

农药产品中的杂质： 分离、分析与产品质量

研究产品中杂质的重要性

- 不同条件、不同原材料、不同合成路线生产出的含同一活性成分的工业级产品，在其化学组成上有很大差异。
- 杂质对农药产品的毒理学特性有极大的影响。与活性成分相比，有些杂质可能表现出明显的毒害作用，影响药剂的植物毒性或物理学特性，在食品中产生残留，或者引起环境污染。

不论是最初的生产者或是一般生产者生产的商业化的工业级农药产品，要确保其安全性必须包括以下三个步骤：

- 第一，必须说明杂质及其化学结构。包括主要杂质（ $\geq 1\%$ ）的确定，所有与毒理学和环境有关的杂质和少量杂质（ $\geq 0.1\%$ ）的特性的描述。
- 第二，除了对活性成分的最低含量的确定以外，正式的说明书还应列出相关杂质及其可允许的最大浓度。
- 第三，提供杂质的检测和定量分析方法，并应用于质量控制。

IUPAC

- IUPAC农用化学品和环境委员会提出一下建议：
- 1—12

- 1.应当经常将登记注册农药的工业活性组成的详细信息和一定产品的毒理学研究等情况报告到有关管理机构。

- 2.相关杂质应该定义为，毒性比纯活性成分大，或引起其它毒理学反应，引起植物毒性，使食品腐败，影响制剂的物理学特性，导致在食品和环境中的大量残留。

- 3.应命名相关杂质，并且在登记文件中和植物保护产品的FAO规格中，具体说明杂质的最大允许浓度。

- 4.FAO和WHO的农药残留联合会议对一定的工业级产品进行毒理学测定，以评估有农药残留的食品的安全性。这些评估不得掩盖不利于健康的方面。

- 5. 登记部门应评估由不同生产者分别生产出的农药产品。没有农药产品的生产者和生产产地的说明，不允许登记。还应说明农药制剂活性成分的原料供应者经过检验。

- 6.农药登记中对农药的综合的安全性和效力的评估对确保产品的安全使用。为避免不必要的影响，必须正确贮存农药，并依据经过检验的标签进行使用。

- 7. 公众对农药质量的信任需要政府检测和监督程序的分析 and 测试。而且，应把市场上的农药产品的质量以及其相关杂质浓度做为农药质量控制的一部分。

- 8. 避免农药贮存中的变质反应。

- 9. 鼓励从事农药组分的研究，确认潜在的有毒杂质，对提高农药应用的安全性发挥巨大的作用。

- 10. 农药生产者应严格检验工业级产品的化学组成以确保其组成与质量说明书相一致。

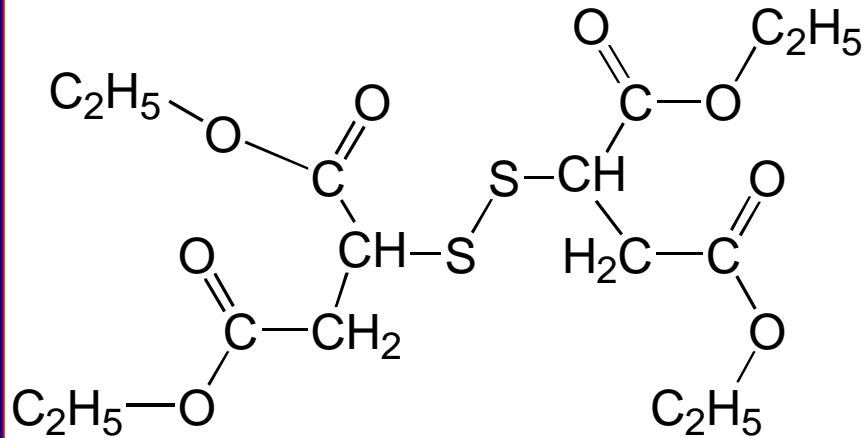
- 11.进行农药测试的实验室：GC,HPLC，相关谱（IR,MS,NMR和UV-VIS）。

- 12. 由于生产过程和使用材料的不同造成产品组分实质上的不同，如果某种农药有多个生产厂家，必须经CIPAC方法验证。

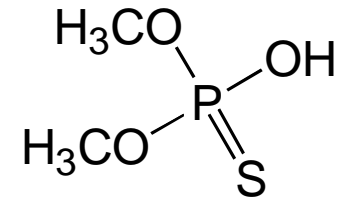
农药中的杂质：来源

- 存在于工业农药产品中各种化学级别的杂质，可能是从原始材料中带去的，也可能是在贮存和使用过程中产生的。

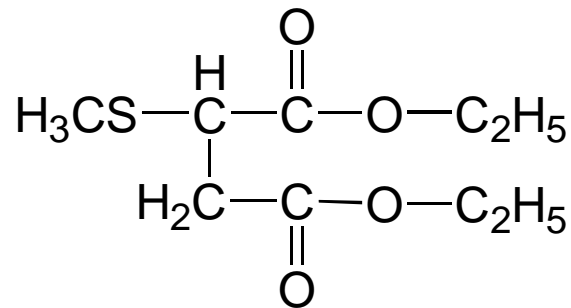
工业马拉硫磷中的杂质



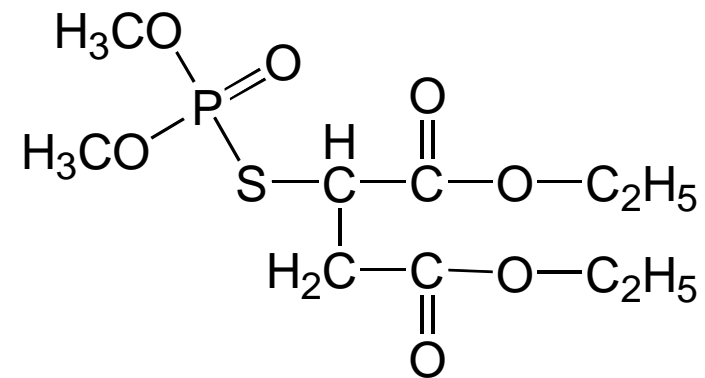
tetraethyl dithiodisuccinate



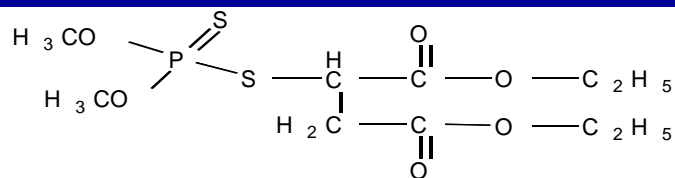
O,O-dimethyl phosphorothioic acid



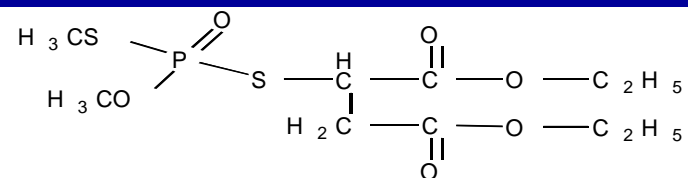
diethyl 2-methyl-thioisuccinate



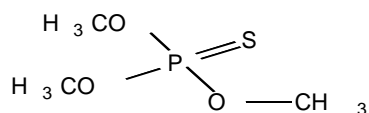
malaoxon



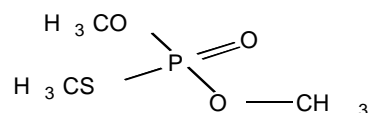
Malathion



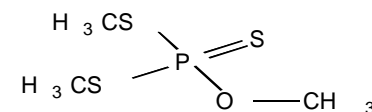
iso-malathion



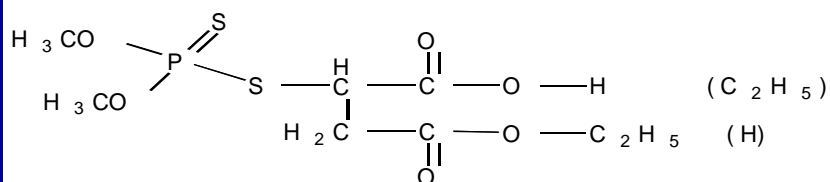
O,O,O-trimethyl phosphorothioate



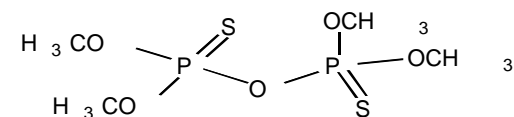
O,O,S-trimethyl phosphorothioate



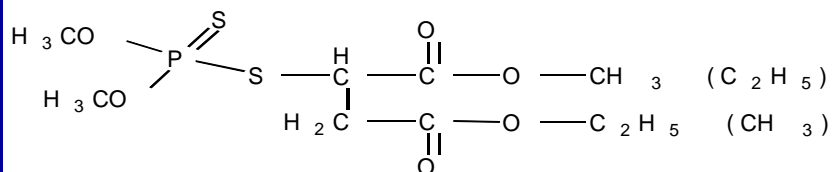
O,S,S-trimethyl phosphorothioate



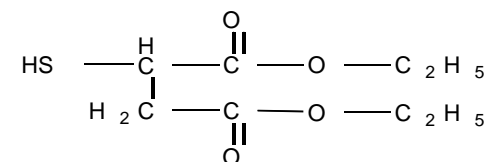
O,O-dimethyl-S-(1-carboxy-2-carboethoxy)-ethyl phosphorodithioate or corresponding ethyl analoge



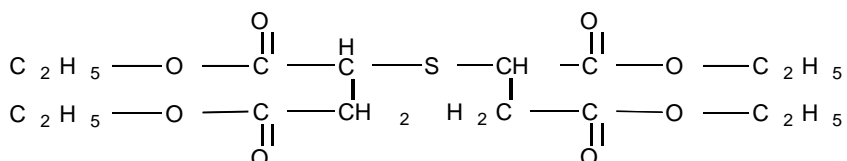
O,O,O',O',-tetramethyldithiopyrophosphate



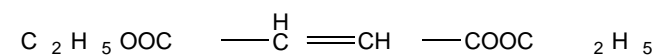
O,O-dimethyl-S-(1-carbomethoxy-2-carboethoxy)-ethyl phosphorodithioate or corresponding ethyl analoge



diethyl 2-thio succinate



tetraethyl thiodisuccinate



diethyl fumarate

- 植物保护产品FAO说明发展和应用的新程序要求工业产品中的杂质信息，新的FAO说明包括所以相关的杂质。

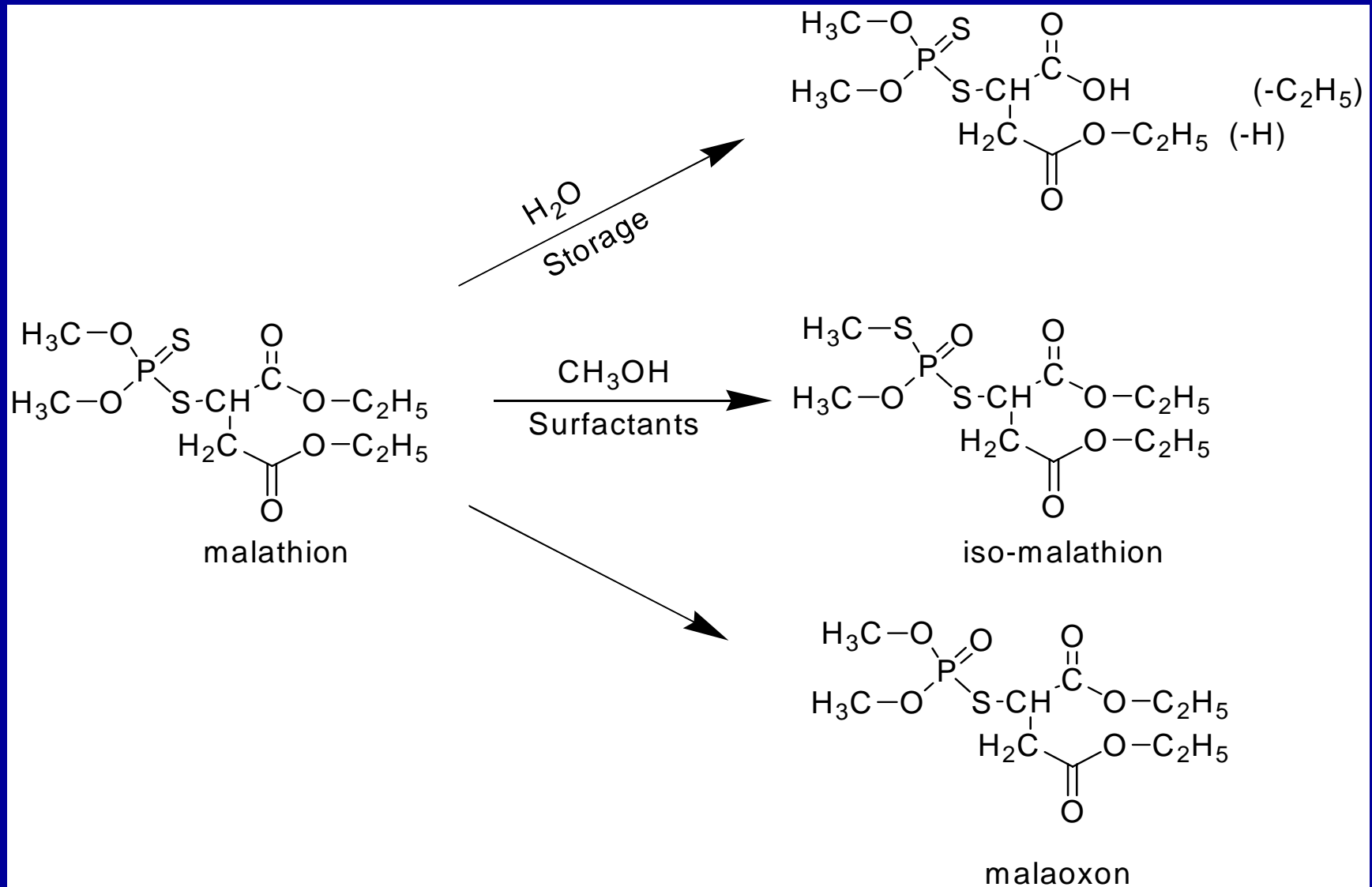
一些重要的农药杂质

- Chlorinated dibenzodioxins ， 卤代二苯并呋喃
- 氯代偶氮苯
- 亚硝基胺
- 乙烯基硫脲
- 联二苯醚
- 苯胺和亚苯胺
- 联氨
- 苯酚
- 异一硫代磷酸酯
- 有机磷，氨基甲酸酯化合物的sulphoxide ,sulphone衍生物和oxon

贮存对杂质的影响

- 不稳定的毒死蜱制剂分解为3, 5, 6-三氯-2-pyridinol (TCP)和硫特普。
- 在1, 3, 4, 5年中, 样品中TCP浓度分别在<0.05—0.12%, 0.1—0.2%, 0.19—3.8%, 0.4—0.57%之间变化。
- 商业化产品中硫特普的含量与贮存时间长短没有关系。据报道, 直接用含有13.8%TCP, 0.65%硫特普和微量毒死蜱 oxon 进行体外寄生虫的控制, 曾杀死了50头公牛。

贮存对马拉硫磷的影响



地亚农

- 在特定情况下，地亚农能变质生成有害物质，尤其有机溶剂含有少量水（0.1—2%）时。空气，光照，温度的升高促进 monothiotep（O,S-TEEP）和硫特普(S,S-TEEP)的生成。这些化合物是潜在的胆碱酯酶抑制剂，并且有较高毒性。

杀螟硫磷的杂质

- 发现S-甲基杀螟硫磷是杀螟硫磷中的主要杂质，尤其在长期贮存于外界温度之下的样品中。杀螟硫磷oxon和其它杂质含量在贮存过程中不增长，说明这些化合物是生产过程中的副产物。

杂质的分析技术

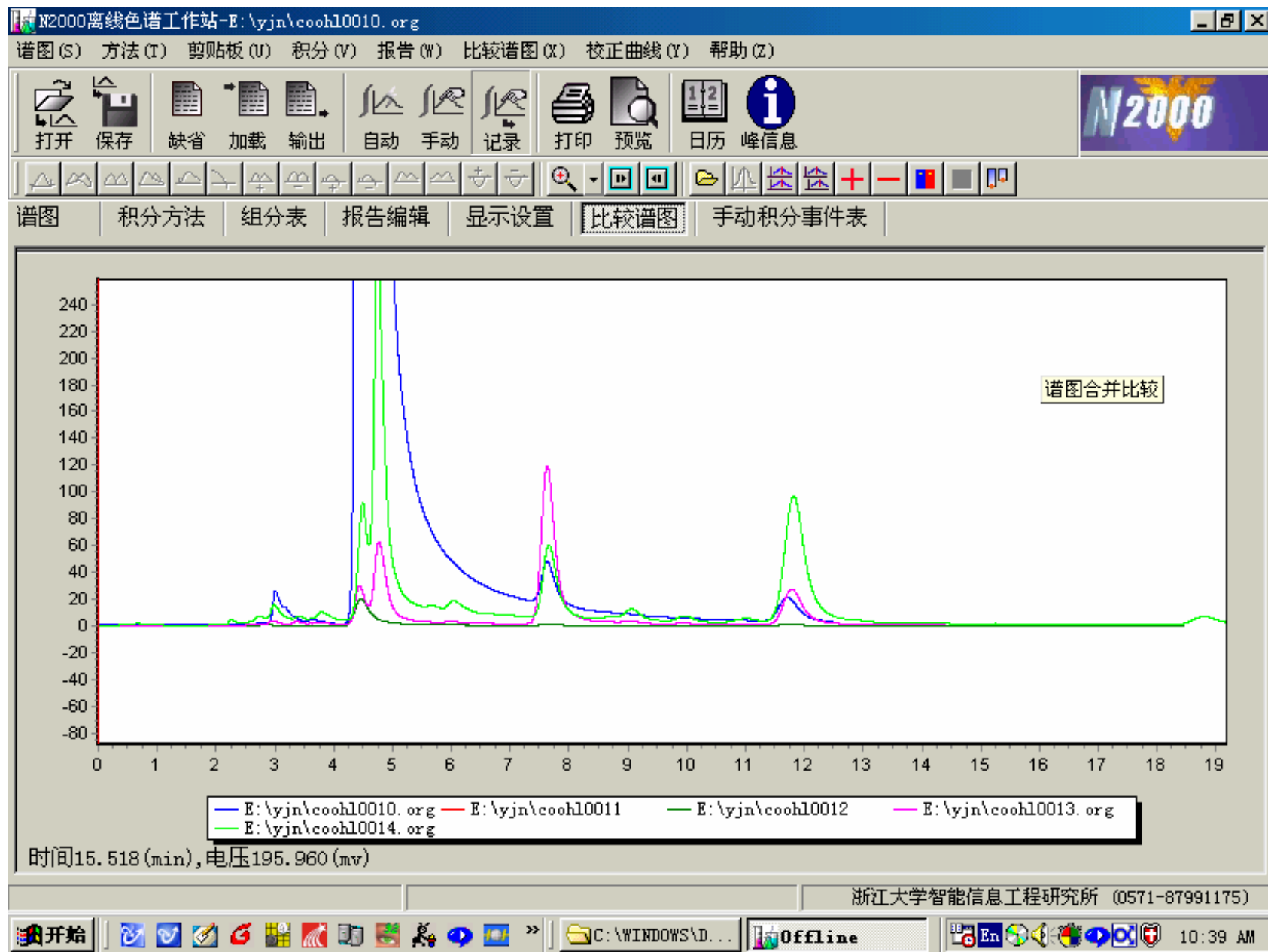
- 因工业产品的复杂性，农药产品中mg/kg水平的杂质的分析确认是十分困难的。

- 或许最好的方法是先预测可能存在的杂质。这种预测是以生产过程中合成路线的研究为基础的，包括合成时主反应和次反应的确认以及原始材料可能存在杂质的评估。另外，也应考虑相似化学结构农药中的已知的杂质。文献的调查也可能为这项评估提供非常有用的信息。

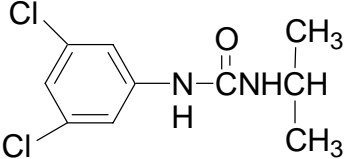
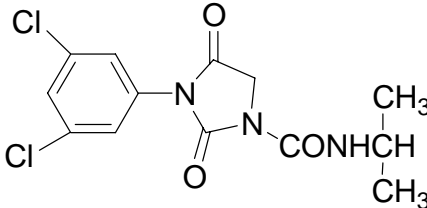
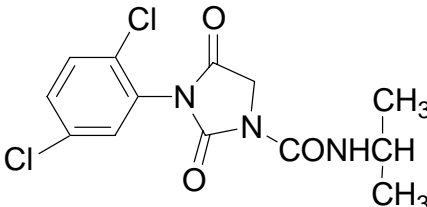
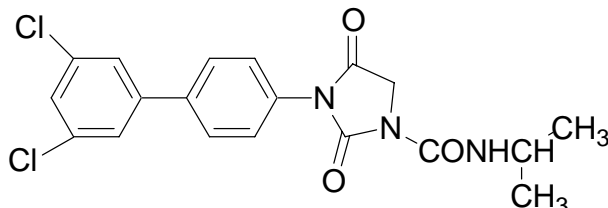
- 工业产品中，检测可能杂质的第二阶段是使用各种色谱和分光仪器。
- 分离？
- 制备？
- 合成 验证？
- GCMS, LCMS? MS-MS?

杂质的鉴定： 例

- 重要杂质的分析通常单独使用GLC,HPLC,GC-MS或结合制备色谱柱的方法或先在TLC板上进行初步分离。
- Pavel和Kaiser用TLC结合酶抑制剂或化学检测器检测工业农药中低浓度的杂质。据报道，用这种方法，异倍硫磷和 monothiotep（辛硫磷的杂质）的检测限分别达到1g, 0.03ng。而且，高分辨率的（18000以上）GC从干扰化合物中分离出dioxins。
- 通常GC-MS不能单独用于未知物质的定性。大多数情况下， ^1H , ^{13}C , ^{31}P NMR(28,34,45)和其它分光器的方法已成功应用于未知杂质的定性。



Example 14: Separation of iprodione and its impurities by preparative LC:
 40mmID*30cm C18 column, 30mL/min CH3OH:H2O 85:15
 Green: TC solution at 254 nm, blue: 220nm for TC solution

Compounds	MS (ESI)	Chemical Structure	Comments
Impurity A	247(M), 249		
Iprodione	330(M), 332		
Impurity B	330(M), 332		<p>MS in FAB mode shows a MASS of 332(M+2), (Figure 24, see also)</p>
Impurity C	406(M), 408(M+2)		

亚硝基胺

- N-亚硝基胺可以用thermal-energy-analyser(TEA)和/或GC-MS检测。TEA比传统的GC-NMP检测器有更大的选择性和灵敏度（大约比TID高100fold,比uv检测器高1000fold）。GC-MS毛细管柱检测限优于TEA.大量样品使用的比较表明了良好的一致性。

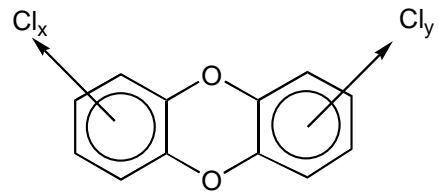
农药杂质的安全性评估

- 对杂质的评估应该考虑与活性成分相比杂质的相对毒性，杂质对物理和化学特性的影响，这些特性影响产品的贮存稳定性。杂质对处理的作物有植物毒性，引起食物的腐败，导致食品和环境中的残留。
- 除了工业活性成分中杂质，制剂应用的载体材料的成分和杂质也可能影响产品的性质。因此，农药的安全性评估也应该考虑到这些方面。

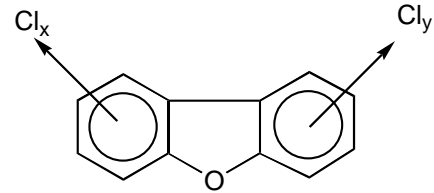
有机磷化合物

- 一些其它有机磷化合物，尤其 **phenylphosphonothioates** 也可能在人类和试验动物中产生滞留性神经变性病。对溴磷，这类物质的代表，和它的杂质诱导滞留性神经变性病的相对潜力如下：
desbromoleptophos > 纯对溴磷 > 工业对溴磷 > 对溴磷 **oxon**。发现只有 **desbromoleptophos** 是毒害神经的。

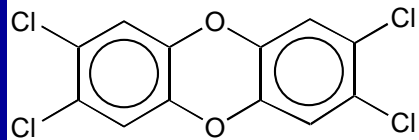
- 硫特普是一种高毒杂质，毒死蜱中微量存在。毒死蜱是一种对哺乳动物有温和毒性的有机磷杀虫剂。许多国家，硫特普的最大浓度限制在0.3%或0.5%。亚洲的检测数据表明一些地区的生产者生产毒死蜱时，硫特普的浓度达到17%（K.D.Racke, 个人传达）。



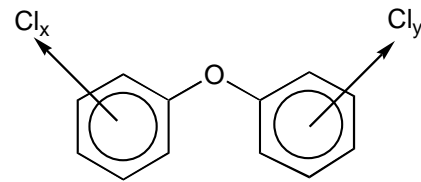
$(x+y) = 1-8$
Chlorinated dibenzodioxines



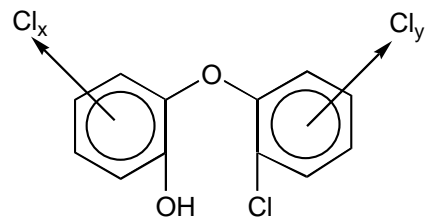
$(x+y) = 8$
Chlorinated dibenzofuranes



2,3,7,8 tetrachloro
dibenzo-p-dioxin (TCDD)



Chlorinated diphenyl ethers



Chlorinated 2-phenoxyphenols

- PCDDs有几种方法合成。例如，通过氯代phenoxyphenols形成，phenoxyphenols是用于合成phenoxy acetic acids的杂质；也可通过chlorobenzenes水解形成，用于生产chlorophenols或来源于氯代二苯醚。另外，还可以经过紫外照射或热解形成。

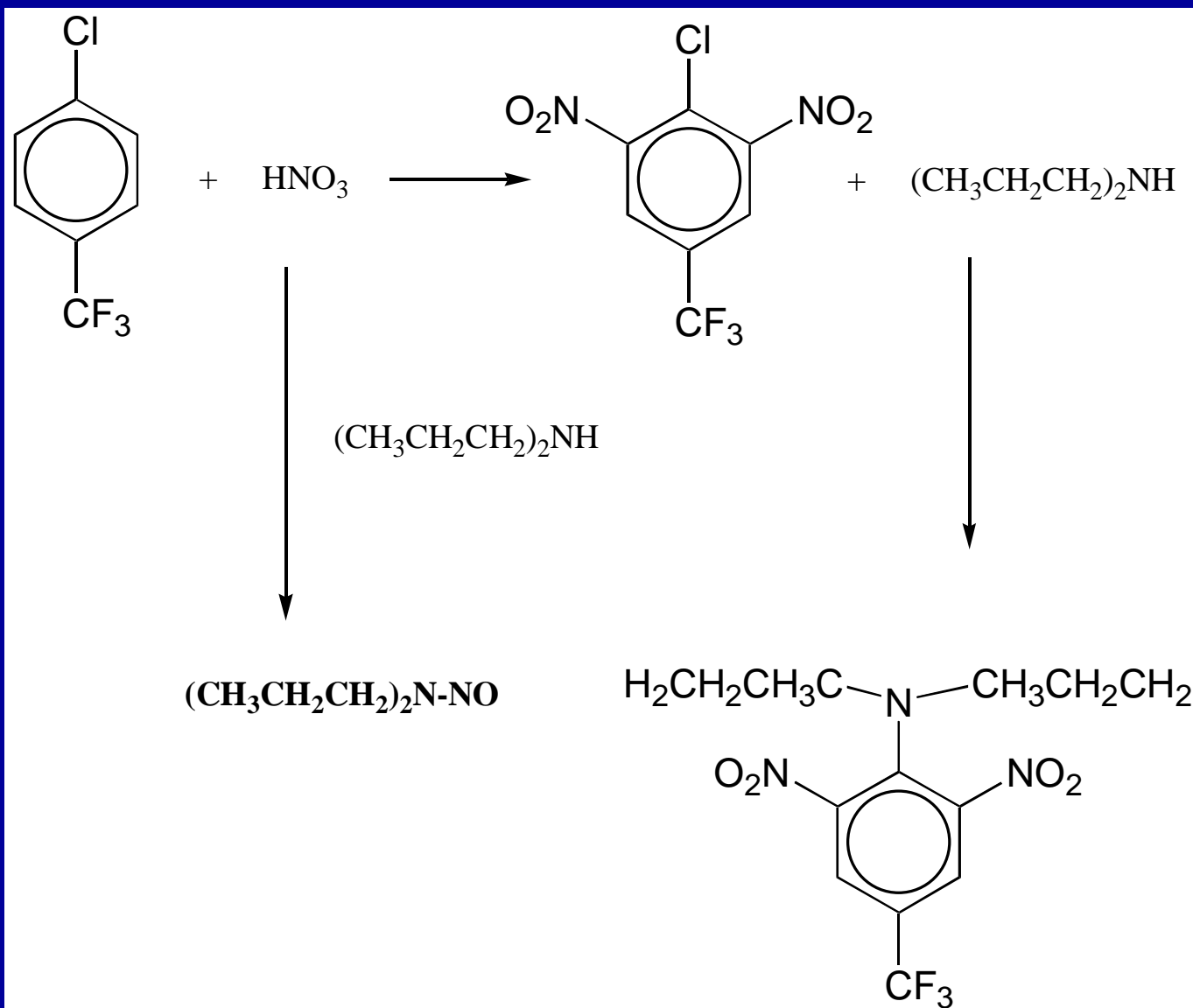
- 例如，dibenzofurans可以通过二苯醚或phenylodiols形成,phenylodiols可能是chlorinated phenols的杂质。dioxins可能是在苯氧乙酸类除草剂（如2, 4, 5-T,2,4-D），杀真菌剂pentachlorophenol，杀菌剂hexachlorophene的生产过程中形成的。

氯代偶氮苯

- TCAB, TCDD的结构类似物, 有相似的Ah接收器, 在老鼠中引起相似的毒害作用。
- HCB作为杀真菌剂应用, 但还可以在除草剂DCPA的合成过程中作为杂质形成。

亚硝基胺

- 农药的N-亚硝基衍生物可能表现致突变和致畸作用。
- NDMA是这种杂质。据报道，NDMA的大鼠口服，内吸，胃毒LD50分别为40，37，43mg/kg.



- GC-TEA 分析蚊蝇驱除剂DEET的商品化制剂和除草剂EPTC.这些化合物是用DET,DPA合成的。DET,DPA分别是NDEA,NDPA的前体。

Ethylenethiourea

- ETU在EBDC农药的生产中形成，如maneb, mancozeb, metiram and zineb。也可能在超过保质期或代谢过程中形成。

- 大鼠口服或皮肤暴露在ETU时，导致畸胎，引起CNS和骨骼异常。大鼠小鼠口服ETU，克导致甲状腺癌和heptomas发生率的升高。女性工作者暴露于ETU的研究中没有发现甲状腺癌发生率的升高。1993年，JMPR建议ETU的人类可接受的日摄入量为0.004mg/kg体重。

杂质对制剂产品物理学特性的影响

- 高挥发性除草剂在某些情况下引起非靶标作物的伤害。苯氧乙酸类除草剂2, 4-D, 2, 4, 5-T的酯。

- 据报道，用于杀虫剂fenazaquin合成的试剂，有少量（大约0.5%）存在于纯化后的工业产品中。这种杂质迁移到工业产品晶体的表面，大大降低晶体成团的熔点，使颗粒变大。由这种工业材料制备的悬浮剂不稳定，表现低的生物学活性。由另一种不使用offending试剂合成路线制备的产品很好。

杂质产生的残留问题

- 杀虫剂dicofol, tetradifon中含的DDT及其相关化合物比dicofol,tetradifon本身有更长的残留期。因此, 这些含DDT的制剂的使用可能导致食品中残留的DDT超过MRL值。

- Hexachlorobenzene(HCB)是 quintozene,chlorothalonil中的杂质。因为HCB表现出比quintozene更长的环境持效性，这种杂质在农产品中的残留远高于工业材料和应用时的残留。Chlorothalonil应用时有类似的问题。

- 硫特普是存在于diazinon中的高毒杂质，比diazinon有更强的抗水解能力。农药撒到土壤，水中，水解是diazinon的主要解毒机制。因此，硫特普就成为废物处理和降解过程中的残留难题。
- 硫特普也在其它有机磷农药商业化制剂中检测到了，如： coumaphos, chlorpyrifos, demeton, disulfoton, fensulfotion, parathion, phosalone, and terbufos 。

工业产品组成性质需要的信息和材料

- 生产过程，有毒杂质，原材料中有毒杂质的潜在前体的详细信息。
- 工业产品的典型组成（由于生产者内部质量控制系统不到位，应由高质量实验室证明）包括大杂质（ $\geq 1\%$ ）的确认，所有与毒理学和环境相关的杂质，小杂质（ $\geq 0.1\%$ ）的性质。
- 适于检测一批相同工业级产品的分析方法，包括检测出相关杂质的frigerprint色谱，使用UV-VIS, IR, NMR, MS等。
- 确认相关杂质的分析程序，分析标准。
- 一批典型工业产品的参照样本。

农药的毒理学评估信息

- 生产用于毒理学测试工业产品的厂家的执照。
- 不同程序，不同条件下生产的新产品成分与用于毒理学测试的老产品的比较。在以下情况，两者是可以比较的：新产品的活性成分含量等于或高于老产品，杂质浓度等于或低于老产品。而如果新产品中含有一种老产品中没有的杂质，则两者是不可以比较的。
- 如果可以比较，则毒理学测试的结果是可以接受的。
- 如果不能证实这种可比较性，需要进行另外的毒理学研究。

政府的农药质量控制实验室的作用

- 将登记提供的工业材料标样冷冻贮藏以用于将来比较。
- 生产制剂之前评估进口工业原材料中的杂质。用色谱法和分光光度法得到谱形。如果有可利用的合适的技术应确定相关杂质。
- 如果检验的样本与标样比较有大的不同，通知登记部门或进行一定的政府活动。

讨论与小结

- 不同条件，不同原材料生产出的工业产品虽含有相同的活性成分，但产品的化学组成可能有很大不同。不同合成路线也可能影响产品的组成。杂质的不同可能极大的影响农药产品的毒理学性质。

- 用于生产农药的惰性成分的化学组成和纯度，可能影响到活性成分的稳定性，如：载体，溶剂，表面活性剂，助剂。而且，超过保质期产生的降解物可能对搬运者和使用者造成毒害，也可能对食用药物处理过的食物的消费者造成危险。

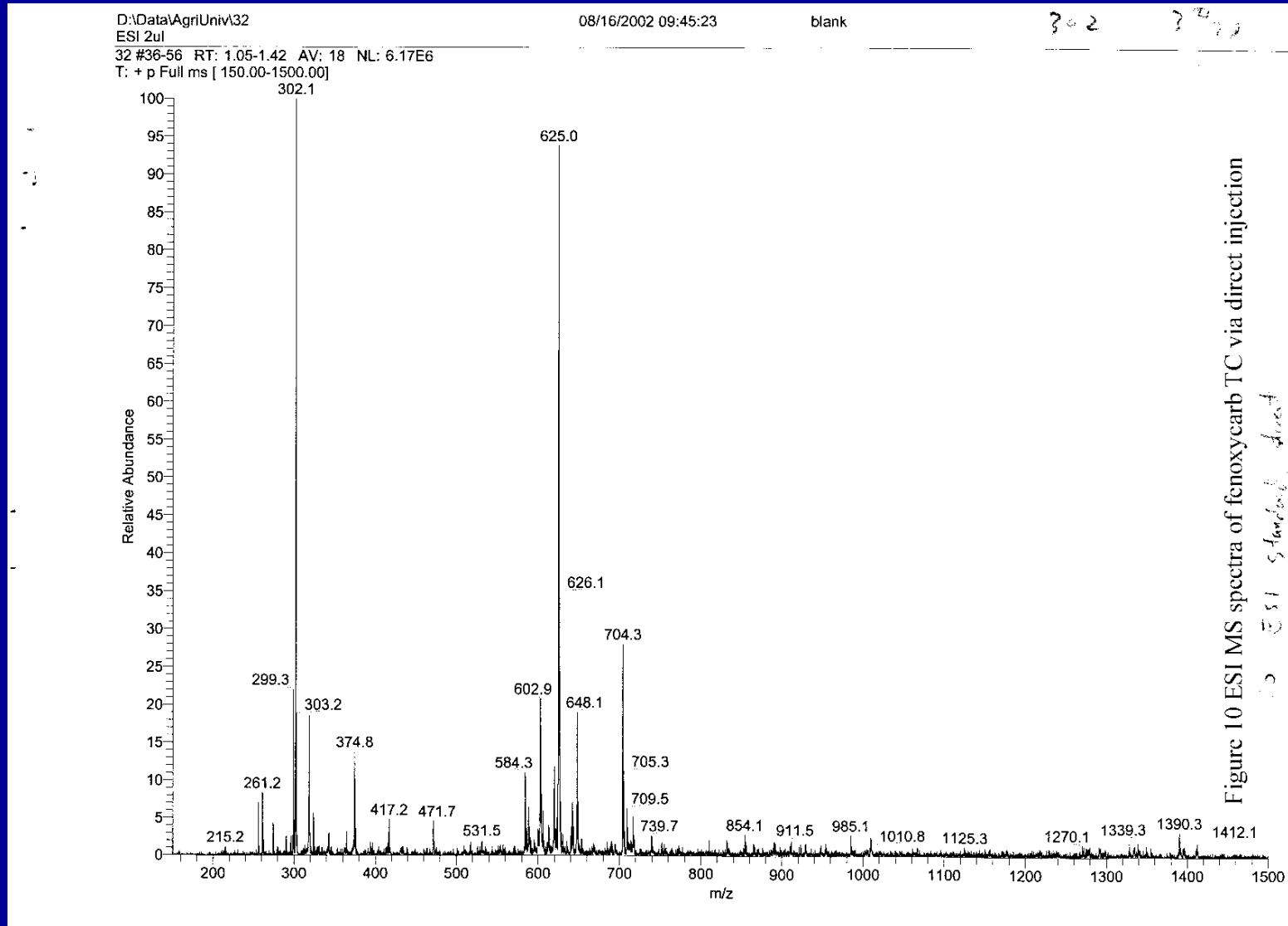
- 安全性和效力的评估，与FAO的植物保护产品手册第五版中的原则相一致，相关杂质是指那些与活性成分相比表现明显毒力的成分，并影响制剂的植物毒性和物理特性，导致食物中的残留，引起环境污染。

- 毒理学测试一般使用工业活性成分，认为这种成分是特定生产过程中的典型组成。测试结果对其它不同组成或没有充分纯化的工业材料是无效的。同样，特定合成产品的毒理学数据不能简单的外推到其它含有不同材料的制剂，因为一些惰性成分可能影响毒性。

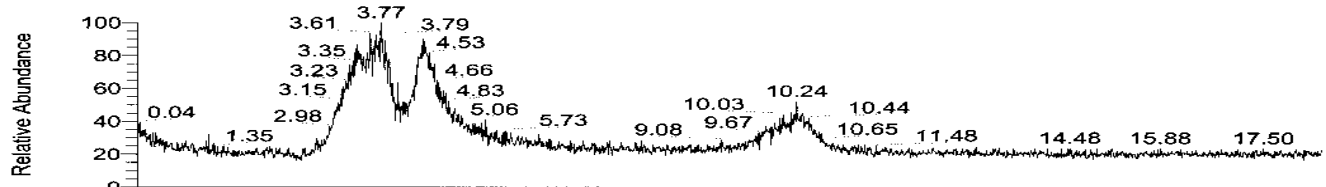
- 通常杂质浓度范围是0.1%（在特定情况下更少如TCCD0.01mg/kg或更少），所以杂质的确定是很困难的，需要几种分析技术相结合，如GC-MS,GC-MS-MS,LC-MS,LC-MS-MS,GC-FTIR,NMR等。

- 检测农药活性成分含量：CIPAC, AOAC方法
- 分析方法和杂质的标样应由生产厂家提供。

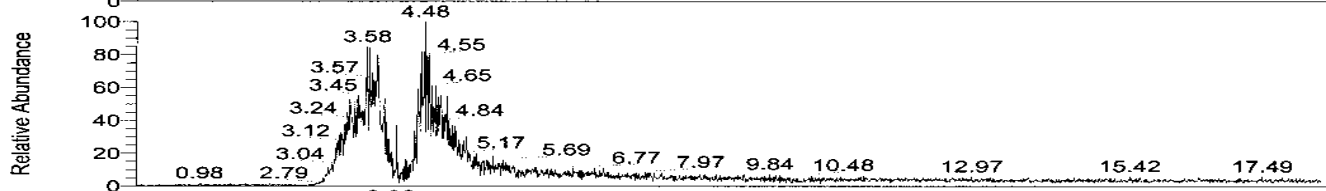
Examples of combined techniques



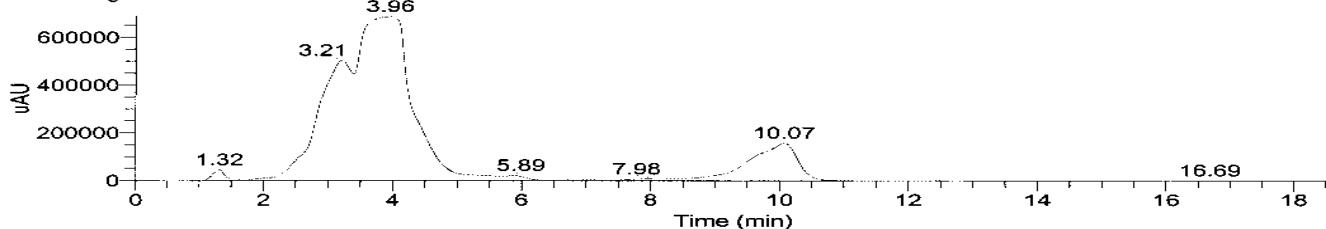
RT: 0.00 - 18.57



NL: 4.31E8
TIC MS zgf02



NL: 4.33E7
m/z= 301.0-303.0
F: + c APCI Full
ms [100.00-500.00]
MS zgf02



NL: 6.86E5
Total Scan PDA
zgf02

zgf02 #396 RT: 3.75 AV: 1 NL: 5.28E7
T: + c APCI Full ms [100.00-500.00]

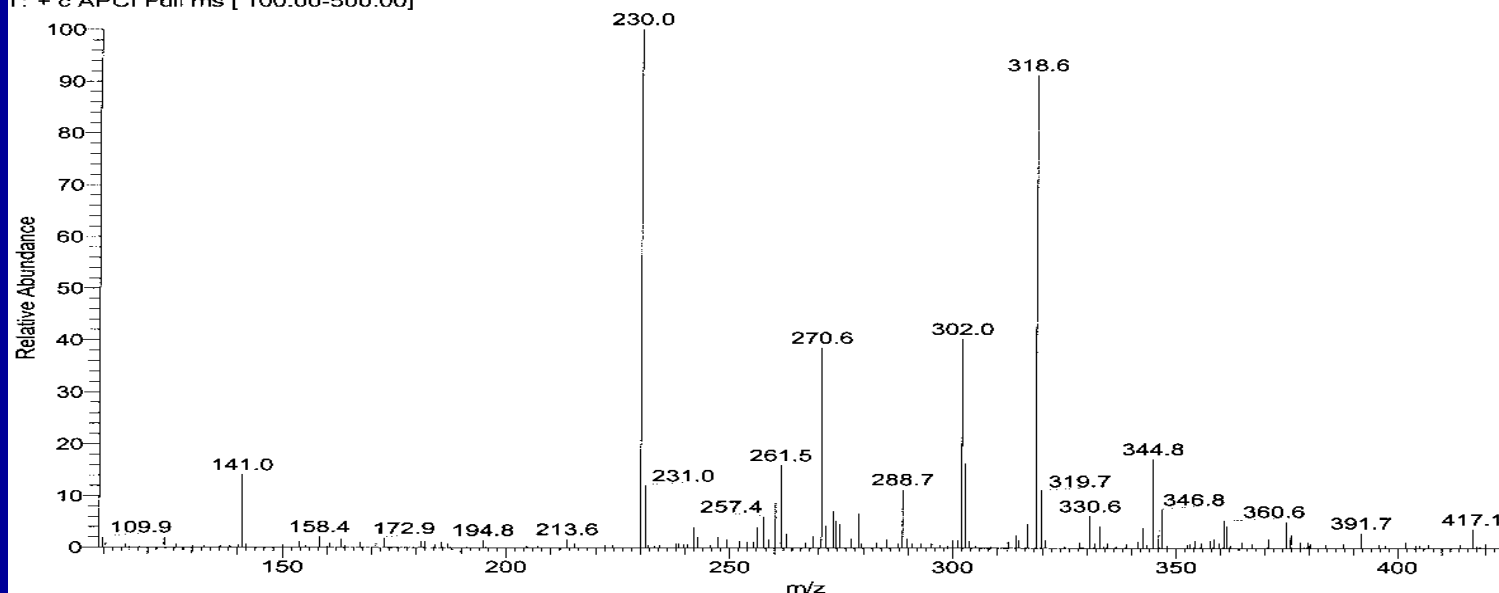


Figure 12 online HPLC-MS-DAD of fenoxycarb TC: MS of a.i.

RT: 0.00 - 18.57 SM: 15G

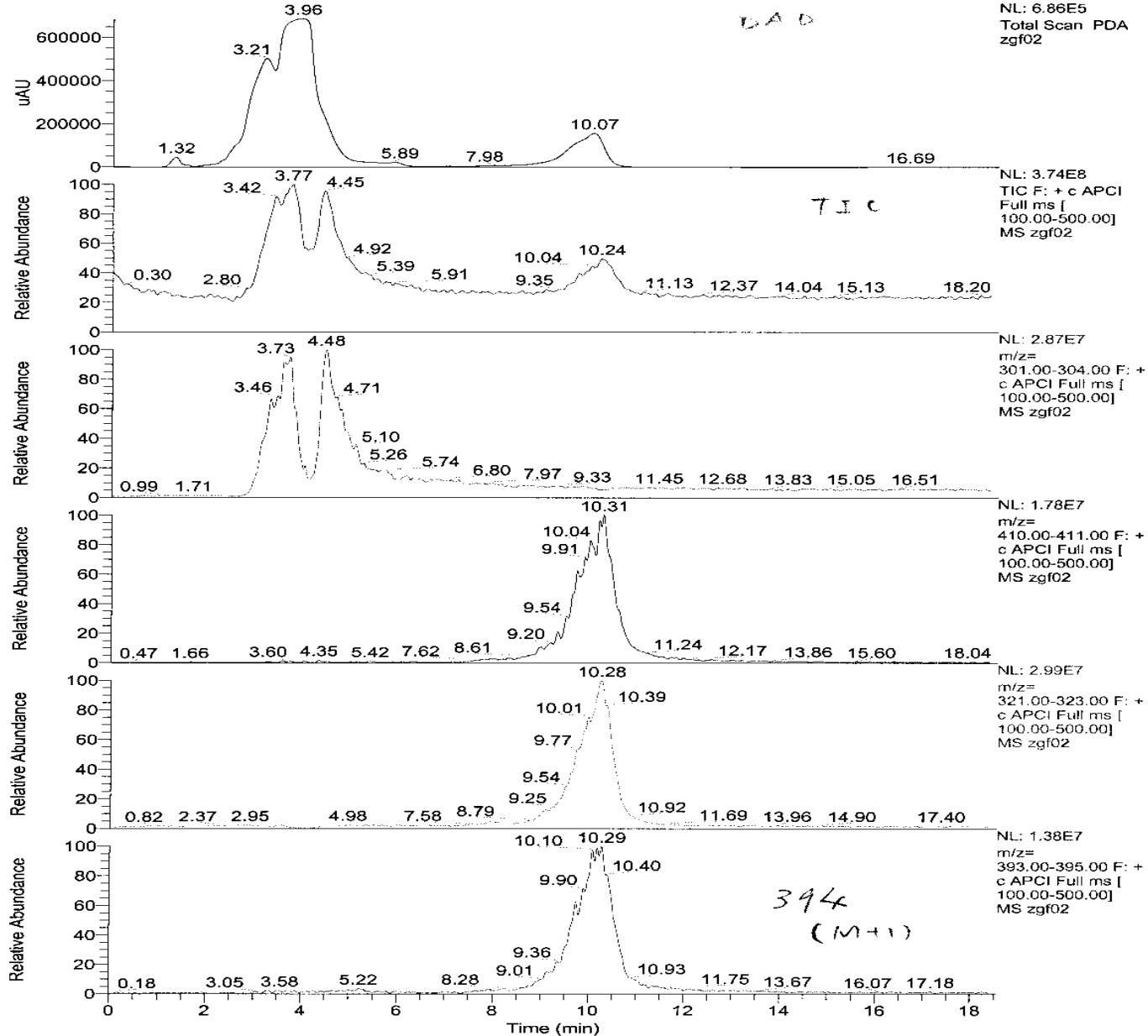
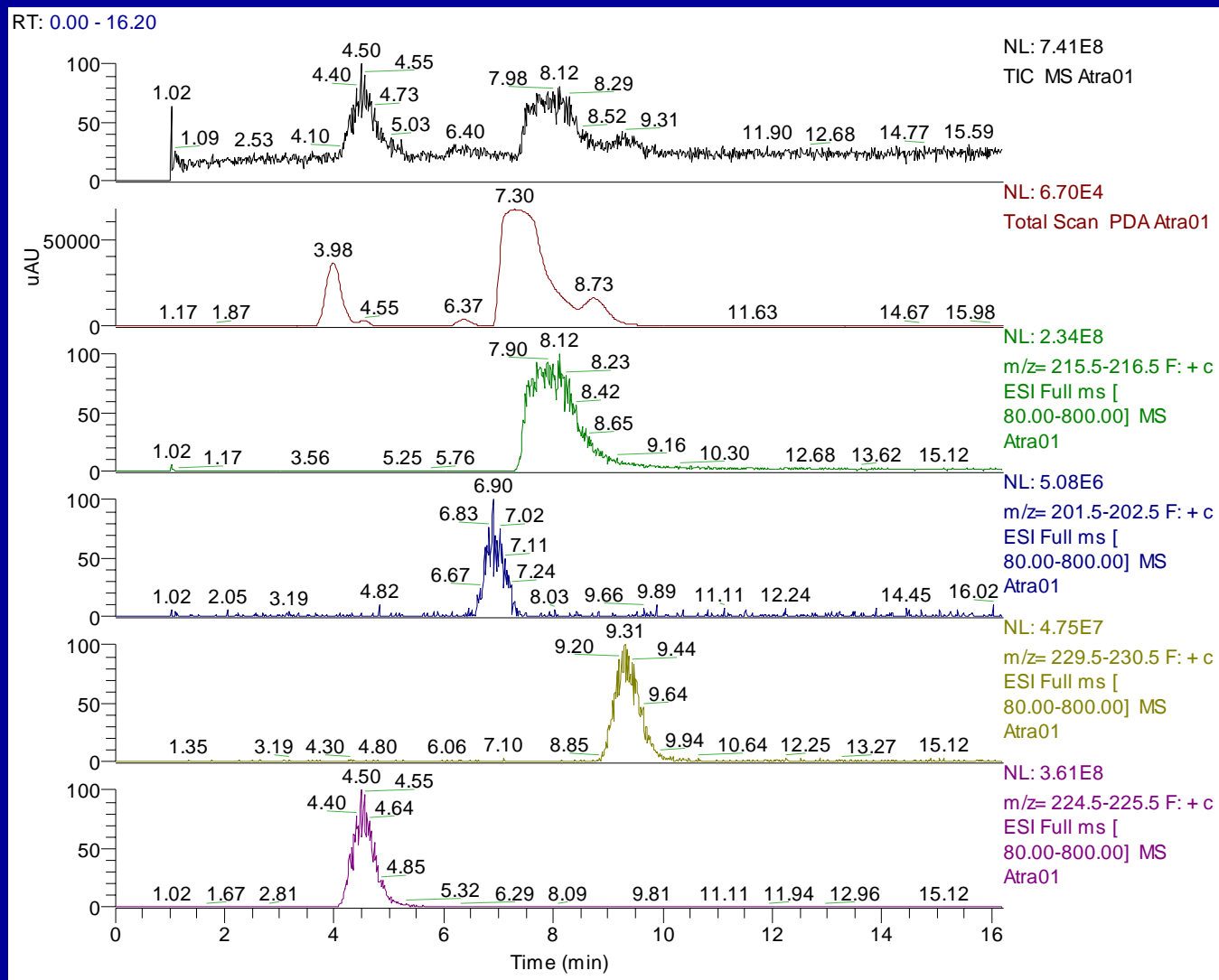


Figure 14 SIM of MS data of Impurity-A : Rt 10.07min

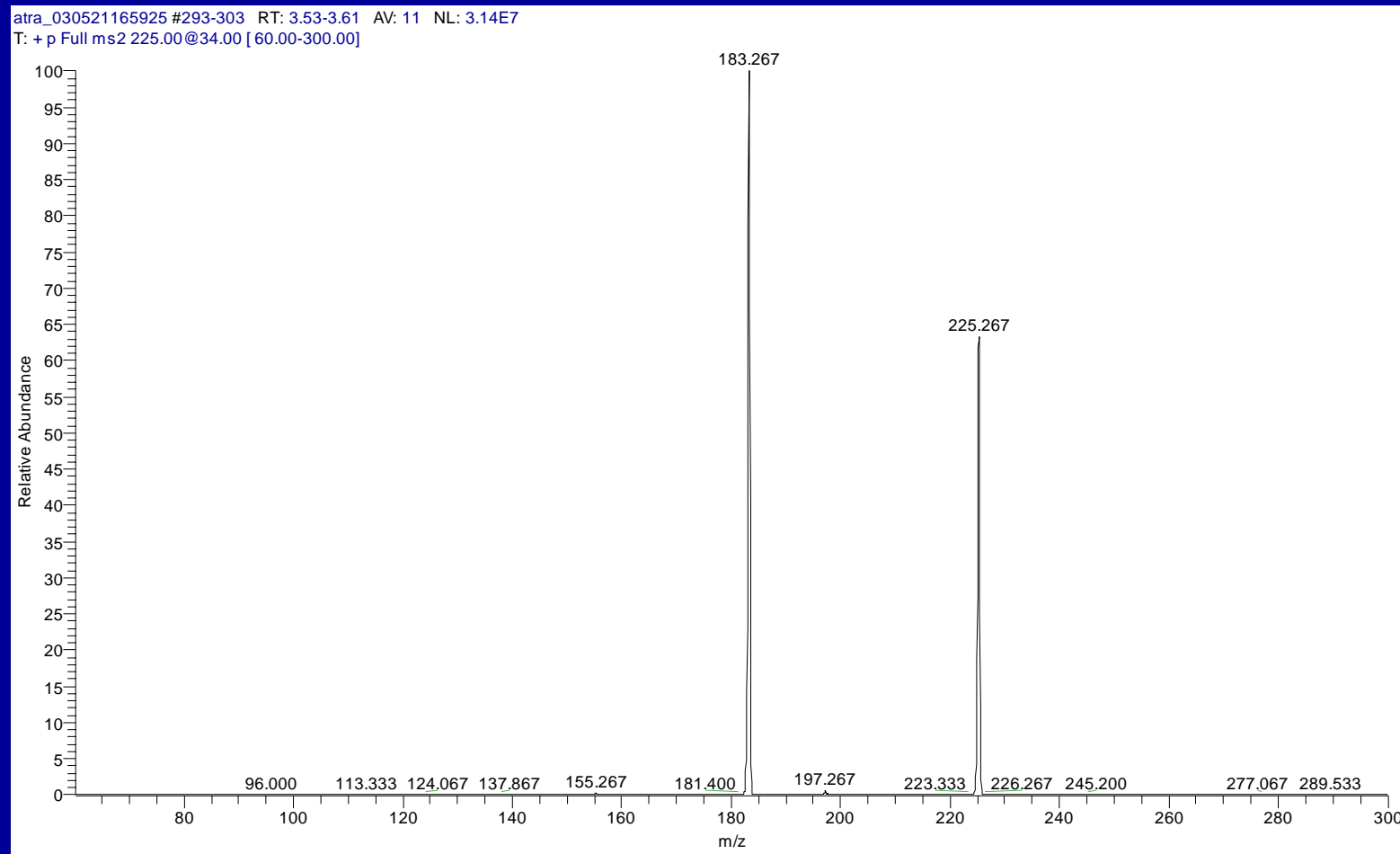
14 Impurity A

Atrazine

TIC (DAD and MS) and SIM of ions of 225, 202, 216, and 230 of HPLC-MS for Atrazine



MS-MS of 225 (Impurity II, M+1)



- 因为农药质量信息的商业敏感性，许多国家质量控制分析结果不公布于众。调查表明即使登记程序和监督系统先进的国家，农药质量也经常与登记文件标明的不相符。

ACKNOWLEDGEMENTs

- *Useful materials from:*
- *A. Ambrus : International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria*
- *D. J. Hamilton : Department of Primary Industries, Brisbane, Queensland, Australia*