev) , 18 , pags. 112 - 115

-KRIEGER , R. I. ; LEE , P. W. ; 1973

"Inhibition of in vivo and in vitro epoxidation of aldrin , and potentiation of toxicity of various insecticide chemicals by diquat in two species fish"

Arch. Environ. Cotam. Toxicol. , 1 , (2) , pags. 112 -121

-KRIEGER , R. I. ; LEE , P. W. ; BLACK , A. y col. ; 1973

"Inhibition of microsomal aldrin epoxidation by diquat and several related bipyridylium compounds"

Bull. Environ. Cotam. Toxicol. , 9 (1) , pags. 1 - 3

-LARSSON , B. ; OSKARSSON , A. ; TJALVE

"Binding of paraquat and diquat an melanin"

Exp. Eye Res. , 25 (4) , pags. 353 - 359

-LEAHEY , J. D. ; HEMINGWAY , R. J. ; 1975

"The metabolism of diquat in hens and residues in eggs and tissues"
Environ. Qual. Saf. Suppl. , 3 (Pesticides) , pags. 157 - 162

-LEDWITH , A. ; HOPKINS , A. S. ; 1971

"Cation radicals. Scavenging of tert-butoxy radicals by electron transfer from paraquat (N,N'dimethyl-4,4'bipyridylum) cation radical"

J. Chem. Soc. D. (15) , pags. 830 - 831

-LEVITT , T. ; 1977

"Radioimmunoassay for paraquat"

Lancet , 2 (8033) , pags. 358

-LITCHFIELD , M.H. ; DANIEL , J. W. ; LONGSHAW , S. ; 1973

"The tissue distribution on the bipyridylum herbicides diquat and paraquat in rats and mice"

Toxicology , 1 (2) , pags. 155 - 165

-LOCK , E. A. ; SMITH , L.L. ; ROSE , M. S. ; 1976

"Inhibition of paraquat accumulation in rat lung slices by a component of rat plasma and a variety of drugs and endogenous amines"

Biochem. Pharmacol. , 25 (15) , pags. 1769 - 1772

-LUTY , S. ; CIZAK , E. ; LATUZYNSKA , J. y col. ; 1978

"Effect of paraquat on embryonic and post-embryonic development in white rats"

Bromatol. Chem. Toksykol. , 11 (2) , pags. 159 - 165

- MACFARLANE , A. J. ; WILLIAMS , R. J. D. ; 1969
"Charge-transfer properties of some paraquat salts"
J. Chem. Soc. A. (10) , pags. 1517-1520
- MAINI , R. ; WINCHESTER , J. F. ; 1975
"Removal of paraquat from blood by hemoperfusion over sorbent ma
terials"
Br. Med. J. , 3 (5978) , pags. 281 - 282
- MALING , H. M. ; SUUL , W. y col. ; 1978
"Reduced body clearance as the major mechanism of the potentia-
tion by β -2 adrenergic agonist of paraquat lethality in rats"
Toxicol. Appl. Pharmacol. , 43 (1) , pags. 57 - 72
- MALMQUIST , E. ; GROSSMANN , G. y col. ; 1973
"Pulmonary phospholipids and surface properties of alveolar wash
in experimental paraquat poisoning"
Scand. J. Resp. Dis. , 54 (4) , pags. 206 - 214
- MARTENS , M. A. ; HEYNDRICKX , A. ; 1974
"Analysis of paraquat in aqueous solutions by pyrolysis gas chro-
matography"
J. Pharm. Belg. , 29 (5) , pags. 444 - 448
- MARTENS , M. A. ; HEYNDRICKX , A. ; 1974
"Determination of paraquat in urine by pyrolysis gas chromato-
graphy"
J. Pharm. Belg. , 29 (5) , pags. 449 - 454

- MARTENS , M. A. ; VAN PETEGHEM , C. H. ; HEYNDRICKX , A. ; 1975
"The analysis of paraquat in biological samples by means of combined pyrolysis gas chromatography mass fragmentography"
Meded. Fac. Landhouwwet , Rijksuniv. Gent. 40 (2, Pt. 2) , pags. 1149 - 1160
- MATHUR , S. P. y col. ; 1976
"Influence of field-applied linuron and paraquat on the microflora of an organic soil"
Weed Res. , 16 (3) , pags. 183 - 189
- MATTEW ; 1969
"Paraquat poisoning lung transplant"
European Journal of Toxicology , vol. II (4) , pag. 197
- MEERBACH , W. , ; GRAEBNER , R. ; 1978
"Lung alterations after experimental paraquat treatment"
Exp. Pathol. , 16 (1 - 6) , pags. 168 -179
- MEHANI , S. ; 1972
"Toxic effect paraquat in rabbits and rats"
Ain Shams Med. J. , 23 (6) , pags. 599 - 601
- MITHYANTHA , M. S. ; RAO , K. B. y col. ; 1974
"Paraquat adsorption on clay minerals"
Proc. Indias Natl. Sci. Acad. Part B , 40 (3) , pags. 293 - 298
- MITHYANTHA , M. S. ; PEKUR , N. G. ; 1975
"Paraquat retention by soils"
Mysore J. Agric. Sci. , 9 (2) , pags. 276 - 282

-MODEE , J. ; IVEMARK , B. I. y col. ; 1972

"Ultrastructure of the alveolar wall in experimental paraquat poisoning"

Scand. Sect. A , 80 (1) , pags. 54 - 60

-MOFFETT , J. O. ; MORTON , H.L. ; MAC DONALD , R.H. ; 1972

"Toxicity of some herbicidal sprays to honey bees"

J. Econ. Entomal. , 65 (1) , pags. 32 - 36

-MONTGOMERY , M. A. ; 1976

"Interaction of paraquat with the pulmonary microsomal fatty acid desaturase system"

Toxicol. Appl. Pharmacol. , 36 (3) , pags. 543 - 554

-MONTGOMERY , M. A. ; 1977

"Paraquat toxicity and pulmonary superoxide dismutase: an enzymic deficiency of lung microsomes"

Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. , 16 (1) ; pags. 155-158

-MUKADA , T. ; SASANO , N. ; SATO , K. ; 1978

"Autopsy findings in a case of acute paraquat poisoning with extensive cerebral purpura "

Tohoku J. Exp. Med. , 1978 , 125 (3) ; pags. 253 - 263

-MURRAY , R.E. ; GIBSON , S.E. ; 1972

"Comparative study of paraquat intoxication in rats , guinea pigs and monkeys"

Exp. Med. Pathol. , 11 (3) ; pags. 317 - 325

-MURRAY , R.E. ; GIBSON , J. E. ; 1974

"Paraquat disposition in rats , guinea pigs and monkeys"
Toxicol. Appl. Pharmacol. , 27 (2) ; pags. 283 - 291

-MUSCARELLA , A. ; GALOFARO , V. ; 1973

"Anatomical lesions caused by paraquat in some fresh water fish"
Nueva Vet. , 49 (4) , 211 - 221

-NAGYMAJTENYI , L. ; BERENCSI , G ; 1977

"Effect of the simultaneous applicatio of certain salts on the lung- specific effect of paraquat"
Munkavedelem , 23 (1-3 Suppl.) pags. 7-8

-NEORAL , L. ; DUSEK , J. ; SMYSL , B. ; 1977

"Contribution to the causal and formal pathogenesis of lethal paraquat poisoning"
Z. Rechts Med. , 80 (1) , pags. 1 - 7

-NETTER , K. J. ; STEFFEN , Ch. ; 1978

"Paraquat-induced formation of hydroperoxide in mouse liver micro somes"
Br. J. Pharmacol. , 1978 , 63 (2) , pags. 352 - 353

-NEUVILLE , D. ; DASTE , P. ; LONG-CHAMP , R ; 1974

"Comparation toxicity of various pesticides with regard to Diatoma used in oyster culture"
C. R. Hebd. Seances Acad. Sci. Ser. D. , 279 (8), pags. 675-678

-NIEHUSS , M. ; BOERNER, H. ; 1971

"Effect of herbicides on fish"
Nachrichtembl Deut. Pflanzenschutzdienst (Brunswick) , 23 (8) ,

pags. 113 - 117

- NIENHAUS , H. ; EHREFELD , M. ; 1971
"Pathogenesis of lung discase in paraquat poisoning"
Beitr. Pathol. , 142 (3) , pags. 244 - 267
- OKONEK , S. ; HOFMANN , A. ; 1975
"On the question of extracorporal hemodialysis in diquat intoxication"
Arch. Toxicol. 33 (3) , pags. 251 - 257
- OKONEK , S. ; HOFMANN , A. ; HENNINGSEN , B. ; 1976
"Efficacy of gut lavage , hemodialysis and hemoperfusion in the therapy of paraquat or diquat intoxication"
Arch. Toxicol. , 36 (1) , pags. 43 - 51
- OMAYE , S.T. ; REDDY , K. A. ; CROSS , C. E. ; 1978
"Enhanced lung toxicity of paraquat in selenium deficient rats"
Toxicol. Appl. Pharmacol. , 43 (2) , pags. 237 - 247
- OSBORNE , D. N. ; GAGE , B. ; 1973
"Improvement to drug screening with XAD-2 resin columms"
J. Chromatography , 77 , pag, 223
- OSKARSSON , A. ; TJALVE , H. ; 1976
"High uptake in the erythrocytes and the spleen of the quaternary dipyridylum salt paraquat injected intravenously in hypotonic solutions"
Acta Pharmacol. Toxicol. , 39 (5) , pags. 481-199

-OSTERTAG , Y. L. ; HENOU , Ch. ; 1974

"Paraquat action on the urogenital tract of the chick and quail embryo"

C.R. Seances Soc. Biol. Ses. Fil. , 168 (2-3), pags. 304-307

-OSTERTAG , Y.L. ; HENOU , C. ; 1975

"Paraquat embryonic mortality and pulmonary effects in chick and quail's embryos"

C.R. Hebd. Seances Acad. Sci. ; Ser D , 281 (5-8), pags. 439-442

-PASI , A. ; EMBRE , J. W. ; EISENLORD , G.H. ; HINE , C.H. ; 1974

"Assesment of the mutagenic properties of diquat and paraquat in the murine dominant lethal test"

Mutat. Res. 26 (3) , 171 - 5

-PAULOV , S. ; 1977

"Effect of the herbicide Gramoxone S (dichloride paraquat) on the development and body proteins of amphibia (Rana temporaria L)"

Biologia , 32(2) , pags. 127 - 131

-PAYNE , W.R. ; PODE , J.D. ; BENNER , J.E. ; 1974

"Integrated method for trifluralin , diphenamid and paraquat in soil and runoff from agricultural land"

J. Agr. Food Chem. , 22 (1) , pags. 79 - 82

-PIRIE , A. ; REES , J.R. ; HOLMBERG , N. J. ; 1969

"Diquat cataract in the rat"

Biochem. J. , 114 (4) , pag. 89

-PIRIE , A. ; REES , J. R. ; 1970

"Diquat cataract in the rat"

Exp. Eye Res , 9 (2) , pags. 198-203

-PIRIE , A. ; REES , J. R. ; HOLMBERG , N.J. ; 1970

"Diquat cataract: formation of free radical and its reaction with constituents of the eye"

Exp. Eye Res. , 9(2), pags. 204-218

-POUZE , J. M. C. ;VAN DIJK , A. ; GIMBRERE , J.S.F. y col.; 1974

"Intensive therapy after paraquat intoxication"

Intensiumedizin , 11 (5) , pags. 241 - 250

-PRANITIS , P.A.F. ; MILZOFF , J.R. ; STOLMAN , A. ; 1974

"Extraction of drugs from biofluids and tissues with XAD-2 resin"

J. Forensic Sci. 19 (4) , pags.917 - 926

-PRANITIS , P.A.F. ; STOLMAN , A. ; 1975

"The differential elution of drugs from XAD-2 resin"

J. Forensic Sci. , 20 (4) , pags. 726 - 730

-PROCHNIKA , B. ; KWIECIEN-GLOWACKA , E. ; BIALKA , J. ; 1977

"A case of fatal poisoning with Gramoxone"

Przegl. Lek. , 34 (5) , pags. 511 - 512

-PROUT , Ch. K. ; MURRAY-RUST , P. ; 1969

"Crystal molecular structures of the N,N'dimethyl-4,4'-bipyridyl
lium (paraquat) salts with chlorometallate anions CoCl_4^{2-} "

J. Chem. Soc. A. (10) , pags. 1520 - 1525

-PRYDE , A. ; 1975

"Biochemical applicatio of high-pressure liquid chromatography"
Biochem. Soc. Trans. , 3 (6) , 864 -7

-PRYDE , A. ; DARBY , F. J. ; 1975

"Analysis of paraquat in urine by high - speed liquid chromatogra
phy"
J. Chromatogr. , 115 (1) , pags. 107 -116

-PUSHKAR , M. S. ; 1969

"Morphological changes in the organism under the effect of the her
bicide Reglone (diquat)"
Urach. Del. , 9 , pags. 92 - 96

-RADAELLI , L . ; MARTELLI , M. ; 1969

"Effects of paraquat treatment on the stability of soil structure"
Agrochimica , 13 (4-5) , pags. 448 -455

-RADAELLI , L. ; MARTELLI , M. ; 1971

"Residual toxicity of paraquat adsorbed on soil"
Agrochimica , 15 (4-5) , pags. 334 - 350

-RADEELLI, L. ; BOSETTO , M. ; 1968

"Determination of paraquat in clays and inorganic soils"
Ric. Sci. , 38 (9) , pags. 855 - 857

-RAMACHANDRAN , S. ; RAJAPAKJE , C.N.A. ; PERERA , M.V.F.; 1974

"Paraquat poisoning in man"
Forensic Sci. , 4 (3) , pags. 257 -266

-REDDY , K.A. ; LITOV , R.E. ; OMAYE , S.T. ; 1977

"Effect of pretreatment with antiinflammatory agents on paraquat toxicity in the rat"

Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. , 17 (1) , pags. 87-100

-REPETTO , M. , SANZ , P. ; 1976

"Detección toxicológica de herbicidas por un método de antibiograma"

8º Congreso de la Asociación Europea de Centros Antitóxicos, Oslo

-RESTUCIA , A. ; FOGLINI , A. ; DE ALBENTIIIS , P. ; 1974

"Paraquat toxicity in rabbits"

Vet. Ital. , 25 (11-12) , pags. 555 - 564

-REMBaum , A. ; HADECK , V. ; YEN , S.P.S. ; 1971

"Electron transfer to bipyridinium (paraquat) salts"

J. Amer. Chem Soc. , 93 (10) , pags. 2532 - 2534

-RHODES , M. L. ; ZAVALA , D. C. ; BROWN , D. ; 1976

"Hipoxic protection in paraquat poisoning"

Lab. Invest. , 35 (5) , pags. 496 - 500

-RIVERA , M. ; 1973

"Method for paraquat determination in toxicological investigations"

Rev. Cubana Farm. , 7 (1) , pags. 59 - 63

-ROBERTSON , B. ; ENHORNING , G. ; IVEMARK , B. y col. ; 1970

"Paraquat-induced derangement of pulmonary surfactant in the rat"

Acta Paediat. Scand. , Suppl. , 206 , pags. 37 - 39

- ROBERTSON , B. ; ENHORNING , G. ; IVEMARK , B. ;MALMQUIST , E. ;
MODEE , J. ; 1971
"Experimental respiratory distress induced by paraquat"
J. Pathol., 103 (4), pags. 239-244
- ROBERTSON , B. ; GROSSMANN , G. ; IVEMARK , B. ; 1976
"The alveolar lining layer in experimental paraquat poisoning"
Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. A , 84 (1), pags. 40-46
- ROSE , M.S. ; CRABTREE, H.C. ; FLETCHER , K. ; WYATT , I. ; 1974
"Biochemical effects of diquat and paraquat . Disturbance of the
control of corticosteroid synthesis in rat adrenal and subsequent
effects on the control of liver glycogen utilisation"
Biochem. J. , 138 (3) , pags. 437-443
- ROSE , M.S. ; SMITH , L.L. ; WYATT , I. ; 1974
"Energy-dependent accumulation of paraquat into rat lung"
Nature (London) , 252 (5481) , pags. 314 - 315
- ROSE , M.S. ; LOCK , E.A. ; SMITH , L.L. ; WYATT , S. ; 1976
"Paraquat accumulation : tissue and species specificity"
Biochem. Pharmacol. , 25 (4) ; pags. 419-423
- ROSE , M.S. ; SMITH , L.L. ; WYATT , I. ; 1976
"The relevance of pentose phosphate pathway stimulation in rat lung
to the mechanism of paraquat toxicity"
Biochem. Pharmacol. , 25 (15) , pags. 1763 - 1767
- ROSSOW , D.J. ; ENGELBRECHT , F.M. ; 1978
"The influence of paraquat on the in vitro oxygen consumption of
rabbit lung"

- S.Afr. Med. J. , 54 (5) , pags. 199-201
- ROUJEAU , J. ; NOGUES , Ch. ; LECCRERC , J.P. ; 1974
"Paraquat poisoning . Anatomoclinical and experimental study"
Rev. Fr. Mal. Resp. , 2 (1) , pags. 65-74
- SCHULZ , O. ; KIRCHNER, K.; MUELLER , P. ; ROTHE , R. ; 1976
"Reglone (diquat) cause of poisoning of sheep , cattle and swine"
Monatsh. Veterinaermed. , 31 (17) , pags. 647 - 649
- SCIDENFELD , J.J. ; WYCOFF , D. ; ZAVALA , D.C. ; RICHERSON, H.B.;
1978
"Paraquat lung injury in rabbits"
Br. J. Ind. Med. , 35 (3) , pags. 245 - 257
- SHARP , Ch. W. ; OTTOLENGUI , A. ; POSNER , H.S. ; 1972
"Correlation of paraquat toxicity with tissue concentrations and
weigh less of the rat"
Toxicol. Appl. Pharmacol. 22 (2) , pags. 241-251
- SHARP, Ch. W. ; LORES , E.M. ; 1974
"Chromatographic parameters of the bisquaternary herbicides , pa
raquat and diquat"
J. Agr. Food Chem. , 22 (3) , pags. 458 - 461
- SHAW , B. ; HOPKE , P. ; 1975
"The dynamics of diquat in a model eco-system"
Environ. Lett. , 8 (4) , pags. 325-335
- SINOW , J. ; WEI , E. ; 1973

"Ocular toxicity of paraquat"

Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology , 9 (3)
pags. 163 - 168

-SMALLEY , H.E. ; 1973

"Toxicity and hazard of the herbicide , paraquat in turkeys"
Poult. Sci. ,52 (4) , pags. 1628

-SMITH , E.A. ; MAYFIELD , C.I. ; 1978

"Paraquat : determination , degradation and mobility in soil"
Water , Air , Soil Pollut. , 9 (4) , pags. 439 - 452

-SMITH , L.L. ; WRIGHT , A. ; WYATT , I. ; ROSE , M.S. ; 1974

"Effective treatment of paraquat poisoning in rats and its relevance to treatment of paraquat poisoning in man"
Brit. Med. J. , 4 (5944) , pags. 569 - 571

-SMITH , L.L. ; LOCK , E.A. ; ROSE , M.S. ; 1976

"The relations ~~hip~~ between 5-hydroxytryptamine and paraquat accumulation into rat lung"
Biochem. Pharmacol.,25 (22) , pags 2485 - 2487

-SMITH , L.L. ; ROSE , M.S. ; 1977

"A comparison of the effects of paraquat and diquat on the water content of rat lung and the incorporation of thymidine into lung DNA"
Toxicology , 8 , pags. 223 -230

-SMITH , L.L. ; WYATT , I ; ROSE , M.S. ; 1978

"A comparison of the uptake and elimination of paraquat in rat lung"

slices with that in vivo "

Int. Cong. Ser-Excerpta Med. 440 (Ind. Environ. Xenobiotics)
135 - 140

-SMITH , P. ; HEATH , D. ; KAY , J. M. ; 1974

"Pathogenesis and structure of paraquat-induced pulmonary fibrosis
in rats"

J. Pathol. , 114 (2) , pags. 57 - 67

-SODERQUIST , C.J. ; CROSBY , D.G. ; 1972

"Gas chromatographic determination of paraquat in water"

Bull. Environ. Contam. Toxicol. , 8 (6) , pags. 363 - 368

-STANCLIFFE , T.C. ; PIRID , A. ; 1971

"Production of superoxide radicals in reaction of the herbicide
diquat"

Fed. Eur. Biochem. Soc. Lett , 17 (2) , pags. 297 - 299

-STAUFF , D.C. ; IRLE , G.K. ; FELSENSTEIN , W.C. ; 1973

"Screening of various adsorbents for protection against paraquat
poisoning"

Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology , 10 (4)
pag. 193

-STAUFF , D.C. ; COMER , S.W. ; ARMSTRONG , J.R. ; WOLFE , H.R. ;
1975

"Exposure to the herbicide , paraquat"

Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology , 14 (3)
pags. 334 - 340

-STECKO , V. ; AKERBLOM , M. ; 1976

"Diquat and paraquat biological and chemical determination of persistence in soil"

Swed. Weed Conf. , 1976

-STECKO , V. ; SVENSSON , A. ; 1976

"Diquat and paraquat phytotoxic effects after incorporation in soil"

Swed. Weed Conf. , 1976

-STOLMAN , A. ; PRANITIS , P.A.F. ; 1977

"Clinical toxicology drug extraction methods . Resin XAD-2"

Clinical Toxicology , 10 (1) , pags. 49 - 60

-STYLES , J. A . ; 1974

"Effects of paraquat and diquat on cells is culture viability of macrophages and fibroblasts incubated with paraquat and diquat"

Brit. J. Exp. Pathol. , 55 (1) , pags. 71 - 77

-SUN , L.T. ; GORMAN , M.L. ; 1973

"Toxicity to fish of herbicides recommended for weed control in the Rewa"

Agric. , 35 (1) , pags. 31-3

-SYKES , B.I= ; PURCHASE , I.F.H. ; SMITH , L.L. ; 1977

"Pulmonary ultrastructure after oral and intravenous dosage of paraquat to rats"

J. Pathol. , 121 (4) , pags. 233-244 .

-TADJER , G.S. y col. ; 1967

"The identification of paraquat in biological material using thin-

layer chromatography"

Journal of Forensic Sciences , 12 (4) , pags. 549 - 553

-TEARE , R.D. ; 1976

"Poisoning by paraquat"

Med. Sci. Law , 16 (1), pags 9 - 12

-THOMPSON , W.D. ; PATRICK , R.S. ; 1978

"Collagen prolyl hydroxylase levels in experimental paraquat poisoning"

Br. J. Exp. Pathol. , 59 (3) , pags. 288 - 291

-THURLBECK , W.M. ; THURLBECK , S.M. ; 1976

"Pulmonary effects of paraquat poisoning"

Chest , 69 (2) sup. , pags. 276 - 280

-TOMPSETT , S.L. ; 1970

"Paraquat poisoning"

Acta Pharmacol. Toxicol. , 28 (5) , pags. 346 - 358

-TSUNENARI , S. ; 1975

"Determination of paraquat using thin - layer chromatography"

Forensic Sci. , 5 (1) , pag. 61 - 67

-TSUNENARI , S. ; MUTO , H. ; INOVE , S. ; ZUGITA , H. y col. , 1975

"Forensic toxicological studies of herbicide Gramoxone"

Nippon Hoigaku Zasshi , 29 (2) , pags. 88 - 102

-UKAI , S. ; HIROSE , K. ; KAWASE , S. ; 1973

"Forensic chemical studies on drugs paraquat . Determination of di

quat and paraquat in aqueous herbicide preparations by gas chromatography"

Eisei Kagaku , 19 (1) , pags. 281 - 286

-UKAI , S. ; HIROSE , K. ; KAWASE , S. ; 1977

"Forensic chemistry of drugs . Gas Chromatography of reduction products of herbicides , diquat and paraquat , with sodium tetrahydroborato metal salts"

Eisei Kagaku , 23 (1) , pags. 32 - 38

-VAN DIJK , A. ; MAES , R.A.A. ; DROST , R.H. y col ; 1975

"Paraquat poisoning in man"

Arch. Toxicol. , 34 (2) , pags. 129 - 136

-VAN DIJK , A. ; EBBERINK , R. ; DE GROOT , G. ; MAES , R.A. A. ; DOUZE , J. M. C. ; VAN HEYST , A. N. P. ; 1977

"A rapid and sensitive assay for the determination of paraquat in plasma by gas chromatography"

J. Anal. Toxicol.,1 (4) , pags. 151 - 154

-VAN OSTEN , G.K. ; GIBSON , J.E. ; 1975

"Effect of paraquat on the biosynthesis of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid , and protein in the rat "

Food Cosmetic. Toxicol , 13 (1) , pags. 47 - 54

-VAN RENSEN , J.J.S. ; 1975

"Lipid peroxidation and chlorophyll destruction caused by diquat during photosynthesis in Snedesmus"

Physiol. Plant. , 33 (1) , pags. 42 -46

- VANSTONE , D.E. ; STOBBE , E.H. ; 1977
"Electrolytic conductivity a rapid measure of herbicide injury"
Weed Sci. , 25 (4) , pags. 352 - 354
- VENGERSKAYA , K.Y. ; DEMIDENKO , I.M. ; MAIOROVA , T.N. ; 1972
"Determination of small amounts of paraquat , diquat and dipyridyl
hydrogen phosphate in air"
Ref. Zh. , Khim. , Abstr.. 11N , 455
- VERMA , S.P. ; BAHGA , H.S. ; 1976
"Acute toxicity studies on paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridi-
nium dichloride)"
Indian J. Anim. Sci. , 46 (8) , pags. 408 - 413
- VERNE , J. ; FOURNIER , E. ; HEBERT , S. ; RICHSHOFFER , N. ; 1975
"Action d'un herbicide (paraquat) sur les hépatocytes en cultures
histiotypique"
European Journal of Toxicology , 8 (4) , pags. 226 - 228
- VERNE , J. ; HEBERT , S. ; MACHI , N. ; 1976
"Effect of lithium salts on cultured hepatocytes"
C.R. Seances Soc. Biol. ses Fil. , 170 (2) , pags. 283 - 284
- VIJAYARATNAM , G.S. ; CORRIN , B. ; 1971
"Experimental paraquat poisoning . Histological and electron -op-
tical study of the changes in the lung"
J. Pathol. 103 (2) , pags. 123-129
- VILCEANU , R. ; NEAMTIV , I. ; KNEJEV , M. ; 1971
"Chromatographic analysis of herbicides based on quaternary salts

of bipyridyl"

Lucr. Conf. Nat. Chim. Anal 3^a , 4 , pags. 215-221 (Rom) Inst.
Cent. Cercet. Chim.

-VIZEK , M. ; MOLUSA , R. ; PALECER , F. ; 1975

"Lung function in acute paraquat intoxications"

Physiol. Bohemoslev , 24 (6) , pags. 559 - 563

-VON DER HARDT , H. ; CARDESA , A. ; 1971

"Early histopathological alterations following paraquat intoxication"

Klim. Wochensch. , pags. 544 - 550

-WITSCHI , H. ; KACEW , S. ; 1974

"Pathological biochemistry of lung parenchyma in acute paraquat poisoning"

Med. Biol. , 52 (2) , pags. 104 - 110

-WITSCHI , H. ; KACEW , S. ; HIRAI , K. ; COTE , M. G. ; 1977

"In vivo oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate by paraquat and diquat in rat lung"

Chem. Biol. Interact. , 19 (2) , pags. 143 - 160

-WHITE , B.G. ; 1969

"Bipyridinium quaternary salts and related compounds .Weak intermolecular charge-transfer complexes of biological interest occurring in solution and involving paraquat"

Trans. Faraday Soc. 65 (8) ; pags. 2000 - 2015

-YEV , R.R. ; DECHORETZ , N. ; 1977

"Acute toxicity of a herbicidal combination of diquat plus copper in to eggs , alevins and fry of cainbow trout and two aquatic macroinvertebrates"

J. Aquat. Plant. Manago. , 15 , pags. 57 - 60

-ZAVALA , D.C. ; RHODES , M.L. ; 1978

"An effect of paraquat on the lungs of rabbits;its implications in smoking contaminated marihuana"

Chest , 74 (4) , pags. 418 - 420

-ZHEMCHUZHIN , S.G. ; MARKOVA , L.I. ; 1969

"Determining small quantities of herbicides in soils"

From Otkrytiya Izobret. , Prom. Obraztry , tovarny Zmaki,46 (21), pags. 111

-ZIVANOVIC , M. ; 1976

"Study of the possibility of using aminotriazine and paraquat for weed control in vineyards"

Arch. Poljopr. Nauke , 29 (107) , pags. 21 - 55

-ZWEIG , G. ; 1967

"Pesticides , Plant Growth Regulators , and Food Additives"
vol. V , pags. 473 - 481 , Ed Academic Press , New York

-ZWEIG , G. ; 1969

"Mode of action of photosynthesis inhibitor herbicides"

Residue Rew. , 25 , pags. 69 - 79

INDICE

	<u>Pag.</u>
I INTRODUCCION.....	1
II PARTE TEORICA.....	4
II-1 NATURALEZA QUIMICA.....	5
Estructura química.....	6
Grupo bupiridilo.....	7
Nombres comerciales.....	8
Historia.....	9
Dosis usuales.....	10
Obtención.....	11
Propiedades químicas.....	12
Propiedades edafológicas.....	18
II-2 TOXICIDAD.....	23
Toxicidad en plantas.....	25
Toxicidad en animales.....	27
- <u>Invertebrados</u>	27
<u>Artrópodos</u>	27
Clase <u>Crustáceos</u> -Subclase <u>Malacostráceos</u> -Orden <u>Anfípodos</u>	27
Clase <u>Insectos</u>	27
- <u>Vertebrados</u>	28
Clase <u>Peces</u>	28
Clase <u>Anfibios</u>	29
Clase <u>Aves</u>	30
Clase <u>Mamíferos</u> -Subclase <u>Placentarios</u>	31
Orden <u>Artiodáctilos</u> -Suborden <u>Rumiantes</u>	31
Orden <u>Roedores</u>	32
Orden <u>Carnívoros</u> -Suborden <u>Fisípedos</u>	59
Orden <u>Primates</u> -Suborden <u>Pitecoideos</u>	60
II-3 ANTECEDENTES ANALITICOS.....	78
Preparación de la muestra.....	79

	<u>Pag.</u>
Desproteínización.....	79
Paso por columna.....	80
Determinación.....	82
Espectrofotometría UV-visible.....	82
Cromatografía en capa fina.....	84
Cromatografía gaseosa.....	86
Cromatografía líquida.....	88
Otros métodos.....	88
III PARTE EXPERIMENTAL.....	90
III-1 MATERIAL Y METODOS.....	91
Reactivos.....	93
Reacciones coloreadas.....	97
Cromatografía en capa fina.....	118
Determinación por espectrofotometría.....	121
Separación por columna (disoluciones).....	129
Resina IR-120.....	129
Resina XAD-2.....	131
Comparación.....	139
Trabajo con animales.....	141
Preparación de la muestra.....	144
Separación por columna (extractos).....	146
Resina IR-120.....	146
Resina XAD-2 ensayos "in vitro".....	147
ensayos "in vivo".....	151
Comparación.....	153
III-2 RESULTADOS.....	161
III-3 DISCUSION.....	171
IV CONCLUSIONES.....	174
V BIBLIOGRAFIA.....	177

Erratas advertidas

<u>Pág.</u>	<u>Línea</u>	
178	22	C.A. <u>72</u> , 110119 q , (1970)
179	2	C.A. <u>88</u> , 16961 s , (1978)
179	6	C.A. <u>88</u> , 16962 t , (1978)
187	3	C.A. <u>85</u> , 88277 f , (1976)
187	11	C.A. <u>80</u> , 70657 v , (1974)
192	15	Ed. Serratosa , CSIC , Madrid
192	21	C.A. <u>88</u> , 46018 g , (1978)
195	21	ed. 7ª , págs. 257-261
197	4	C.A. <u>81</u> , 59097 n , (1974)
197	8	C.A. <u>81</u> , 164501 n , (1974)
197	12	C.A. <u>83</u> , 2013 u , (1975)
201	19	C.A. <u>89</u> , 158228 c , (1978)
203	1	C.A. <u>77</u> , 1532 b , (1972)
203	4	C.A. <u>78</u> , 53695 x , (1973)
205	19	C.A. <u>87</u> , 146567 h , (1977)
207	8	Rev. Esp. de Med. Legal y Social <u>5</u> (14) pág.58 1977
209	7	C.A. <u>86</u> , 115831 q , (1977)
213	21	C.A. <u>84</u> , 100315 j , (1976)
214	3	C.A. <u>80</u> , 104528 w , (1974)
214	8	C.A. <u>87</u> , 178491 s , (1977)
215	7	C.A. <u>78</u> , 68012 w , (1973)
216	10	<u>49</u> (9) , C.A. <u>75</u> , 62403 r , (1971)
217	12	C.A. <u>87</u> , 63979 t , (1977)
217	16	C.A. <u>71</u> , 111771 n , (1969)