

**Thesis Title** Determination of Fipronil and Its Derivatives Residues in Sweet Pepper by Gas Chromatography - Mass Spectrometry

**Author** Mrs. Juthamas Uttrakian

**Degree** Master of Science (Pharmaceutical Sciences)

**Thesis Advisory Committee**

Assoc.Prof.Dr.Surapol	Natakankitkul	Advisor
Assoc.Prof.Dr.Nuchnart	Jonglaekha	Co-advisor
Assoc.Prof.Dr.Boonsom	Liawruangrath	Co-advisor

**Abstract**

The analysis of fipronil and its derivatives residues by gas chromatography-mass spectrometry was carried out to determine the safety harvesting time for consumers. Experiments were set in the sweet pepper planting plots in which were giving yields. Split plot design was used for all experiments. Expt.1 determination of the insecticide residues in the sweet pepper fruits after spraying the insecticide 1, 2, and 3 times continuously at the recommended rate(as label on the container) 5 days interval. This experiment was made in rainy season and repeated in cool season. Expt.2 determination of fipronil residue in the sweet pepper fruits after 1, 2, and 3 sprays of the insecticide at double of the recommended rate. This was repeated twice the same as Expt.1. The samples from each treatment were brought to be analysed after 0 (2 hrs. after spraying the insecticide), 1, 3, 5, 7, 10, and 14 days. The extraction method was modified from Pei *et al.*,<sup>(6)</sup> Liu *et al.*,<sup>(10)</sup> and Anastassiades *et al.*,<sup>(30)</sup> The extracts had been cleaned up by using 2 alumina SPE before they were injected to GC-MS. Validation of the method was made by testing precision, percentage of recovery, LOD, LOQ and linearity respectively. Results showed that Expt.1 spraying fipronil at the recommended rate 1, 2, and 3 times continuously gave similar results

i.e. fipronil residue remained in the sample longer than its derivatives. Safety harvesting times after spraying fipronil 1, 2, and 3 times were 3, 5, and 7 days respectively (Codex MRL 0.02 mg/kg) while its derivatives (fipronil-desulfinyl, fipronil-sulfone and fipronil-sulfide) were found in very small amount. For Expt.2 spraying the sweet pepper at double of the recommended rate at 1, 2, and 3 times continuously gave similar results to Expt.1. It was shown that when using fipronil at double rate the harvesting time must delay to twice as much longer than using fipronil at the recommended rate i.e. spraying insecticide must be stopped before harvesting at 7, 10 and 14 days respectively. The derivatives of this insecticide at the double rate were found in the residues at small amount. In conclusion, spraying fipronil when at 5 day-intervals neither having accumulation of its residues, nor its derivatives. But when increasing the rate use, the amount of its residues will be increased with the amount used.

## ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การวิเคราะห์ปริมาณฟิโพรนิลและอนุพันธ์ที่ตกค้างในพริก  
หวานด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโตรเมตรี

## ผู้เขียน

นางจุฑามาศ อูตรเคียนต์

## ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรเกศาสตรกรรม)

## คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร.สุรพล

นชการกิจกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

รศ.ดร.นุชนาฏ

จงเลขา

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

รศ.ดร.บุญสม

เหลียวเรืองรัตน์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

## บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณฟิโพรนิลและอนุพันธ์ของสารนี้ ที่ตกค้างในพริกหวานด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี เพื่อกำหนดการเก็บเกี่ยวสำหรับการบริโภคที่ปลอดภัย โดยทำการทดลองฟิโพรนิลในแปลงปลูกขณะพริกหวานกำลังให้ผลผลิต วางแผนการทดลองแบบ Split plot มี 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เป็นการทดสอบหาปริมาณสารตกค้าง เมื่อฟิโพรนิลในอัตราที่ฉลากระบุจำนวน 1 ครั้ง, 2 ครั้ง, และ 3 ครั้ง ต่อเนื่องกันห่างกันครั้งละ 5 วัน ได้ทำการทดลอง 2 ครั้ง ในช่วงฤดูฝนและฤดูหนาว การทดลองที่ 2 การหาปริมาณสารตกค้าง จากการฟิโพรนิลในอัตราสูงกว่าฉลากระบุ 2 เท่า จำนวน 1 ครั้ง, 2 ครั้ง, และ 3 ครั้ง และทำการทดลอง 2 ครั้ง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ทำการสุ่มตัวอย่างไปวิเคราะห์หลังพ่นสารในแต่ละกรรมวิธีที่ 0 วัน (หลังพ่น 2 ชั่วโมง), 1, 3, 5, 7, 10, และ 14 วัน ทำการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีดัดแปลงจาก Pei *et al.*,<sup>(6)</sup> Liu *et al.*,<sup>(10)</sup> และ Anastassiades *et al.*,<sup>(30)</sup> และกำจัดสิ่งปนเปื้อน (Clean up) ด้วยวิธี SPE 2 แบบ ก่อนนำสารสกัดที่ได้ไปฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ (Validation) โดยตรวจสอบความแม่นยำ (precision), ความถูกต้อง (Percentage of recovery), การหาค่า LOD, LOQ และ linearity ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่า การทดลองที่ 1 ฟิโพรนิลตามอัตราที่ฉลากระบุจำนวน 1 ครั้ง, 2 ครั้ง และ 3 ครั้ง ต่อเนื่องกัน ได้ผลการทดลองในลักษณะเดียวกันคือ ฟิโพรนิลมีการตกค้างนานกว่าสารที่เป็นอนุพันธ์ทั้งหมด ระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลผลิตที่ปลอดภัยได้เมื่อนิ๊ดฟิโพรนิลจำนวน 1 ครั้ง, 2 ครั้ง และ 3 ครั้งคือ 3 วัน, 5 วัน และ 7 วัน

ตามลำดับ(Codex MRL 0.02 mg/kg) ในขณะที่พบอนุพันธ์ของฟิโปรนิล(fipronil-sulfide, fipronil-sulfone and fipronil-desulfinyl) ตกค้างอยู่น้อยมาก สำหรับผลการทดลองที่ 2 ฟนฟิโปรนิลสูงกว่าอัตราที่ฉลากระบุสองเท่า จำนวน 1 ครั้ง, 2 ครั้งและ 3 ครั้งต่อเนื่องกัน ได้ผลการทดลองในลักษณะเดียวกันกับการทดลองที่ 1 ผลการทดลองแสดงว่าการใช้ฟิโปรนิลที่อัตราสูงกว่าสองเท่าต้องชะลอการเก็บเกี่ยวออกไปนาน 2 เท่าตามปริมาณสารที่เพิ่มขึ้นกล่าวคือ ต้องหยุดพ่นก่อนเก็บเกี่ยว 7 วัน, 10 วัน และ 14 วัน ตามลำดับ ส่วนอนุพันธ์ของฟิโปรนิลตกค้างอยู่น้อยมาก ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า สำหรับสารฟิโปรนิล การฉีดพ่นซ้ำทุก 5 วัน ไม่ได้ทำให้เกิดการสะสมของสารตกค้าง รวมถึงอนุพันธ์ของสารนี้ด้วย แต่ถ้าเพิ่มปริมาณการใช้สารนี้จะทำให้ปริมาณสารตกค้างเพิ่มตามปริมาณของสารที่ใช้