MISIR SİLAJINDA BAZI İNSEKTİSİTLER VE BUNLARIN ZEHİRLİ METABOLİTLERİNİN KALINTI DURUMUNUN BELİRLENMESİ

İsmail AZAR

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MISIR SİLAJINDA BAZI İNSEKTİSİTLER VE BUNLARIN ZEHİRLİ METABOLİTLERİNİN KALINTI DURUMUNUN BELİRLENMESİ

İsmail AZAR
0000-0003-4424-208X

Prof. Dr. Nabi Alper KUMRAL
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

BURSA – 2022
Her Hakkı Saklıdır

Doktora Tezi
ÖZET

MISIR SİLAJINDA BAZI İNSEKTİSİTLER VE BUNLARIN ZEHİRLİ METABOLİTLERİNİN KALINTI DURUMUNUN BELİRLENMESİ

İsmail AZAR

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nabi Alper KUMRAL

Bu çalışmanın amacı, chlorpyrifos, deltamethrin ve imidacloprid'in 200 günlük fermantasyon süresince mısır silajı içerisindeki degredasyonunu ve bazı metabolitlerine [3,5,6-trichloro-2-pyridinol, diethyl phosphate, diethyl thiophosphate, chlorpyrifos-oxon, 3-phenoxybenzoic acid, 3-(4-hydroxyphenoxy)benzoic acid, imidacloprid-olefin, imidacloprid guanidine, 6-hydroxynicotinic acid ve 6-chloronicotinic acid] dönüşümünü izlemektir. Çalışmada, fermantasyon sürecinin insektisitlerin parçalanması ve metabolitlere dönüşmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Laktik asit bakterilerinin fermantasyonu mısır silajında asidik koşulların oluşumuna neden olmaktadır. İnsektisitler fermantasyon ortamında bulunan bu mikroorganizmalar tarafından metabolize edilebilmektedir. Bu tez çalışmasında insektisitler blank örneklere (pestisit kullanılmadan yetiştirilen mısırlar) laboratuvar ortamında ayrı ayrı uygulanmıştır. İnsektisit spike edilmiş mısır bitkilerinin bir kısmı kurumaya bırakılmış, bir kısmı kavanozlarda silaj yapılmıştır. Fermantasyonun etkisini belirlemek için örneklerde, spike edilmiş olan insektisitler ve metabolitleri LC-MS/MS kullanılarak periyodik olarak analiz edilmiştir. Analizlerde kullanılan yöntemin verifikasyonu SANTE/12682/2019 rehberine göre yapılmıştır. LOD değerleri 2,76 mg/kg ile 53,61 mg/kg arasında, LOQ değerleri ise 9,19 mg/kg ile 178,71 mg/kg arasında bulunmuştur. Analitlerin geri kazanımları %93,7-109,2, tekrarlanabilirlik RDS_r değerleri %1-15 ve tekrarüretilebilirlik RDS_R değerleri %1-13 arasında hesaplanmıştır. İnsektisit uygulanmasından 200 gün sonra silaj örneklerinde chlorpyrifos, deltamethrin ve imidacloprid bozunma oranları sırasıyla %46, %45 ve %30 olarak tespit edilirken bu oran kontrol (kurutulmuş mısır) örneklerinde %67, %55 ve %61 olarak belirlenmiştir. Bu çalışma, mısır silajındaki düşük pH ortamının insektisitlerin bozunmasını yavaşlattığını, dolayısıyla pestisit kalıntılarının aerobik koşullara kıyasla silaj ortamında daha uzun süre stabil kalabildiğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: çoklu kalıntı, fermantasyon, insektisitler, LC-MS/MS, metabolitler, mısır silajı, yem
2022, xi + 134 sayfa.

ABSTRACT

PhD Thesis

DETERMINATION OF SOME INSECTICIDE AND THEIR TOXIC METABOLITES RESIDUES IN MAIZE SILAGE

İsmail AZAR

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Nabi Alper KUMRAL

The aim of this study was to monitor the degradation of chlorpyrifos, deltamethrin and imidacloprid and transformation to their some metabolites [3,5,6-trichloro-2-pyridinol, diethyl phosphate, diethyl thiophosphate, chlorpyrifos-oxon, 3-phenoxybenzoic acid, 3-(4-hydroxyphenoxy)benzoic acid, imidacloprid-olefin, imidacloprid guanidine, 6-hydroxynicotinic acid and 6-chloronicotinic acid] during the 200-day fermentation period of maize silage. The effect of the fermentation process on the degradation of insecticides and the transforming to metabolites was investigated. The fermentation of lactic acid bacteria causes the acidic conditions in maize silage and insecticides can be metabolized by the microorganisms in the fermentation medium. In this study, each insecticide was applied separately under laboratory conditions to blank sample (maize plants grown without pesticides). A part of the maize plants spiked with insecticide were left to dry and the other part was ensiled in jars. Spiked insecticides and their metabolites were analyzed periodically using LC-MS/MS in samples to determine the effect of fermentation. Analytical method was verified according to the SANTE/12682/2019 Guideline. The LOD and LOQ values were between 2,76 mg/kg to 53,61 mg/kg and 9,19 mg/kg to 178,71 mg/kg, respectively. The recovery, repeatability RDSr and reproducibility RDSR values of compounds were calculated between 93,7-109,2%, 1-15%, and 1-13%, respectively. In silage samples, the degradation of chlorpyrifos, deltamethrin and imidacloprid was less with rates of 46, 45 and 30%, respectively, compared with the control samples (67, 55 and 61%). This study showed that the low pH in maize silage decelerate the degradation of insecticides, so pesticide residues can remain stable for longer in the silage environment compared to aerobic conditions.

Key Words: feed, fermentation, insecticides, LC-MS/MS, maize silage, multiresidue, metabolites

2022, xi + 134 page.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının deney tasarımından, yürütülmesine ve sonuçlarının değerlendirilmesine kadar her aşamasında desteklerini esirgemeyen danışmanın sayın Prof. Dr. Nabi Alper KUMRAL'a ve Tez İzleme Komitesi Üyeleri sayın Prof. Dr. Osman TİRYAKİ ve Prof. Dr. İsmail FİLYA'ya,

Taze mısır bitkilerinin yetiştirilmesi ve hasadında yardımcı olan Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezine ve müdürü Sayın Dr. Fevzi ÇAKMAK'a,

Gerek tez çalışmamın kurgulanması, gerekse çalışma sonuçlarının yayınlanması aşamalarında değerli katkılarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Ayşegül KUMRAL'a

TAGEM/HSGYAD/A/19/A3/P1/1250 numaralı proje ile tez çalışmamı mali yönden destekleyen T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne

Tez çalışmalarının gerçekleşmesi için gerekli altyapı desteğini sağlayan Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne ve çalışmam boyunca çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarıma,

Çalışmam boyunca destekleri ve sevgileriyle yanımda olan annem Mürşidiye AZAR, ablam Reyhan AZAR kardeşim Ertan AZAR'a,

Tez çalışmam süresince gösterdiği sabır ve destek için sevgili eşim Burcu AZAR ve varlıklarından güç aldığım canım kızlarım Ece ve Eylem'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İsmail AZAR

30/05/2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ vi
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
ÇİZELGELER DİZİNİ x
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 5
2.1. Mısır Silajı ile İlgili Çalışmalar 5
2.2. Mısırda Zararlılar ve Kimyasal Mücadele ile İlgili Çalışmalar 8
2.3. Tezde Kullanılan İnsektisitler ile İlgili Çalışmalar 11
2.3.1. Chlorpyrifos 12
2.3.2. Deltamethrin 14
2.3.3. Imidacloprid 15
2.4. Yemlerde Pestisit Kalıntısı Çalışmaları 19
3. MATERYAL ve METOT 23
3.1. Kimyasallar 23
3.2. Cihazlar 25
3.3. Mısır Örnekleri 28
3.4. Silaj Yapımı ve Örnekleme 29
3.5. Pestisit/Metabolit Analiz Metodu Optimizasyonu 32
3.5.1. Standart Hazırlama 32
3.5.2. Cihaz Optimizasyonu 33
3.5.3. Ekstrasyon Yöntemi Optimizasyonu 35
3.6. Pestisit/Metabolit Analiz Metodu Verifikasyonu 37
3.6.1. Seçicilik 38
3.6.2. Doğrusallık 38
3.6.3. Tespit Limiti (LOD) ve Ölçüm Limiti (LOQ) 39
3.6.4. Doğruluk 39
3.6.5. Kesinlik 40
3.7. Silaj Örneklerinde Organik Asit Analiz Metodu Optimizasyonu 41
3.8. Silaj Örneklerinde Organik Asit Analiz Metodu Verifikasyonu 43
3.9. Silaj Örneklerinde Mikrobiyolojik Analizler 43
3.9.1. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayısı Analizi 43
3.9.2. Toplam Mezofilik Aerobik Koloni Sayısı Analizi 44
3.9.3. Silaj Örneklerinde Asitlik Tayini 44
3.9.4. Silaj Örneklerinde Kuru Madde Miktarı Analizleri 44
4. BULGULAR 46
4.1. Pestisit Metot Verifikasyonu Sonuçları 46
4.1.1. Chlorpyrifos Verifikasyon sonuçları 46
4.1.2. 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları 48
4.1.3. Diethyl phosphate (DP) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları 51
4.1.4. Diethyl thiophosphate (DTP) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları 53
4.1.5. Chlorpyrifos-oxon (CO) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları 56
4.1.6. Deltamethrin (DEL)'in Verifikasyon Sonuçları 58

4.1.7. 3-Phenoxybenzoic acid (3PBA) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları 61
4.1.8. 3-(4-hydroxyphenoxy) benzoic acid (4HPBA) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları 63
4.1.9. Imidacloprid (IMI) Verifikasyon Sonuçları 66
4.1.10. Imidacloprid-olefin (IMO) Metaboliti Verifikasyon Sonuçları 68
4.1.11. Imidacloprid guanidine (IMG) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları 71
4.1.12. 6-hydroxynicotinic acid (6HNA) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları 73
4.1.13. 6-chloronicotinic acid (6CNA) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları 76
4.2. Organik Asit Metot Verifikasyonu Sonuçları 80
4.2.1. Asetik Asit Verifikasyon Sonuçları 80
4.2.2. Laktik Asit Verifikasyon Sonuçları 82
4.2.3. Bütirik Asit Verifikasyon Sonuçları 83
4.3. Kuru Madde Miktarı Analizi Sonuçları 86
4.4. Asitlik Analizi Sonuçları 86
4.5. Silaj Örneklerinde Pestisit Kalıntı Analizi Sonuçları 88
4.5.1. Chlorpyrifos ve Metabolitlerinin Analiz Sonuçları 88
4.5.2. Deltamethrin ve Metabolitlerinin Analiz Sonuçları 92
4.5.3. Imidacloprid ve Metabolitlerinin Analiz Sonuçları 94
4.6. Organik Asit Analiz Sonuçları 96
4.7. Silaj Örneklerinde Mikrobiyoloji Analiz Sonuçları 99
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 102
5.1. Tartışma 102
5.1.1. Silaj Fermantasyon Bulgularının Değerlendirilmesi 102
5.1.2. Pestisitlerde Gerçekleşen Degredasyon ve Metabolit Oluşumunun Değerlendirilmesi 105
5.2. Sonuç 110
KAYNAKÇA 112
EKLER 120
Ek 1. Chlorpyrifos'un Spike ve Blank Kromatogramları 120
Ek 2. 3,5,6-Trichloro-2-Pyridinol'un Spike ve Blank Kromatogramları 121
Ek 3. Diethyl Phosphate'ın Spike ve Blank Kromatogramları 122
Ek 4. Diethyl Thiophosphate'ın Spike ve Blank Kromatogramları 123
Ek 5. Chlorpyrifos-Oxon'un Spike ve Blank Kromatogramları 124
Ek 6. Deltamethrin'in Spike ve Blank Kromatogramları 125
Ek 7. 3-Phenoxybenzoic Acid'in Spike ve Blank Kromatogramları 126
Ek 8. 3-(4-Hydroxyphenoxy) Benzoic Acid'in Spike ve Blank Kromatogramları 127
Ek 9. Imidacloprid'in Spike ve Blank Kromatogramları 128
Ek 10. Imidacloprid-Olefin'in Spike ve Blank Kromatogramları 129
Ek 11. Imidacloprid Guanidine'in Spike ve Blank Kromatogramları 130
Ek 12. 6-Hydroxynicotinic Acid'in Spike ve Blank Kromatogramları 131
Ek 13. 6-Chloronicotinic Acid'in Spike ve Blank Kromatogramları 132
ÖZGEÇMİŞ 133

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
µs/cm	Mikrosiemens/santimetre
Br_2CA	3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid
CO_2	Karbondioksit
KH_2PO_4	Potasyum dihidrojen fosfat
LC_{50}	Letal konsatntrasyon
LD_{50}	Letal doz
MeCN	Acetonitril
MeOH	Metanol
$MgSO_4$	Magnezyum sülfat
N	Azot
NaCl	Sodyum klorür
NaOAc	Sodyum Asetat

Kısaltmalar	Açıklama
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
3PBA	3-phenoxybenzoic acid
4HPBA	3-(4-hydroxyphenoxy)benzoic acid
6CNA	6-chloronicotinic acid
6HNA	6-hydroxynicotinic acid
ADF	Asit Deterjan Sellülozu (Acid detergent fiber)
AKS	Aerobik koloni sayısı
BUZZF	Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi
BW	Vücut ağırlığı (Body weight)
CAS No	Chemicals Abstract Service Numarası
CE	Çarpışma enerjisi (Collision energy)
CHL	Chlorpyrifos
Clean up	Ekstrakttan pestisit harici bileşiklerin giderilmesi
CO	Chlorpyrifos oxon
DEL	Deltamethrin
DL	Desolvation line
DP	Diethyl phosphate
DTP	Diethyl thiophosphate
ESI	Elektro sprey iyonizasyon
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IMG	Imidacloprid guanidine
IMI	Imidacloprid
IMO	Imidacloprid-olefin
Kob/g	Koloni oluşturan birim/gram
LAB	Laktik asit bakterisi
LC-MS/MS	Likit kromatografi tandem kütle spektrometresi
LOD	Tespit Limiti (Limit of Detection)
LOQ	Ölçüm Limiti (Limit of Quantitation)
M	Molar
mPB acid	Phenoxybenzoic acid
MRD	Maximum Recovery Diluent
MRSA	Man, Rogosa, Sharpe Agara
NDF	Nötral Deterjan Sellülozu (Neutral detergent fiber)
PSA	Primer sekonder amin
Q1	Quadropole 1
Q3	Quadropole 3
Rpm	Dakikadaki dönüş sayısı
RSD	Rölatif standart sapma
SÇK	Suda çözünebilir karbonhidrat
SPE	Katı faz ekstraksiyonu
TCP	3,5,6-trichloro-2-pyridinol
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UFLC	Ultra hızlı likit kromatografi
UGRL	Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 2.1.	Chlorpyrifosun çevresel koşullardaki degredasyonu……	13
Şekil 2.2.	Deltamethrinin molekülünün degredasyonu.……	15
Şekil 2.3.	İmidakloprid metabolizması(I): İmidazolidin halkasının etilen bağı hidroksilasyonu ve suyun eliminasyonu……..	17
Şekil 2.4.	Imidacloprid metabolizması(II): Nitro grubu indirgemesi, nitrosimine oluşumu ve daha fazla nitro grubu kaybı ile guanidine oluşumu……..	18
Şekil 2.5.	Imidacloprid metabolizması(III): 6-chloropicolyl alkol oluşturmak için metilen bağının oksidatif degredasyonu ve ardından 6-chloronicotinic aside oksidasyon……	18
Şekil 3.1	Elga PURELAB ultra saf su cihazı……..	25
Şekil 3.2.	Shimadzu 8040 LC-MS/MS sistemi……	26
Şekil 3.3.	Omni Bead Ruptor 24 homojenizasyon cihazı……	26
Şekil 3.4.	HP 1100 serisi HPLC cihazı……	27
Şekil 3.5.	WTW pH 330 model pH metre……	27
Şekil 3.6.	Denemelerde kullanılan mısır örneklerinin hasat öncesi görünümü…….	28
Şekil 3.7.	Silaj yapımı ve ilaçlama ile ilgili deneme planı……..	29
Şekil 3.8.	Mısır hasılının pestisitler ile bulaştırılması……..	30
Şekil 3.9.	Laboratuvarda kurutmaya bırakılan örnekler……..	31
Şekil 3.10.	Kavanozlar içerisinde yapılmış silajlar……	31
Şekil 3.11.	Beşinci gün örnekleri……	32
Şekil 3.12.	QuEChERS yöntemi işlem basamakları……..	36
Şekil 3.13.	Pestisit analizi örnek hazırlama işlem basamakları (Silaj için optimize edilmiş)…….	37
Şekil 3.14.	Organik asit analizi örnek hazırlama işlem basamakları…….	42
Şekil 4.1.	Chlorpyrifos kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri	47
Şekil 4.2.	TCP kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri……	50
Şekil 4.3.	DP'nin kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri……	52
Şekil 4.4.	Diethylthiophosphate kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri……..	55
Şekil 4.5.	Chlorpyrifos-oxon kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri……..	57
Şekil 4.6.	DEL'in kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri…...	60
Şekil 4.7.	3.PBA'nın kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri..	62
Şekil 4.8.	4.HPBA'nın kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri	65
Şekil 4.9.	IMI'nin kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri…...	67
Şekil 4.10.	IMO'nun kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri…	70
Şekil 4.11.	IMG'nin kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri….	72
Şekil 4.12.	6.HNA'nın kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri……..	75
Şekil 4.13.	6.CNA'nın kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri..	77
Şekil 4.14.	Asetik asit kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri..	80
Şekil 4.15.	Laktik asit kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri...	83
Şekil 4.16.	Bütirik asit kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri..	84
Şekil 4.17.	Silaj örnekleri pH değerlerindeki değişim……..	87

Şekil 4.18. Silaj ve kurutma örneklerinde CHL kalıntı miktarındaki değişim……..... 89
Şekil 4.19. Silaj ve kurutma örneklerinde DP ve DTP kalıntı miktarındaki değişim…… 90
Şekil 4.20. Silaj ve kurutma örneklerinde TCP kalıntı miktarındaki değişim…… 91
Şekil 4.21. Silaj ve kurutma örneklerinde DEL kalıntı miktarındaki değişim……. 93
Şekil 4.22. Silaj ve kurutma örneklerinde 3PBA kalıntı miktarındaki değişim……. 94
Şekil 4.23. Silaj ve kurutma örneklerinde IMI kalıntı miktarındaki değişim…… 95
Şekil 4.24. Silaj ve kurutma örneklerinde IMO kalıntı miktarındaki değişim……. 96
Şekil 4.25. CHL uygulanan silaj örneklerindeki organik asit miktarı değişimi…… 97
Şekil 4.26. DEL uygulanan silaj örneklerindeki organik asit miktarı değişimi…… 98
Şekil 4.27. IMI uygulanan silaj örneklerindeki organik asit miktarı değişimi…… 98
Şekil 4.28. İlaç uygulanmayan silaj örneklerindeki organik asit miktarı değişimi…… 99
Şekil 4.29. Farklı ilaç uygulaması yapılan silaj örneklerindeki laktik asit bakteri değişimi……... 100
Şekil 4.30. Farklı ilaç uygulaması yapılan silaj örneklerindeki mezofilik bakteri değişimi……... 101

ÇİZELGELER DİZİNİ

		Sayfa
Çizelge 2.1.	Mısırda ruhsatlı başlıca insektisit etkili maddeleri……	9
Çizelge 2.2.	Çiftçi Anketinde insektisit kullanım oranları……	10
Çizelge 3.1.	Analizi yapılan pestisitler ve metabolitlerin saf standart bilgileri……..	24
Çizelge 3.2.	Analizi yapılan pestisitlerin toksikolojik özellikleri…….	24
Çizelge 3.3.	Analizi yapılacak pestisitler ve metabolit standartlarının çözülmesi……..	33
Çizelge 3.4.	Analizi yapılacak pestisitler ve metabolitlerin kütle spektrometresi bilgileri..…….……..	34
Çizelge 3.5.	Pestisit analizi LC-MS/MS gradient programı…….	35
Çizelge 3.6.	Analizi yapılacak organik asitlerin saf standart bilgileri…..	42
Çizelge 4.1.	Chlorpyrifos tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları……	46
Çizelge 4.2.	Chlorpyrifos geri kazanım çalışması sonuçları…….	47
Çizelge 4.3.	Chlorpyrifos doğrusallık çalışması sonuçları……	48
Çizelge 4.4.	TCP için tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları……	49
Çizelge 4.5.	TCP'nin geri kazanım çalışması sonuçları……	49
Çizelge 4.6.	TCP'nin doğrusallık çalışması sonuçları……...	50
Çizelge 4.7.	DP'nin tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları……	51
Çizelge 4.8.	DP'nin geri kazanım çalışması sonuçları……..	52
Çizelge 4.9.	DP'nin doğrusallık çalışması sonuçları…….	53
Çizelge 4.10.	DTP'nin tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları……	54
Çizelge 4.11.	Diethylthiophosphate geri kazanım çalışması sonuçları…...	54
Çizelge 4.12.	DTP'nin doğrusallık çalışması sonuçları…...……...	55
Çizelge 4.13.	CO'nun tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları……	56
Çizelge 4.14.	CO'nun geri kazanım çalışması sonuçları…….	57
Çizelge 4.15.	Chlorpyrifos-oxon doğrusallık çalışması sonuçları……...	58
Çizelge 4.16.	DEL'in tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları……	59
Çizelge 4.17.	DEL'in geri kazanım çalışması sonuçları……...……..	59
Çizelge 4.18.	DEL'in doğrusallık çalışması sonuçları…….....	60
Çizelge 4.19.	3PBA'nın tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları……	61
Çizelge 4.20.	3PBA'nın geri kazanım çalışması sonuçları…….....	62
Çizelge 4.21.	3PBA'nın doğrusallık çalışması sonuçları……	63
Çizelge 4.22.	4HPBA'nın tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları……	64
Çizelge 4.23.	4HPBA'nın geri kazanım çalışması sonuçları……...	64
Çizelge 4.24.	4HPBA'nın doğrusallık çalışması sonuçları…...……..	65
Çizelge 4.25.	IMI'nin tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları.....	66

Çizelge 4.26. IMI'nin geri kazanım çalışması sonuçları……..……. 67
Çizelge 4.27. IMI'nin doğrusallık çalışması sonuçları……..…… 68
Çizelge 4.28. IMO'nun tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları……... 69
Çizelge 4.29. IMO'nun geri kazanım çalışması sonuçları…..……... 69
Çizelge 4.30. IMO'nun doğrusallık çalışması sonuçları……..... 70
Çizelge 4.31. IMG'nin tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları……... 71
Çizelge 4.32. IMG'nin geri kazanım çalışması sonuçları……..…… 72
Çizelge 4.33. IMG'nin doğrusallık çalışması sonuçları……..……... 73
Çizelge 4.34. 6HNA'nın tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları…… 74
Çizelge 4.35. 6HNA'nın geri kazanım çalışması sonuçları…… 74
Çizelge 4.36. 6HNA'nın doğrusallık çalışması sonuçları……...…… 75
Çizelge 4.37. 6CNA'nın tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları…… 76
Çizelge 4.38. 6CNA'nın geri kazanım çalışması sonuçları…… 77
Çizelge 4.39. 6CNA'nın doğrusallık çalışması sonuçları…… 78
Çizelge 4.40. Pestisit metodu verifikasyon sonuçları…… 79
Çizelge 4.41. Asetik asit tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları…… 81
Çizelge 4.42. Asetik asit doğrusallık çalışması sonuçları……..……. 81
Çizelge 4.43. Laktik asit tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları…… 82
Çizelge 4.44. Laktik asit doğrusallık çalışması sonuçları……..……. 83
Çizelge 4.45. Bütirik asit tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları…… 84
Çizelge 4.46. Bütirik asit doğrusallık çalışması sonuçları……..…… 85
Çizelge 4.47. Organik asit metot verifikasyonu sonuçları……..…….. 86
Çizelge 4.48. Kuru madde miktarları…..…… 86
Çizelge 4.49. Farklı zamanlarda alınan silaj örneklerinde ölçülen pH değerleri…… 87
Çizelge 4.50. Silaj ve kurutma örneklerinde CHL kalıntı analizi sonuçları…… 89
Çizelge 4.51. Silaj ve kurutma örneklerinde DP ve DTP kalıntı analiz sonuçları…… 90
Çizelge 4.52. Silaj ve kurutma örneklerinde TCP kalıntı analiz sonuçları. 91
Çizelge 4.53. Silaj ve kurutma örneklerinde DEL kalıntı analiz sonuçları. 92
Çizelge 4.54. Silaj ve kurutma örneklerinde 3PBA kalıntı analiz sonuçları 93
Çizelge 4.55. Silaj ve kurutma örneklerinde IMI kalıntı analiz sonuçları... 95
Çizelge 4.56. Silaj ve kurutma örneklerinde IMO kalıntı analiz sonuçları.. 96
Çizelge 4.57. Silaj örneklerindeki toplam laktik asit bakterisi sayıları….... 100
Çizelge 4.58. Silaj örneklerindeki toplam mezofilik bakteri sayıları…….. 101

1. GİRİŞ

Yeterli ve güvenilir gıda temini dünya için en önemli konuların başında gelmektedir. Gıda temini ise doğrudan doğruya tarımsal üretime bağlı bulunmaktadır. Bu nedenle tarımsal üretimin kalite ve miktarını arttırmak her geçen gün daha da önemli olmaktadır. Tarımsal üretim miktarını ve kalitesini arttırmanın en etkili yollarından birisi de bitki zararlıları, hastalıkları ve yabancı otların neden olduğu verim ve kalite kayıplarını azaltmaktır. Bu amaçla kimyasal, fiziksel ve biyolojik mücadele yöntemlerinin yanı sıra kültürel önlemler ve yasal düzenlemeler gibi farklı zirai mücadele yöntemleri uygulanmaktadır. Kimyasal mücadele kısa süre içerisinde etkin sonuç vermesi ve kolay uygulanabilir olması gibi avantajları nedeniyle en sık başvurulan yöntem durumundadır (Tiryaki vd., 2010). Bu nedenle pestisitler uzun yıllardır tarım ürünlerinin zararlılardan korunması ve verim kaybının engellenmesi amacıyla kullanılan, tarımsal üretimin en önemli unsurların biridir (Kumar vd., 2013; Sharma vd., 2019; M. Zhang vd., 2015). Kimyasal mücadele tarımsal mücadele yöntemleri arasında %95'in üzerinde bir paya sahiptir ve kimyasal mücadele uygulanmaması halinde tarımsal üretimde %60'a varan kalite ve verim kayıpları oluşabileceği tahmin edilmektedir (Turabi, 2007).

Pestisitlerin ruhsatlarında belirlenmiş olan kullanım zamanı, dozu ve kullanılabileceği ürünler gibi hususlara uyulmadan yapılan hatalı uygulamalar, insan tüketimine sunulan ürünlerde pestisit kalıntılarının bulunmasına yol açabilmektedir. Pestisit kalıntılarının insan sağlığı ve çevre üzerinde pek çok olumsuz etkileri bulunduğu bilinmektedir. Bu nedenle pestisit kalıntılarının kontrolü için birçok ülkede kalıntı izleme ve kontrol planları yürütülmektedir (Chen vd., 2015; Liang vd., 2021; Zhang vd., 2015).

Kimyasal mücadelede kullanılan pestisitler doğrudan insan tüketimi amacıyla yetiştirilen ürünlerde kullanıldığı gibi hayvan yemi olarak yetiştirilen bitkilerin üretiminde de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu durum hayvan yemlerinde de pestisit kalıntılarının bulunmasına yol açabilmektedir. Yapılan çalışmalar hayvanların beslenme yoluyla aldığı pestisitlerin bu hayvanlardan elde edilen ve insan tüketimine sunulan gıdalara geçebildiğini göstermektedir (Akhtar vd., 1986, 1992; Fagnani vd., 2011). Bu sebeple hayvan yemlerinin de gıda güvenliği açısından kontrol altında tutulması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

FAO verilerine göre mısır, *Zea mays* (L.) (Poaceae) dünyada en çok üretilen tahıl bitikisidir ve buğdaydan sonra en fazla ikinci ekiliş alanını kaplamaktadır. Dünyada 2020 yılında toplam 200 milyon hektardan fazla alanda 1,16 milyar tonun üzerinde mısır üretilmiştir (FAO, 2022a). Türkiye'de ise 2020 yılında 6,5 milyon ton olan mısır üretimi 2021 yılında %3,8 artarak 6,75 milyon olarak gerçekleşmiştir (TUİK, 2022).

Ülkemizde en fazla yetiştirilen yem bitkilerinden birisi olan mısır Bursa ilinde de yaygın şekilde üretilmektedir. Hayvan yemi olarak mısırın en yaygın kullanım yöntemlerinden birisi de silajdır. Özdemir ve Okumuş (2022) son beş yılda silaj ile ilgili yapılan çalışmaları incelendiği derlemesinde silaj yapımında en çok tercih edilen ana materyalin mısır olduğunu bildirilmektedir. Ülkemizde de silaj yapımında en fazla tercih edilen yem bitkisi mısırdır ve istatistiksel veriler ülkemizde silajlık mısır üretiminin yıldan yıla arttığını göstermektedir. Türkiye'de 2012 yılında 354 bin hektar alanda 15 milyon tonun üzerinde silajlık mısır üretilirken; 2019 yılında 507 bin hektar alanda 25 milyon tondan fazla silajlık mısır üretilmiştir. Bu üretim artışında ekiliş alanlarında genişleme ile birlikte daha yüksek verimli çeşitlerin kullanımının etkili olduğu düşünülmektedir (ZMO, 2020).

Mısır bitkisi üretiminde insektisit kullanımı oldukça yaygındır. Ülkemizde insektisit preparatlarının en fazla ruhsatlı olduğu bitkilerden birisi de mısırdır. Chlorpyrifos, deltamethrin ve imidacloprid ise en yoğun kullanılan insektisitlerdendir. Bu durum mısır bitkisinde pestisit kalıntılarının kontrolünün önemini ortaya koymaktadır. Bu tez çalışmasının başlangıç aşamasında ülkemizde chlorpyrifos'un kullanımına izin veriliyor olsa da laboratuvar faaliyetlerinin tamamlandığı 2020 yılında Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nün 23.05.2020 tarih ve 1421496 sayılı yazısı ile kullanımı yasaklanmıştır (Anonim, 2022a). Buna karşılık, bu kimyasalın dünyanın gelişmekte olan ülkelerinde kullanımı halen devam etmektedir (Otitoju Olawale vd., 2022; Tajdar-oranj vd., 2021). Bazı ülkelerde ise süs bitkileri gibi gıda amacıyla üretilmeyen ürünler için kullanıma izin verilmesine karşın yapılan çalışmalarda insani tüketim amacıyla yetiştirilen ürünlerde chlorpyrifos kalıntısına rastlanmaktadır (Omwenga vd. 2021; PCPB, 2022).

Pestisitler uygulandıktan sonraki süreçte bir yandan çeşitli yollar ile çok geniş bir çevreye dağılırlar ve hedef dışı organizmalara ulaşabilirler (Tiryaki ve Temur, 2010). Diğer yandan ise bir degresadyon sürecine girerler. Çevreye dağılma yolarının başlıcaları arasında rüzgârla taşınma, evaporasyon ile atmosfere karışma, yıkanma yoluyla yüzey sularına, göl ve denizlere karışma ve süzülme yoluyla yer altı sularına karışma sayılabilir. Çevresel degredasyon sürecinde başlıca etkenler güneş ışınları, topraktaki mikrobiyal faaliyet ya da diğer fizikokimyasal etkiler olmaktadır. Bitki ve hayvan bünyesine alınma durumunda da gerçekleşen metabolik etkiler ile dönüşüm gerçekleşmektedir. Bu süreç en sonunda mineral bileşiklere dönüşüm ile sonuçlanmaktadır. Ancak bazı pestisitler bu süreçte toksik ara ürünler (metabolitler) oluşturabilmektedir. Hatta bu ürünler bazen ana molekülün kendisinden daha toksik olabilmektedir (Tomizawa ve Casida, 1999).

Silaj su içeriği yüksek olan yemlerin, oksijensiz bir ortamda laktik asit bakterileri ile fermantasyonu sonucu oluşan, hayvancılık işletmeleri için oldukça önemli bir yemdir (Şahin & Zaman, 2010). Silaj, yapım tekniği gereği oksijensiz şartlar gerektirdiğinden tamamen kapalı bir ortamda bulunmaktadır. Bu nedenle yapım sırasında kullanılan hammadde ile ortama girmesi muhtemel pestisit kalıntılarının evaporasyon, süzülme vb. yollarla ortamdan uzaklaşması mümkün olamayacaktır. Bununla birlikte silajın fermantasyonunda rol alan laktik asit bakterilerinin hem esteraz enzimi gibi bazı enzimler vasıtasıyla hem de pestisitleri karbon kaynağı olarak kullanmak suretiyle, pestisitlerin degredasyonunda etkili oldukları yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Cho vd., 2009; Choi vd., 2004; Islam vd., 2010; Kumral vd., 2020; Kumral & Kumral, 2013). Silaj ortamı göz önüne alındığında fermantasyon etkisi ya da diğer ortam koşullarının etkisi ile oluşması muhtemel pestisit metabolitlerinin de silaj ortamından uzaklaşması mümkün olamayacağı anlaşılmaktadır. Bu durum silajın hem pestisit ana moleküllerinin kalıntı riski hem de metabolitlerin varlığı yönünden araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Bu tez çalışmasının amaçları, silaj fermantasyonu süreci ile birlikte oluşabilecek insektisit degradasyonu sonucunda insektisit miktarındaki değişimleri belirlemek, silajda insektisit degredasyonu sonucunda ortaya çıkabilecek bazı önemli metabolitlerin (sıcakkanlılara toksik) varlığını belirlemek, sahadan yapılacak örnekleme ile insektisitler ve bunların

metabolitlerinin kalıntı durumunu belirlemek, yemlerde rutin insektisit kalıntı taramalarında metabolitlerin de dikkate alınması yönünde farkındalık yaratılmasıdır.

Bu çalışma ile silajdaki fermantasyonun, ele alınan insektisitlerin degredasyon sonucu miktarsal olarak azalmalarına ve metabolitlerinin oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla çalışmanın ilk yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezinde kontrollü olarak hiçbir pestisit uygulanmadan yetiştirilmiş olan mısır bitkileri kullanılarak laboratuvar şartlarında silaj yapılmıştır. Silaj makinası ile hasat edilerek parçalanmış olan mısır bitkileri çalışmada ele alınan üç insektisit ve bir de kontrol grubu olmak üzere toplam dört deneme grubuna ayrılmıştır. Her bir insektisit ayrı olacak şekilde gruplara ayrılmış olan mısır hasıllarına belirlenen dozlarda bulaştırılmıştır. Kontrol grubuna herhangi bir bulaştırma yapılmamıştır. Bu aşamada her grup iki parçaya ayrılmıştır. Ayrılan parçalardan biri oda şartlarında kurutmaya bırakılırken diğer grup kavanozlar içerisinde silaj yapılmıştır. Daha sonra belirlenen periyotlarda her gruptan örnekler alınarak pestisit kalıntısı, organik asit ve mikrobilojik analizler yapılmıştır. Böylelikle silajların olgunlaşma durumları ile birlikte, mısıra bulaştırılmış olan her üç pestisitin silaj içerisinde ve kurutma örneklerindeki azalma ve metabolit oluşturma durumları izlenmiştir. Çalışmanın ikinci yılında ise bu insektisit ve metabolitlerinin üretici koşullarındaki kalıntı durumlarının araştırılması amacıyla Bursa'nın yoğun mısır üretimi yapılan bölgelerinden örnekler toplanarak analiz edilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Mısır, *Zea mays* (L.) (Poaceae) dünyada tahıllar arasında ekim alanı bakımından buğdaydan sonra ikinci, üretim miktarı olarak ise ilk sırada yer almaktadır (FAO, 2022a). FAO verilerine göre 2020 yılı dünya mısır ekim alanı yaklaşık 200 milyon hektar, üretim miktarı ise 1,16 milyar ton civarındadır. Dünyada üretilen mısırın %27'si insan beslenmesinde, %73'ü ise hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Öz vd., 2017). Bu bilgiler ışığında mısır bitkisinin dünya için hem önemli tahıllardan bir tanesi olmanın yanı sıra en önemli yem bitkilerinin de başında geldiği anlaşılmaktadır.

Ülkemizde de hayvan yemi olarak yaygın şekilde kullanılan mısır bitkisi silaj yapımında da en çok tercih edilen bitki durumundadır. TÜİK 2018 verilerine göre Türkiye'de silajlık mısır üretim alanı yaklaşık olarak 4,2 milyon hektardır. Toplam silajlık mısır üretimi ise 20 milyon tonun üzerindedir. En fazla silajlık mısır üretimi yapılan şehirler ise İzmir, Balıkesir, Bursa ve Konya'dır (Tezel, 2018).

2.1. Mısır Silajı ile İlgili Çalışmalar

Yapılan çalışmalar tüm bitki olarak mısırın silolamak için iyi bir yem bitkisi olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte bugüne kadar yapılmış birçok çalışmanın sonuçlarına bakıldığında silolama ve besin kalitesinin mısırın hasat edildiği olgunluk aşaması ile ilgili olduğu anlaşılmaktadır (Bal vd., 1997; Buck vd., 1969; Johnson vd., 2002; Russell, 1986).

Silajın olgunlaşma aşaması boyunca gerçekleşen fermantasyon sürecinin bir sonucu olarak silajlarda organik asit içeriği, pH, kuru madde ve amonyağa bağlı nitrojen gibi özellikler değişim göstermektedir ve bu özellikler silajın besleme değerliliği üzerinde önemli etkilere sahiptir (Kılıç, 1986; Phipps, 1986).

Kılıç (1986) kaliteli bir silajın içeriğindeki laktik asit, asetik asit, bütirik asit oranları ile silajın kalitesi arasında sıkı bir ilişki bulunduğunu bildirmektedir. Kaliteli bir silo yeminde laktik asit oranı %2'nin üzerinde olduğunu, asetik asit oranının ise %0,3-0,7 arasında en ideal düzeyde olduğunu belirtmektedir. İyi kalitede bir silo yeminde bütirik

asitin hiç istenmemekle birlikte %0,1-0,6 arasında ortalama bir değerde bulunabildiğini belirtmektedir. Yine Alçiçek ve Özkan (1996) silaj kalitesinin saptanmasında silo yeminin fiziksel niteliklerinin yanı sıra silo asitlerinin saptanmasının da en doğru sonucu verdiğini bildirmişlerdir.

Tümer (1996)'e göre uygun şartlarda kapatılmış olan bir silaj 25-30 günde olgunlaşarak yedirilmeye hazır hale gelmektedir.

Filya ve diğerleri (2000) silajda aerobik stabilitenin kuru madde miktarı ile ilişkili olduğunu ve kuru madde içeriği düşük olan hammaddelerden yapılan silajların aerobik stabiliteleri azalırken kuru maddece zengin içeriğe sahip materyallerden yapılan silajlarda aerobik stabilitenin arttığını bildirmişlerdir.

Basmacıoğlu ve Ergül (2002) silajı yapılacak ürünün yapısının yanı sıra hasat, soldurma, parçalama ve sıkıştırma gibi işlemlerin silaj kalitesi açısında oldukça önemli olduğunu, bununla birlikte silaj fermantasyonunun da silaj niteliği bakımından büyük öneme sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Filya (2002) başka bir çalışmasında ise silaj yapılırken Laktik Asit Bakteri (LAB) inokulantı eklenmesinin ilk günden başlayarak silajın pH değerini önemli ölçüde düşürdüğünü, üçüncü günden itibaren ise laktik asit miktarını önemli ölçüde artırdığını, son dönemde ise asetik asit, bütirik asit ve etanol içeriğini önemli miktarda azalttığını kaydetmiştir.

Silaj, yeşil yemlerin, tarımsal ve endüstriyel atıkların oksijensiz bir ortamda fermantasyona tabi tutulması olarak tanımlanabilmektedir. Silaj yapımında amaç homofermantatif nitelikteki olan laktik asit fermantasyonunun yem ortamında hakim duruma geçmesini sağlamaktır (Basmacıoğlu & Ergül, 2002; Koç & Coşkuntuna, 2003).

Özcan (2009)'ın Turgut (2002)'dan yaptığı alıntıya göre silajlık mısır adaptasyon yeteneğinin genişliği, sindirim oranının ve enerji veriminin yüksek olması, katkı maddesine gerek olmaksızın lezzetli ve kaliteli silaj yapılabilmesi, makineli tarıma

uygunluğu, yüksek verimliliği ve kolay hasat edilebilir olması gibi önemli avantajlı özelliklere sahiptir.

Yaylak ve Alçiçek (2003)'e göre ülkemizde üretilen mısır silajının büyük bölümü süt ineklerinin beslenmesi için kullanılırken çok az bir kısmı ise besi sığırcılığında kullanılmaktadır.

Filya (2004), yaptığı çalışmada üçte bir ve üçte iki süt çizgisi dönemindeki mısırların silolama performanslarının daha iyi olduğunu bildirmiştir. En yüksek kuru madde miktarı ve organik madde veriminin ise üçte iki süt çizgisi evresinde tespit edildiğini kaydetmiştir.

Konca ve diğerleri (2005) ülkemizde büyük çoğunlukla mısırdan yapılmakta olan silajın hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan vazgeçilmez bir enerji ve kaba yem kaynağı olduğunu bildirmektedir.

Filya (2005) silajı, su içeriği yüksek kaba yemlerin içeriğinde bulunan sakkaroz, glukoz, fruktoz gibi suda çözünebilir karbonhidratların (SÇK) anaerobik koşullar altında LAB'ların fermantasyonu neticesinde laktik asite dönüştürülmesi ile elde edilen fermente bir yem olarak tarif etmekte ve bu uygulamanın yapıldığı yere silo, yapılan uygulamaya ise silolama adı verildiğini kaydetmektedir. Bununla birlikte ülkemizde silajların yaklaşık %80 gibi büyük bir kısmının mısırdan yapıldığını, bunun nedeninin ise mısırın içeriğindeki SÇK düzeyinin fermantasyon etkinliği için yeterli olması ve kolay silolanmasına bağlamaktadır.

Şahin ve Zaman (2010) hayvancılıkta et süt verimini arttırmak için silajın oldukça önemli bir kaba yem kaynağı olduğunu bildirmektedir. Özellikle kış aylarında yeşil yemlerin bulunmadığı dönemlerde protein bakımından düşük olan tahıl samanına bir alternatif olarak silajın oldukça önemli olduğunu ifade etmektedir. Seydoşoğlu ve Saruhan (2017) yaptıkları çalışmaya göre silaj kalitesi açısından önemli parametreler olan kuru madde, ham protein, ham kül, NDF, ADF ve laktik asit oranlarının mısır ekim zamanları ve mısır çeşitlerine bağlı olarak önemli ölçüde farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir.

2.2. Mısırda Zararlılar ve Kimyasal Mücadele ile İlgili Çalışmalar

Kornoşor ve Kayapınar (1989) ile Kurtuluş ve Kornoşor (2015), Çukurova'da ilk ürün olarak yetiştirilen mısırda Bozkurt (*Agrotis* spp.) (Lepidoptera: Noctuidae) ve Telkurdu (*Agriotes* spp.) (Coleoptera: Elateridae) zararlılarına karşı yapılan tohum ilaçlamasının yeterli olduğunu ve başka bir zararlı sorunu bulunmadığını bildirmektedirler. Bununla birlikte ikinci ürün mısırda ise Mısır kurdu (*Ostrinia nubilalis* Hübner) (Lepidoptera: Crambidae) ve Mısır koçan kurdu (*Sesamia nonagrioides* Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae)'nun artan popülasyonu ve kısalan döl süresi nedeniyle bu zararlılar ile mücadele yapılmadan ekonomik olarak üretim yapmanın mümkün olmadığını kaydetmektedirler.

Cerit ve diğerleri (2006) dünya genelinde mısır bitkisinde zarara neden olan 400'den fazla zararlı böcek türü bulunmakta olduğunu, ancak ülkemizde mısır üretiminde en fazla zarara yol açan iki türün Mısır kurdu ve Mısır koçan kurdu olduğunu bildirmektedir. Araştırmada bu türlerin mısır bitkisinin kök sistemi haricinde bütün toprak üstü aksamında zarar yaptığı ifade edilmektedir.

Özcan (2009), Mısır kurdu ve Mısır koçan kurdu zararının özellikle geç ekim ve ikinci ürün mısırda %100'e varan ciddi düzeylere ulaştığını, buna bağlı olarak Çukurova'da 2005 yılında %65 civarında olan ikinci ürün mısır üretiminin 2009 yılı itibariyle önemli ölçüde azalmış olduğunu bildirmektedir. Akdeniz Bölgesi şartlarında Mısır kurdunun yılda 2-3 döl, Mısır koçan kurdunun ise 4-5 döl verebildiğini, popülasyonun yoğun olduğu yıllarda 4-5 defa ilaçlama yapılsa bile ürün kayıplalrının %30 gibi oranlara ulaşabildiğini kaydetmektedir.

Aksoy ve Bahadıroğlu (2012), mısır bitkisinin kullanım alanının çok geniş olması nedeniyle yetiştiriciliğinin giderek arttığını, buna bağlı olarak Mısır kurdu ve Mısır koçan kurdunun popülasyonlarının da ciddi düzeylerde arttığını ve bu türler ile mücadelerinin günden güne önem kazandığını bildirmektedir. Kaymak ve Serim (2015) küresel pestisit pazarının yaklaşık 45 milyar dolar büyüklükte olduğunu, Türkiye'de ise pestisit pazarının büyüklüğünün 600 milyon dolar civarında olduğunun tahmin edildiğini bildirmektedir.

Gözüaçık (2016) insektisitlerin birçok mısır zararlısını kontrol etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmakta olduğunu kaydetmektedir. Bozkurt (*Agrotis ipsilon* Hufnagel), pamuk çizgili yaprak kurdu (*Spodoptera exigua* Hübner), Loreyi yaprak kurdu (*Acantholeucania loreyi* Duponchel), Pamuk kurdu (*Helicoverpa armigera* Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), Mısır koçan kurdu ve Mısır kurdu gibi zararlıların mısır bitkisinin kök sistemi dışında tüm kısımları ile beslenerek üretiminde ciddi verim kayıplarına neden olduğunu bildirmektedir.

Ülkemizde 2017 yılı Kasım ayı itibariyle ruhsatlı toplam 992 farklı insektisit preparatı bulunmaktadır. Bunların 436 adedi mısır için ruhsatlandırılmış durumda iken bu sayı buğday için 72'dir. Bu durum mısırda tarım ilacı kullanımının yoğun olduğunu göstermektedir. Mısırda insektisit olarak ruhsat almış 436 preparatın büyük bölümü az sayıdaki etkili maddeden oluşmaktadır. Bu etkili maddeleri içeren preparat sayıları Çizelge 2.1'de verilmiştir (Anonim, 2017) .

Çizelge 2.1. Mısırda ruhsatlı başlıca insektisit etkili maddeleri (Anonim, 2017)

Etkili Madde Grubu	Etkili Madde	Preparat Sayısı
Organik Fosforlu	Chlorpyrifos	66
	Malathion	32
Neonikotinoid	Imidacloprid	29
	Thiamethoxam	6
Sentetik Piretroit	Lambda-cyhalothrin	53
	Cypermethrin	57
	Alpha-cypermethrin	41
	Deltamethrin	41
	Cyfluthrin	26
	Esfenvalerate	20
Oxadiazine	Indoxacarb	35
Benzoyl üre	Lufenuron	21

Kumral ve diğerleri (2017) yaptığı bir anket çalışmasında Bursa bölgesinde zeytin ve buğdaydan sonra en fazla yetiştirilen ürünün mısır olduğu bildirilmişlerdir. Yine aynı çalışmada çiftçi bazında en çok kullanılan insektisitlerin ise sırasıyla sentetik piretroitler, neonikotinoidler ve organik fosforfular gruplarından olduğu tespit edilmiştir. Anket

çalışması sonuçlarına göre bu gruplardan en çok kullanılan etkili maddeler Çizelge 2.2'de verilmiştir. Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2'deki veriler incelendiğinde chlorpyrifos, imidacloprid ve deltamethrin ruhsatlı preparat sayıları ile birlikte kullanım yoğunlukları da dikkate alındığında mısır için kalıntı riski yönünden araştırılması gerekli insektisitler olarak öne çıkmaktadır.

Çizelge 2.2. Çiftçi anketinde insektisit kullanım oranları (Kumral vd., 2017)

Etkili Madde Grubu	**Etkili Madde Adı**	**Kullanım Oranı (%)**
Sentetik Piretroitler	Deltamethrin	25.73
	Cypermethrin	5.86
	Lambda cyhalothrin	4.89
	Alpha cypermehtin	0.65
	Cyfluthrin	0.33
Neonikotinoidler	Thiacloprid	19.54
	Acetamiprid	5.86
	Imidacloprid	0.98
	Thiamethoxam	1.95
Organik Fosforlular	Chlorpyrifos	0.98
	Dimethoate	9.77

Yonow ve diğerleri (2017), Benekli mısır sap kurdu, *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Crambidae)'un Asya ve Afrika'da mısır ve sorgum için önemli bir zararlı olduğunu ve son zamanlarda Akdeniz Bölgesine yayıldığını bildirmektedir. Zararlının potansiyel dağılımı ve riskinin, mevcut dağılımından önemli ölçüde daha büyük olduğunu ve konukçusu olduğu bitkilerin yetiştirildiği tüm alanların, ya kalıcı popülasyonlardan ya da mevsimsel istilalardan saldırı riski altında olduğunu kaydetmektedir.

FAO'nun 2019 yılı verilerine göre dünyada toplam pestisit kullanımı etken madde olarak yaklaşık 4,17 milyon ton iken bu rakam Türkiye için yaklaşık 51 bin tondur (FAO, 2022b).

Pehlivan ve Atakan (2021) tarafından 2020 yılında Adana ilinde mısır kurtlarının yayılış durumunun ortaya konması için yapılan tarama çalışması neticesinde, ilk ürün mısırda

bulaşıklık oranının %17,83 ile %51,94 arasında, ikinci üründe ise %5,18 ile %32,36 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Vejetatif dönemde en yaygın tür Benekli mısır sap kurdu (*C. partellus*) olmuştur. Püskül+koçan döneminde ise birinci üründe en yaygın tespit edilen tür yine *C. partellus* iken ikinci üründe *O. nubilalis* en çok tespit edilen tür olmuştur.

Ülkemizde 2022 Nisan ayı itibariyle mısır bitkisinde ruhsatlı toplam 396 adet insektisit preparatı mevcuttur. Mısır kurduna karşı 255 adet, Mısır koçan kurduna karşı ise 127 adet ruhsatlı insektisit preparatı bulunmaktadır. Çalışmada ele alınan insektisitlerden chlorpyrifos'un kullanımı 21.05.2020 tarihi itibariyle Tarım Bakanlığı tarafından sonlandırılmıştır. Imidacloprid etken maddesi içeren 32, deltamethrin etken maddesini içeren ise 46 ruhsatlı preparat bulunmaktadır (Anonim, 2022b).

2.3. Tezde Kullanılan İnsektisitler ile İlgili Çalışmalar

Pestisitler uygulanmalarının ardından bir yandan çevreye dağılırken diğer yandan da bir degradasyon sürecine girerler. Çevreye dağılım buharlaşma, yüzey suları ile hareket etme, toprağın alt katmanlarına doğru geçerek yeraltı sularına karışma şeklinde olabildiği gibi bitki ve hayvanlar tarafından alınma ile de taşınma ve yer değiştirme mümkün olabilmektedir. Degredasyon ise güneş ışınları, su, hava, mikroorganizma, çeşitli bitki ve hayvan metabolizmaları gibi etkiler ile oluşmaktadır. Organik bileşikler toprakta birçok değişim geçirirler. Pestisitler genellikle toprakta zaman içerisinde bazı kimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyonlar sonucunda parçalanırlar ya da indirgenirler. Bazıları ise güneş ışığı etkisiyle parçalanırlar. Bu süreç CO_2, H_2O, HCl, SO_2, vb. gibi mineral bileşiklere dönüşüm ile sonlanır. Bazı pestisitler bu süreçte biyolojik aktivitesi ya da çevresel önemi olan bazı ara maddeler üretebilirler. Ayrışma süreci uzun zaman alan pestisitler kalıcı olarak değerlendirilmektedir. Bu bozulma süreci yarılanma ömrü değeri (DT_{50}) ile ifade edilmektedir. Önemli degradasyon süreçleri biyolojik ve fizikokimyasal (hidroliz, fotoliz vb.) süreçlerdir (FAO, 2000)

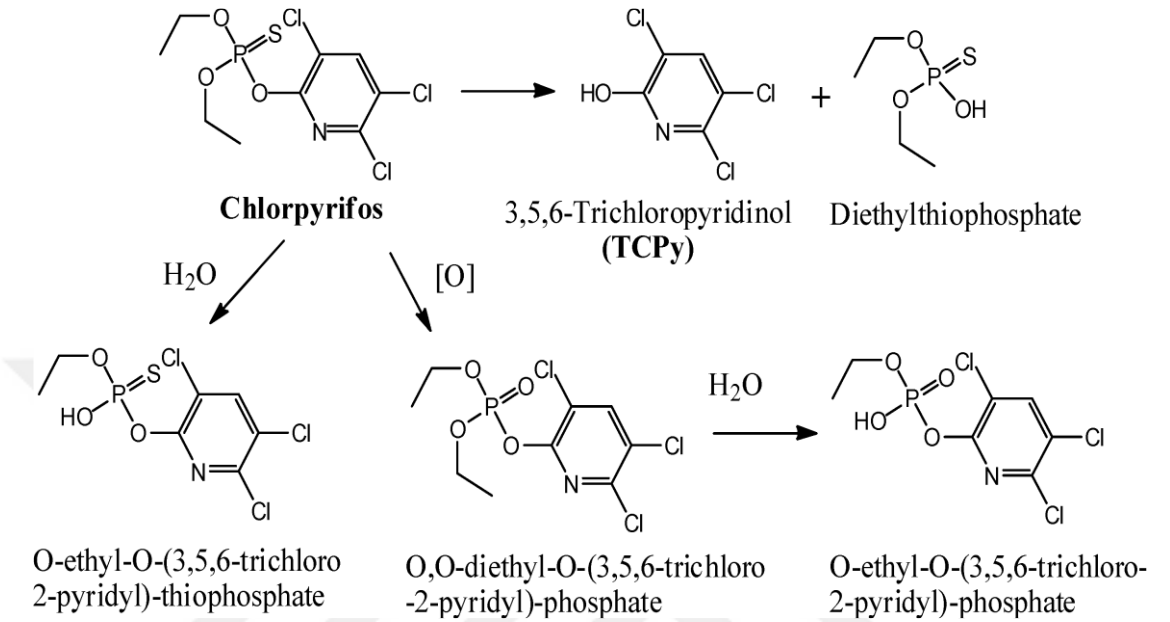
2.3.1. Chlorpyrifos

Iwata ve diğerleri (1983), bitkilerde chlorpyrifosun ana metabolizma yolu sonunda 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPy) ve bunun konjugatını oluşturduğunu kaydetmektedirler. Ayrıca desulfürasyon yolu ile chlorpyrifos-oxon oluştuğu da bildirilmektedir.

Racke (1993) chlorpyrifos'un Amerika'da mısır üretiminden, İspanya'da turunçgil yetiştiriciliğine, Mısır'da pamuk tarımından Japonya'da termit mücadelesine kadar pek çok değişik amaçla ve yaygın olarak kullanılan çok yönlü bir pestisit olduğunu bildirmektedir.

Eaton ve diğerleri (2008), chlorpyrifos'un yapısı gereği kolayca buharlaştığını, suda zayıf şekilde çözündüğünden toprakta ya da bitkilerde çeşitli partiküllere hızla bağlandığını belirtmektedir. Bu nedenle yüzey sularına çok az geçtiğini, eğer su sistemine geçerse yine yüzeyden buharlaşarak atmosfere karıştığını, chlorpyrifosun ve metabolitlerinin çevrede çok çeşitli bozulma yolları izlediğini ve fotodegradasyona oldukça duyarlı olduğunu belirtmektedir. Yarılanma ömrünün (DT_{50}) 3 gün olmakla birlikte eğer atmosferde hidroksil radikalleri varsa bu sürenin 6 saate kadar düşebildiğini, topraktaki fotodegradasyonun chlorpyrifosun hidroliz, deklorinasyon ve oksidasyon yoluyla parçalanmasında önemli rol oynadığını kaydetmektedir. Chlorpyrifosun kapalı ortamlarda güneş ışığı, su ve/veya toprak mikroorganizmaları olmadığı için aylarca kalıcı olabildiğini belirtmektedirler. Bitkilerin yapraklarına uygulandığında buharlaşma nedeniyle hızla kaybolduğunu, turunçgillerle yapılan bir çalışmada yaprak uygulaması sonrasında yarılanma ömrü süresinin 2,4 – 3,4 gün olduğu bildirilmektedir. Ayrıca yapraklarda chlorpyrifos-oxon tespit edilmiştir. Bu durum bitki metabolizmasından ziyade fotodegrasayon kaynaklı olduğunu belirtmektedirler. Hayvan metabolizmasında ise birçok organik fosforlu gibi chlorpyrifos da Sitokrom-P450 (S-p450) tarafından temel toksik metaboliti kabul edilen ve kolinesteraz inhibisyonundan sorumlu olan chlorpyrifos-oxon'a oksitlendiğini belirtmektedirler. Chlorpyrifos-oxon enzimatik olarak ya da kendiliğinden hidrolize olarak diethylphosphate ve 3,5,6-trichloro-2-pyridinol'ü oluşturabilmektedir. Ayrıca, chlorpyrifos S-p450 tarafından oksitlenerek kendiliğinden diethylthiophosphate ve TCPy'yi oluşturan kararsız bir ara maddeye parçalandığını

kaydetmektedir. Bu metabolitlerin ya doğrudan idrarla atıldığını veya sonradan yine idrarla atılan glucorinid ya da sulfat konjugatlarını oluşturduklarını belirtmektedir. Chlorpyrifosun degredasyonu Şekil 2.1' de şematik olarak görülmektedir.



Şekil 2.1. Chlorpyrifosun çevresel koşullardaki degredasyonu (Eaton vd., 2008)

Chlorpyrifos beyazdan açık kahverengiye kadar değişen renklerde kristal formda, molekül formülü $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ molar kütlesi ise 350,58g/mol olan, sistemik etkisi olmayan, kontakt, solunum ve mide zehiri etkili organik fosforlu insektisittir. Nörotoksik bir maddedir. İki sinir hücresi arasında sinirsel iletimin gerçekleşmesinde görevli olan asetilkolini parçalayan asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek sinirsel iletimin sonlanmasını engeller. Suda çözünürlüğü düşük ve oldukça uçucudur. Memeliler için oldukça toksiktir. Arılara, kuşlara, balıklara ve sucul omurgasızlara toksikdir. Sıçanlarda akut oral LD_{50} değeri 66 mg/kg, balıklarda 96 saat LC_{50} değeri 0,025 mg/l'dır. Chlorpyrifos 1965 yılından bu yana tarımda kullanılmaktadır (Anonim, 2022c).

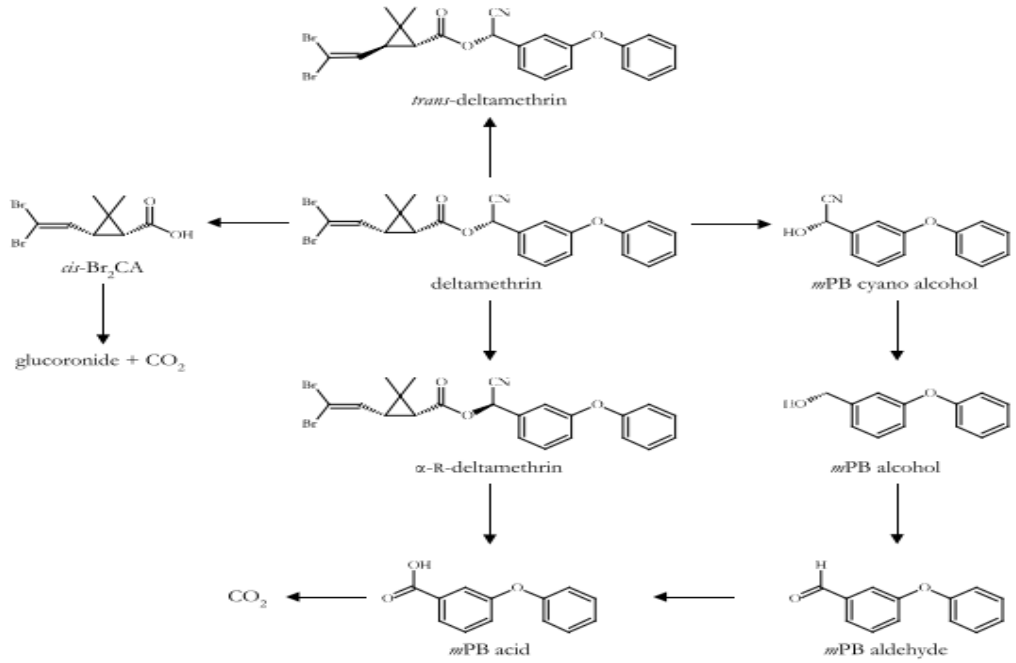
2.3.2. Deltamethrin

Deltametrin, ((S)- alpha-cyano-3-phenoxybenzyl-(1R)-cis-3-(2,2-dibromovinyl) -2,2-dimethylcyclopropane carboxylate) dünya çapında insektisit ve akarisit olarak kullanılan bir Tip II sentetik piretroittir (Anadón vd., 2009; Li vd., 2016; Lu vd., 2019).

Calinawan ve diğerlerinin (2016) Wang (1991a)'dan aktartığına göre doğal ortamda, piretroidler, fotodegradasyon, biyodegradasyon ve hidroliz gibi süreçlerin etkisi ile bozunabilmektedir. Deltamethrinin aerobik koşullarda topraktaki degredasyonu ester bağlarının yıkılmasının ardından oksidasyon ve CO_2'ye mineralizasyon ile sonuçlanmaktadır. Başlıca parçalanma ürünü decamethrinic acid ya da Br_2CA olurken daha kararsız olan mPB acid ise diğer bir potansiyel metabolit olmuştur. Deltamethrinin topraktaki degradasyonu 0,2 mg/kg dozda, karanlık ve aerobik şartlarda 181 gün süreyle incelenmiş ve yalnız Br_2CA metaboliti uygulanan toplam dozun %23'ü oranında 14. günde tespit edilmiştir. Sonuçta 181. günde %61'e kadar CO_2'e mineralizasyon gerçekleşmiştir.

Yine Calinawan ve diğerleri (2016)'nin Wang (1991b)'den yaptığı alıntıya göre anaeorobik toprak koşularında deltametrinin degredasyonu epimerizasyon yolu ile küçük bir metaboliti olan αR-deltametrine dönüşümü ile olmaktadır. Daha sonra bunu takiben ester bağlarının yıkılması ile Br_2CA ve oksidasyon ile mPB acid oluşmakta ve ardından CO_2'ye mineralizasyon gerçekleşerek toprak biyokütlesine dahil olmaktadır. Deltamethrinde 0,2 mg/kg dozda ve karanlık şartlarda 90 gün süreyle yapılan çalışmada ise 59. günde Br_2CA uygulanan toplam miktarın %52'si, 59. günde α-R-deltamethrin uygulanan toplam miktarın %1-2'si, 30. günde mPB acid maksimum %3 oranlarında tespit edilmiştir. Çalışmanın 90. gününde %71'e kadar CO_2'e mineralizasyonun gerçekleştiği bildirilmiştir. Deltametrin molekülünün degredasyonu Şekil 2.2'de verilmiştir.

Calinawan ve diğerleri (2016)'nin Smith (1990)'dan aktardığına göre deltametrinin su içeirsinde pH 9 şartlarında hidroliz ile degredasyonu sonucu mPB aldehyde ve iz miktarda Br2CA oluşmaktadır.



Şekil 2.2. Deltamethrinin molekülünün degredasyonu (Calinawan vd., 2016).

Deltamethrin renksiz kristal yapıda, molekül formülü $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ ve moleküler kütlesi 505.2 g/mol olan sistemik etkisi olmayan, kontakt ve mide zehiri etkili sentetik piretroitler grubundan bir insektisittir. İnsanlar ve diğer memeliler için oldukça toksik olan bir nörotoksindir. Suda çözünebilirliği düşük ve yarı uçucu yapıdadır. Toprakta kalıcı ve taşınabilir değildir. Sucul organizmalar ve bal arıları için yüksek riskli olmasına karşın kuşlar ve solucanlar için nispeten daha az toksikitir. Etki mekanizması olarak sodyum kanalı modülatörlerinden olan deltamethrinin sıçanlarda akut oral LD_{50} değeri 87 mg/kg, balıklarda 96 saat LC_{50} değeri 0,00015 mg/l'dir. Deltamethrin tarımda 1974 yılından bu yana kullanılmaktadır (Anonim, 2022d).

2.3.3. Imidacloprid

Imidacloprid, yeni bir kimyasal sınıf olan neonikotinoid insektisitlerin ticari olarak ilk temsilcisidir. Etken madde 1985 yılında sentezlenmiştir ve ilk kez 1991 yılında Fransa'da şeker pancarında ruhsatlandırılmıştır. Sistemik geniş spektrumlu bir insektisit olup, emici ve bazı ısırıcı böceklere (yaprak bitleri, tripsler, beyazsinekler, termitler vb.) karşı temas ve mide zehiri olarak etkilidir. Tohum, toprak veya yaprak ilacı olarak

uygulanabilmektedir. Molekül, nikotinik asetilkolin reseptörünün bir agonisti olarak etkili olur ve zararlıların felç olmasına ve ölümüne yol açmaktadır (Bai vd., 1991; Nauen vd., 1998; Robin ve Stork, 2003; Schmuck vd., 2003).

Rouchaud ve diğerleri (1996) imidacloprid'in topraktaki başlıca parçalanma ürünleri imidacloprid urea, 6-hydroxynicotinic acid, 6-chloronicotinic acid olduğunu bildirmişlerdir.

Nauen ve diğerleri (1998) toksisite çalışmalarının çoğunluğu ana molekül imidacloprid üzerine yoğunlaşmış olduğunu ancak imidacloprid olefin ve nitrosimine metabolitlerinin ana molekülden daha fazla insektisit aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Moza ve diğerleri (1998) imidaclopridin yüzey sularında parçalanması sulu fotoliz ile olduğunu ve başlıca parçalanma ürünleri imidacloprid urea, 6-chloro-3-pyridyl-methylethylenediamine, 6-chloronicotinic aldehyde, 6-chloro-N-methylnicotinacidamide olduğunu bildirmişlerdir.

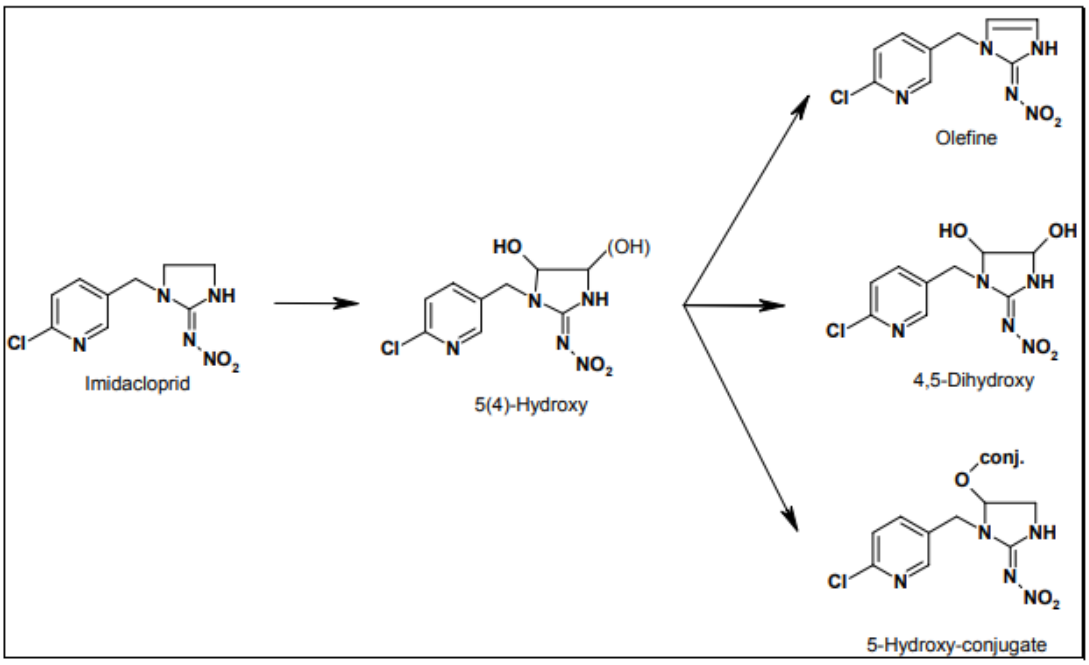
Tomizawa ve Casida (1999) guanidine metabolitinin insektisit özelliği göstermediğini ancak memeliler için ana molekülden daha fazla toksik olduğunu kaydetmektedir.

Banasiak (2000) tarafından aktarılan Heukamp (1992) tarafından süt inekleri üzerinde yapılmış olan bir çalışmada 3 grup sığıra 0,15-0,45-1,5 mg/kg/bw dozda 28 gün süreyle imidacloprid verilmiştir. Sabah ve akşam süt sağılmış ve 29. gün hayvanlar kesilmiştir. Bu çalışmada sütte yapılan analizlerde 0,15 mg/kg/bw grubunda tüm örnekler LOQ (0,02 mg/kg) değeri altında bulunmuştur. Deltamethrin'in 0,45 mg/kg/bw grubunda ilk dozdan sonra kalıntı miktarı en yüksek seviye olan yaklaşık 0,04 mg/kg ulaşmış 13. günden sonra ise yaklaşık 0,03 mg/kg düşmüş ve sabit kalmıştır. Denemenin 1,5 mg/kg/bw grubunda ise 3. günde en yüksek seviye olan 0,15 mg/kg ulaşmış yine 13. günden sonra 0,1 mg/kg seviyesine azalmıştır.

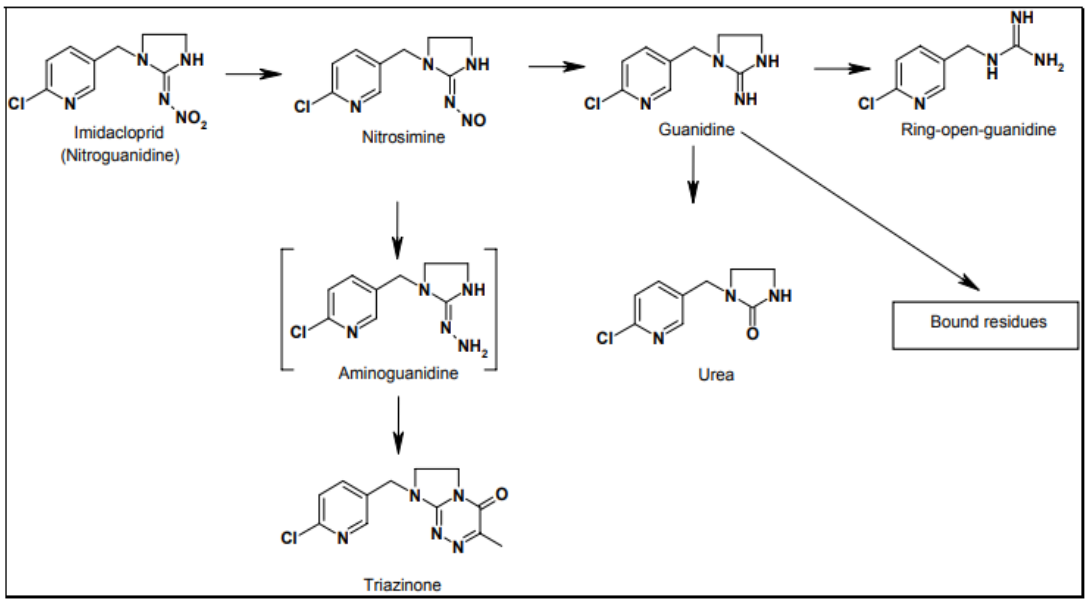
Banasiak (2000)'ın aktardığına göre Heukamp (1992b) tarafından tavuklar üzerinde yapılan bir çalışmada ise 12 bireylik 4 tavuk grubuna 0,18-0,52-1,8 mg/kg/bw dozda

imidacloprid içeren 30-32 günlük besleme yapılmıştır. Besleme sonunda yumurtalarda yapılan analizlerde bulunan kalıntı miktarları 0,18 mg/kg/bw grubunda 0,02 mg/kg olan LOQ değeri altında olmuştur. Denemede 0,52 mg/kg/bw grubundan alınan yumurtalarda yaklaşık 0,05 mg/kg kalıntı tespit edilirken 1,8 mg/kg/bw grubunda yaklaşık 0,13 mg/kg kalıntı bulunduğu bildirilmiştir.

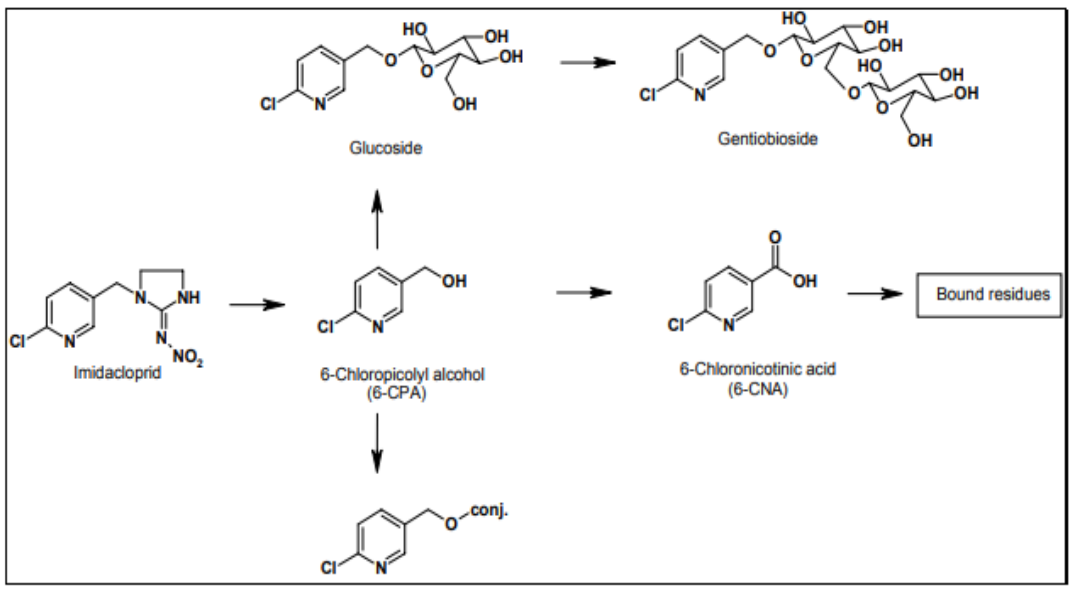
Robin ve Stork (2003) imidaclopridin bitki bünyesi başlıca 3 farklı yol ile metabolize olduğunu bildirmişlerdir (Şekil 2.3, Şekil 2.4, ve Şekil 2.5)



Şekil 2.3. İmidakloprid metabolizması(I): İmidazolidin halkasının etilen bağı hidroksilasyonu ve suyun eliminasyonu Robin ve Stork (2003).



Şekil 2.4. Imidacloprid metabolizması(II): Nitro grubu indirgemesi, nitrosimine oluşumu ve daha fazla nitro grubu kaybı ile guanidine oluşumu Robin ve Stork (2003).



Şekil 2.5. Imidacloprid metabolizması(III): 6-chloropicolyl alkol oluşturmak için metilen bağının oksidatif degredasyonu ve ardından 6-chloronicotinic aside oksidasyon Robin ve Stork (2003).

Shokr ve diğerlerinin (2006) Miles (1993)'dan aktardığına göre bitki metabolizmasında imidaclopridin başlıca parçalanma ürünleri monohydroxy imidacloprid, imidacloprid guanidine, imidacloprid olefin ve monoglucoside 6-chloropicolyl alchol molekülleridir.

Fossen (2006), imidaclopridin topraktaki yarılanma ömrü için 27 ile 229 gün arasında değişen süreler rapor edildiğini bildirmektedir.

Neonikotinoidlerin nitroguanidinler alt grubundan bir insektisit olan imidacloprid akarlara ve nematodlara etkili değildir. Kök ve tohum ilacı olarak kullanılmaktadır. Önemli kalıntı aktivitesine sahipitir. Sıçanlarda akut oral LD_{50} değeri 2567 mg/kg, balıklarda 96 saat LC_{50} değeri 211 mg/L'dir. Arılar için LD_{50} 0,008 µg/arı'dır (FAO, 2013).

Imidacloprid beyaz rekli, kendine has kokudadır. Molekül formülü $C_9H_{10}ClN_5O_2$ ve moleküker kütlesi 255,66 g/mol olan bitkilerde sistemik özellikte olup aynı zamanda kontakt ve mide zehiri etkisine sahiptir. Suda çözünürlüğü yüksektir. Uçucu olmayan yapıdadır ve toprakta kalıcılığı yüksektir. Kuşlar ve arılar için çok toksik, memeliler ve solucanlar için daha az toksik olup balıklar için toksik değildir (Anonim, 2022e).

2.4. Yemlerde Pestisit Kalıntısı Çalışmaları

Anastassiades ve diğerleri (2003) gıda ve çevre numunelerinde yaklaşık 40 yıldır dünya çapında gerek özel gerekse kamuya ait çok sayıda laboratuvarda pestisit kalıntı analizlerinin yapıldığını bildirmişlerdir. Ancak bu analizler için kullanılan yöntemlerin gereken ihitiyaçları karşılamaktan oldukça uzak olduğunu ifade etmektedirler. Yaptıkları çalışma ile meyve sebzelerde pestisit kalıntılarının belirlenmesi için basit, hızlı ve ucuz bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntem 10 g numunenin ilk önce 10 mL asetonitril ekstraksiyonuna ve ardından 4 g susuz $MgSO_4$ + 1 g NaCl ilavesiyle oluşturulan sıvı-sıvı ayrımı esasına dayanmaktadır. Daha sonra ekstraktta kalan suyun uzaklaştırılması ve clean up işlemi, her 1 mL asetonitril ekstraktının 150 mg susuz $MgSO_4$ ve 25 mg primer sekonder amin (PSA) sorbenti ile basitçe karıştırıldığı, dispersive katı faz ekstraksiyonu (dispersive-SPE) adı verilen hızlı bir yöntemle gerçekleştirilmektedir. Bu aşama organik asitler, belirli bazı polar pigmentler ve şekerler gibi birçok polar matriks bileşenini etkili bir şekilde uzaklaştırmaktadır. Sonuç olarak geliştirilen yöntem ile yapılan çalışmalarda methamidophos, acephate, imazalil gibi çok polar ve bazik bileşikler de dahil olmak üzere pek çok pestisit için geri kazanım değerlerinin %85 ile %101 arasında (genellikle

%95'den fazla) tekrarlanabilirlik RSD değerlerinin ise %5'den küçük olduğunu bildirmektedirler.

Salas ve diğerleri (2003), organik fosforlu insektisitlerin hayvanlarda ektoparazitlere karşı doğrudan kullanım ya da yem bitkilerinin üretiminde kullanılmaları ve hayvanların kalıntı içeren yem maddeleri ile beslenmeleri neticesinde süte geçebildiğini kaydetmektedir. Meksika'da 12 aylık bir süre boyunca yaptıkları bir çalışmada sütlerde 13 farklı organik fosforlu insektisit kalıntısının analizini yapmışlar ve örneklerin %39,6'sında tespit edilebilir düzeylere kalıntıya rastlamışlardır. Kalıntısı bulunan pestisitler arasında chlorpyrifosun da bulunduğunu ve bir örnekte tespit edilen chlorpyrifos miktarının MRL düzeyinin üzerinde bulunduğunu bildirmektedirler.

Lehotay ve diğerleri (2007) geliştirdikleri yönteme hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam ve güvenli kelimelerinin İngilizce karşılıları olan quick, easy, cheap, effective, rugged ve safe kelimelerinin kısaltmalarından oluşturdukları QuEChERS adını vermişlerdir. QuEChERS yöntemi 2007 yılında bazı modifikasyonlar sonrasında Association of Official Agricultural Chemists (AOAC 2007.01) resmi metodu olarak yayınlanmıştır.

Lehotay ve diğerleri (2010) QuEChERS yöntemi ile 12 farklı matriks üzerinde yaptıkları çalışmada asetik asitli asetonitril ile yapılan ekstraksiyon ve C_{18}, $MgSO_4$ ve NaOAc ile yapılan temizleme sonrasında mısır silajı örneklerinde negatif yönde ciddi düzeyde matriks etkisi gözlendiğini, ancak matriks eşleştirme (matrix-matched) yöntemiyle bu durumun telafi edilebildiğini bildirmektedir.

Tsiplakou ve diğerleri (2010) Yunanistan'da koyun ve keçi sütleri ile hayvanlara yedirilen yonca ve buğday samanlarında 143 farklı pestisitin kalıntısını araştırdıkları çalışmada tespit ettikleri başlıca pesitisitin endosulfan olduğunu bildirmişlerdir. Konsantre süt örneklerinde tespit edilen ortalama toplam endosulfan kalıntısı 5,36 mg/kg olurken kuru yonca otlarında ise α ve β endosulfan kalıntıları sırasıyla 0,08 mg/kg ve 0,02 mg/kg konsantrasyonlarında tespit edilmiştir. Diğer örneklerde ise pestisit kalıntısına rastlanmamıştır.

Döğen (2008) Afyonkarahisar, Aydın, Denizli, İzmir, Kütahya, Manisa, Muğla ve Uşak'ta alınan 50 adet karma yem numunesinde 55 adet pestisitin kalıntı durumuna ilişkin yaptığı tarama çalışmasında 15 örnekte ölçüm limiti üzerinde alachlor, chlorpyrifos, malathion, pyriproxyfen, quinalphos ve thimeton kalıntısına rastladığını bildirmiştir.

Fagnani ve diğerleri (2011) tarafından Brezilya'da 2007 yılında yapılan bir çalışmada çiftliklerden alınan süt, yem ve su örneklerinde değişen miktarlarda organik fosforlu ve karbamatlı pestisitlerin kalıntılarına rastlandığı bildirilmiştir. Çiftliklerden alınan kaba yem, çayır otu, kesif yem ve tuzdan oluşan 48 adet yem örneğinin 15 tanesinde organik fosforlu 6 tanesinde karbamatlı ve 1 örnektede hem organik fosforu hemde karbamatlı pestisit kalıntısı saptanmıştır. Süt örneklerinde tespit edilen kalıntıların, hayvanların beslendiği yem ve içme sularında tespit edilen pestisit kalıntıları ile aynı olduğu ve bu durumun da yem ve sulardaki kalıntıların sütlere taşındığı şeklinde değerlendirildiği ifade edilmiştir.

Zhao ve Wang (2012) silajın fermantasyonunda rol alan laktik asit bakterilerinin pestisitlerin degredasyon sürecine etkili olduğunu yapmış oldukları çalışmalar ile ortaya koymaktadırlar. Bazı *Lactobacillus* türlerinin organik fosforlu insektisitlerin tamamen parçalanmasında hızlandırıcı etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Đorđević ve diğerleri (2013) laktik asit fermantasyonunun buğdaydaki bifenthrin kalıntısını minimize etmek için etkili bir yol olabileceği bildirmişlerdir.

Shaker ve Elsharkawy (2015) Mısır'da çiğ manda sütleri ile yaptıkları çalışmada analize aldıkları örneklerde 5 farklı organik klorlu insektisit ve 3 farklı organik fosforlu insektisitin kalıntısına rastladıklarını bildirmişlerdir. Tespit edilen chlorpyrifos kalıntılarının %33'ünün Avrupa Birliği tarafından belirlenmiş olan MRL değerlerinin üzerinde bulunmuştur. Çalışmada süt örneklerinde tespit edilen pestisit kalıntıların başlıca kaynağının hayvanlara yedirilen ot ve mısır silajı olabileceği ifade edilmektedir.

Tiryaki (2016) ilk pestisit kalıntı analiz çalışmalarının gelişmiş ülkelerde 1950'li yıllarda başladığını ülkemizde ise 1959 yılında Otacı ve Güvener tarafından Ankara Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü kalıntı laboratuvarında yapılan çalışma ile başladığını bildirmektedir.

Zhang ve diğerleri (2016) tarafından chlorpyrifos ve Phorate'ın mısır silajında degredasyonuna laktik asit bakterilerinin etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir araştırmada, laktik asit bakterisi eklenen örneklerde 10 hafta sonunda chlorpyrifos ve phorate'ın azalışlarının sırasıyla %27,6 ve %26,2 olduğu, laktik asit bakterisi eklenmeyen kontrol örneklerinde ise bu azalışın %7,3 ve %7,5 seviyelerinde kaldığı tespit edilmiştir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Kimyasallar

Tezde kullanılan pesitisitler farklı kimyasal gruplardan seçilmiştir. Organik fosforlu insektisit olarak chlorpyrifos (CHL) ve onun metabolitleri 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP), diethyl phosphate (DP), diethyl thiophosphate (DTP) ve chlorpyrifos-oxon (CO) kullanılmıştır. Sentetik piretroitler grubunda ise deltamethrin (DEL) ve onun metabolitleri 3-phenoxybenzoic acid (3PBA) ve 3-(4-hydroxyphenoxy) benzoic acid (4HPBA) çalışılmıştır. Neonikotinoid grubundan imidacloprid ve onun metabolitleri imidacloprid-olefin (IMO), imidacloprid guanidine (IMG), 6-chloronicotinoyl chloride (6HNA), 6-hydroxynicotinic acid (6HNA) ve 6-chloronicotinic acid (6CNA) kullanılmıştır. CHL, CO, DEL, 3PBA, IMI, IMG, 6HNA ve 6CNA'nın referans standartları Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Almanya); TCP, DTP, 4HPBA ve IMO'nun TRC (North York, Ontario, Kanada) ve DP'nin Chemservice (West Chester, PA, ABD'den sağlanmıştır. Tüm standartların saflıkları % 97,5'in üzerindedir (Çizelge 3.1). Ayrıca, silaj yapımı öncesinde mısır hasılına uygulanan CHL'nin Alban 4 EC emülsiyon konsantre formülasyonu (Agrobest, Türkiye), DEL'in Decis 2,5 EC emülsiyon konsantre formülasyonu (Bayer, Almanya) ve IMI'nin Confidor SC 350 süspansiyon konsantre formülasyonu (Bayer, Almanya) kullanılmıştır. Kullanılan insektisitlerin toksikolojik özellikleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Ayrıca, analizlerde kullanılan LC-MS saflıkta methanol (MeOH), asetonitril (MeCN), susuz glasiyal asetik asit, formik asit ve dimetil sulfoksit Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından sağlanmıştır. LC-MS/MS cihazında mobil fazda kullanılan amonyum formate Sigma-Aldrich firmasından (Steinheim, Germany) temin edilmiştir. Deneylerde ayrıca 0,60 µs/cm konduktiviti değerinde ultra saf su kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Analizi yapılan pestisitler ve metabolitlerin saf standart bilgileri

Adı	Kısaltma	CAS No	Marka/Katalog No	Miktar (mg)
Chlorpyrifos	CHL	2921-88-2	Dr. Ehrenstorfer/DRE-C11600000	250
3,5,6-trichloro-2-pyridinol	TCP	6515-38-4	TRC/T773860 LGC	100
Diethyl phosphate	DP	598-02-7	ChemService/MET-11621C- 100MG	100
Diethyl thiophosphate	DTP	2465-65-8	TRC/D445120 LGC	100
Chlorpyrifos-oxon	CO	5598-15-2	Dr. Ehrenstorfer/DRE-C11603000	50
Deltamethrin	DEL	52918-63-5	Dr. Ehrenstorfer/DRE-C12120000	250
3-Phenoxybenzoic acid	3PBA	3739-38-6	Dr. Ehrenstorfer/DRE-C16045200	100
3-(4-hydroxyphenoxy) benzoic acid	4HPBA	35065-12-4	TRC/H951225 LGC	10
Imidacloprid	IMI	138261-41-3	Dr. Ehrenstorfer/DRE-C14283700	100
Imidacloprid-olefin	IMO	115086-54-9	TRC/I274995 LGC	10
Imidacloprid guanidine	IMG	115970-17-7	Dr. Ehrenstorfer/DRE-C14283715	20
6-hydroxynicotinic acid	6HNA	5006-66-6	Dr. Ehrenstorfer/DRE-C15521080	100
6-Chloronicotinic acid	6CNA	5326-23-8	Dr. Ehrenstorfer/DRE-C11452000	100

Çizelge 3.2. Analizi yapılan insektisitlerin toksikolojik özellikleri

	Pestsitin kısa ismi	CHL	DEL	IMI
	Kimyasal grubu	Organik fosforlular	Sentetik Piretroitler	Neonikotonitler
Toksikolojik Özellikleri	ADI – Günlük alınabilir doz (mg/kg/vücut ağırlığı gün)	0,001	0,01	0,06
	ARfD – Akut referans doz (mg/kg/vücut ağırlığı gün)	0,005	0,025	0,08
	Memeliler - Akut oral LD_{50} (mg/kg)	66	0,6	131
	Memeli - Deri yoluyla LD_{50} (mg/kg)	1250	2000	5000
	Memeliler –solunum LD_{50} (mg/kg)	0,1	87	>0,069
	WHO Sınıflandırması	III	III	III
	MRL- Maksimum Kalıntı Limiti (Avrupa Birliği) (mg/ kg)	0,01	2	0,01

3.2. Cihazlar

Ultra saf su Elga PURELAB Water Purification System model (ELGA Lab Water, Veolia Water Technologies, High Wycombe, Buckinghamshire, UK) saf su cihazından temin edilmiştir (Şekil 3.1). Kütle spektrometresi analizleri, elektrosprey iyonizasyon (ESI) iyon kaynağı ile donatılmış Shimadzu 8040 LC-MS/MS sistemi (Kyoto, Japonya) kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.2). Analizlerde LC-MS/MS sisteminin likit kromatografi ünitesi olarak iki adet LC-20ADXR pompası, bir adet DGU-20A3R degazer ünitesi, bir adet SIL-30AC otomatik örnekleyici, bir adet CTO-10AS kolon fırını ile donatılmış, Shimadzu UFLC sistemi (Kyoto, Japonya) kullanılmıştır. Kromatografik ayırma, Shimadzu Shim-pack XR-ODS II (75 mm L x 2,0 mm id, 2,2 mm) analitik kolonu ile gradient akış programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnek homojenizasyonu için Omni Bead Ruptor 24 (Omni, Kennesaw, GA) cihazı kullanılmıştır. Ekstrasyon işlemlerinde Sigma 2-16 K santrifüj (Sartorius AG, Göttingen, Almanya) cihazı kullanılmıştır (Şekil 3.3). Laktik asit, asetik asit ve bütirik asit analizleri için HP 1100 serisi HPLC (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA) cihazı kullanılmıştır (Şekil 3.4). Silaj örneklerinin pH değerleri WTW marka pH 330 model pH metre ile ölçülmüştür (Şekil 3.5).



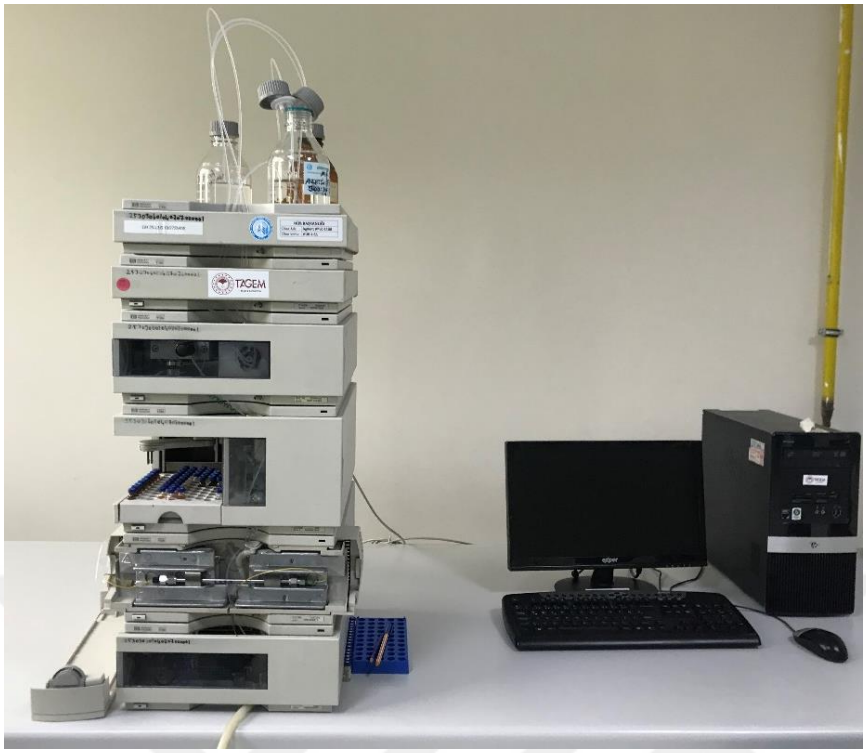
Şekil 3.1. Elga PURELAB ultra saf su cihazı



Şekil 3.2. Shimadzu 8040 LC-MS/MS sistemi



Şekil 3.3. Omni Bead Ruptor 24 homojenizasyon cihazı



Şekil 3.4. HP 1100 serisi HPLC cihazı



Şekil 3.5. WTW pH 330 model pH metre

3.3. Mısır Örnekleri

Tezde kullanılan silajların yapımında Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi (BUZZF) Araştırma ve Uygulama Merkezinde herhangi bir pestisit uygulanmadan yetiştirilen mısır bitkileri kullanılmıştır (Şekil 3.6). 2019 yılı Eylül başında silaj yapımı için uygun hasat olgunluğuna gelmiş olan mısırlar BUZZF Araştırma ve Uygulama Merkezine ait silaj makinası ile hasat edilmiştir. Hasat sonrası elde edilen mısır hasılından 4 adet 20'şer kg'lık kısım tartılarak alınmış ve silaj yapılmak üzere bekletilmeden hızlıca laboratuvara getirilmiştir.

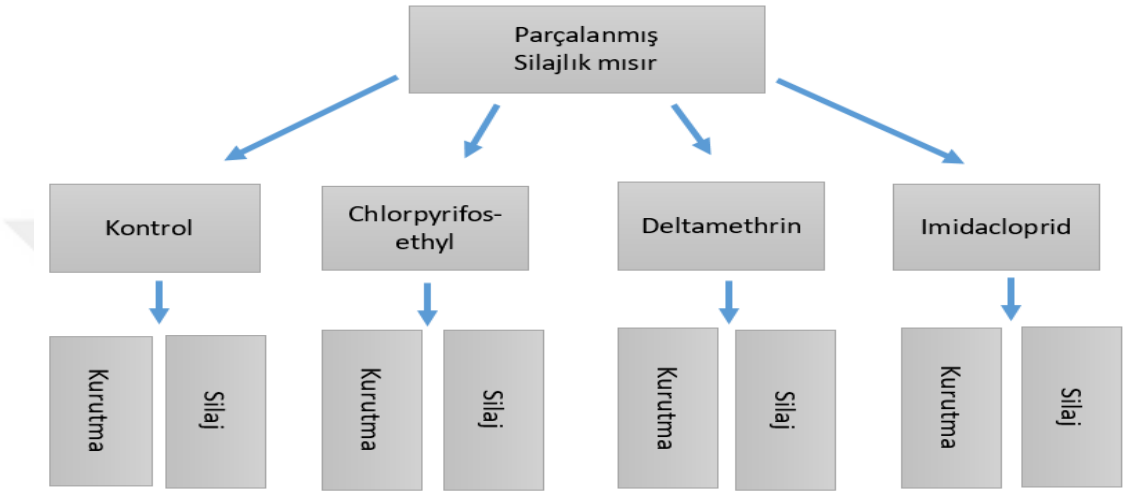
Çalışmanın ikinci yılında üretici koşullarındaki kalıntı durumunun araştırılması için Bursa ilinde yoğun mısır üretimi yapılan Mustafakemalpaşa ve İnegöl ilçelerinin çeşitli köylerinden üreticilerin yapmış olduğu olgunlaşmış silajlardan 32 adet örnek alınarak ve çalışılan insektisitler ve metabolitleri yönünden analiz edilmiştir.



Şekil 3.6. Denemelerde kullanılan mısır örneklerinin hasat öncesi görünümü.

3.4. Silaj Yapımı ve Örnekleme

Hasat edilir edilmez laboratuvara getirilen mısır hasılından ilk olarak 1 adet 20 kg'lık parti kontrol grubu olarak ayrılmıştır. 3 adet 20'şer kg'lık mısır hasılı ise pestisitler ile ilaçlama, silaj yapımı ve kurutma işlemleri için ayrılmıştır. Denemenin oluşturulma düzeni Şekil 3.7'de görülmektedir.



Şekil 3.7. Silaj yapımı ve ilaçlama ile ilgili deneme planı

CHL, DEL ve IMI laboratuvar koşullarında silajlık mısırlara uygulanmıştır. İnsektsisitlerin mısıra spike miktarının belirlenmesinde kullanılan preparatların 1 dekar mısır ekili alan için kullanılacak dozları dikkate alınmıştır. Bir dekardan elde edilecek mısır miktarı ortalama olarak 5 ton kabul edilerek (Çarpıcı, 2016) 20 kg için kullanılacak miktar hesaplanmıştır. Buna göre bulaştırma konsantrasyonları CHL için 17,2 mg/kg, DEL için 2,5 mg/kg ve IMI için ise 3,5 mg/kg olarak hesaplanarak spike işlemi bu konsantrasyonlara göre yapılmıştır (Şekil 3.8). Bu uygulama sonrasında her bir insektisit formülasyonu ile ilaçlanmış ürün grubu iki parçaya ayrılmıştır. Bu parçalardan biri kavanozlar içerisine sıkı bir şekilde doldurularak ve ağızları hava almayacak şekilde sıkıca kapatılarak silaj yapılmış, diğer grup ise her bir etkili maddenin silaj yapılmamış kontrol grubu olarak kullanılmak üzere kurutularak saklanmıştır (Şekil 3.9). Sialj kavanozları laboratuvar ortamında 20 ±4 ^{o}C sıcaklıkta muhafa edilmiştir. Böylelikle her bir madde için fermantasyonun etkisinin kıyaslanabileceği kontrol örnekleri elde edilmiştir. Ayrıca pestisit uygulanmayan kontrol grubu da aynı şekilde silaj ve kurutma

işlemlerine tabi tutulmuştur. Böylece deneme sürecinde analize alınacak örnekler için emsal kontrol örneği elde edilmiştir.



Şekil 3.8. Mısır hasılının pestisitler ile bulaştırılması.

İlk gün örnekleri silaj yapımı esnasında henüz kavanozlama işlemi yapılmadan analize alınmıştır. Sonraki örnekleme dönemlerinde kullanılmak üzere, her bir etkili madde için 3'er tekerrürlü 7 ayrı örnek grubu oluşturabilmek amacıyla 21 ayrı ambalaj içerisinde silaj yapılmıştır (Şekil 3.10). Aynı işlemin kontrol grubu için de yapılmasıyla toplamda 96 ayrı ambalajda silaj yapılmıştır. Her bir silaj kavanozu yalnızca açıldığı örnekleme günü için analize alınmıştır. Diğer bir ifade ile her örneklemede yeni silaj kavanozları açılarak analizler gerçekleştirilmiş, açılmış olan silaj kavanozlarından sonraki örnekleme günlerinde analiz yapılmamıştır. Kontrol grubu örnekleri de aynı örnek alma tarihlerinde açıldığından eş zamanlı fermente olmuş örnekleri kıyaslama imkânı sağlanmıştır. Beşinci örnekleme gününe ait örnek seti Şekil 3.11'de görülmektedir. Ayrıca ilaçlanarak silaj yapılmamış, kurutulmaya bırakılmış mısırlardan da yine aynı zamanlarda örnekler alınıp, analiz edilerek fermantasyonun uygulanan pesitisitler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu düzende örneklemeler 0, 2, 5, 10, 20, 45, 90 ve 200. günlerde yapılmıştır.



Şekil 3.9. Laboratuvarda kurutmaya bırakılan örnekler



Şekil 3.10. Kavanozlar içerisinde yapılmış silajlar



Şekil 3.11. Beşinci gün örnekleri

3.5. Pestisit/Metabolit Analiz Metodu Optimizasyonu

3.5.1. Standart Hazırlama

Tez çalışması kapsamında analizi yapılacak olan pestisitler ve standardı temin edilebilen metabolitler olmak üzere toplam 14 etken maddenin analiz metodunun oluşturulması için ilk olarak analitlerin LC-MS/MS cihazına tanıtılması işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada ilk olarak her bir analite ait standardın uygun çözücü ile çözülmesi gerçekleştirilmiştir. Bunun için ilk olarak her etken maddenin standardından hassas terazi ile bir miktar tartılarak balonjoje içerisinde çözülmüştür. Analitlerin çözülmesine ilişkin bilgiler Çizelge 3.3'de verilmiştir. Standartların çözülme işlemi tamamlandıktan sonra her bir standardın konsantrasyonu 10 mg/L olacak şekilde standart miksi hazırlamıştır. Sonraki çalışmalarda bu karışım kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Analizi yapılacak pestisitler ve metabolit standartlarının çözülmesi

Bileşik	Saflık %	Çözülen Hacim (mL)	Tartım Miktarı (mg)	Konsantrasyon (mg/L)	Çözücü
CHL	100,00	10,0	60,26	6026	ACN
TCP	99,38	5,0	5,15	1024	MeOH
DP	100,00	5,0	9,50	1900	MeOH
DTP	100,00	5,0	10,70	2140	MeOH
CO	97,90	5,0	9,50	1860	MeOH
DEL	100,00	10,0	54,27	5427	ACN
3PBA	100,00	10,0	11,39	1139	MeOH
4HPBA	100,00	5,0	3,97	794	MeOH
IMI	100,00	5,0	7,63	1526	ACN
IMO	100,00	5,0	2,72	544	MeOH
IMG	100,00	5,0	5,50	1100	MeOH
6HNA	100,00	5,0	7,38	1476	DMSO:SU:MeOH (20:40:40)
6CNA	99,20	5,0	6,49	1288	MeOH

3.5.2. Cihaz Optimizasyonu

Kütle spektrometresi analizleri, elektrosprey iyonizasyon (ESI) iyon kaynağı ile donatılmış Shimadzu 8040 LC-MS/MS sistemi (Kyoto, Japonya) kullanılarak yapılmıştır. Kapiler voltajı, pozitif polarizasyonda 4 kV ve negatif polarizasyonda ise -3 kV olarak ayarlanmıştır. "Heat block" sıcaklığı 500 ^{o}C ve "DL" sıcaklığı 250 ^{o}C olarak kullanılmıştır. Azot gazı (N_2), azot jeneratörü (Peak Scientific, İskoçya, Birleşik Krallık) ile üretilerek spreyleme gazı ve kurutucu gaz olarak kullanılmıştır. Bu gazların akışları sırasıyla 1,5 L/dak. ve 10 L/dak. olarak ayarlanmıştır. Kütle spektrometresi analizleri "Multiple Reaction Monitoring" (MRM) modunda yapılmış ve "collision gaz" olarak argon kullanılmıştır. Moleküler iyonlar ve product iyonlar, "collision energy (CE)" ve "dwell time" gibi kütle spektrometresi parametrelerini optimize etmek için 1 mg/L konsantrasyonda tek standart çözeltileri kullanılmıştır. MRM geçişlerinin optimizasyonu için ilk olarak, metanol içinde 1 mg/L konsantrasyonunda tekli analitik standartlar doğrudan kütle spektrometresine verilmiştir. Moleküler iyonlar, negatif ve pozitif iyonizasyon modlarını sırayla çalıştırarak quaropole 3 (Q3) ile tam tarama modunda

belirlenmiştir. Daha sonra belirlenen "precursor" iyonların parçalanmasıyla "product" iyonlar elde edilmiştir. Bu aşamada en yoğun ve kararlı product iyonlar seçilmiş ve bu iyonlar için en kaliteli tepkileri elde etmek için CE ve Q3 voltajları ayarlanmıştır. Böylelikle analitlerin kütle spektrometresinde tanımlanma işlemi tamamlanmıştır. Her bir bileşik için optimize edilen tüm parametreler Çizelge 3.4'de verilmiştir.

LC-MS/MS'de kromatografik ayırma, Shimadzu Shim-pack XR-ODS II (75 mm L x 2,0 mm id, 2,2 mm) analitik kolonu ile gradient akış programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kolon fırını sıcaklığı 40°C olarak kullanılmıştır. Kromatografik ayrım gradient elüsyon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz A olarak %0,1 formik asit ve 1 mM amonyum format içeren su, Mobil Faz B olarak ise %0,1 formik asit ve 1 mM amonyum format içeren methanol kullanılmıştır. Uygulanan gradient mobil faz programı Çizelge 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Analizi yapılacak pestisitler ve metabolitlerin kütle spektrometresi parametreleri

Bileşik	**Kesin Kütlesi (g/mol)**	**İyonlaşma**	**Precursor m/z**	**Product 1 m/z**	**Product 2 m/z**
CHL	348.926	[M+H]+	350,00	197,80	96,90
TCP	196.92	[M-H]-	195.90	35,05	----
DP	154.039	[M+H]+	155,20	98,85	80,85
DTP	170.017	[M+H]+	171,1	114,75	96,85
CO	332.949	[M+H]+	334,10	277,70	197,80
DEL	502,9732	[M+H]+	523,10	280,75	180,80
3PBA	214.063	[M-H]-	231,30	93,10	169,00
4HPBA	230,058	[M-H]-	229,00	109,15	108,10
IMI	255,052	[M+H]+	256,20	208,90	174,95
IMO	253,037	[M+H]+	254,20	205,05	205,80
IMG	210,067	[M+H]+	211,0	125-95	89,90
6HNA	139,027	[M+H]+	140,10	121,90	77,90
6CNA	156,993	[M+H]+	158,10	122,00	78,00

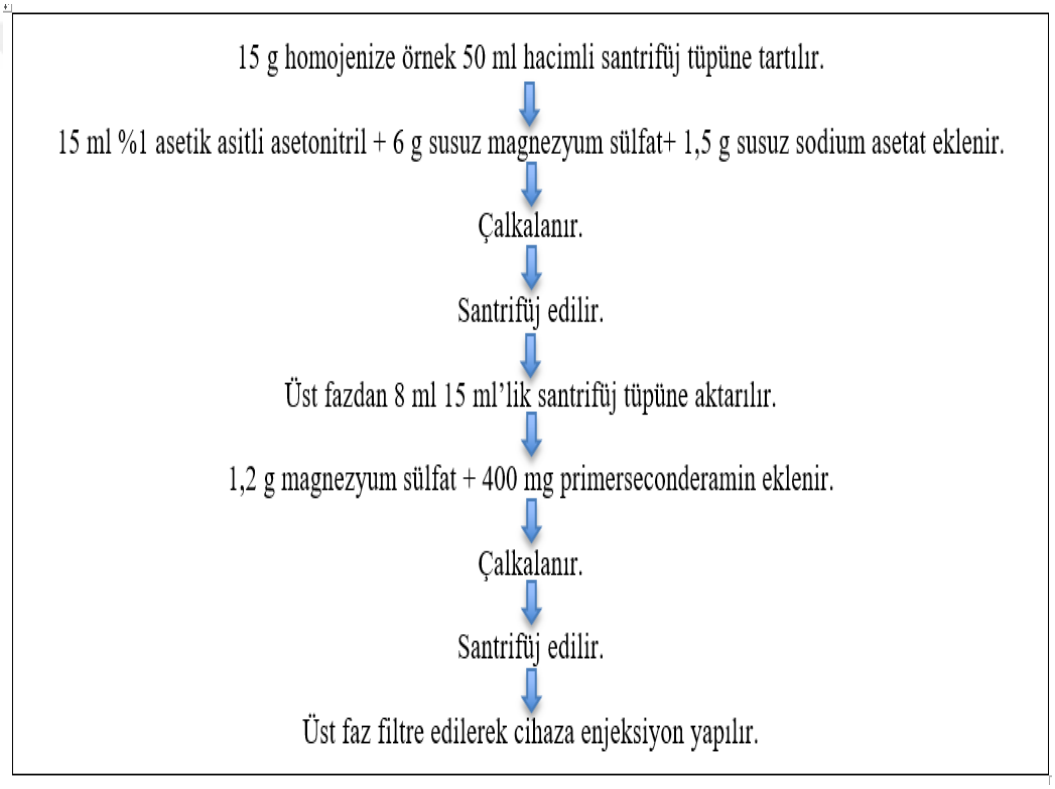
Çizelge 3.5. Pestisit analizi LC-MS/MS gradient programı

Zaman (dak.)	Akış mL/dak.	Pompa A	Pompa B
1,00	0,20	1	99
4,00	0,20	99	1
8,00	0,20	99	1
8,01	0,20	1	99
12,00	Dur		

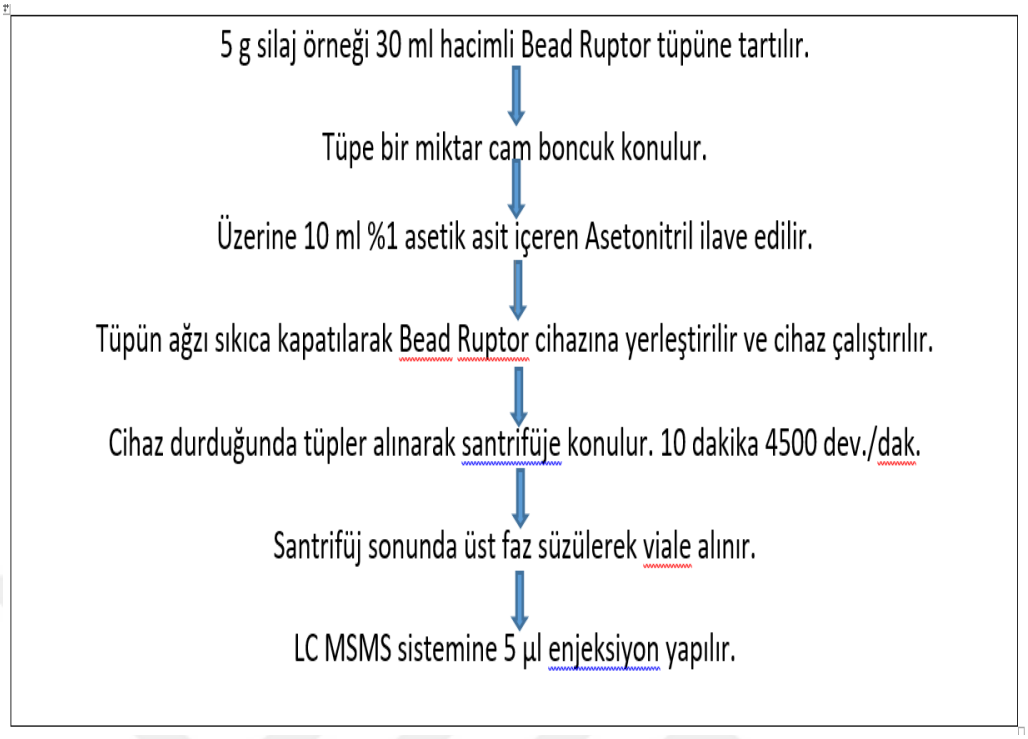
3.5.3. Ekstraksiyon Yöntemi Optimizasyonu

LC-MS/MS cihazında kullanılacak analiz metodunun oluşturulmasının ardından numune hazırlama yönteminin optimizasyon çalışmalarına başlanmıştır. Analiz çalışmaları Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Hayvansal Ürünler Bölümü laboratuvarlarında yürütülmüştür. Pestisit kalıntılarının ekstraksiyonu için öncelikle Şekil 3.12'de yer alan QuEChERS yöntemi denenmiştir. Ancak özellikle bazı metabolitler için geri kazanım değerleri çok düşük olduğu için metot revize edilmiştir. Ayrıca, 15 g silaj örneğinin 50 mL'lik tüpe tartılamaması ve tartım öncesi parçalama işlemlerinin güçlüğü nedeniyle alternatif bir numune hazırlama yöntemi de geliştirilmiştir. Bu amaçla Bead Ruptor homojenizasyon cihazına özgü tüplerin içerisine 5 g silaj örneği konulmuştur. QuEChERS yönteminde de kullanılan çözücüden (%1 asetik asitli asetonitril) 10 mL eklenmiş ve tüplerin içine yaklaşık 3 g olacak şekilde 3 mm çapında cam boncuk ilave edilmiştir. Homejenizasyon cihazına yerleştirilen tüplerin 60 saniye boyunca saniyede 3,7 hareketle farklı yönlerde kuvvetli olarak hareket ettirilmesi ile numune etkili bir biçimde parçalanması ve çözücü ile çalkalanması sağlanmış, böylelikle ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Daha sonra tüpler cihazdan alınarak santrifüj ile 4500 rpm hızda 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte bulunan süpernatantdan bir miktar alınarak 0,22 µm, rejenere selüloz, enjektör ucu filtreden süzülerek viale alınmış ve LC-MS/MS sistemine 5 µL enjeksiyon yapılmıştır. Yeni geliştirilmiş olan örnek hazırlama yöntemi işlem basamakları Şekil 3.13'da verilmiştir. Çalışmada oluşması muhtemel metabolitlerin küçük miktarlarının kaybolması riskini ortadan kaldırmak için ekstraksiyon sonrası herhangi bir temizleme yöntemi uygulanmamıştır.

Örneklerin analizinde ve verifikasyon çalışmalarında blank örnek (kör örnek) üzerine hazırlanmış olan standart karışımından 2, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 ve 2000 µg/kg olacak şekilde 10 seviyede spike yapılmış ve bu spike örneklerin ektraksiyonundan kalibrasyon standartları elde edilmiştir (matrisli kalibrasyon). Bu yöntem ile örneklerden kaynaklanabilecek ve analiz sonucunu değiştirebilecek etkiler (matriks etkisi) elimine edilmiştir. Hazırlanan kalibrasyon standartlarından metabolitler için mümkün olan en düşük konsantrasyonlar kullanılarak kalibrasyon grafikleri hazırlanmış, ana moleküller için ise 50-2000 µg/kg aralığı kullanılmıştır.



Şekil 3.12. QuEChERS yöntemi işlem basamakları (AOAC 2007.01)



Şekil 3.13. Pestisit analizi örnek hazırlama işlem basamakları (Silaj için optimize edilmiş)

3.6. Pestisit/Metabolit Analiz Metodu Verifikasyonu

Avrupa Birliğinde yayınlanmış olan SANTE/12682/2019 kodlu "Gıda ve Yemlerde Pestisit Kalıntı Analizleri İçin Kalite Kontrol ve Metot Validasyonu Yöntemleri" dokümanı ile pestisit kalıntı analizleri için metot validasyonu ve kalite kontrol yöntemleri belirlenmiştir. Ülkemizde ise bu doküman ile uyumlu olarak Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı (UGRL) taranfından "Pestisit Analizleri İçin Metot Validasyonu ve Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması Açıklamalı Uygulama Rehberi" yayınlanmıştır (Açar & Diler, 2018). Geliştirilen yönteminin verifikasyonu belirtilen rehber dokümanlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla seçicilik, doğrusallık, tespit limiti (LOD), ölçüm limiti (LOQ), doğruluk (% geri kazanım) ve kesinlik (gün içi ve günler arası) parametreleri test edilmiştir.

3.6.1. Seçicilik

Seçicilik analiz metodunun analitleri ayırt edebilme kabiliyeti olarak tanımlanmaktadır. Seçiciliğin değerlendirilmesi amacıyla spike yapılmış örnekler ve kör numuneler analiz edilmiş, her bir analit pikinin alıkonma zamanında herhangi bir girişim olup olmadığı kontrol edilmiştir.

3.6.2. Doğrusallık

Pestisit analizlerinde kullanılan en yaygın kalibrasyon yöntemi kalibrasyon fonksiyonu yöntemidir. SANTE/2019 dokümanına göre rutin çalışmalarda en az 3 noktalı, validasyon çalışmalarında ise en az 5 noktalı kalibrasyon hazırlanması gerekmektedir (Açar & Diler, 2018). Her bir analit için hazırlanacak kalibrasyonun başlangıç seviyesi o analitin ölçüm limiti seviyesine eşit veya daha düşük olacak şekilde belirlenmiştir. Buna göre her bir analit için en az 5 farklı konsantrasyon düzeyinde olacak şekilde ve her bir nokta 3 tekrarlı olarak LC-MS/MS cihazına verilmiştir. Her bir seviyedeki konsantrasyona karşılık elde edilen pik alanlarından bir kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Hazırlanan kalibrasyon eğrisinin eğimi ve kesme noktası ile doğrunun denkleminden yararlanarak her bir analit için kalibrasyon fonksiyonu elde edilmiştir. Bu fonksiyon ile elde edilen pik alanları için konsantrasyon hesabı aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$y = mx + b$$

Bu formülde yer alan *y:* Pik alanını; *m*: Eğimi; *b*: Kesme noktasını; *x*: Konsantrasyon'u ifade etmektedir.

Hazırlanan kalibrasyonun doğrusallığı için uygunluk kontrolünde her bir kalibrasyon noktasının gerçek konsantrasyonu ile kalibrasyon fonksiyonu kullanılarak hesaplanan konsantrasyonu arasındaki farkın ±%20'den az olmasına ve relatif rezidual standart sapmanın 0,1 değerinden küçük olmasına dikkat edilmiştir (Tiryaki, 2011). Yapılan verifikasyon çalışmalarında hazırlanan kalibrasyonlarda kullanım tüm noktalardaki sapmalar ±%20 seviyesinin altında kalmıştır.

3.6.3. Tespit Limiti (LOD) ve Ölçüm Limiti (LOQ)

UGRL ve SANTE dokümanlarında tespit limiti (LOD), metodun laboratuvar koşullarında örnekteki varlığını tespit edebildiği ancak kesin miktarını ölçemediği en düşük analit konsantrasyonu; ölçüm limiti (LOQ) ise miktarsal olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. UGRL rehberinde tespit limiti ve ölçüm limitinin nasıl hesaplanması gerektiği kesin olarak belirtilmemekte ancak analizi yapılacak matrikse giderek azalan seviyelerde spike yapılarak geri kazanımın %70-120 aralığında, RSD değerinin %20'nin altında olduğu en düşük noktanın ölçüm limiti olarak kabul edilebileceği ifade edilmektedir. Eurachem Guide 2014'de ise LOD ve LOQ belirlenmesi için düşük konsantrasyonda analit spike edilen kör örneğin 10 tekrar olacak şekilde analiz edilmesinden elde edilecek sonuçların standart sapması kullanılmaktadır. Elde edilen standart sapmanın 3 katı LOD, 10 katı ise LOQ olarak tanımlanmaktadır. Ancak bu yöntem standart sapmanın çok küçük olduğu durumlarda çok düşük limitler hesaplanmasına yol açtığından hesaplanan düzeylerin yapılacak spike çalışmalar ile doğrulanması gerekebilmektedir (Eurachem, 2014).

Bu çalışmada LOD ve LOQ hesaplamaları Eurachem Guide ve UGRL rehberinde önerilen yollardan faydalanılarak yapılmıştır. Düşük düzeyde spike yapılan kör örnekler 12 tekrar olacak şekilde analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan standart sapma hesaplanarak 3 katı LOD, 10 katı ise LOQ olarak kabul edilmiştir. Hesaplanan değerlerin UGRL rehberinde tanımlanan %70-120 geri kazanım düzeyleri ve maksimum %20 RSD şartlarını sağlayıp sağlamadığı kontrol edilmiştir.

3.6.4. Doğruluk

UGRL rehberinde TS 5822-1 (ISO 5725-1) "Ölçme Metotlarının ve Sonuçlarının Doğruluğu" standardına göre doğruluk (accuracy); deney sonucu ve kabul edilen referans değer arasındaki yakınlık derecesi olarak tanımlanmaktadır. Gerçeklik (trueness), deney sonuçlarının büyük bir serisinden elde edilen ortalama değer ile kabul edilen bir referans değer arasındaki yakınlık derecesidir. Gerçeklik ölçümü genellikle "toplam sistematik hata (bias)" cinsinden ifade edilir. Toplam sistematik hata (bias), deney sonuçlarından

bulunan değer ile kabul edilen bir referans değer arasındaki farktır. Çalışmada gerçeklik parametresinin test edilmesinde geri kazanım yöntemi kullanılmıştır. Düşük ve yüksek olmak üzere iki düzeyde yapılan geri kazanım çalışmalarının sonuçlarından her analit için ortalama geri kazanım değeri hesaplanmıştır.

3.6.5. Kesinlik

Belirli şartlar altında elde edilen bağımsız deney sonuçları arasındaki yakınlık derecesidir. Kesinlik sadece rastgele hataların dağılımına bağlıdır, doğru değere veya referans değere bağlı değildir. Kesinlik ölçümü genellikle "standart sapma" ya da "relatif standart sapma" cinsinden ifade edilir. Kesinlik parametresinin tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik olmak üzere iki temel bileşeni vardır:

(1) Tekrarlanabilirlik: Bağımsız deney sonuçlarının, kısa zaman aralıkları içinde, aynı donanım kullanılarak, aynı deneyi yapan kişi tarafından, aynı laboratuvarda, eş değer deney maddeleri üzerinde aynı metot ile elde edildiği şartlar (tekrarlanabilirlik şartları) altındaki kesinliktir.

(2) Tekrarüretilebilirlik: Farklı donanım kullanarak, deneyi yapan farklı kişiler tarafından, farklı laboratuvarlarda, benzer deney maddeleriyle aynı metot uygulanarak deney sonuçlarının elde edildiği şartlar (tekrarüretilebilirlik şartları) altındaki kesinliktir.

Laboratuvar-içi tekrarüretilebilirlik, bir ara kesinlik değeridir ve aynı laboratuvarda, uzun zaman aralıkları içinde, farklı kişiler tarafından, eş değer deney maddeleri üzerinde aynı metot ile deney sonuçlarının elde edildiği şartlar (laboratuvar-içi tekrarüretilebilirlik şartları) altındaki kesinliktir. Laboratuvar-içi verifikasyon kapsamında, tekrarlanabilirlik ve laboratuvar-içi tekrarüretilebilirlik çalışmaları yapılmıştır. Buna göre metot verifikasyonu için tekrarlanabilirlik, laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik ve gerçeklik kontrolü yapılmıştır.

Tekrarlanabilirlik kontrolünde birisi LOQ'ya yakın olmak üzere iki farklı konsantrasyonda 6'şar geri kazanım çalışması yapılmıştır. Her bir seviyedeki çalışmalardan % RSD hesaplanmış ve ± % 20'den az olup olmadığı kontrol edilmiştir. % RSD aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\%RSD=SD/X_{ort.}*100$$

Bu formülde geçen *SD* =Standart sapmayı; $X_{ort.}$= Ortalamayı ifade etmektedir.

Laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik kontrolünde ise birisi LOQ seviyesine yakın olmak üzere iki farklı konsantrasyonda 6'şar geri kazanım çalışması yapılmıştır. Ancak bu çalışmalar farklı zamanlarda gerçekleştirilerek zamanın etkisi çalışmaya dahil edilmiştir. Yine yukarıdaki formül kullanılarak her bir seviyedeki çalışmalardan %RSD hesaplanmış ve ± %20'den az olup olmadığı kontrol edilmiştir.

Gerçeklik kontrolü ise tekrarlanabilirlik çalışmalarından hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik kontrolü için yapılan her çalışmadan % geri kazanım hesaplanmıştır. UGRL rehberine göre yüzde geri kazanım değerleri validasyon çalışmalarında %70-120 arasında olmalıdır. Hesaplama aşağıdaki formülle yapılmıştır:

% Geri Kazanım= Hesaplanan Konsantrasyon / Spike Konsantrasyonu*100

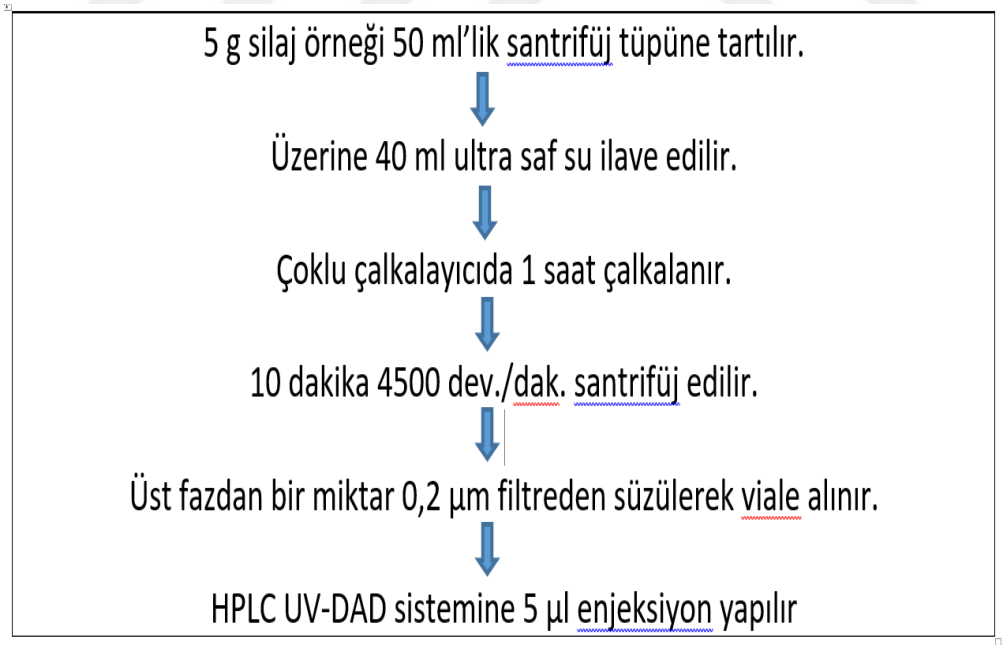
3.7. Silaj Örneklerinde Organik Asit Analiz Metodu Optimizasyonu

Silajların olgunlaşma ve kalite durumlarının belirlenmesi amacıyla örneklerde Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Hayvansal Ürünler Bölümü laboratuvarında bulunan HPLC cihazı ile laktik asit, asetik asit ve bütirik asit analizleri yapılmıştır. Analizde kullanılan organik asit standartlarına ait bilgiler Çizelge 3.6'da verilmiştir. Kromatografik ayrım izokritik elüsyon ile gerçekleştirilmiş ve mobil faz olarak %1 asetonitril içeren 0,02 M KH_2PO_4 çözeltisi kullanılmıştır. Mobil fazın pH'sı o-fosforik asit ile 2,4'e ayarlanmıştır. Analizde 250 x 4,6 mm boyutlarında 5µm partikül büyüklüğünde YMC-Pack ODS-AQ kolon kullanılmıştır. Analiz HPLC cihazında UV-DAD dedektör ile 210 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.6. Analizi yapılacak organik asitlerin saf standart bilgileri

Adı	CAS Number	Marka/Katalog No	Miktar(mL)
Laktik Asit	50-21-5	Sigma-Aldrich/W261106	10
Asetik Asit	64-19-7	Sigma-Aldrich/A6283	100
Bütirik asit	107-92-6	Aldrich/B103500	100

Organik asit analizi için örnek hazırlama işleminde ilk olarak 50 ml'lik santrifüj tüpü içerisine 5 g silaj örneği tartılmıştır. Üzerine 40 mL saf su ilave edilen örnekler çoklu çalkalayıcıda 1 saat çalkalanmaya bırakılmıştır. Çalkalama sonunda 4500 rpm hızda 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj sonunda üst fazdan bir miktar 0,2 µm por çaplı enjektör ucu filtreden süzülerek viale alınmış ve HPLC cihazına enjeksiyon yapılmıştır (Şekil 3.14). Numunelerin sonuçları daha önce hazırlanmış olan standart karışımından seyreltilen 0,25 - 0,50 - 1 ve 2 g/L seviyelerinden hazırlanmış olan kalibrasyon ile değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar örnek hazırlamada oluşan 1/8 dilusyon sebebiyle 8 ile çarpılmıştır.



Şekil 3.14. Organik asit analizi örnek hazırlama işlem basamakları.

3.8. Silaj Örneklerinde Organik Asit Analiz Metodu Verifikasyonu

Organik asit analiz metodunun verifikasyonunda tespit limiti, ölçüm, doğrusallık ve kesinlik parametreleri test edilmiştir. Tespit limiti çalışmasında 250 g/L seviyesinde 12 farklı çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçlarından hesaplanan standart sapmanın 3 katı tespit limiti 10 katı ölçüm limiti olarak kabul edilmiştir. Doğrusallık çalışmasında 0,25 - 0,5 - 1 ve 2 g/L sevilerinde her bir seviyenin 3 tekrarı ile hazırlanan kalibrasyon kullanılmıştır. Doğrusallığın kontrolünde bu kalibrasyon fonksiyonu ile hesaplanan her bir noktanın değerinin kendi değerinden sapmasının ±%20 aralığında olup olmadığı kontrol edilmiştir. Çalışmada hazırlanan bütün kalibrasyonların tüm seviyelerinde sapma değerleri ±%20'nin altında kalmıştır. Kesinlik kontrolü için ise tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametreleri çalışılmıştır. Tekrarlanabilirlik için aynı gün içerisinde 0,5 ve 1 g/L seviyelerinde 6'şar farklı çalışma yapılmıştır. Tekrarüretilebilirlik için aynı seviyelerde farklı günlerde yapılan çalışmaların sonuçları değerlendirilmiştir. Her iki parametre için de yapılan çalışmalardan %RSD değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen % RSD değerlerinin %20'den küçük olup olmadığı kontrol edilmiş ve sonuçların uygun olduğu görülmüştür.

3.9. Silaj Örneklerinde Mikrobiyolojik Analizler

3.9.1. Toplam Laktik Asit Bakteri Sayısı Analizi

Bu amaçla aseptik şartlar altında ve steril ekipman ile 10 g örnek alınarak 90 mL steril Maximum Recovery Diluent (MRD) içinde stomacher ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrasında örnekte beklenen sayıya göre yine MRD ile ilave ondalık dilüsyonlar hazırlanmış ve başlangıç süspansiyonu ile ilave ondalık dilüsyonlardan de Man, Rogosa, Sharpe Agara (MRSA) inokülasyon yapılmıştır. İnokülasyon sonrası izolasyon besi yeri, jar kutusu içinde ve mikroaerofilik ortamda 37ºC'de 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında MRSA üzerindeki kültürlere katalaz testi yapılmıştır. Laktik asit bakterileri katalaz negatif bakterilerdir. Bakterilerde katalaz enziminin varlığının veya yokluğunun belirlenmesinde kullanılan bu test, katalaz enziminin ortamda bulunan hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırması prensibine dayanmaktadır. Bu amaçla MRSA üzerindeki test edilecek kolonilerin üzerine bir damla %3' lük hidrojen peroksit

(H_2O_2) damlatılarak gaz kabarcıklarının oluşup oluşmadığı gözlemlenmiştir. Gaz oluşturan koloniler katalaz pozitif, oluşturmayanlar ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiş ve katalaz negatif tipik koloniler sayılarak kob/g olarak kayıt altına alınmıştır (ISO, 1998).

3.9.2. Toplam Mezofilik Aerobik Koloni Sayısı Analizi

Örneklerdeki toplam aerobik koloni sayısının (AKS) belirlenmesi amacıyla 10 g örnek alınarak 90 mL Maximum Recovery Diluent (MRD) ile gıda mikrobiyolojisi laboratuvar kurallarına uygun olarak homojenize edilmiştir. Sonrasında 1/10'luk seri dilüsyonlar olmak üzere örneklerde beklenen sayıya göre dilüsyonlar hazırlanmıştır (1/10, 1/100, 1/1000 gibi). Her dilüsyondan iki steril petri kabına 1'er mL paralel ekim yapılmış ve petri kaplarına 44-47 °C'ye soğutulan Plate Count Agar (PCA) besi yerinden dökülmüştür. Daha sonra petri kapları 30°C' de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petri kaplarında gelişen tüm koloniler sayılarak kob/g olarak rapor edilmiştir (ISO, 2013).

3.9.3. Silaj Örneklerinde Asitlik Tayini

Silaj örneklerindeki pH değişiminin takibi amacıyla örnekleme günlerinde açılan her kavonazdon alınan numuleride pH analizi yapılmıştır. Bu amaçla 50 mL'lik santrifüj tüpü içerisine 5 g silaj örneği tartılmıştır. Üzerine 40 mL saf su ilave edilen örnekler çoklu çalkalayıcıda 1 saat çalkalanmaya bırakılmıştır. Çalkalama sonunda örneklerin pH değerleri WTW marka pH 330 model pH metre ile ölçülerek kaydedilmiştir.

3.9.4. Silaj Örneklerinde Kuru Madde Miktarı Analizleri

Deneme çalışması süresince kurutma örneklerinde yapılacan pestisit analiz sonuçları incelendiğinde örneklerdeki kalıntı miktarının giderek arttığı görülmüştür. Bu durumun her örnekleme döneminde zaman içerisinden gerçekleşen rutubet kaybından dolayı 5 g örnek içerisine giren kuru madde miktarının artışına bağlı olduğu anlaşılmıştır. Bu farklılığın düzeltilebilmesi için her dönem yedek olarak alınarak ağzı kapalı şekilde derin dondurucuda (-18 °C) saklanan numunelerden kuru madde analizi yapılmıştır. Rutubet

analizi her bir örnekleme dönemi numunesinden iki paralel olarak yaklaşık 10 g örneğin darası belirlenmiş olan petrilere tartılarak 103ºC'de 5 saat bekletilmesi ve ardından desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra tekrar tartılması yöntemiyle yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Pestisit Metot Verifikasyonu Sonuçları

4.1.1. Chlorpyrifos Verifikasyon Sonuçları

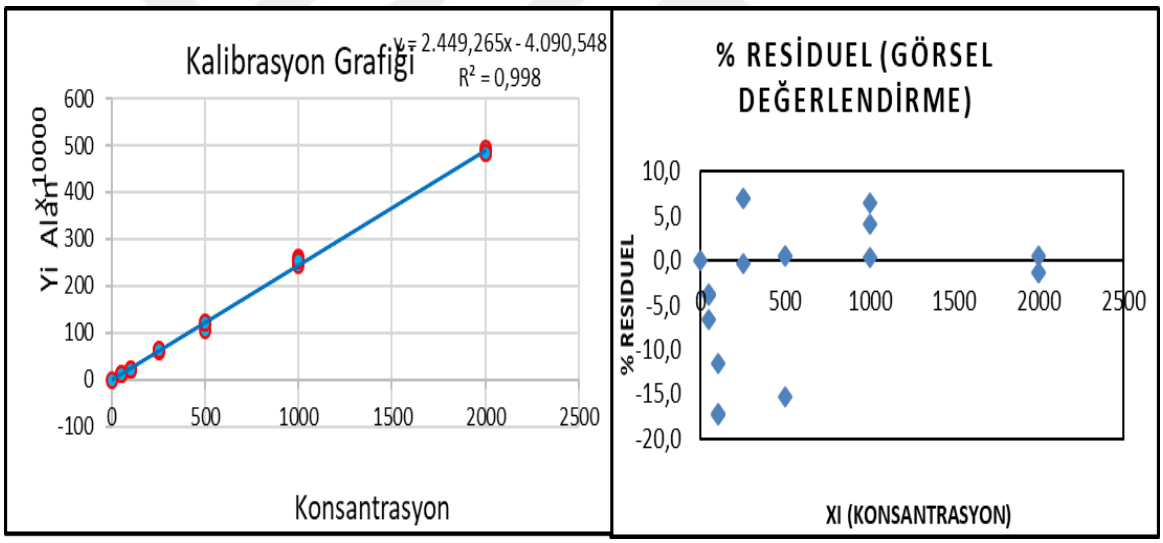
LC-MS/MS'de CHL için elde edilen, spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-1'de verilmiştir. CHL verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 28,40 µg/kg LOQ ise 94,68 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %16,95 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.3 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Çizelge 4.1 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'nin altında olduğu görülmektedir. Geri kazanım oranı ise ortalama %105 bulunarak, %70-120 aralığında yer almıştır (Çizelge 4.2). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,99 olmuştur (Şekil 4.1). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Chlorpyrifos tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	250	1000		250	1000
1. analiz	277,4	1000,2	1. gün	277,4	1000,2
2. analiz	294,9	921,0	2. gün	278,5	921,0
3. analiz	278,5	1013,8	3. gün	283,4	964,0
4. analiz	269,8	1003,2	4. gün	275,9	884,3
5. analiz	268,5	1068,2	5. gün	272,0	1009,1
6. analiz	249,3	1042,0	6. gün	275,5	910,1
Ortalama	273,1	1008,1	Ortalama	277,12	948,11
Standart sapma	14,96	50,0	Standart sapma	3,79	50,87
RSD%	5,5	5,0	RSD%	1,4	5,4
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilir-lik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,052		RSD_{pool}	0,039	

Çizelge 4.2. Chlorpyrifos geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike Seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	250			1000		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	277,4	111,0	uygun	1000,2	100,0	uygun
2	294,9	118,0	uygun	921,0	92,1	uygun
3	278,5	111,4	uygun	1013,8	101,4	uygun
4	269,8	107,9	uygun	1003,2	100,3	uygun
5	268,5	107,4	uygun	1068,2	106,8	uygun
6	249,3	99,7	uygun	1042,0	104,2	uygun
Ortalama Geri Kazanım (%)				105,0		



Şekil 4.1. Chlorpyrifos kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.3. Chlorpyrifos doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							-4090,548
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							2449,265
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
50	114132	118373	-4241	-0,036	0,001	-3,7	uygun
50	110985	118373	-7388	-0,062	0,004	-6,7	uygun
50	113860	118373	-4513	-0,038	0,001	-4,0	uygun
100	205366	240836	-35470	-0,147	0,022	-17,3	uygun
100	205487	240836	-35349	-0,147	0,022	-17,2	uygun
100	215912	240836	-24924	-0,103	0,011	-11,5	uygun
250	653197	608226	44971	0,074	0,005	6,9	uygun
250	606242	608226	-1984	-0,003	0,000	-0,3	uygun
250	653197	608226	44971	0,074	0,005	6,9	uygun
500	1059175	1220542	-161367	-0,132	0,017	-15,2	uygun
500	1225760	1220542	5218	0,004	0,000	0,4	uygun
500	1225760	1220542	5218	0,004	0,000	0,4	uygun
1000	2453001	2445174	7827	0,003	0,000	0,3	uygun
1000	2612198	2445174	167024	0,068	0,005	6,4	uygun
1000	2547998	2445174	102824	0,042	0,002	4,0	uygun
2000	4921964	4894439	27525	0,006	0,000	0,6	uygun
2000	4827770	4894439	-66669	-0,014	0,000	-1,4	uygun
2000	4826676	4894439	-67763	-0,014	0,000	-1,4	uygun
				Toplam	**0,096**		
				Srr	**0,080**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.2. 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları

LC-MS/MS'de TCP için elde edilen, spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-2'de verilmiştir. TCP verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 2,96 µg/kg, LOQ ise 9,87 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise % 21,79 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'de ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise

Çizelge ***4.6*** ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Çizelge 4.4 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %98,8 bulunarak, %70-120 aralığında yer almıştır (Çizelge 4.5). Yedi farklı

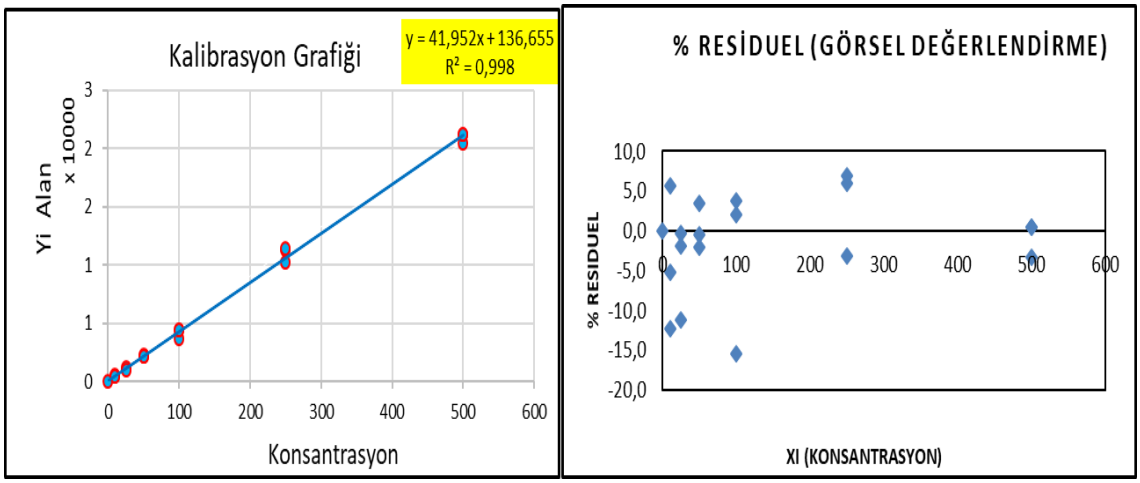
konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,99 olmuştur (Şekil 4.2). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.4. TCP için tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	25	250		25	250
1. analiz	23,5	250,2	1. gün	23,5	250,2
2. analiz	25,4	233,6	2. gün	25,4	233,6
3. analiz	25,1	257,3	3. gün	26,7	265,6
4. analiz	24,2	265,8	4. gün	30,9	239,7
5. analiz	24,6	242,3	5. gün	22,9	282,2
6. analiz	21,9	268,7	6. gün	25,4	264,3
Ortalama	24,10	252,99	Ortalama	25,81	255,93
Standart sapma	1,28	13,61	Standart sapma	2,86	18,14
RSD%	5,3	5,4	RSD%	11,1	7,1
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,053		RSD_{pool}	0,093	

Çizelge 4.5. TCP'nin geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	25			250		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç	% R	
1	23,5	94,2	uygun	250,2	100,1	uygun
2	25,4	101,6	uygun	233,6	93,5	uygun
3	25,1	100,2	uygun	257,3	102,9	uygun
4	24,2	96,6	uygun	265,8	106,3	uygun
5	24,6	98,4	uygun	242,3	96,9	uygun
6	21,9	87,4	uygun	268,7	107,5	uygun
Ortalama Geri Kazanım %					98,8	



Şekil 4.2. TCP kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.6. TCP'nin doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							136,655
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							41,952
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
10	529	0	0	-0,049	0,002	-5,1	uygun
10	589	556	-27	0,059	0,003	5,6	uygun
10	495	556	33	-0,110	0,012	-12,4	uygun
25	1163	556	-61	-0,019	0,000	-1,9	uygun
25	1181	1185	-22	-0,004	0,000	-0,4	uygun
25	1066	1185	-4	-0,101	0,010	-11,2	uygun
50	2189	1185	-119	-0,020	0,000	-2,1	uygun
50	2315	2234	-45	0,036	0,001	3,5	uygun
50	2225	2234	81	-0,004	0,000	-0,4	uygun
100	3754	2234	-9	-0,133	0,018	-15,4	uygun
100	4499	4332	-578	0,039	0,001	3,7	uygun
100	4418	4332	167	0,020	0,000	1,9	uygun
250	11289	4332	86	0,063	0,004	5,9	uygun
250	10305	10625	664	-0,030	0,001	-3,1	uygun
250	11413	10625	-320	0,074	0,006	6,9	uygun
500	20439	10625	788	-0,032	0,001	-3,3	uygun
500	21211	21113	-674	0,005	0,000	0,5	uygun
500	21193	21113	98	0,004	0,000	0,4	uygun
				Toplam	**0,061**		
				Srr	**0,064**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.3. Diethyl phosphate (DP) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları

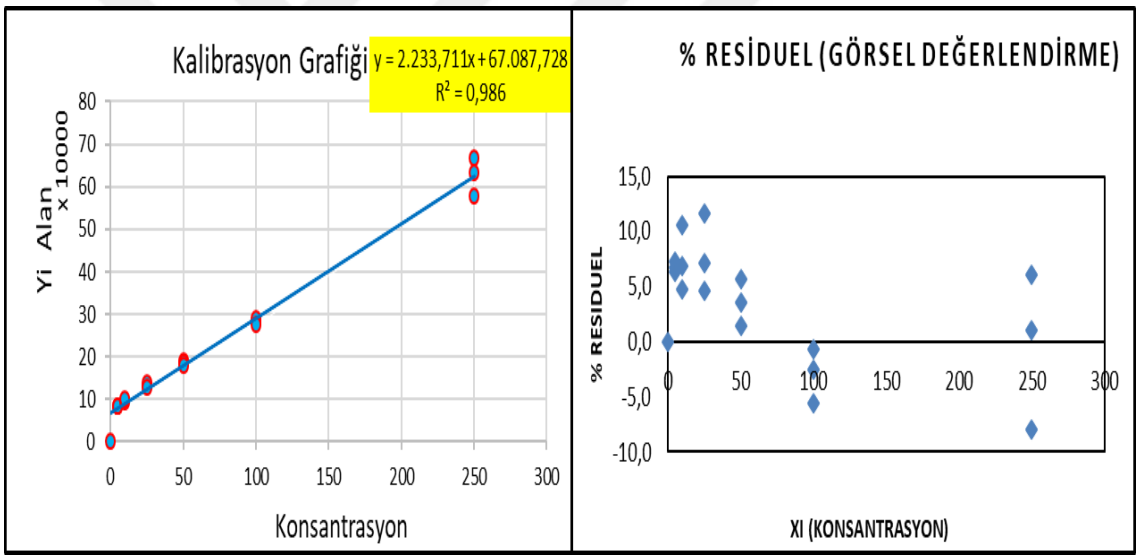
LC-MS/MS'de DP için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-3'de verilmiştir. DP verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 3,37 µg/kg LOQ ise 11,23 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %20,40 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7'de ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.9 ve Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Çizelge 4.7 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %103,1 bulunarak, %70-120 aralığında yer almıştır (Çizelge 4.8). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,986 olmuştur (Şekil 4.3 Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.7. DP'nin tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi			Spike seviyesi	
	25	100		25	100
1. analiz	26,1	104,1	1. gün	26,1	104,1
2. analiz	28,0	101,1	2. gün	27,2	101,1
3. analiz	27,2	94,7	3. gün	25,7	98,3
4. analiz	26,8	95,5	4. gün	26,8	98,1
5. analiz	29,8	97,9	5. gün	22,8	85,3
6. analiz	25,2	91,8	6. gün	23,9	81,1
Ortalama	27,19	97,50	Ortalama	25,42	94,68
Standart sapma	1,60	4,50	Standart sapma	1,71	9,24
RSD%	5,9	4,6	RSD%	6,7	9,8
Tekrarlanabilirlik	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,053		RSD_{pool}	0,084	

Çizelge 4.8. DP'nin geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	25			100		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	26,1	104,6	uygun	104,1	104,1	uygun
2	28,0	112,1	uygun	101,1	101,1	uygun
3	27,2	108,7	uygun	94,7	94,7	uygun
4	26,8	107,1	uygun	95,5	95,5	uygun
5	29,8	119,2	uygun	97,9	97,9	uygun
6	25,2	100,9	uygun	91,8	91,8	uygun
Ortalama Geri Kazanım %				103,1		



Şekil 4.3. DP'nin kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.9. DP'nin doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							67087,728
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							2233,711
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
5	83908	78256	5652	0,072	0,005	6,7	uygun
5	84366	78256	6110	0,078	0,006	7,2	uygun
5	83494	78256	5238	0,067	0,004	6,3	uygun
10	93919	89425	4494	0,050	0,003	4,8	uygun
10	95977	89425	6552	0,073	0,005	6,8	uygun
10	99964	89425	10539	0,118	0,014	10,5	uygun
25	132399	122930	9469	0,077	0,006	7,2	uygun
25	139037	122930	16107	0,131	0,017	11,6	uygun
25	128951	122930	6021	0,049	0,002	4,7	uygun
50	189566	178773	10793	0,060	0,004	5,7	uygun
50	185402	178773	6629	0,037	0,001	3,6	uygun
50	181274	178773	2501	0,014	0,000	1,4	uygun
100	283209	290459	-7250	-0,025	0,001	-2,6	uygun
100	288615	290459	-1844	-0,006	0,000	-0,6	uygun
100	275107	290459	-15352	-0,053	0,003	-5,6	uygun
250	632173	625515	6658	0,011	0,000	1,1	uygun
250	666123	625515	40608	0,065	0,004	6,1	uygun
250	579681	625515	-45834	-0,073	0,005	-7,9	uygun
				Toplam	**0,081**		
				Srr	**0,074**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.4. Diethyl thiophosphate (DTP) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları

LC-MS/MS'de DTP için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-4'de verilmiştir. DTP verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 34,08 µg/kg LOQ ise 113,61 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise % 27,39 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.10'da ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.11'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.12 ve Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Çizelge 4.10 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %96,3 bulunarak, %70-120 aralığında yer

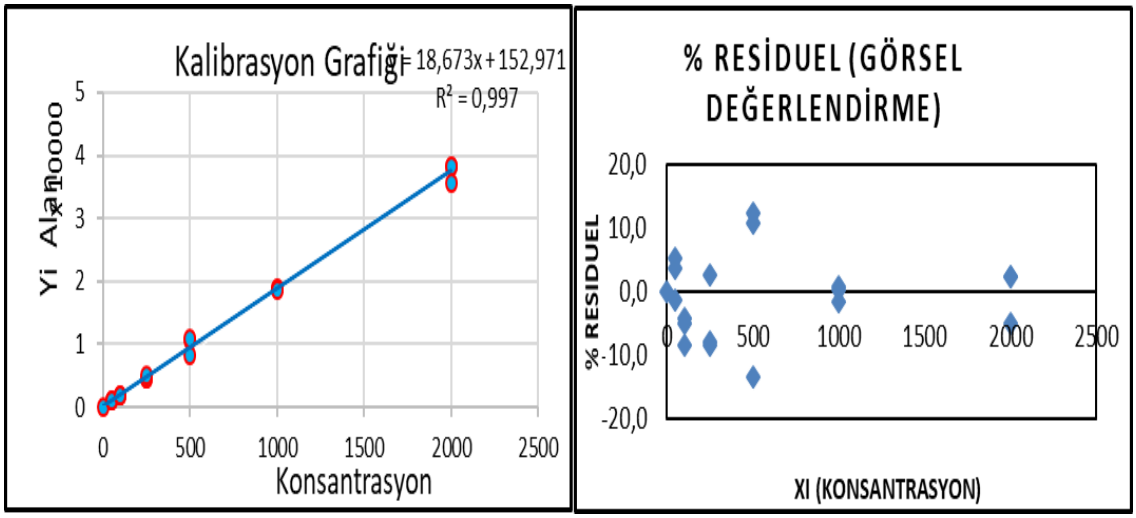
almıştır (Çizelge 4.11). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,997 olmuştur (Şekil 4.4). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.10. DTP'nin tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar Spike seviyesi (µg/kg)		Farklı gün analizleri	Sonuçlar Spike seviyesi (µg/kg)	
	250	1000		250	1000
1. analiz	252,2	892,0	1. gün	252,2	892,0
2. analiz	239,9	846,5	2. gün	252,6	846,5
3. analiz	252,6	938,7	3. gün	225,0	952,6
4. analiz	232,1	1009,7	4. gün	291,2	1131,6
5. analiz	233,7	1003,0	5. gün	270,6	907,8
6. analiz	259,1	986,0	6. gün	226,1	891,6
Ortalama	244,93	945,99	Ortalama	252,96	937,03
Standart sapma	11,22	65,99	Standart sapma	25,61	101,25
RSD%	4,6	7,0	RSD%	10,1	10,8
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,059		RSD_{pool}	0,105	

Çizelge 4.11. Diethylthiophosphate geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	250			1000		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	252,2	100,9	uygun	892,0	89,2	uygun
2	239,9	95,9	uygun	846,5	84,7	uygun
3	252,6	101,1	uygun	938,7	93,9	uygun
4	232,1	92,8	uygun	1009,7	101,0	uygun
5	233,7	93,5	uygun	1003,0	100,3	uygun
6	259,1	103,6	uygun	986,0	98,6	uygun
Ortalama Geri Kazanım %				96,3		



Şekil 4.4. Diethylthiophosphate kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.12. DTP'nin doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							152,971
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							18,673
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
50	1145	1087	58	0,054	0,003	5,1	uygun
50	1128	1087	41	0,038	0,001	3,7	uygun
50	1072	1087	-15	-0,013	0,000	-1,4	uygun
100	1923	2020	-97	-0,048	0,002	-5,1	uygun
100	1860	2020	-160	-0,079	0,006	-8,6	uygun
100	1936	2020	-84	-0,042	0,002	-4,4	uygun
250	4438	4821	-383	-0,080	0,006	-8,6	uygun
250	4467	4821	-354	-0,073	0,005	-7,9	uygun
250	4941	4821	120	0,025	0,001	2,4	uygun
500	10636	9490	1146	0,121	0,015	10,8	uygun
500	10831	9490	1341	0,141	0,020	12,4	uygun
500	8355	9490	-1135	-0,120	0,014	-13,6	uygun
1000	18963	18826	137	0,007	0,000	0,7	uygun
1000	18838	18826	12	0,001	0,000	0,1	uygun
1000	18519	18826	-307	-0,016	0,000	-1,7	uygun
2000	38343	37500	843	0,022	0,001	2,2	uygun
2000	38343	37500	843	0,022	0,001	2,2	uygun
2000	35646	37500	-1854	-0,049	0,002	-5,2	uygun
				Toplam	**0,080**		
				Srr	**0,073**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.5. Chlorpyrifos-oxon (CO) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları

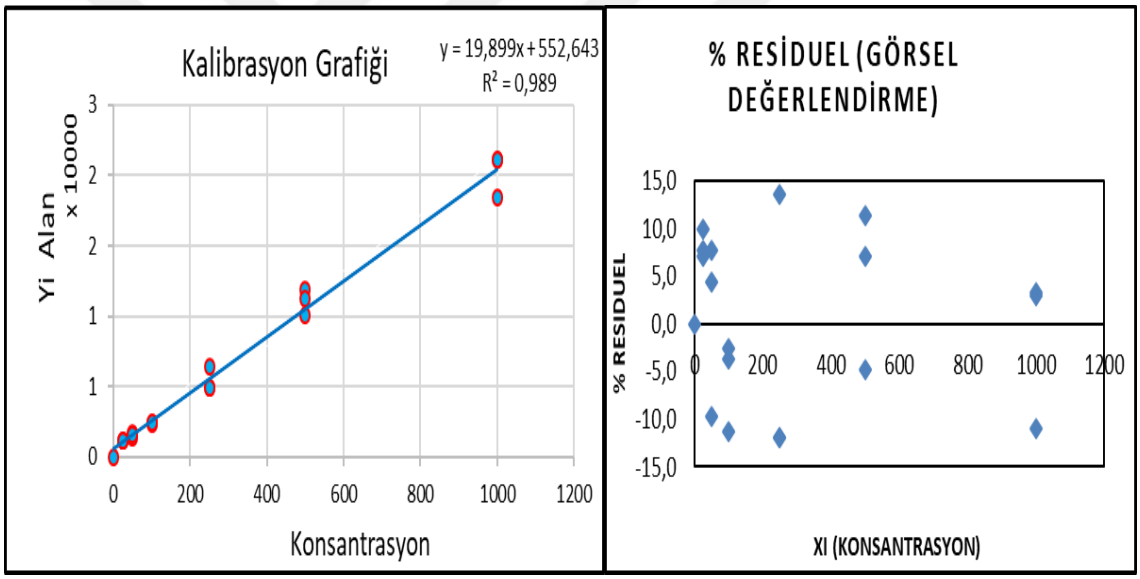
LC-MS/MS'de CO için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-5'de verilmiştir. CO verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 41,29 µg/kg; LOQ ise 137,63 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %30,96 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.13'da ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.14'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.15 ve Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Çizelge 4.13 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %98,2 bulunarak, %70-120 aralığında yer almıştır (Çizelge 4.14). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,989 olmuştur (Şekil 4.5). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.13. CO'nun tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	100	500		100	500
1. analiz	76,4	476,2	1. gün	113,5	476,2
2. analiz	113,5	532,7	2. gün	109,1	532,7
3. analiz	109,1	450,4	3. gün	116,7	522,4
4. analiz	92,8	474,7	4. gün	91,2	481,5
5. analiz	84,6	566,7	5. gün	118,7	426,6
6. analiz	94,2	539,0	6. gün	116,3	466,3
Ortalama	95,09	506,61	Ortalama	110,91	484,27
Standart sapma	14,15	45,71	Standart sapma	10,23	38,78
RSD%	14,9	9,0	RSD%	9,2	8,0
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,123		RSD_{pool}	0,086	

Çizelge 4.14. CO'nun geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Seviye (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	100			Seviye 1 (500)		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	76,4	76,4	uygun	476,2	95,2	uygun
2	113,5	113,5	uygun	532,7	106,5	uygun
3	109,1	109,1	uygun	450,4	90,1	uygun
4	92,8	92,8	uygun	474,7	94,9	uygun
5	84,6	84,6	uygun	566,7	113,3	uygun
6	94,2	94,2	uygun	539,0	107,8	uygun
Ortalama Geri Kazanım %					98,2	



Şekil 4.5. Chlorpyrifos-oxon kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.15. Chlorpyrifos-oxon doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							552,643
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							19,899
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
25	1166	1050	116	0,110	0,012	9,9	uygun
25	1129	1050	79	0,075	0,006	7,0	uygun
25	1138	1050	88	0,084	0,007	7,7	uygun
50	1411	1548	-137	-0,088	0,008	-9,7	uygun
50	1676	1548	128	0,083	0,007	7,7	uygun
50	1617	1548	69	0,045	0,002	4,3	uygun
100	2450	2543	-93	-0,036	0,001	-3,8	uygun
100	2286	2543	-257	-0,101	0,010	-11,2	uygun
100	2477	2543	-66	-0,026	0,001	-2,6	uygun
250	6395	5527	868	0,157	0,025	13,6	uygun
250	4941	5527	-586	-0,106	0,011	-11,9	uygun
250	4941	5527	-586	-0,106	0,011	-11,9	uygun
500	10018	10502	-484	-0,046	0,002	-4,8	uygun
500	11840	10502	1338	0,127	0,016	11,3	uygun
500	11291	10502	789	0,075	0,006	7,0	uygun
1000	21154	20452	702	0,034	0,001	3,3	uygun
1000	21066	20452	614	0,030	0,001	2,9	uygun
1000	18422	20452	-2030	-0,099	0,010	-11,0	uygun
				Toplam	**0,137**		
				Srr	**0,095**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.6. Deltamethrin (DEL) Verifikasyon Sonuçları

LC-MS/MS'de DEL için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-6'de verilmiştir. DEL verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 24,60 µg/kg ve LOQ ise 82,01 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %17,63 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.16'da ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.17'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.18 ve Şekil 4.6'de gösterilmiştir. Çizelge 4.16'da görüldüğü gibi iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %103,4 bulunarak, %70-120 aralığında yer almıştır (Çizelge 4.17). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon

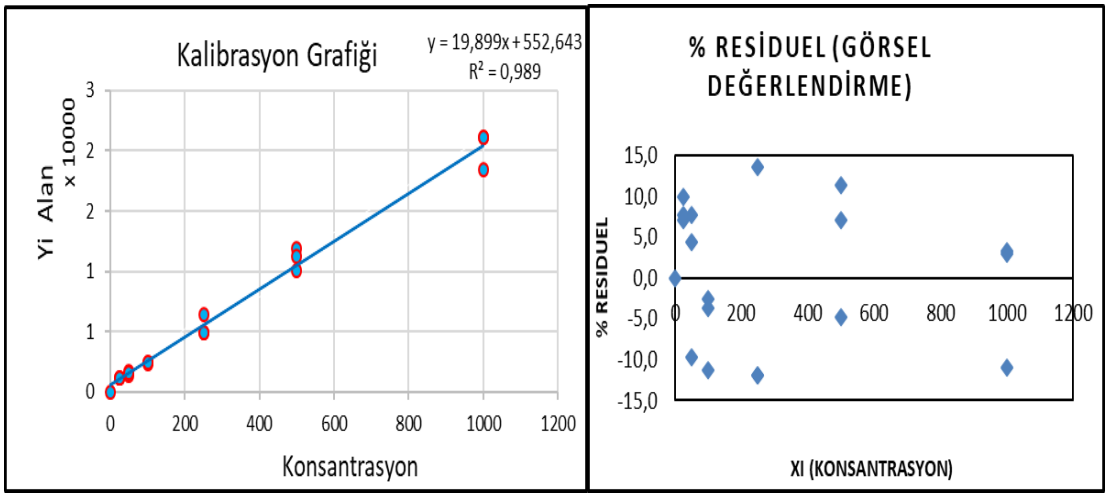
değeri 0,989 olmuştur (Şekil 4.6). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.16. DEL'in tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	250	1000		250	1000
1. analiz	292,2	1113,2	1. gün	292,2	1113,2
2. analiz	279,3	920,6	2. gün	273,6	920,6
3. analiz	273,6	1001,1	3. gün	281,0	1001,1
4. analiz	258,0	985,0	4. gün	281,0	937,2
5. analiz	237,0	985,0	5. gün	295,5	954,1
6. analiz	251,4	1032,5	6. gün	267,2	906,9
Ortalama	265,27	1006,26	Ortalama	281,75	972,19
Standart sapma	20,18	63,87	Standart sapma	10,73	76,43
RSD%	7,6	6,3	RSD%	3,8	7,9
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,070		RSD_{pool}	0,062	

Çizelge 4.17. DEL'in geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Seviye (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	250			1000		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	292,2	116,9	uygun	1113,2	111,3	uygun
2	279,3	111,7	uygun	920,6	92,1	uygun
3	273,6	109,5	uygun	1001,1	100,1	uygun
4	258,0	103,2	uygun	985,0	98,5	uygun
5	237,0	94,8	uygun	985,0	98,5	uygun
6	251,4	100,6	uygun	1032,5	103,3	uygun
Ortalama Geri Kazanım %				103,4		



Şekil 4.6. DEL'in kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.18. DEL'in doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							-2906,128
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							1160,580
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
50	54749	55123	-374	-0,007	0,000	-0,7	uygun
50	54749	55123	-374	-0,007	0,000	-0,7	uygun
50	55301	55123	178	0,003	0,000	0,3	uygun
100	106442	113152	-6710	-0,059	0,004	-6,3	uygun
100	103857	113152	-9295	-0,082	0,007	-8,9	uygun
100	105037	113152	-8115	-0,072	0,005	-7,7	uygun
250	271906	287239	-15333	-0,053	0,003	-5,6	uygun
250	288594	287239	1355	0,005	0,000	0,5	uygun
250	287783	287239	544	0,002	0,000	0,2	uygun
500	573235	577384	-4149	-0,007	0,000	-0,7	uygun
500	569924	577384	-7460	-0,013	0,000	-1,3	uygun
500	593505	577384	16121	0,028	0,001	2,7	uygun
1000	1140224	1157674	-17450	-0,015	0,000	-1,5	uygun
1000	1195331	1157674	37657	0,033	0,001	3,2	uygun
1000	1195331	1157674	37657	0,033	0,001	3,2	uygun
2000	2239881	2318253	-78372	-0,034	0,001	-3,5	uygun
2000	2464474	2318253	146221	0,063	0,004	5,9	uygun
2000	2223244	2318253	-95009	-0,041	0,002	-4,3	uygun
				Toplam	**0,029**		
				Srr	**0,044**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.7. 3-Phenoxybenzoic acid (3PBA) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları

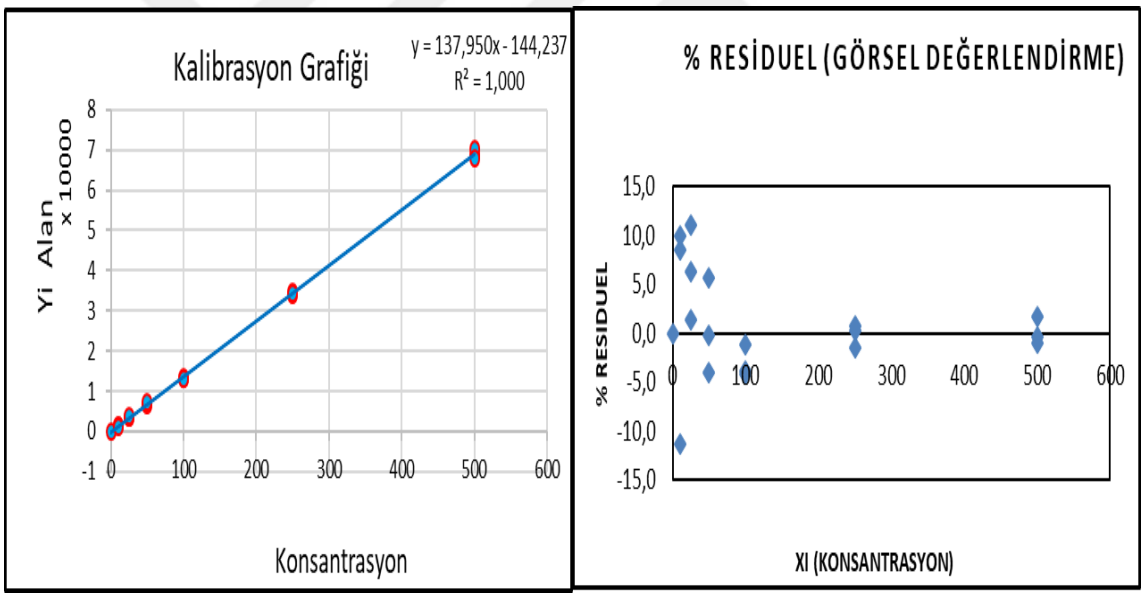
LC-MS/MS'de 3PBA için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-7'de verilmiştir. 3PBA verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 2,76 µg/kg ve LOQ ise 9,19 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %18,20 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.19'da ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.20'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.21 ve Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Çizelge 4.19 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %102,3 bulunarak, %70-120 aralığında yer almıştır (Çizelge 4.20). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 1,00 olmuştur (Şekil 4.7). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.19. 3PBA'nın tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	25	250		25	250
1. analiz	27,1	253,8	1. gün	27,1	253,8
2. analiz	23,7	250,6	2. gün	23,7	250,6
3. analiz	24,7	254,8	3. gün	27,8	257,6
4. analiz	25,5	252,1	4. gün	25,7	248,4
5. analiz	26,8	246,5	5. gün	22,6	275,3
6. analiz	28,2	250,6	6. gün	21,6	267,5
Ortalama	25,99	251,4	Ortalama	24,7	258,8
Standart sapma	1,66	2,93	Standart sapma	2,51	10,48
RSD%	6,4	1,2	RSD%	10,2	4,0
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,046		RSD_{pool}	0,077	

Çizelge 4.20. 3PBA'nın geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	25			250		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	27,1	108,4	uygun	253,8	101,5	uygun
2	23,7	94,8	uygun	250,6	100,3	uygun
3	24,7	98,7	uygun	254,8	101,9	uygun
4	25,5	102,1	uygun	252,1	100,8	uygun
5	26,8	107,0	uygun	246,5	98,6	uygun
6	28,2	112,7	uygun	250,6	100,3	uygun
Ortalama Geri Kazanım %				102,3		



Şekil 4.7. 3PBA'nın kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.21. 3PBA'nın doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							-144,237
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							137,950
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
10	1351	1235	116	0,094	0,009	8,6	uygun
10	1372	1235	137	0,111	0,012	10,0	uygun
10	1109	1235	-126	-0,102	0,010	-11,4	uygun
25	3353	3305	48	0,015	0,000	1,4	uygun
25	3524	3305	219	0,066	0,004	6,2	uygun
25	3719	3305	414	0,125	0,016	11,1	uygun
50	6496	6753	-257	-0,038	0,001	-4,0	uygun
50	6735	6753	-18	-0,003	0,000	-0,3	uygun
50	7162	6753	409	0,061	0,004	5,7	uygun
100	13491	13651	-160	-0,012	0,000	-1,2	uygun
100	13111	13651	-540	-0,040	0,002	-4,1	uygun
100	13134	13651	-517	-0,038	0,001	-3,9	uygun
250	34624	34343	281	0,008	0,000	0,8	uygun
250	33855	34343	-488	-0,014	0,000	-1,4	uygun
250	34425	34343	82	0,002	0,000	0,2	uygun
500	68546	68831	-285	-0,004	0,000	-0,4	uygun
500	70074	68831	1243	0,018	0,000	1,8	uygun
500	68129	68831	-702	-0,010	0,000	-1,0	uygun
				Toplam	**0,061**		
				Srr	**0,058**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.8. 3-(4-hydroxyphenoxy) Benzoic Acid (4HPBA) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları

LC-MS/MS'de 4HPBA için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-8'de verilmiştir. 4HPBA verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 11,89 µg/kg ve LOQ ise 39,63 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %23,69 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.22'de ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.23'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.24 ve Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Çizelge 4.22 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %98,2 bulunarak, %70-120 aralığında yer

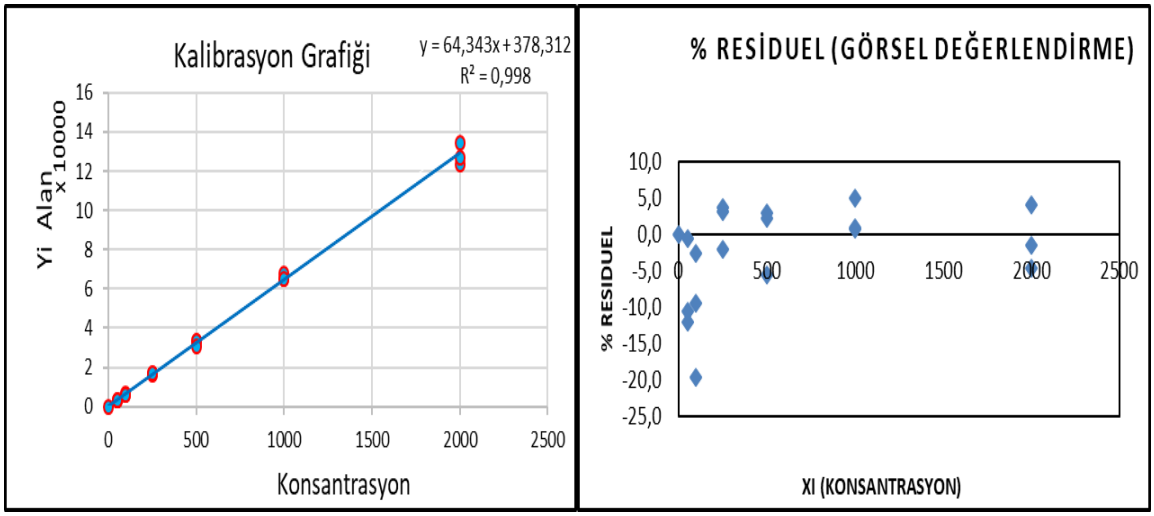
almıştır (Çizelge 4.23). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,998 bulunmuştur (Şekil 4.8). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.22. 4HPBA'nın tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar Spike seviyesi (µg/kg)		Farklı gün analizleri	Sonuçlar Spike seviyesi (µg/kg)	
	100	500		100	500
1. analiz	95,3	528,7	1. gün	95,3	528,7
2. analiz	105,6	526,0	2. gün	105,6	526,0
3. analiz	92,0	527,4	3. gün	95,9	461,9
4. analiz	90,3	515,2	4. gün	115,1	478,0
5. analiz	96,7	510,5	5. gün	93,7	492,8
6. analiz	82,0	472,4	6. gün	84,9	446,3
Ortalama	93,66	513,37	Ortalama	98,42	488,96
Standart sapma	7,82	21,36	Standart sapma	10,53	33,60
RSD%	8,3	4,2	RSD%	10,7	6,9
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,066		RSD_{pool}	0,090	

Çizelge 4.23. 4HPBA'nın geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	100			500		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	95,3	95,3	uygun	528,7	105,7	uygun
2	105,6	105,6	uygun	526,0	105,2	uygun
3	92,0	92,0	uygun	527,4	105,5	uygun
4	90,3	90,3	uygun	515,2	103,0	uygun
5	96,7	96,7	uygun	510,5	102,1	uygun
6	82,0	82,0	uygun	472,4	94,5	uygun
Ortalama Geri Kazanım %				98,2		



Şekil 4.8 4HPBA'nın kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.24. 4HPBA'nın doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							378,312
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							64,343
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
50	3210	3595	-385	-0,107	0,011	-12,0	uygun
50	3574	3595	-21	-0,006	0,000	-0,6	uygun
50	3251	3595	-344	-0,096	0,009	-10,6	uygun
100	6225	6813	-588	-0,086	0,007	-9,4	uygun
100	6638	6813	-175	-0,026	0,001	-2,6	uygun
100	5692	6813	-1121	-0,164	0,027	-19,7	uygun
250	16137	16464	-327	-0,020	0,000	-2,0	uygun
250	17008	16464	544	0,033	0,001	3,2	uygun
250	17098	16464	634	0,039	0,001	3,7	uygun
500	33552	32550	1002	0,031	0,001	3,0	uygun
500	33250	32550	700	0,022	0,000	2,1	uygun
500	30800	32550	-1750	-0,054	0,003	-5,7	uygun
1000	65184	64721	463	0,007	0,000	0,7	uygun
1000	68071	64721	3350	0,052	0,003	4,9	uygun
1000	65291	64721	570	0,009	0,000	0,9	uygun
2000	134594	129064	5530	0,043	0,002	4,1	uygun
2000	123228	129064	-5836	-0,045	0,002	-4,7	uygun
2000	127199	129064	-1865	-0,014	0,000	-1,5	uygun
				Toplam	**0,070**		
				Srr	**0,062**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.9. Imidacloprid (IMI) Verifikasyon Sonuçları

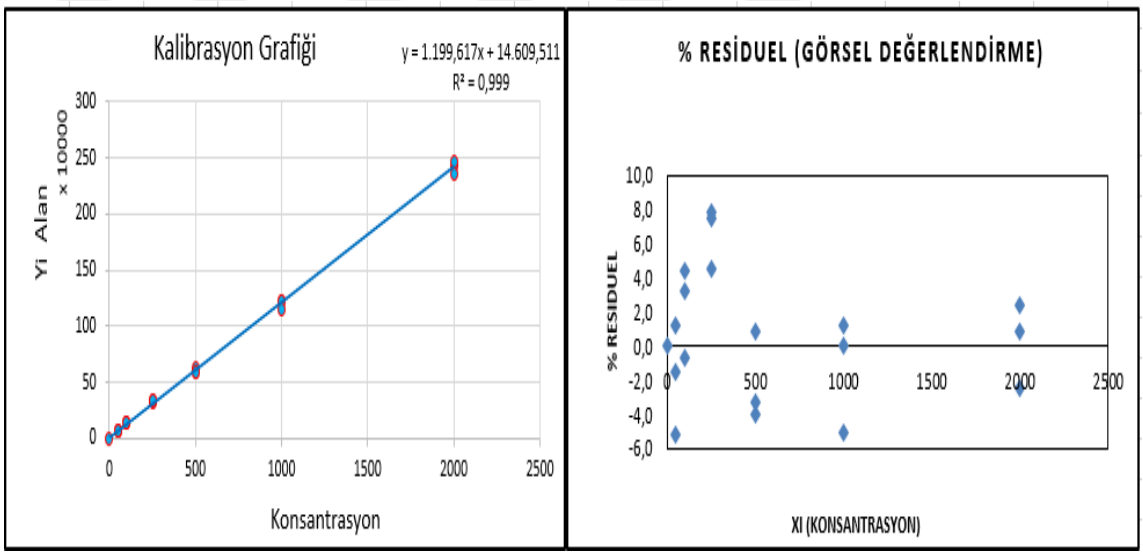
LC-MS/MS'de IMI için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-9'de verilmiştir. IMI verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 24,05 µg/kg ve LOQ ise 80,18 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %24,37 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.25'de ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.26'da verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.27 ve Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Çizelge 4.25 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %99,5 bulunarak, %70-120 aralığında yer almıştır (Çizelge 4.26). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,999 olmuştur (Şekil 4.9). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.25. IMI'nin tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	250	1000		250	1000
1. analiz	235,2	901,6	1. gün	235,2	901,6
2. analiz	244,2	983,6	2. gün	244,2	983,6
3. analiz	257,4	1084,9	3. gün	257,4	1084,9
4. analiz	233,4	1000,3	4. gün	297,1	1102,7
5. analiz	270,3	1012,4	5. gün	293,2	1111,6
6. analiz	261,3	951,2	6. gün	313,5	969,5
Ortalama	250,30	989,00	Ortalama	273,4	1025,6
Standart sapma	14,98	61,60	Standart sapma	32,02	86,19
RSD%	6,0	6,2	RSD%	11,7	8,4
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,061		RSD_{pool}	0,102	

Çizelge 4.26. IMI'nin geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	250			1000		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	235,2	94,1	uygun	901,6	90,2	uygun
2	244,2	97,7	uygun	983,6	98,4	uygun
3	257,4	103,0	uygun	1084,9	108,5	uygun
4	233,4	93,4	uygun	1000,3	100,0	uygun
5	270,3	108,1	uygun	1012,4	101,2	uygun
6	261,3	104,5	uygun	951,2	95,1	uygun
Ortalama Geri Kazanım %				99,5		



Şekil 4.9. IMI'nin kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.27. IMI'nin doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							14609,511
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							1199,617
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
50	70886	74590	-3704	-0,050	0,002	-5,2	uygun
50	75513	74590	923	0,012	0,000	1,2	uygun
50	73487	74590	-1103	-0,015	0,000	-1,5	uygun
100	139026	134571	4455	0,033	0,001	3,2	uygun
100	133729	134571	-842	-0,006	0,000	-0,6	uygun
100	140849	134571	6278	0,047	0,002	4,5	uygun
250	340121	314514	25607	0,081	0,007	7,5	uygun
250	329310	314514	14796	0,047	0,002	4,5	uygun
250	341345	314514	26831	0,085	0,007	7,9	uygun
500	594714	614418	-19704	-0,032	0,001	-3,3	uygun
500	619512	614418	5094	0,008	0,000	0,8	uygun
500	590603	614418	-23815	-0,039	0,002	-4,0	uygun
1000	1214999	1214226	773	0,001	0,000	0,1	uygun
1000	1229470	1214226	15244	0,013	0,000	1,2	uygun
1000	1156187	1214226	-58039	-0,048	0,002	-5,0	uygun
2000	2433621	2413843	19778	0,008	0,000	0,8	uygun
2000	2474396	2413843	60553	0,025	0,001	2,4	uygun
2000	2355326	2413843	-58517	-0,024	0,001	-2,5	uygun
				Toplam	**0,029**		
				Srr	**0,044**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.10.Imidacloprid-olefin (IMO) Metaboliti Verifikasyon Sonuçları

LC-MS/MS'de IMO için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-10'de verilmiştir. IMO verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 5,05 µg/kg ve LOQ ise 16,84 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %15,40 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.28'de ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.29'da verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.30 ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Çizelge 4.28 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %97,2 bulunarak, %70-120 aralığında yer almıştır (Çizelge 4.29). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon

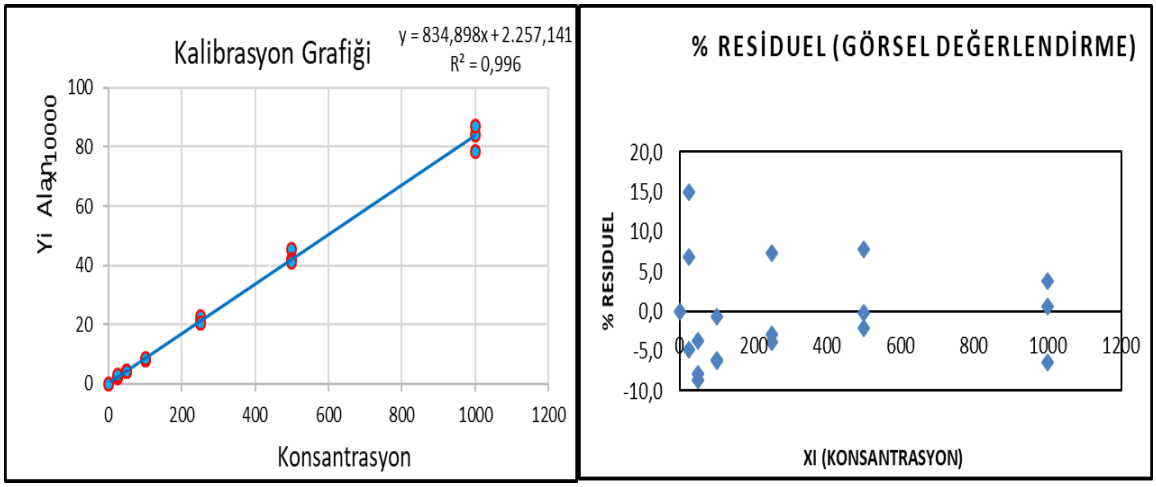
değeri 0,999 olmuştur (Şekil 4.10). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.28. IMO'nun tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	50	250		50	250
1. analiz	45,7	264,0	1. gün	45,7	251,9
2. analiz	44,7	251,9	2. gün	44,7	270,8
3. analiz	45,9	270,8	3. gün	47,8	255,4
4. analiz	45,9	269,7	4. gün	51,4	251,8
5. analiz	45,5	240,5	5. gün	43,5	275,9
6. analiz	47,9	242,5	6. gün	46,5	294,2
Ortalama	45,92	256,57	Ortalama	46,60	266,66
Standart sapma	1,04	13,48	Standart sapma	2,76	16,88
RSD	2,3	5,3	RSD%	5,9	6,3
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,040		RSD_{pool}	0,061	

Çizelge 4.29. IMO'nun geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	50			250		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	45,7	91,3	uygun	264,0	105,6	uygun
2	44,7	89,4	uygun	251,9	100,8	uygun
3	45,9	91,8	uygun	270,8	108,3	uygun
4	45,9	91,8	uygun	269,7	107,9	uygun
5	45,5	91,1	uygun	240,5	96,2	uygun
6	47,9	95,7	uygun	242,5	97,0	uygun
Ortalama Geri Kazanım %				97,2		



Şekil 4.10. IMO'nun kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.30. IMO'nun doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							2257,141
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							834,898
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)²**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
25	24804	23130	1674	0,072	0,005	6,8	uygun
25	22072	23130	-1058	-0,046	0,002	-4,8	uygun
25	27211	23130	4081	0,176	0,031	15,0	uygun
50	40782	44002	-3220	-0,073	0,005	-7,9	uygun
50	40486	44002	-3516	-0,080	0,006	-8,7	uygun
50	42428	44002	-1574	-0,036	0,001	-3,7	uygun
100	80706	85747	-5041	-0,059	0,003	-6,2	uygun
100	80851	85747	-4896	-0,057	0,003	-6,1	uygun
100	85118	85747	-629	-0,007	0,000	-0,7	uygun
250	227583	210982	16601	0,079	0,006	7,3	uygun
250	203191	210982	-7791	-0,037	0,001	-3,8	uygun
250	204885	210982	-6097	-0,029	0,001	-3,0	uygun
500	455280	419706	35574	0,085	0,007	7,8	uygun
500	418846	419706	-860	-0,002	0,000	-0,2	uygun
500	411082	419706	-8624	-0,021	0,000	-2,1	uygun
1000	842372	837155	5217	0,006	0,000	0,6	uygun
1000	870571	837155	33416	0,040	0,002	3,8	uygun
1000	786154	837155	-51001	-0,061	0,004	-6,5	uygun
				Toplam	**0,080**		
				Srr	**0,073**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.11.Imidacloprid guanidine (IMG) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları

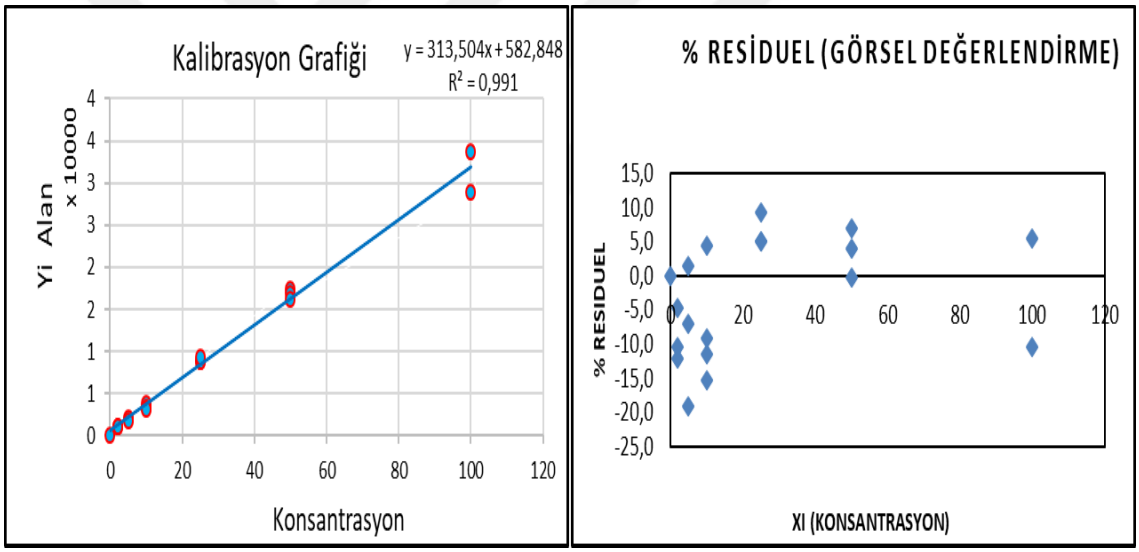
LC-MS/MS'de IMG için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-11'de verilmiştir. IMG verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 3,17 µg/kg ve LOQ ise 10,55 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %37,07 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.31'de ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.32'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.33 ve Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Çizelge 4.31 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %95,3 bulunarak, %70-120 aralığında yer almıştır (Çizelge 4.32). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,991 olmuştur (Şekil 4.11). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.31. IMG'nin tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Seviye (µg/kg)	
	25	100		25	100
1. analiz	21,9	94,6	1. gün	21,9	94,6
2. analiz	24,7	98,9	2. gün	24,7	98,9
3. analiz	23,8	74,6	3. gün	23,8	74,6
4. analiz	18,5	93,5	4. gün	27,6	88,1
5. analiz	27,4	109,3	5. gün	26,4	99,6
6. analiz	28,8	92,4	6. gün	25,4	113,8
Ortalama	24,17	93,88	Ortalama	24,96	94,94
Standart sapma	3,72	11,27	Standart sapma	1,99	13,05
RSD	0,154	0,120	RSD	0,080	0,137
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,138		RSD_{pool}	0,112	

Çizelge 4.32. IMG'nin geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	25			100		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	21,9	87,7	uygun	94,6	94,6	uygun
2	24,7	98,9	uygun	98,9	98,9	uygun
3	23,8	95,0	uygun	74,6	74,6	uygun
4	18,5	74,0	uygun	93,5	93,5	uygun
5	27,4	109,6	uygun	109,3	109,3	uygun
6	28,8	115,0	uygun	92,4	92,4	uygun
Ortalama Geri Kazanım %				95,3		



Şekil 4.11. IMG'nin kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.33. IMG'nin doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							568,493
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							312,666
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
2	1156	1194	-38	-0,032	0,001	-3,3	uygun
2	1096	1194	-98	-0,082	0,007	-8,9	uygun
2	1079	1194	-115	-0,096	0,009	-10,6	uygun
5	2010	2132	-122	-0,057	0,003	-6,1	uygun
5	2182	2132	50	0,024	0,001	2,3	uygun
5	1806	2132	-326	-0,153	0,023	-18,0	uygun
10	3889	3695	194	0,052	0,003	5,0	uygun
10	3403	3695	-292	-0,079	0,006	-8,6	uygun
10	4333	3695	638	0,173	0,030	14,7	uygun
10	3224	3695	-471	-0,128	0,016	-14,6	uygun
25	7185	8385	-1200	-0,143	0,020	-16,7	uygun
25	8870	8385	485	0,058	0,003	5,5	uygun
25	9282	8385	897	0,107	0,011	9,7	uygun
50	17461	16202	1259	0,078	0,006	7,2	uygun
50	16937	16202	735	0,045	0,002	4,3	uygun
50	16195	16202	-7	0,000	0,000	0,0	uygun
100	28922	31835	-2913	-0,092	0,008	-10,1	uygun
100	33727	31835	1892	0,059	0,004	5,6	uygun
				Toplam	**0,154**		
				Srr	**0,09**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.12.6-hydroxynicotinic Acid (6HNA) Metabolitinin Verifikasyon Sonuçları

LC-MS/MS'de 6HNA için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-12'de verilmiştir. 6HNA verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 24,30 µg/kg ve LOQ ise 81,01 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %13,75 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.34'de ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.35'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.36 ve Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Çizelge 4.34 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %98,7 bulunarak, %70-120 aralığında yer

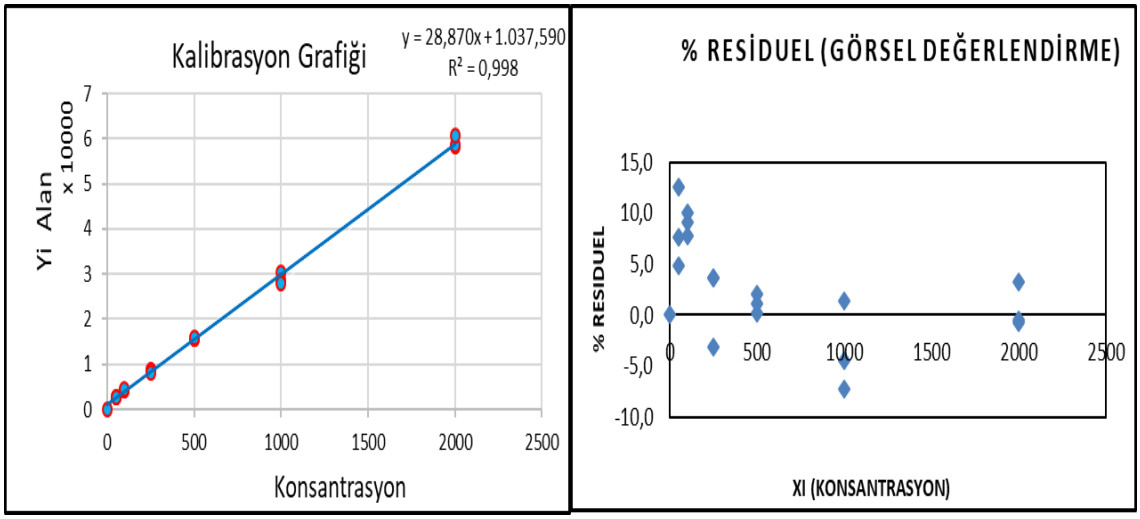
almıştır (Çizelge 4.35). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,998 olmuştur (Şekil 4.12). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.34. 6HNA'nın tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	250	1000		250	1000
1. analiz	252,8	900,7	1. gün	252,8	967,5
2. analiz	262,7	967,5	2. gün	254,7	985,6
3. analiz	254,7	985,6	3. gün	264,3	1040,6
4. analiz	257,9	1013,0	4. gün	230,3	1038,6
5. analiz	257,8	954,4	5. gün	268,2	979,9
6. analiz	238,1	928,2	6. gün	229,1	957,4
Ortalama	254,01	958,24	Ortalama	249,91	994,90
Standart sapma	8,47	40,13	Standart sapma	16,67	35,95
RSD%	3,3	4,2	RSD%	6,7	3,6
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,038		RSD_{pool}	0,54	

Çizelge 4.35. 6HNA'nın geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	250			1000		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	252,8	101,1	uygun	900,7	90,1	uygun
2	262,7	105,1	uygun	967,5	96,8	uygun
3	254,7	101,9	uygun	985,6	98,6	uygun
4	257,9	103,2	uygun	1013,0	101,3	uygun
5	257,8	103,1	uygun	954,4	95,4	uygun
6	238,1	95,3	uygun	928,2	92,8	uygun
Ortalama Geri Kazanım %				98,7		



Şekil 4.12. 6HNA'nın kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.36. 6HNA'nın doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							1037,590
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							28,870
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)²**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
50	2606	2481	125	0,050	0,003	4,8	uygun
50	2686	2481	205	0,083	0,007	7,6	uygun
50	2836	2481	355	0,143	0,020	12,5	uygun
100	4316	3925	391	0,100	0,010	9,1	uygun
100	4254	3925	329	0,084	0,007	7,7	uygun
100	4359	3925	434	0,111	0,012	10,0	uygun
250	8573	8255	318	0,039	0,001	3,7	uygun
250	8569	8255	314	0,038	0,001	3,7	uygun
250	8004	8255	-251	-0,030	0,001	-3,1	uygun
500	15639	15472	167	0,011	0,000	1,1	uygun
500	15508	15472	36	0,002	0,000	0,2	uygun
500	15800	15472	328	0,021	0,000	2,1	uygun
1000	30311	29907	404	0,014	0,000	1,3	uygun
1000	28623	29907	-1284	-0,043	0,002	-4,5	uygun
1000	27871	29907	-2036	-0,068	0,005	-7,3	uygun
2000	58326	58777	-451	-0,008	0,000	-0,8	uygun
2000	58494	58777	-283	-0,005	0,000	-0,5	uygun
2000	60714	58777	1937	0,033	0,001	3,2	uygun
				Toplam	**0,071**		
				Srr	**0,069**	**<0,1**	**Kabul**

4.1.13. 6-chloronicotinic Acid (6CNA) Metabolitinin Verifikasyonu Sonuçları

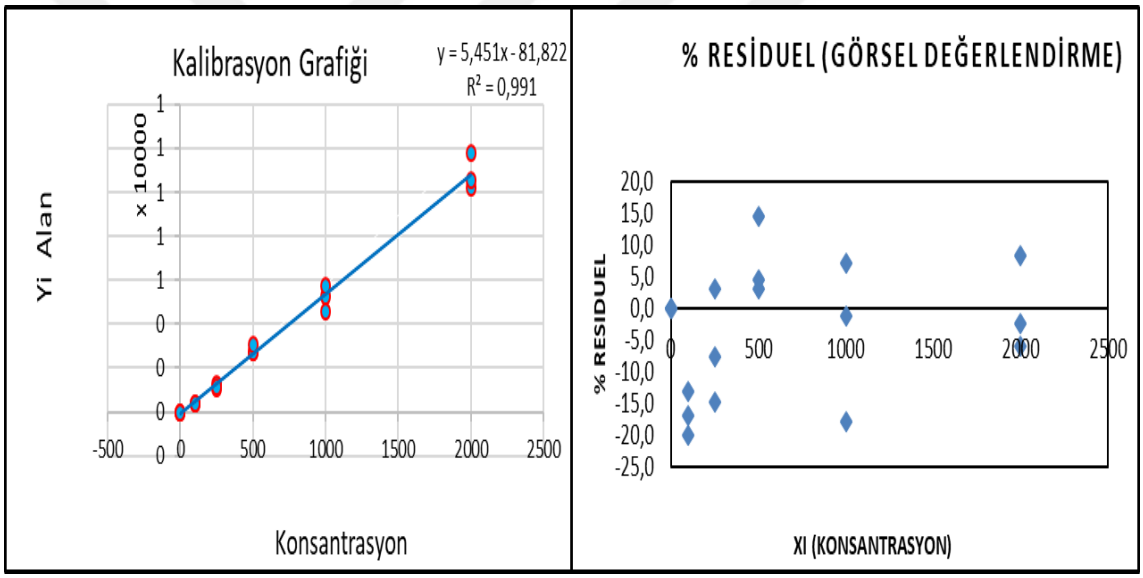
LC-MS/MS'de 6CNA için elde edilen spike örnek ve blank örneğe ait kromotogramlar EK-13'de verilmiştir. 6CNA verifikasyon çalışmaları sonucunda LOD 53,61 µg/kg LOQ ise 178,71 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %25,82 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.37'de ve geri kazanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.38'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.39 ve Şekil 4.13'de gösterilmiştir. Çizelge 4.37 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Geri kazanım oranı ise ortalama %99,3 bulunarak, %70-120 aralığında yer almıştır (Çizelge 4.38). Yedi farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,998 olmuştur (Şekil 4.13). Çalışmalardan elde edilen tüm bulgular SANTE/2019 kabul kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.37. 6CNA'nın tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	250	1000		250	1000
1. analiz	248,6	925,1	1. gün	248,6	925,1
2. analiz	255,0	1028,1	2. gün	255,0	1028,1
3. analiz	266,6	935,7	3. gün	266,6	1007,5
4. analiz	269,6	1000,0	4. gün	263,3	987,8
5. analiz	232,7	864,0	5. gün	222,1	949,1
6. analiz	246,0	1087,2	6. gün	257,4	999,9
Ortalama	253,08	973,33	Ortalama	252,16	982,91
Standart sapma	13,75	80,45	Standart sapma	16,01	38,60
RSD%	5,4	8,3	RSD%	6,4	3,9
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,070		RSD_{pool}	0,053	

Çizelge 4.38. 6CNA'nın geri kazanım çalışması sonuçları

Geri Kazanım						
	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik Kontrolü	Spike seviyesi (µg/kg)		Gerçeklik kontrolü
	250			1000		
Tekrar	Sonuç (µg/kg)	% R		Sonuç (µg/kg)	% R	
1	248,6	99,4	uygun	925,1	92,5	uygun
2	255,0	102,0	uygun	1028,1	102,8	uygun
3	266,6	106,6	uygun	935,7	93,6	uygun
4	269,6	107,8	uygun	1000,0	100,0	uygun
5	232,7	93,1	uygun	864,0	86,4	uygun
6	246,0	98,4	uygun	1087,2	108,7	uygun
Ortalama Geri Kazanım %				99,3		



Şekil 4.13. 6CNA'nın kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.39. 6CNA'nın doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							-113,929
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							5,475
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0,000	0,0	uygun
100	371	434	-63	-0,144	0,021	-16,9	uygun
100	383	434	-51	-0,117	0,014	-13,2	uygun
100	361	434	-73	-0,167	0,028	-20,1	uygun
250	1294	1255	39	0,031	0,001	3,0	uygun
250	1092	1255	-163	-0,130	0,017	-14,9	uygun
250	1164	1255	-91	-0,072	0,005	-7,8	uygun
500	2748	2623	125	0,047	0,002	4,5	uygun
500	2706	2623	83	0,031	0,001	3,1	uygun
500	3067	2623	444	0,169	0,029	14,5	uygun
1000	5291	5361	-70	-0,013	0,000	-1,3	uygun
1000	4547	5361	-814	-0,152	0,023	-17,9	uygun
1000	5768	5361	407	0,076	0,006	7,1	uygun
2000	11813	10835	978	0,090	0,008	8,3	uygun
2000	10229	10835	-606	-0,056	0,003	-5,9	uygun
2000	10576	10835	-259	-0,024	0,001	-2,5	uygun
				Toplam	**0,158**		
				Srr	**0,099**	**<0,1**	**Kabul**

Tez çalışması kapsamında 3 adet ana molekül ve 10 adet metabolit olmak üzere toplam 13 adet etken maddenin analizi için optimize edilen yöntemin yapılan metot verifikasyon çalışmalarından elde edilen veriler toplu olarak Çizelge 4.40'da özetlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, ana moleküller olarak CHL, DEL ve IMI için LOD değerleri sırasıyla 28,4, 24,6 ve 24,05 µg/kg olarak bulunmuştur. Diğer taraftan TCP, DP, 3PBA, IMO ve IMG için LOD değerleri ana moleküllerinin dahi altında (2,76-5,05 µg/kg) bulunmuştur. Ancak, CO ve 6CNA matabolitlerinin LOD değerleri diğerlerine göre yüksek (sırasıyla 41,29 ve 53,61 µg/kg) bulunmuştur.

Çizelge 4.40. Pestisit metodu verifikasyon sonuçları

Bileşik	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Doğrusal Aralık (µg/kg)	R^2	Çalışma Seviyeleri (µg/kg)	Geri Kazanım (%)	Tekrarlanabilirlik % RSD	Tekrarüretilebilirlik % RSD	Ölçüm Belirsizliği %
CHL	28,4	94,68	50-2000	0,998	250	109,2	5,5	1,4	16,95
					1000	100,8	5,0	5,4	
TCP	2,96	9,87	10-500	0,998	25	96,4	5,3	11,1	21,79
					250	101,2	5,4	7,1	
DP	3,37	11,23	5-250	0,986	25	108,8	5,9	6,7	20,40
					100	97,5	4,6	9,8	
DTP	17,7	59,01	50-2000	0,997	250	98,0	4,6	10,1	27,39
					1000	94,6	7,0	10,8	
CO	41,29	137,63	25-1000	0,989	100	95,1	14,9	9,2	30,96
					500	101,3	9,0	8,0	
DEL	24,6	82,01	50-2000	0,997	250	106,1	7,6	3,8	17,63
					1000	100,6	6,4	7,9	
3PBA	2,76	9,19	10-500	0,999	25	103,9	1,2	10,2	18,20
					250	100,6	1,0	4,0	
4HPBA	11,89	39,63	50-2000	0,998	100	93,7	8,3	10,7	23,69
					500	98,2	4,2	6,9	
IMI	24,05	80,18	50-2000	0,999	250	100,1	6,0	11,7	24,37
					1000	98,9	6,2	8,4	
IMO	5,05	16,84	25-1000	0,996	50	91,8	2,3	5,9	15,40
					250	102,6	5,3	6,3	
IMG	3,17	10,55	2-100	0,99	10	95,3	15,4	8,0	37,07
					100	93,9	12,0	13,7	
6HNA	24,3	81,01	50-2000	0,998	250	101,6	3,3	6,7	13,75
					1000	98,7	4,2	3,6	
6CNA	53,61	178,71	100-2000	0,991	250	101,2	5,4	6,4	25,82
					1000	97,3	8,3	3,9	

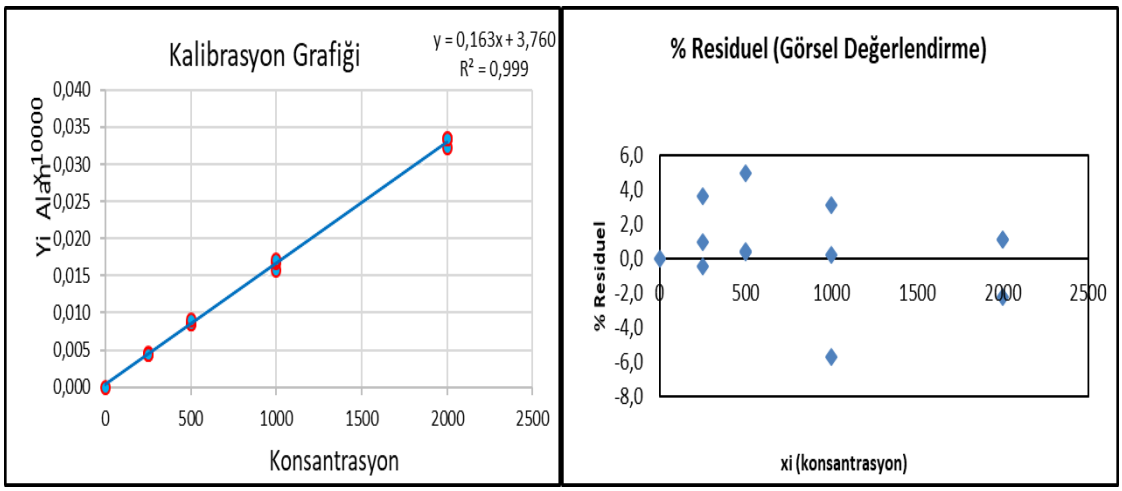
Ana moleküllerin (CHL, DEL ve IMI) LOQ değerleri sırasıyla 94,68, 82,01 ve 80,18 µg/kg olarak bulunmuştur. TCP, DP, 3PBA, IMO ve IMG gibi metabolitler için ana moleküllerinin altında LOQ değerleri (9,19-16,84 µg/kg) saptanmıştır Diğer taraftan, CO ve 6CNA matabolitlerinin LOQ değerleri daha yüksek (sırasıyla 137,63 ve 178,71 µg/kg) bulunmuştur. Tüm insektisitlerin ve metabolitlerinin standart eğrilerinin R^2 değerleri 0,991 ila 0,999 arasında yer alarak SANTE/2019'a uygun bulunmuştur. Bu analitlerin geri kazanımları ise %91,8 ila 109,2 arasında bulunmuş olup, SANTE/2019 rehberinin %70-120 aralığına uygun bulunmuştur. Kesinlik parametrelerinden tekrarlanabilirlik'in

RSD'si %1 ila 15,4 arasında bulunmuştur. En yüksek %RSD değerleri CO (%14,9) ve IMG (%15,4)'nin düşük konsantrasyonlarında belirlenmiştir. Diğer kesinlik parametrelerinden tekrarüretilebilirlik'in RSD'si %1,4 ila 13,7 arasında bulunmuştur. En yüksek %RSD değerleri TCP (%11,1), DTP (%10,8), 3PBA (%10,2), 4HPBA (%10,7), IMI (%11,7) ve IMG (%13,7)'nin değişen konsantrasyonlarında belirlenmiştir.

4.2. Organik Asit Metot Verifikasyonu Sonuçları

4.2.1. Asetik Asit Verifikasyon Sonuçları

Asetik asit metot verifikasyonu çalışmaları sonucunda LOD 36,69 µg/kg ve LOQ ise 122,30 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %13,29 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.41'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.42 ve Şekil 4.14'de gösterilmiştir. Çizelge 4.41 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'yi aşmamıştır. Beş farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,999 olmuştur (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Asetik asit kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.41. Asetik asit tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	500	1000		500	1000
1. analiz	556,9	982,1	1. gün	556,9	982,1
2. analiz	557,2	984,4	2. gün	557,2	984,4
3. analiz	560,4	990,5	3. gün	512,7	1020,8
4. analiz	512,7	1020,8	4. gün	518,5	1022,6
5. analiz	518,5	1022,6	5. gün	496,8	1025,0
6. analiz	536,6	1026,8	6. gün	496,8	1015,7
Ortalama	540,36	1004,55	Ortalama	523,13	1008,46
Standart sapma	21,07	20,94	Standart sapma	27,65	19,76
RSD%	3,9	2,0	RSD%	5,3	2,0
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,031		RSD_{pool}	0,040	

Çizelge 4.42. Asetik asit doğrusallık çalışması sonuçları

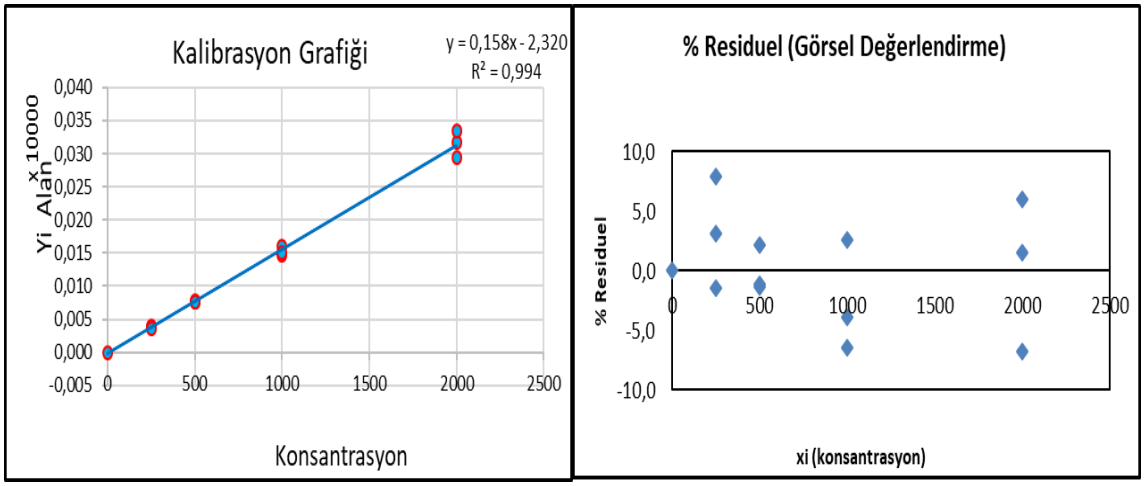
a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							3,760
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							0,163
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0	0	uygun
250	44,331	45	-0,192	-0,004	0,000	-0,4	uygun
250	46,202	45	1,679	0,038	0,001	3,6	uygun
250	44,940	45	0,417	0,009	0,000	0,9	uygun
500	85,563	85	0,278	0,003	0,000	0,3	uygun
500	85,643	85	0,358	0,004	0,000	0,4	uygun
500	89,715	85	4,430	0,052	0,003	4,9	uygun
1000	157,774	167	-9,037	-0,054	0,003	-5,7	uygun
1000	167,162	167	0,352	0,002	0,000	0,2	uygun
1000	172,084	167	5,274	0,032	0,001	3,1	uygun
2000	322,552	330	-7,310	-0,022	0,000	-2,3	uygun
2000	333,610	330	3,748	0,011	0,000	1,1	uygun
2000	333,624	330	3,763	0,011	0,000	1,1	uygun
				Toplam	0,082		
				Srr	0,087	**<0,1**	**Kabul**

4.2.2. Laktik Asit Verifikasyon Sonuçları

Laktik asit metot verifikasyonu çalışmaları sonucunda LOD 37,23 µg/kg ve LOQ ise 124,10 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %19,03 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.43'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.44 ve Şekil 4.15'de gösterilmiştir. Çizelge 4.43 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Beş farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,994 olmuştur (Şekil 4.15).

Çizelge 4.43. Laktik asit tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	500	1000		500	1000
1. analiz	516,1	958,7	1. gün	516,1	958,7
2. analiz	518,2	943,7	2. gün	518,2	943,7
3. analiz	510,8	934,8	3. gün	457,4	949,7
4. analiz	457,4	949,7	4. gün	465,6	949,1
5. analiz	465,6	949,1	5. gün	510,9	1014,4
6. analiz	480,2	955,0	6. gün	509,3	1013,8
Ortalama	491,37	948,49	Ortalama	496,25	971,55
Standart sapma	27,03	8,46	Standart sapma	27,25	33,29
RSD	5,5	0,9	RSD%	5,5	3,4
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,039		RSD_{pool}	0,046	



Şekil 4.15. Laktik asit kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri

Çizelge 4.44. Laktik asit doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							-2,320
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							0,158
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0	0	uygun
250	38,359	37	1,208	0,033	0,001	3,2	uygun
250	40,332	37	3,181	0,086	0,007	7,9	uygun
250	36,612	37	-0,538	-0,014	0,000	-1,5	uygun
500	75,729	77	-0,893	-0,012	0,000	-1,2	uygun
500	78,297	77	1,676	0,022	0,000	2,1	uygun
500	75,590	77	-1,031	-0,013	0,000	-1,4	uygun
1000	146,166	156	-9,398	-0,060	0,004	-6,4	uygun
1000	159,772	156	4,208	0,027	0,001	2,6	uygun
1000	149,745	156	-5,819	-0,037	0,001	-3,9	uygun
2000	318,214	313	4,767	0,015	0,000	1,5	uygun
2000	333,610	313	20,163	0,064	0,004	6,0	uygun
2000	293,601	313	-19,845	-0,063	0,004	-6,8	uygun
				Toplam	0,046		
				Srr	0,065	**<0,1**	**Kabul**

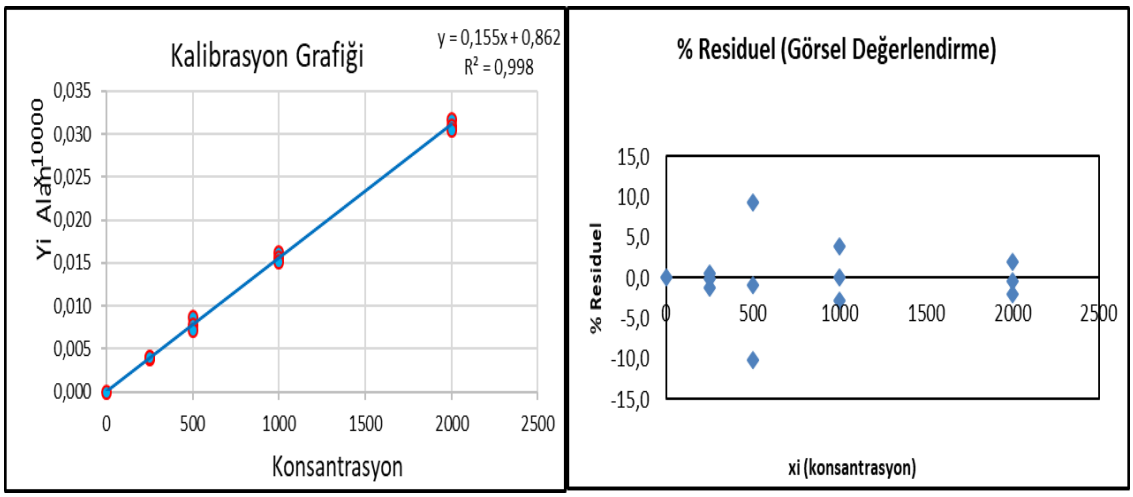
4.2.3. Bütirik Asit Verifikasyon Sonuçları

Bütirik asit metot verifikasyonu çalışmaları sonucunda LOD 36,31 µg/kg ve LOQ ise 121,02 µg/kg olarak bulunmuştur. Ölçüm belirsizliği ise %15,58 olarak hesaplanmıştır. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.45'de verilmiştir. Doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar ise Çizelge 4.46 ve Şekil 4.16'da

gösterilmiştir. Çizelge 4.45 incelenecek olursa iki farklı konsantrasyon seviyesinden elde edilen tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik parametrelerinin RSD değerleri %20'i aşmamıştır. Beş farklı konsantrasyonla çizilen kalibrasyon eğirisi regresyon değeri 0,998 olmuştur (Şekil 4.16).

Çizelge 4.45. Bütirik asit tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışması sonuçları

Tekrarlanabilirlik			**Tekrarüretilebilirlik**		
Gün içi analizleri	Sonuçlar		Farklı gün analizleri	Sonuçlar	
	Spike seviyesi (µg/kg)			Spike seviyesi (µg/kg)	
	500	1000		500	1000
1. analiz	545,5	1028,2	1. gün	545,5	1028,2
2. analiz	489,6	1035,3	2. gün	489,6	1035,3
3. analiz	554,1	1006,4	3. gün	498,1	991,3
4. analiz	498,1	991,3	4. gün	499,2	1009,1
5. analiz	499,2	1009,1	5. gün	547,6	1025,9
6. analiz	491,5	988,4	6. gün	563,8	1098,2
Ortalama	513,01	1009,77	Ortalama	523,97	1031,32
Standart sapma	28,89	18,97	Standart sapma	31,85	36,39
RSD	5,6	1,9	RSD	6,1	3,5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	uygun	uygun	Tekrarüretilebilirlik kontrolü	uygun	uygun
RSD_{pool}	0,042		RSD_{pool}	0,050	



Şekil 4.16. Bütirik asit kalibrasyon ve residuel değerlendirme grafikleri.

Çizelge 4.46. Bütirik asit doğrusallık çalışması sonuçları

a (kalibrasyon doğrusunun kesim noktası)							0,862
b (kalibrasyon doğrusunun eğimi)							0,155
Xi (kons)	**Yi (Alan)**	**Yi, Hesap-lanan**	**Residuel= Yi-Yi,hesaplanan**	**Fark/ Hesaplanan**	**(Fark/ Hesaplanan)^2**	**% Residuel**	**Residuel kontrolü**
0	0	0	0	0	0	0	uygun
250	39,550	40	-0,051	-0,001	0,000	-0,1	uygun
250	39,103	40	-0,498	-0,013	0,000	-1,3	uygun
250	39,807	40	0,206	0,005	0,000	0,5	uygun
500	86,420	78	8,080	0,103	0,011	9,3	uygun
500	77,588	78	-0,752	-0,010	0,000	-1,0	uygun
500	71,088	78	-7,252	-0,093	0,009	-10,2	uygun
1000	162,050	156	6,231	0,040	0,002	3,8	uygun
1000	156,027	156	0,208	0,001	0,000	0,1	uygun
1000	151,588	156	-4,231	-0,027	0,001	-2,8	uygun
2000	317,120	311	6,344	0,020	0,000	2,0	uygun
2000	309,718	311	-1,058	-0,003	0,000	-0,3	uygun
2000	304,410	311	-6,366	-0,020	0,000	-2,1	uygun
				Toplam	0,003		
				Srr	0,017	**<0,1**	**Kabul**

Çalışma kapsamında laktik asit, asetik asit ve bütirik asitin silaj örneklerindeki miktarının belirlenmesi içi optimize edilmiş olan yöntemin verifikasyon çalışmalarında elde edilen toplu sonuçlar Çizelge 4.47'de verilmiştir. Verifikasyonu yapılan bu 3 kimyasalın LOD değerleri 36,31 ila 37,23 arasında değişirken; LOQ değerleri 121,02 ila 124,10 arasında bulunmuştur. Standart eğrilerin R^2 değerleri 0,994 ila 0,999 arasında belirlenmiştir. Kesinlik parametrelerinden tekrarlanabilirlik %RSD değeri %1,9-5,6 arasında bulunurken; tekrarüretilebilirlik'in % RSD değeri % 2,0 ila 6,1 arasında saptanmıştır.

Çizelge 4.47. Organik asit metot verifikasyonu sonuçları

Etken Madde Adı	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Doğrusal Aralık (µg/kg)	R^2	Çalışma Seviyeleri (µg/kg)	Tekrarlanabilirlik (%RSD)	Tekrarüretilebilirlik (% RSD)	Ölçüm Belirsizliği (%)
Asetik Asit	36,69	122,30	250-2000	0,999	250	3,9	5,3	13,29
					500	2,0	2,0	
Laktik Asit	37,23	124,10	250-2000	0,994	250	5,5	5,5	19,03
					500	0,9	3,4	
Bütirik Asit	36,31	121,02	250-2000	0,998	250	5,6	6,1	15,58
					500	1,9	3,5	

4.3. Kuru Madde Miktarı Analizi Sonuçları

Deneme süresince kurutulmaya bırakılmış olan (kontrol grubu) mısır örneklerinde yapılan kuru madde miktarı analizlerinden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.48'de verilmiştir. Örnekleme günlerinde yapılan kuru madde analizlerine göre kuru madde oranı %32,2'den %87,5'a kadar yükselmiştir. Bu sonuç örneklerde su kaybı olduğunu göstermiş olup, bu oranlar pesitisit kalınıtısı miktarlarının deneme günlerine göre düzeltilmesi için kullanılmıştır.

Çizelge 4.48. Kuru madde miktarları

Örnekleme Günleri	**Kuru Madde (%)**
0	32,2
2	42,2
5	57,7
10	84,4
20	86,4
45	86,5
90	87,0
200	87,5

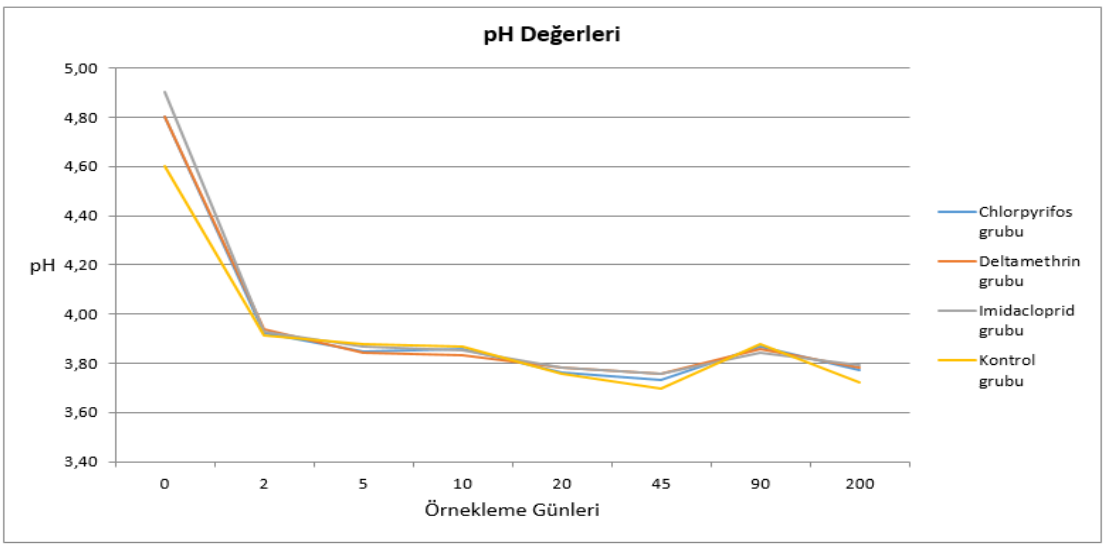
4.4. Asitlik Analizi Sonuçları

Deneme çalışmasında yapılan silajların olgunlaşma süreçlerinin izlenmesi amacıyla örnekleme günlerinde açılan her bir kavanozun pH analizi de yapılmıştır. Asitlik

ölçümlerinden elde edilen ortalama sonuçlar Çizelge 4.49 ve Şekil 4.17'de verilmiştir. Mısır hasılının silaj yapılmasından hemen önce yapılan ölçümde pH değerinin her bir deneme grubunda 4,80 ila 4,90 arasında değiştiği belirlenmiştir. Silaj yapımından 2 gün sonra pH değeri tüm uygulama gruplarında ve kontrolde hızlıca 4'ün altına (3,92-3,94) düşmüştür. Sonraki örnekleme günlerinde pH seviyelerinin 3,7 ile 3,9 arasında seyrettiği tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile uygulama yapılan grupların pH değerleri istatistiki olarak değerlendirildiğinde sonuçlar arasında önemli farklılık bulunmadığı görülmektedir ($F_{3,3}$=0,044; P>0,05).

Çizelge 4.49. Farklı zamanlarda alınan silaj örneklerinde ölçülen pH değerleri

Örnekleme Dönemi (gün)	CHL	DEL	IMI	KONTROL
0	4,80 ± 0,02	4,80 ± 0,02	4,90 ± 0,02	4,90 ± 0,02
2	3,92 ± 0,01	3,94 ± 0,02	3,93 ± 0,00	3,91 ± 0,02
5	3,85 ± 0,01	3,84 ± 0,03	3,87 ± 0,03	3,88 ± 0,02
10	3,86 ± 0,03	3,83 ± 0,04	3,85 ± 0,04	3,87 ± 0,03
20	3,76 ± 0,02	3,78 ± 0,00	3,78 ± 0,03	3,76 ± 0,04
45	3,73 ± 0,03	3,76 ± 0,01	3,76 ± 0,02	3,70 ± 0,08
90	3,87 ± 0,02	3,86 ± 0,01	3,84 ± 0,01	3,88 ± 0,04
200	3,77 ± 0,02	3,78 ± 0,02	3,79 ± 0,02	3,72 ± 0,02



Şekil 4.17. Silaj örnekleri pH değerlerindeki değişim

4.5. Silaj Örneklerinde Pestisit Kalıntı Analizi Sonuçları

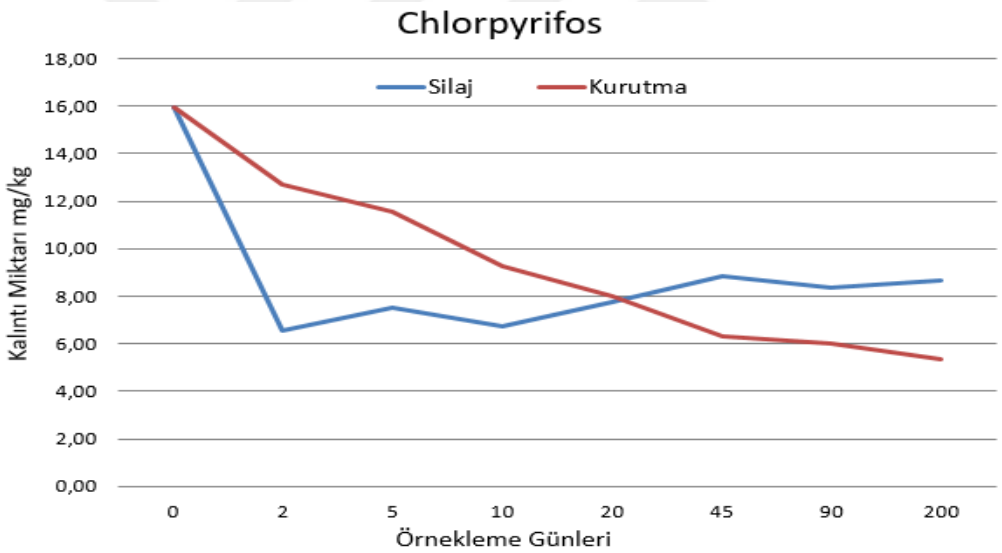
Tüm örnekleme dönemlerinde pestisit bulaştırılmış silaj ve kurutma örnekleri ile birlikte pestisit bulaştırılmamış olan silaj ve kurutma örnekleri de kontrol grubu olarak eş zamanlı olarak analize alınmıştır. Deneme süresinde tüm örnekleme dönemlerinde yapılan kontrol grubu analizlerinde hiçbir pestisit veya metabolit kalıntısı tespit edilmemiştir. Denemede kullanılan 3 pestisit ve metabolitlerinin analizlerinden elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

4.5.1. Chlorpyrifos ve Metabolitlerinin Analiz Sonuçları

Denemenin başında silaj yapımı aşamasında parçalanmış olan mısır hasılına 17,2 mg/kg konsantrasyonunda chlorpyrifos uygulanmıştır. Chlorpyrifos grubu örneklerinden elde edilen ana moleküle ait her örnekleme döneminin ortalama analiz sonuçları Çizelge 4.50'de verilmiştir. Elde edilen analiz bulgulara göre silaj örneklerindeki pestisit miktarı ilk gün sonuçlarına göre 200. gün örneklerinde %46 oranında azalma gösterirken bu azalma kurutma örneklerinde (kontrol) %67 olarak gerçekleşmiştir. Bu duruma göre mısıra bulaştırılan chlorpyrifos miktarının silaj yapılması durumunda kurutmaya göre daha az azaldığı görülmektedir. Şekil 4.18'de örnekleme günlerine göre silaj ve kurutma örneklerinde tespit edilen chlorpyrifos miktarındaki değişim grafiksel olarak ortaya konmuştur. Elde edilen bulgulara göre kurutma uygulamasında tespit edilen CHL kalıntı miktarları, silaj uygulamasına göre istatistiki anlamda daha yüksek bulunmuştur ($F_{1,1}$=4,69; P<0,05). Farklı zamanlarda yapılan analizlerinde tespit edilen CHL miktarlarında önemli düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir ($F_{7,7}$=19,49; P<0,01). En yüksek CHL konsantrasyonu 0. gün örneklerinde tespit edilmiştir. En düşük CHL konsantrasyonu ise kurutma uygulamasının 200. gününde belirlenmiştir.

Çizelge 4.50. Silaj ve kurutma örneklerinde CHL kalıntı analizi sonuçları

Zaman (gün)	CHL			
	Silaj örneği		Kurutma örneği	
	Kalıntı Miktarı (mg/kg)	Azalma (%)	Kalıntı Miktarı (mg/kg)	Azalma (%)
0	15,96 ± 0,87 ^{a}	0	15,96 ± 0,87 ^{a}	0
2	6,55 ± 1,44 $^{d-f}$	59	12,68 ± 0,61 ^{b}	21
5	7,49 ± 2,26 $^{d-f}$	53	11,57 ± 0,85 ^{bc}	27
10	6,76 ± 0,72 $^{d-f}$	58	9,25 ± 1,03 ^{cd}	42
20	7,77 ± 1,11 $^{d-f}$	51	8,00 ± 0,42 $^{d-f}$	50
45	8,81 ± 0,29 $^{c-e}$	45	6,32 ± 0,24 $^{c-e}$	60
90	8,38 ± 0,71 ^{de}	47	5,99 ± 0,29 ^{ef}	62
200	8,67 ± 0,82 ^{de}	46	5,31 ± 0,09 ^{f}	67



Şekil 4.18. Silaj ve kurutma örneklerinde CHL kalıntı miktarındaki değişim

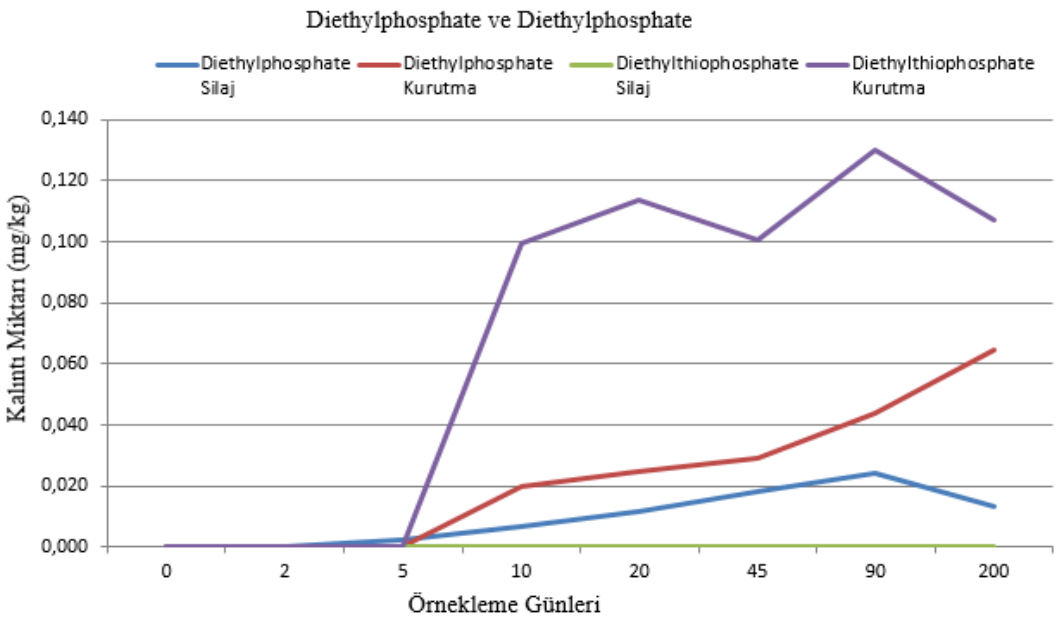
Çalışmada herbir örnekleme gününde CHL'nin metabolitlerinden CO, TCP, DP ve DTP de kalıntı durumları izlenmiştir. CO metaboliti 0. gün analizlerinde 0,012 mg/kg tespit edilmiş, bu miktar 2.gün silaj örneklerinde ise 0,002 mg/kg düşmüş ve daha sonra tespit edilememiştir. Bu nedenle CO sonuçları grafik ve çizelge olarak gösterilmemiştir. Diğer taraftan DP ve DTP metabolitleri ise deneme sürecinde düşük miktarlarda tespit edilebilmiştir (Çizelge 4.51). Bu iki metabolitin kalıntı miktarlarındaki değişim Şekil 4.19'da gösterilmiştir. DP kalıntı miktarları kurutma örneklerinde silaj örneklerine göre

yüksek bulunmuştur ($F_{1,1}$=290,21; P<0,01). Farklı örnekleme zamanlarındaki Diethylphosphate miktarlarında önemli düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir ($F_{7,7}$=68,01; P<0.01). En yüksek DP konsantrasyonu kurutma örneklerinin 200. gününde belirlenirken; en düşük konsantrasyon silaj 5. gün örneklerinde belirlenmiştir. Silaj örneklerinde DTP tespit edilemezken; en yüksek DTP konsantrasyonu kurutma örneklerinin 90. gününde bulunmuştur ($F_{7,7}$=218,92; P<0.01).

Çizelge 4.51. Silaj ve kurutma örneklerinde DP ve DTP kalıntı analiz sonuçları

Zaman	DP Kalıntı Miktarı (mg/kg)		DTP Kalıntı Miktarı (mg/kg)	
(gün)	Silaj örneği	Kurutma örneği	Silaj örneği	Kurutma örneği
0	T.E.*	T.E.	T.E.	T.E.
2	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
5	0,005 ± 0,0002^{hı}	T.E.	T.E.	T.E.
10	0,007 ± 0,0010$^{g-ı}$	0,020 ± 0,0003 ^{de}	T.E.	0,099 ± 0,0091^{b}
20	0,012 ± 0,0031^{f-h}	0,025 ± 0,0029 ^{cd}	T.E.	0,114 ± 0,0035^{b}
45	0,018 ± 0,0030^{d-f}	0,029 ± 0,0060 ^{c}	T.E.	0,100 ± 0,0118^{b}
90	0,024 ± 0,0065^{cd}	0,044 ± 0,0015 ^{b}	T.E.	0,130 ± 0,0116^{a}
200	0,013 ± 0,0020^{e-g}	0,064 ± 0,0018 ^{a}	T.E.	0,107 ± 0,0019^{b}

*: Tespit edilemedi.

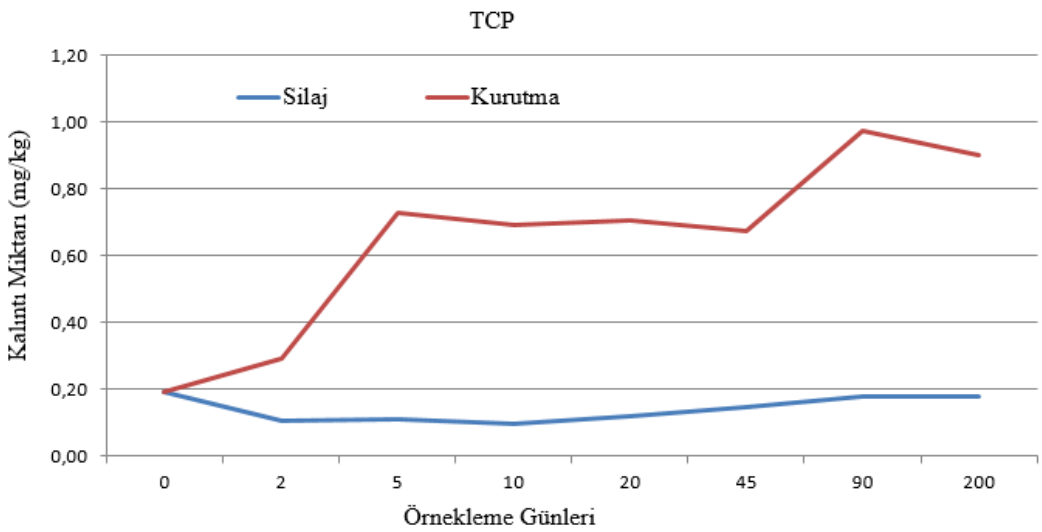


Şekil 4.19. Silaj ve kurutma örneklerinde DP ve DTP kalıntı miktarındaki değişim

Çalışmada TCP metaboliti diğer metabolitlere kıyasla daha yüksek miktarlarda tespit edilmiştir (Çizelge 4.52). Kurutma ve silaj örneklerinde TCP kalıntılarına ait değişim Şekil 4.20'de yer almaktadır. TCP miktarları kurutma örneklerinde silaj örneklerine göre yüksek bulunmuştur ($F_{1,1}$=3303,47; P<0,01). Ayrıca, farklı örnekleme zamanlarındaki TCP miktarlarında da önemli düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir ($F_{7,7}$=120,26; P<0,01). Analiz sonuçlarına göre en yüksek TCP konsantrasyonu kurutma örneklerinde 90. ve 200. günlerde saptanırken; en düşük TCP konsantrasyonu silaj örneklerinin 10. gününde bulunmuştur.

Çizelge 4.52. Silaj ve kurutma örneklerinde TCP kalıntı analiz sonuçları

Zaman (gün)	TCP	
	Silaj örneği	Kurutma örneği
	Kalıntı Miktarı (mg/kg)	Kalıntı Miktarı (mg/kg)
0	0,193 ± 0,007 ^{d}	0,193 ± 0,007 ^{d}
2	0,108 ± 0,033 ^{de}	0,292 ± 0,003 ^{c}
5	0,110 ± 0,026 ^{de}	0,731 ± 0,012 ^{b}
10	0,099 ± 0,016 ^{e}	0,692 ± 0,040 ^{b}
20	0,119 ± 0,009 ^{de}	0,708 ± 0,042 ^{b}
45	0,149 ± 0,015 ^{de}	0,673 ± 0,077 ^{b}
90	0,179 ± 0,022 ^{de}	0,974 ± 0,044 ^{a}
200	0,178 ± 0,019 ^{de}	0,895 ± 0,008 ^{a}



Şekil 4.20. Silaj ve kurutma örneklerinde TCP kalıntı miktarındaki değişim

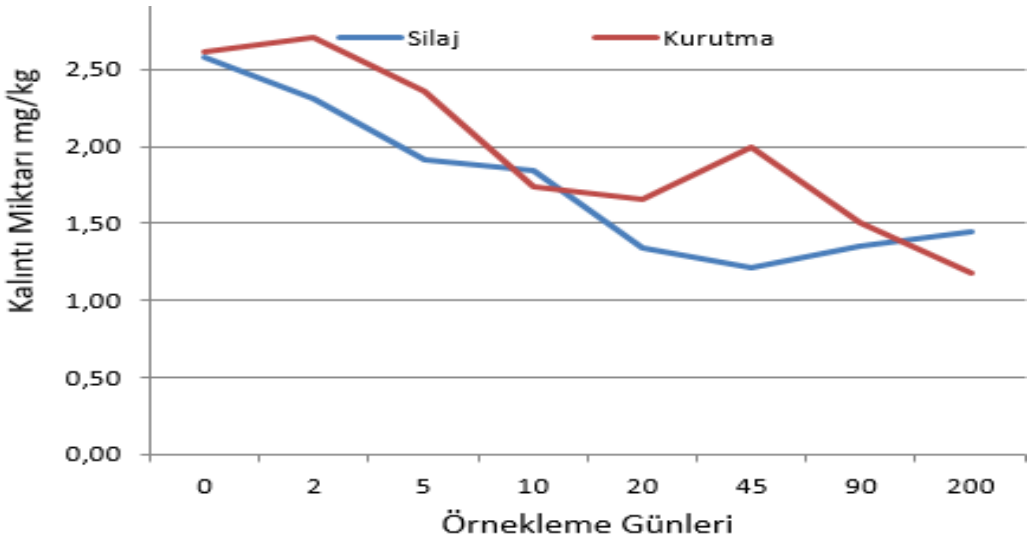
4.5.2. Deltamethrin ve Metabolitlerinin Analiz Sonuçları

Mısır hasılına uygulanan DEL konsantrasyonu 2,5 mg/kg olmuştur. Deneme boyunca yapılan analizlerde kurutma ve silaj örneklerinden elde edilen DEL sonuçları Çizelge 4.53 ve Şekil 4.21'de gösterilmiştir. DEL kalıntı analizlerinden elde edilen bulgulara göre 200 günlük deneme sonunda silaj örneklerinde %44 oranında azalma gerçekleşmiştir. Kurutma örneklerinde ise DEL kalıntısında azalma oranı %53 olmuştur. DEL kalıntı miktarları kurutma örneklerinde silaj örneklerine göre yüksek bulunmuştur ($F_{1,1}$=13,58; P<0,05). Farklı örnekleme zamanlarındaki DEL kalıntı miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($F_{7,7}$=4,5; P<0.01). En yüksek DEL konsantrasyonları kurutma ve silaj örneklerinin 0 ve 2. günlerinde en düşük değer ise 200. günde alınan kurutma örneklerinde bulunmuştur.

Deneme süresince yapılan analizlerde hiçbir örnekte 4HPBA tespit edilememiştir. Diğer bir metabolit olan 3PBA ise yalnızca kurutma örneklerinde düşük miktarda tespit edilmiştir. DEL metaboliti 3PBA'nın kurutma ve silaj örneklerindeki kalıntı sonuçları Çizelge 4.54 ve Şekil 4.22'de gösterilmiştir. Farklı zamanlarda tespit edilen 3PBA miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($F_{7,7}$=274,67; P<0.01). En yüksek 3PBA konsantrasyonları kurutma örneklerinde 200. günde en düşük değer ise 20. günde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.53. Silaj ve kurutma örneklerinde DEL kalıntı analiz sonuçları

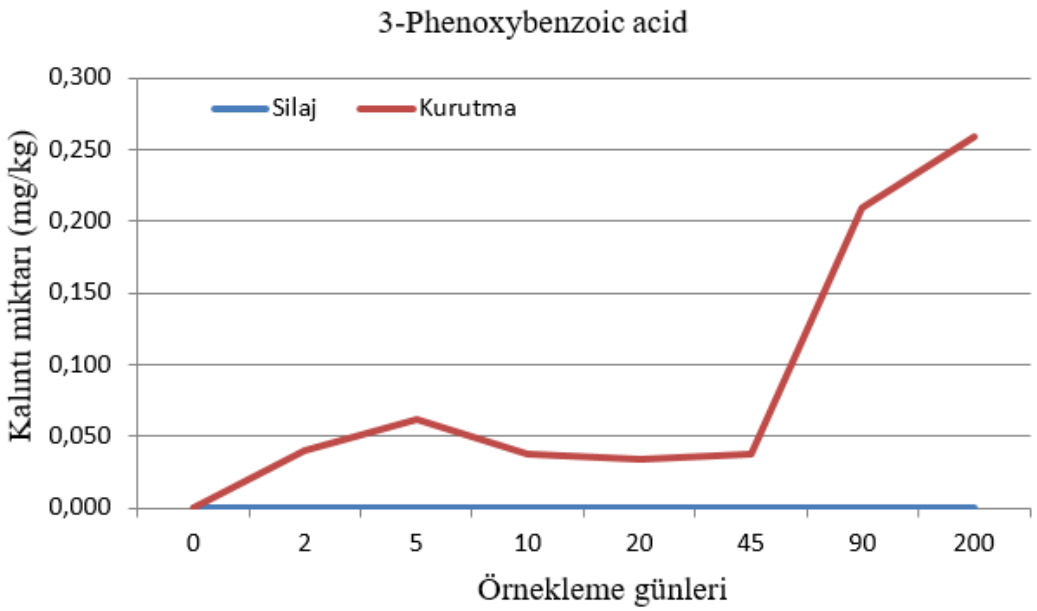
Zaman (gün)	DEL			
	Silaj örnekleri		Kurutma örnekleri	
	Kalıntı Miktarı (mg/kg)	Azalma (%)	Kalıntı Miktarı (mg/kg)	Azalma (%)
0	2,609± 0,086 ^{a}	0	2,609± 0,086 ^{a}	0
2	2,361± 0,113 ^{ab}	10	2,703± 0,077 ^{a}	4
5	1,946± 0,090 ^{bc}	25	2,353± 0,336 ^{ab}	10
10	1,853± 0,094 ^{cd}	29	1,744± 0,245 $^{c-e}$	33
20	1,388± 0,212 $^{d-f}$	47	1,655± 0,150 $^{c-f}$	37
45	1,202± 0,072 ^{f}	54	1,782± 0,180 $^{c-e}$	32
90	1,318± 0,242 ^{ef}	49	1,503± 0,173 $^{c-f}$	42
200	1,448± 0,114 $^{d-f}$	45	1,176± 0,017 ^{f}	55



Şekil 4.21. Silaj ve kurutma örneklerinde DEL kalıntı miktarındaki değişim

Çizelge 4.54. Silaj ve kurutma örneklerinde 3PBA kalıntı analiz sonuçları

	3PBA	
	Silaj örnekleri	Kurutma örnekleri
Zaman (gün)	Kalıntı Miktarı (mg/kg)	Kalıntı Miktarı (mg/kg)
0	T.E.	0,000 ± 0,000
2	T.E.	0,040 ± 0,005 [d]
5	T.E.	0,062 ± 0,008 [c]
10	T.E.	0,038 ± 0,008 [d]
20	T.E.	0,034 ± 0,006 [d]
45	T.E.	0,037 ± 0,004 [c]
90	T.E.	0,209 ± 0,023 [b]
200	T.E.	0,259 ± 0,007 [a]



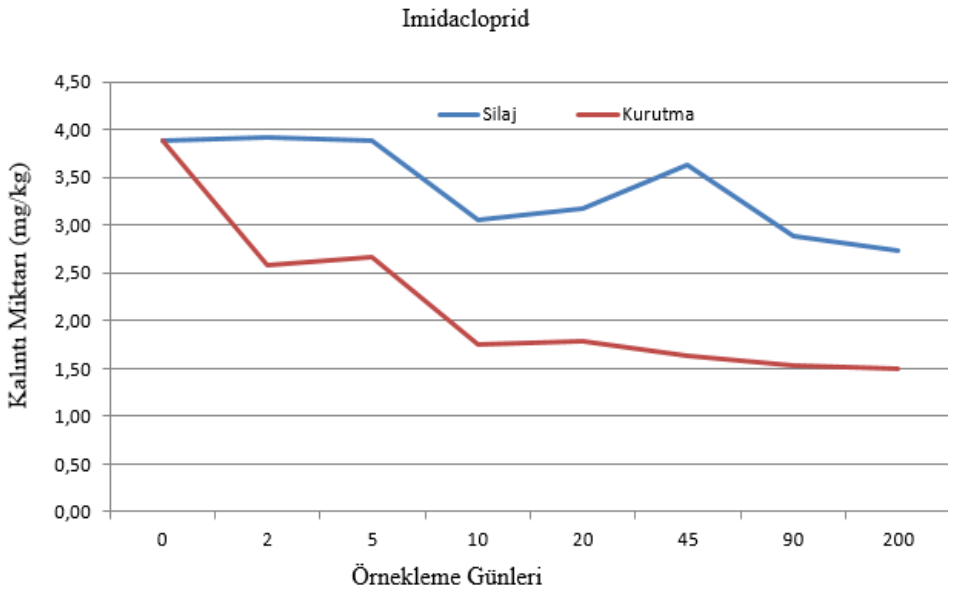
Şekil 4.22. Silaj ve kurutma örneklerinde 3PBA kalıntı miktarındaki değişim

4.5.3. Imidacloprid ve Metabolitlerinin Analiz Sonuçları

Mısır hasılına uygulanan IMI konsantrasyonu 3,5 mg/kg olmuştur. Deneme boyunca yapılan analizlerde kurutma ve silaj örneklerinden elde edilen IMI sonuçları Çizelge 4.54 ve Şekil 4.23'de gösterilmiştir IMI kalıntı miktarında elde edilen bulgulara göre silaj örneklerinde 200 gün sonunda IMI miktarında % 30 azalma olurken bu azalma kurutma örneklerinde % 61 düzeyinde olmuştur. Tespit edilen IMI kalıntıları silaj ve kurutma örneklerinde istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($F_{1,1}$=143,82; P<0.01). Ayrıca, farklı zamanlarda yapılan örneklemelerde tespit edilen IMI miktarları arasındaki fark da istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($F_{7,7}$=5,36; P<0.01). Silaj örneklerindeki IMI miktarları arasında önemli düzeyde fark bulunmazken kurutma örneklerinde başlangıç ile sonraki günlerde tespit edilen IMI kalıntı miktarları önemli düzeyde farklı bulunmuştur.

Çizelge 4.55. Silaj ve kurutma örneklerinde IMI kalıntı analiz sonuçları

Zaman (gün)	IMI			
	Silaj örnekleri		Kurutma örnekleri	
	Kalıntı Miktarı (mg/kg)	Azalma (%)	Kalıntı Miktarı (mg/kg)	Azalma (%)
0	3,891 ± 0,283 [a]	0	3,891 ± 0,283 [a]	0
2	3,916 ± 0,704 [a]	1	2,504 ± 0,282 [c-f]	36
5	3,888 ± 0,437 [a]	0	2,669 ± 0,001 [b-e]	31
10	3,062 ± 0,614 [a-c]	21	1,749 ± 0,046 [d-f]	55
20	3,176 ± 0,365 [a-c]	18	1,778 ± 0,100 [d-f]	54
45	3,632 ± 0,619 [ab]	7	1,629 ± 0,701 [ef]	58
90	2,890 ± 0,436 [a-c]	26	1,533 ± 0,100 [f]	61
200	2,733 ± 0,166 [b-d]	30	1,501 ± 0,015 [f]	61

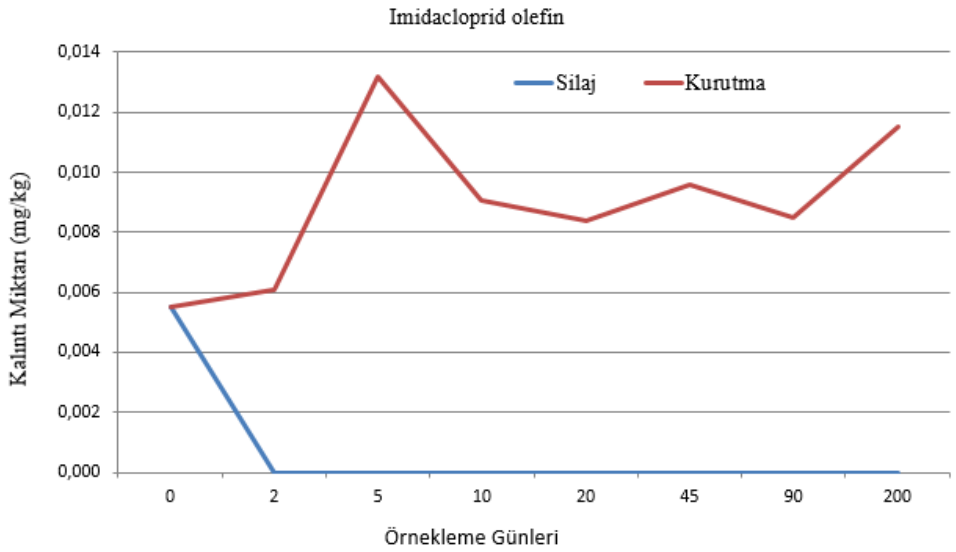


Şekil 4.23. Silaj ve kurutma örneklerinde IMI kalıntı miktarındaki değişim.

Deneme boyunca yapılan analizlerde 6CNA, IMG ve 6CNA metabolitleri hiçbir örnekte tespit edilememiştir. IMO ise çok az sayıda kurutma örneğinde oldukça düşük konsantrasyonlarda tespit edilebilmiştir. Silaj örneklerinde ilk gün dışında IMO kalıntısı tespit edilmemiştir. IMO kalıntılarına ait veriler Çizelge 4.56 ve Şekil 4.24'de gösterilmiştir. Farklı zamanlarda alınan kurutma örneklerinde tespit edilen IMO kalıntı miktarları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($F_{7,7}$=49,18; P<0.01).

Çizelge 4.56. Silaj ve kurutma örneklerinde IMO kalıntı analiz sonuçları

Zaman (gün)	IMO	
	Silaj örnekleri	Kurutma örnekleri
	Kalıntı Miktarı (mg/kg)	Kalıntı Miktarı (mg/kg)
0	0,006±0,001	0,006 ± 0,001 [e]
2	T.E.	0,006 ± 0,002 [de]
5	T.E.	0,013 ± 0,000 [a]
10	T.E.	0,009 ± 0,001 [c]
20	T.E.	0,008 ± 0,001 [cd]
45	T.E.	0,010 ± 0,001 [bc]
90	T.E.	0,008 ± 0,001 [c]
200	T.E.	0,012 ± 0,001 [ab]



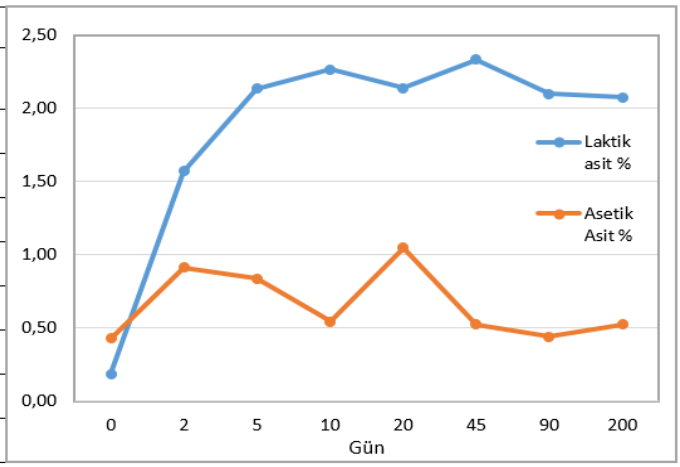
Şekil 4.24. Silaj ve kurutma örneklerinde IMO kalıntı miktarındaki değişim.

4.6. Organik Asit Analiz Sonuçları

Çalışmada yapılan silajların olgunlaşma ve olası bozulma durumlarının takip edilebilmesi amacıyla tüm örnekleme dönemlerinde laktik asit, asetik asit ve bütirik asit analizleri yapılmıştır. Deneme çalışmaları kapsamında açılan her silaj örneği kavanozundan iki paralel olarak organik asit analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizlerde hiçbir örnekte tespit edilebilir düzeyde (ölçüm limiti 120 mg/L) bütirik asite rastlanmamıştır. Bununla

birlikte örneklerin tümünde deneme süresince değişen miktarlarda laktik asit ve asetik asit tespit edilmiştir. Laktik asit miktarları tüm deneme gruplarında 2. örnekleme gününde yaklaşık %1,5 seviyesine ulaşmış 5. örnekleme gününde ise % 2 seviyesini geçerek deneme süresinde bu değerin üzerinde seyretmiştir. Asetik asit miktarları ise tüm deneme gruplarında 200 günlük çalışma boyunca %0,5 ile %1 arasındaki seviyelerde bulunmuştur. Üç farklı insektisit uygulanan deneme grupları ve insektisit uygulanmayan kontrol grubu örneklerinde tespit edilen laktik asit miktarları ($F_{3,3}$=0,273 P>0,05) ve asetik asit miktarları ($F_{3,3}$=1,6628 P>0,05) arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmamıştır. Diğer bir ifadeyle silajlara pestisitlerin bulaştırılmış olması organik asit oluşumunu etkilememiştir. CHL uygulanan silaj örneklerindeki laktik asit ve asetik asit analiz sonuçları ve bu sonuçların zamana karşı değişimleri Şekil 4.25'de görülmektedir.

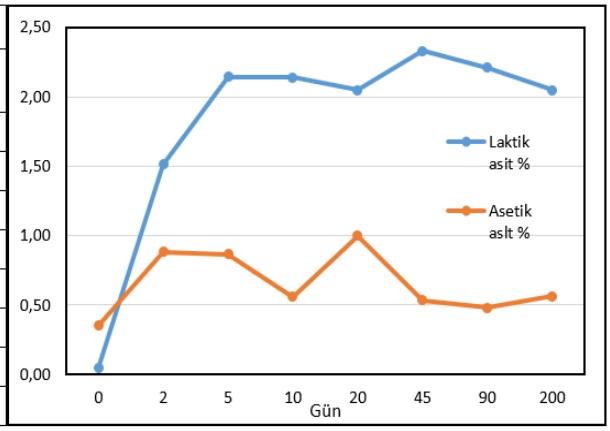
Chlorpyrifos		
Gün	Laktik Asit %	Asetik Asit %
0	0,19 ± 0,02	0,43 ± 0,03
2	1,57 ± 0,06	0,91 ± 0,06
5	2,13 ± 0,07	0,84 ± 0,03
10	2,27 ± 0,07	0,54 ± 0,03
20	2,14 ± 0,15	1,05 ± 0,13
45	2,33 ± 0,09	0,52 ± 0,01
90	2,10 ± 0,05	0,44 ± 0,05
200	2,08 ± 0,05	0,52 ± 0,06



Şekil 4.25. CHL uygulanan silaj örneklerindeki organik asit miktarı değişimi.

DEL uygulanan silaj örneklerindeki laktik asit ve asetik asit analiz sonuçları ve bu sonuçların zamana karşı değişimleri Şekil 4.26'de görülmektedir.

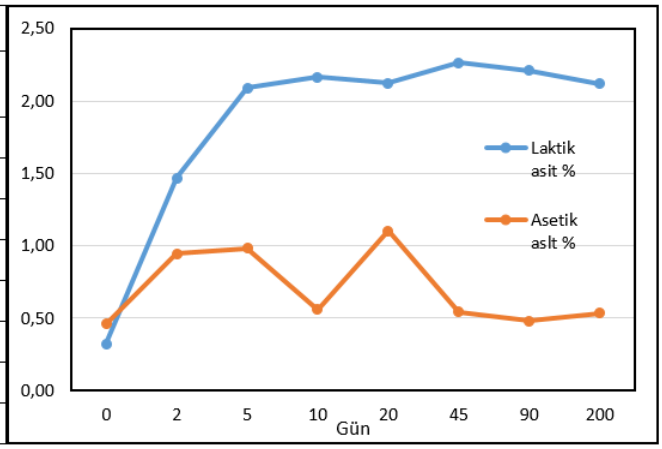
Deltamethrin		
Gün	Laktik Asit %	Asetik Asit %
0	0,04 ± 0,00	0,35 ± 0,01
2	1,51 ± 0,08	0,88 ± 0,01
5	2,14 ± 0,08	0,87 ± 0,01
10	2,14 ± 0,12	0,56 ± 0,05
20	2,05 ± 0,03	1,00 ± 0,04
45	2,33 ± 0,09	0,53 ± 0,01
90	2,21 ± 0,04	0,48 ± 0,02
200	2,05 ± 0,01	0,56 ± 0,01



Şekil 4.26. DEL uygulanan silaj örneklerindeki organik asit miktarı değişimi.

Imidacloprid grubu örneklerinin laktik asit ve asetik asit analiz sonuçları ve bu sonuçların zamana karşı değişimleri Şekil 4.27'de görülmektedir.

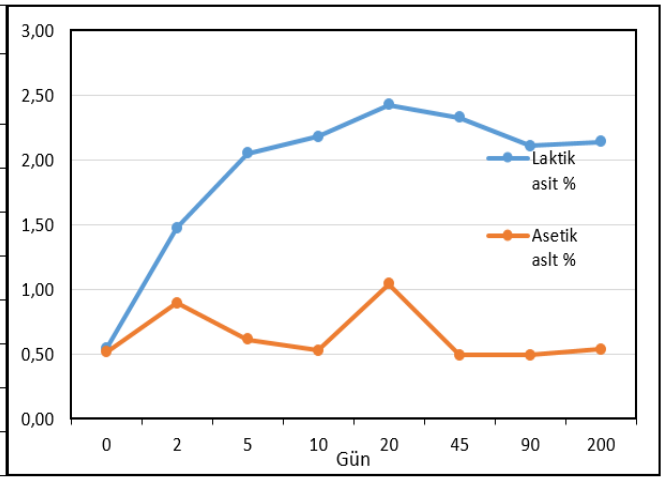
Imidacloprid		
Gün	Laktik Asit %	Asetik Asit %
0	0,32 ± 0,01	0,46 ± 0,02
2	1,47 ± 0,04	0,95 ± 0,03
5	2,09 ± 0,07	0,98 ± 0,09
10	2,16 ± 0,12	0,56 ± 0,03
20	2,12 ± 0,08	1,10 ± 0,04
45	2,27 ± 0,06	0,54 ± 0,02
90	2,21 ± 0,05	0,48 ± 0,03
200	2,12 ± 0,02	0,54 ± 0,04



Şekil 4.27. IMI uygulanan silaj örneklerindeki organik asit miktarı değişimi.

İnsektisit uygulanmayan kontrol grubu örneklerinin laktik asit ve asetik asit analiz sonuçları ve bu sonuçların zamana karşı değişimleri Şekil 4.28'de görülmektedir.

Kontrol		
Gün	Laktik Asit %	Asetik Asit %
0	0,54 ± 0,03	0,51 ± 0,15
2	1,47 ± 0,05	0,89 ± 0,07
5	2,05 ± 0,02	0,61 ± 0,21
10	2,18 ± 0,08	0,52 ± 0,01
20	2,43 ± 0,15	1,04 ± 0,08
45	2,33 ± 0,10	0,49 ± 0,01
90	2,11 ± 0,06	0,49 ± 0,07
200	2,14 ± 0,02	0,53 ± 0,04



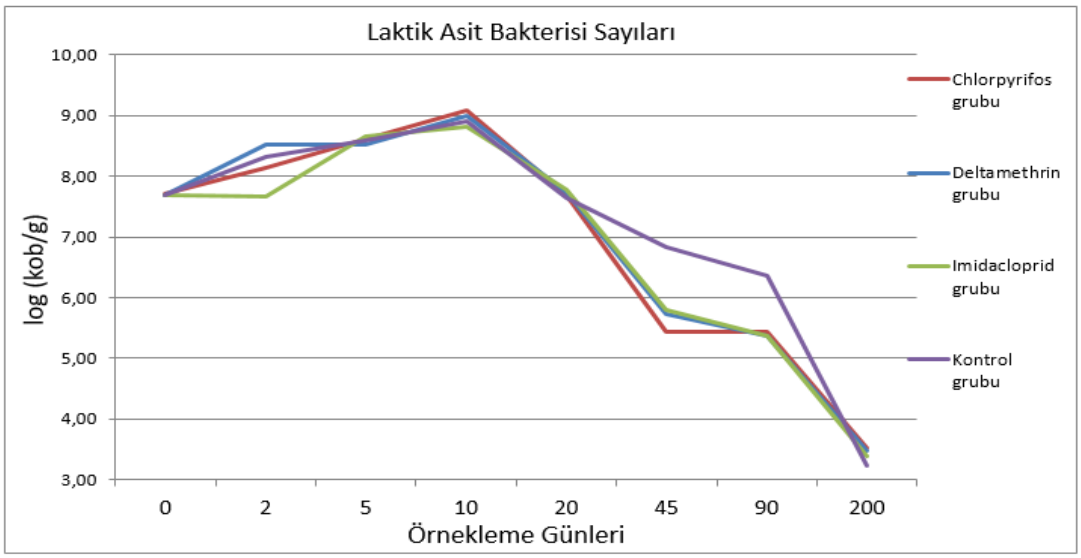
Şekil 4.28. İlaç uygulanmayan silaj örneklerindeki organik asit miktarı değişimi.

4.7. Silaj Örneklerinde Mikrobiyoloji Analiz Sonuçları

Deneme çalışmasında yapılan silajların mikrobiyal durumunun belirlenmesi amacıyla her örnekleme günüde açılan her 3 örnek kavanozundan birer adet mikrobiyoloji numunesi alınmıştır. Alınan örneklerde ikişer paralel olarak toplam laktik asit bakteri sayısı ve toplam mezofilik aerobik koloni sayısı analizleri yapılmıştır. Örneklerde yapılmış olan laktik asit bakterisi analizlerinin ortalama sonuçları Çizelge 4.57'de, bu sonuçların zamana karşı değişimlerini gösteren grafik ise Şekil 4.29'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde denemenin başlangıcında alınan örneklerde bulunan $\log_{10}$ 7,7 kob/g laktik asit bakterisi yükü denemenin 10. gününde tüm gruplarda yaklaşık $\log_{10}$ 9 kob/g seviyesi olan en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Denemenin 10. gününden sonra hızlı bir şekilde azalmaya başlayan LAB sayısının denemenin 200. gününde tüm gruplarda yaklaşık $\log_{10}$ 3,5 kob/g düzeyine kadar azaldığı tespit edilmiştir. Deneme süresince yapılan tüm analizlerden elde edilen LAB sayısı sonuçları istatistiki olarak değerlendirildiğinde pestisit uygulanmamış olan kontrol grubu ile pestisit uyugulanan 3 deneme grubu arasında önemli düzeyde bir fark oluşmadığı görülmektedir ($F_{3,3}$=1,4821 P>0,05).

Çizelge 4.57. Silaj örneklerindeki toplam laktik asit bakterisi sayıları

Laktik Asit Baktesi Sayısı log_{10} (kob/g)				
Örnekleme Günleri	Chlorpyrifos grubu	Deltamethrin grubu	Imidacloprid grubu	Kontrol grubu
0	7,70 ± 0,01	7,70 ± 0,01	7,70 ± 0,01	7,70 ± 0,01
2	8,14 ± 0,14	8,52 ± 0,14	7,68 ± 0,55	8,31 ± 0,08
5	8,61 ± 0,08	8,52 ± 0,14	8,67 ± 0,10	8,59 ± 0,04
10	9,08 ± 0,16	8,99 ± 0,08	8,81 ± 0,15	8,91 ± 0,29
20	7,70 ± 0,07	7,73 ± 0,09	7,78 ± 0,12	7,64 ± 0,07
45	5,44 ± 0,02	5,73 ± 0,11	5,79 ± 0,12	6,83 ± 0,12
90	5,44 ± 0,02	5,38 ± 0,22	5,36 ± 0,14	6,35 ± 0,23
200	3,53 ± 0,04	3,48 ± 0,04	3,40 ± 0,05	3,24 ± 0,13



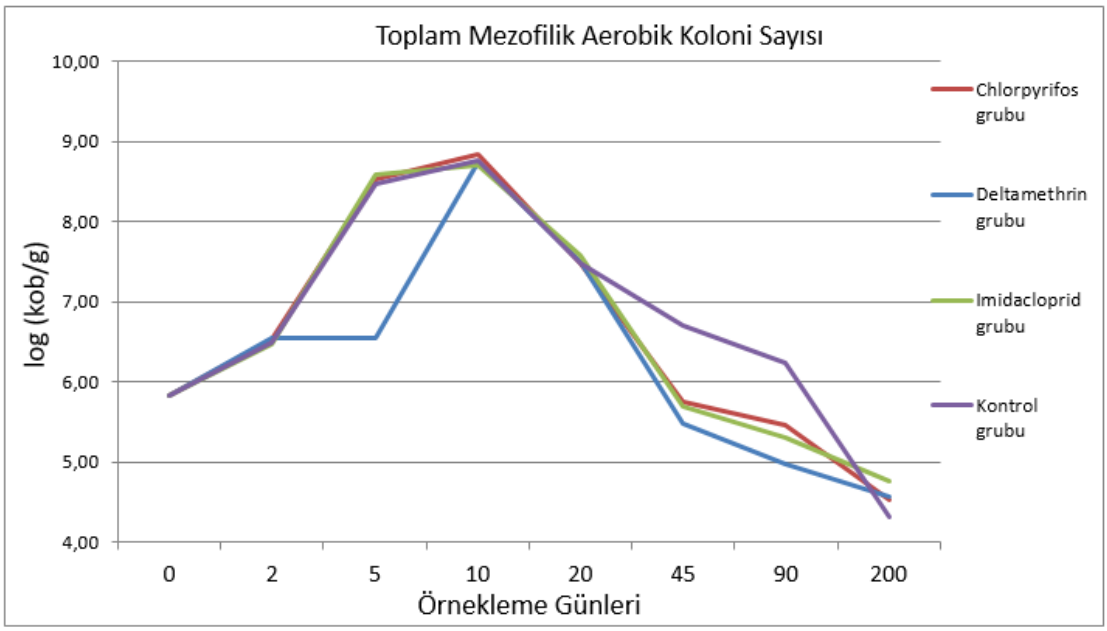
Şekil 4.29. Farklı ilaç uygulaması yapılan silaj örneklerindeki laktik asit bakteri değişimi

Deneme boyunca örneklerde yapılan toplam mezofilik aerobik koloni sayısı (AKS) analizlerinin ortalama sonuçları Çizelge 4.58'de verilmiştir. Sonuçların zamana karşı değişimleri ise Şekil 4.30'da görülmektedir. Yapılmış olan analizlerin sonuçlarına bakıldığında denemenin ilk gününde örneklerde AKS yükü tüm gruplarda yaklaşık log_{10} 5,8 kob/g seviyesinde tespit edilmiştir. LAB sayısı sonuçlarına benzer olarak denemenin 10. gününde AKS değerleri tüm deneme gruplarında log_{10} 8,8 kob/g olan en yüksek seviyelere ulaşmıştır. Denemin sonraki dönemlerinde bu değerin düşmeye başladığı ve deneme sonunda tüm gruplarda log_{10} 4,5 kob/g düzeyine azaldığı görülmüştür. Yine LAB

sonuçları ile benzer olarak pestisit uygulanmayan kontrol grubu ile pesitsit uygulanmış olan 3 deneme grubu arasında AKS yükü açısından istatistiki olarak önemli düzeyde fark bulunmadığı yapılan değerlendirme sonucunda görülmüştür ($F_{3,3}$=2,0619 P>0,05).

Çizelge 4.58. Silaj örneklerindeki toplam mezofilik bakteri sayıları

Toplam Mezofilik Aerobik Koloni Sayısı $\log_{10}$ (kob/g)				
Örnekleme Günleri	Chlorpyrifos grubu	Deltamethrin grubu	Imidacloprid grubu	Kontrol grubu
0	5,83 ± 0,02	5,83 ± 0,02	5,83 ± 0,02	5,83 ± 0,02
2	6,53 ± 0,04	6,55 ± 0,04	6,46 ± 0,06	6,49 ± 0,12
5	8,53 ± 0,07	6,55 ± 0,04	8,58 ± 0,04	8,46 ± 0,06
10	8,84 ± 0,07	8,75 ± 0,07	8,71 ± 0,04	8,76 ± 0,06
20	7,48 ± 0,02	7,50 ± 0,10	7,58 ± 0,04	7,47 ± 0,07
45	5,76 ± 0,67	5,49 ± 0,22	5,70 ± 0,04	6,70 ± 0,15
90	5,45 ± 0,58	4,98 ± 0,15	5,31 ± 0,05	6,24 ± 0,31
200	4,53 ± 0,01	4,57 ± 0,01	4,77 ± 0,01	4,32 ± 0,02



Şekil 4.30. Farklı ilaç uygulaması yapılan silaj örneklerindeki mezofilik bakteri değişimi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Tartışma

Çalışmadan elde edilen bulgular iki ayrı bölümde ele alınmıştır. İlk olarak deneme amacıyla yapılmış olan silajların fermantasyon süreci, olgunlaşma ve olası bozulma durumunun takibi için yapılmış olan pH, organik asit ve mikrobiyloji analizlerinden elde edilen bulgular değerlendirilmiştir. İkinci bölümde ise silaj ve kurutma uygulamalarından alınan örneklerde pestisit kalıntılarının degredasyon süreci ve pestisitlerin metabolitlerine dönüşüm durumları değerlendirilmiştir.

5.1.1. Silaj Fermantasyon Bulgularının Değerlendirilmesi

Deneme çalışmasında yapılmış olan silajların olgunlaşma durumlarının takibi için deneme süresince her örnekleme döneminde pH, organik asit (laktik asit, asetik asit ve bütirik asit) ve mikrobiyoloji analizleri (LAB ve AKS) yapılmıştır.

Çalışmada silaj yapılmadan önce pH değerlerinin her bir deneme grubunda 4,80 ila 4,90 arasında değiştiği belirlenmiştir. Silaj yapımından sonra 2. gün açılan örneklerde ise pH değerinin tüm uygulama gruplarında hızlıca 4'ün altına (3,92-3,94) düştüğü görülmektedir. Sonraki örnekleme günlerinde pH seviyelerinde önemli bir değişim olmadığı, pH değerlerinin 3,7 ile 3,9 arasında seyrettiği tespit edilmiştir. Seydoşoğlu ve Saruhan (2017) farklı silajlık mısır çeşitleri ile farklı hasat zamanlarında yaptığı çalışmada silajların pH değerlerinin çalışmamızda elde etmiş olduğumuz sonuçlar ile benzer olarak 3,7 ile 3,9 arasında değiştiğini bildirmektedir. Yine bu sonuçlara benzer olarak Kavut ve Soya (2015) tarafından yapılan çalışmada Ege bölgesinde farklı lokasyonlarda yetiştirilen 4 farklı mısır çeşidinden elde edilen silajlarda ölçülen pH değerlerinin 3,98 ile 4,04 arasında değiştiği bildirilmektedir. Filya (2005) ise yaklaşık olarak %26 kuru madde içeriği olan bir yeşil yemden yapılan silajda pH değerinin 4.0 olması ve siloya dışarıdan hava ve su girmemesi durumunda silajın teorik olarak sonsuza kadar saklanabileceğini bildirmektedir. Çalışmada elde edilen pH değerleri daha önce yapılmış olan çalışmalarda elde edilen bulgular ile karşılaştırıldığında sonuçların benzer

olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre deneme amacıyla yapılmış olan silajlarda fermantasyon sürecinin beklendiği şekilde gerçekleştiği anlaşılmaktadır.

Silaj içerisinde fermantasyon sürecinde oluşan organik asitler silaj kalitesi açısından oldukça önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalar silajın içeriğinde fermantasyon neticesinde oluşan laktik asit, asetik asit ve bütirik asit miktarları ile silajın kalitesi arasında sıkı bir ilişki bulunduğunu göstermektedir. Kılıç (1986) kaliteli bir silo yeminde laktik asit oranının %2'nin üzerinde olduğunu, asetik asit oranının ise %0,3-0,7 arasında en ideal düzeyde olduğunu bildirmektedir. Bunun yanında kaliteli bir silo yeminde bütirik asitin hiç istenmemekle birlikte %0,1-0,6 arasında ortalama bir değerde bulunabildiğini belirtmektedir. Demirel ve diğerleri (2001) Van koşullarında mısır ve macar fiği karışımından üretilen silajlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada silajlardaki asetik asit değerlerini %0,75-0,88 aralığında, laktik asit değerlerini %0,23-2,33 aralığında, bütirik asit değerlerini ise %0,075-0,23 bulmuşlardır. Yapmış olduğumuz çalışmada tespit edilmiş olan laktik asit değerleri %0,04-2,43 arasında değişirken asetik asit değerleri ise %0,35-1,1 arasında bulunmuştur. Yapılan silajlarında hiçbirinde bütirik asit tespit edilememiştir. Elde edilen organik asit bulguları incelenlendiğinde sağlıklı bir silaj üretimi gerçekleştirildiği anlaşılmaktadır. Deneme silajlarında tespit edilen organik asit miktarlarının daha önce yapılmış çalışmalar ile uyumlu olduğu görülmektedir. Laktik asit oranlarının denemenin 5. gününden itibaren kaliteli bir silaj için gerekli olan %2 oranını aştığı ve deneme sonuna kadar bu seviyenin üzerinde kaldığı görülmektedir. Asetik asit oranlarının ise ideal aralık olarak belirtilmekte olan %0,3-0,7 aralığını denemenin ikinci, beşinci ve yirminci günlerinde bir miktar aştığı ancak diğer örnekleme günlerinde bulunan sonuçların uyun düzeylerde olduğu görülmektedir. Deneme süresince asetik asit oranlarının %1 düzeyinin üzerine çıkmadığı; yirminci günden sonra alınan sonuçların %0,5 civarında sabit olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre silajların fermantasyon sürecinde herhangi bir sorun oluşmadığı, %1 düzeylerinde alınan sonuçların analize bağlı olarak gerçekleşen sapmalardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Denemede yapılmış olan silajların mikrobiyolojik durumunun izlenmesi amacıyla tüm örnekleme günlerinde açılan silaj örneklerinde LAB ve AKS analizleri

gerçekleştirilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları incelendiğinde denemenin ilk gününde örneklerde tespit edilen log_{10} 7,7 kob/g laktik asit bakterisi sayısı 10. günde tüm gruplarda en yüksek seviye olan yaklaşık log_{10} 9 kob/g düzeyine ulaşmıştır. Aerobik mezofilik koloni sayısı sonuçları incelendiğinde durumun benzer olduğu görülmektedir. Denemenin ilk gününde log_{10} 5,83 kob/g olan AKS sonuçları yine 10. günde en yüksek seviye olan log_{10} 8,84 kob/g düzeyine ulaşmıştır. Denemenin 10. gününden sonra LAB ve AKS değerlerinin hızlı bir şekilde azalmaya başlamıştır. Denemenin 200. gününde tüm gruplarda LAB sayılarının yaklaşık log_{10} 3,5 kob/g düzeyine, AKS sonuçlarının ise yaklaşık log_{10} 4,5 kob/g düzeyine kadar gerilediği görülmektedir. Filya (2003)'nın düşük kuru madde içeriğine sahip mısır silajları ile yaptığı bir çalışmada ise bu çalışmadan farklı olarak 2. günde log_{10} 5,25 kob/g olan LAB sayısı 90. günde en yüksek düzey olan log_{10} 8,35 kob/g seviyesine ulaşmıştır. Filya ve Sucu (2010)'nun yine mısır silajı ile yaptığı bir diğer çalışmada ise bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzer olarak başlangıç örneklerin LAB sayısı log_{10} 5,66 kob/g seviyesinde bulunurken denemenin 12. gününde bu sayı log_{10} 8,30 kob/g yükselmiş, 90. günde ise log_{10} 5,92 kob/g düzeyine gerilemiştir.

Deneme silajlarının pH, organik asit ve mikrobiyoloji analizlerinden elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde sonuçların birbiri ile uyumlu olduğu görülmektedir. Denemenin ilk 10 günlük döneminde pH değerlerinin tüm gruplarda yaklaşık 3,8 düzeylerine kadar düştüğü görülmektedir. Bu dönemden sonra silaj ortamında AKS ve LAB sayılarında artış olmadığı hatta ortamda oluşan asitliğe bağlı olarak düşüş başladığı görülmektedir. Buna uygun olarak sonraki dönemlerde pH değerlerinin de yaklaşık 3,8 düzeyinde kaldığı herhangi bir artış ya da azalma olmadığı görülmektedir. Yine mikrobiyal faaliyetin en yoğun olduğu ilk 10 günlük periyotta laktik asit ve asetik asit miktarlarının tüm gruplarda tespit edilen en yüksek düzeylere (sırasıyla yaklaşık %2,2 ve %1) ulaştığı, mikrobiyal faaliyetin gerilediği sonraki dönemlerde ise aynı düzeylerde seyrettiği görülmüştür.

Çalışmadan elde edilen asitlik (pH), organik asit, AKS ve LAB analiz sonuçları istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde pesitisit eklenen silajlar ile kontrol örnekleri arasında pH değerleri yönünden önemli bir farklılık oluşmadığı görülmüştür. Bu durum

silajlara eklenen pesitisitlerin fermantasyon faaliyeti üzerinde olumlu yada olumsuz herhangi bir etki oluşturmadığı şekilinde değerlendirilmektedir.

5.1.2. Pestisitlerde Gerçekleşen Degredasyon ve Metabolit Oluşumunun Değerlendirilmesi

Bu bölümde çalışmada ele alınan 3 insektisitin deneme süresince yapılan analizlerden elde edilen bulguları ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Chlorpyrifos (CHL) ana molekülüne ait analiz sonuçları incelendiğinde örneklerin içerdiği kalıntı miktarlarında önemli azalmalar olduğu görülmüştür. CHL'nin ilk gün analizlerine kıyasla 200. gün analiz sonuçlarına bakıldığında silaj örneklerinde %46, kurutma örneklerinde ise %67 oranında azalmış olduğu görülmektedir. Diğer bir ifadeyle silaj yapılırken hammadde ile silaj ortamına taşınması muhtemel CHL kalıntılarının 200 günlük periyot sonunda yarısından fazlası degredasyona uğramadan kalırken, aerobik koşullarda kurumaya bırakılan örneklerdeki CHL miktarının ise yaklaşık üçte birinin bozunmadan kaldığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar CHL'nin kolay buharlaşabilen bir yapıda olduğunu göstermektedir. Chen ve diğerleri (1994) bitkiler üzerinde yapılan deneylerde yapraktan uygulanan CHL'nin kısa kalıntı ömürlü olmasındaki en önemli faktörün kolayca buharlaşması olduğunu bildirmektedir. Yine Eaton ve diğerleri (2008) CHL'nin kolayca buharlaşan yapısı nedeniyle yapraklara uygulandıktan sonra hızla kaybolduğunu bildirmekedir. Çalışmamızda kurutma örneklerinde silaj örneklerine göre CHL miktarında görülen azalmanın daha fazla olmasının literatürde verilen bilgilere paralel olarak evaporasyon kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Silaj örneklerinde ise ortamın tamamen kapalı olması ve evaporasyon yoluyla uzaklaşma olamaması nedeniyle kalıntı miktarındaki azalmanın daha az olduğu düşünülmektedir. CHL molekülünün degredasyonundaki diğer bir önemli etken ise hidrolizdir. Yapılan pek çok çalışmada CHL'nin düşük pH ortamında alkali şartlara göre hidrolizinin daha yavaş olduğu bildirilmektedir (Racke, 1993). Örneğin Meikle ve Youngson (1978) distile su içerisinde 25^{o}C'de pH 8,1, 6,9 ve 4,7 seviyelerinde yaptıkları denemede CHL'nin yarılanma ömrünü sırasıyla 22,8, 35,3 ve 62,7 gün olarak bulmuşlardır. Yapmış olduğumuz deneme silajlarında ölçülen pH değerlerinin 2. gün itibariyle 4'ün altına düştüğü göz önüne

alındığında fermantasyon ortamında azalan pH koşulları nedeniyle CHL'nin degredasyonunun kurumaya bırakılan örneklere göre daha yavaş gerçekleştiği düşünülmektedir.

Çalışmada elde edilen verilerde dikkat çeken diğer bir durum ise silaj örneklerindeki CHL miktarının çalışmanın erken dönemlerinde kurutma örneklerine göre daha hızlı azalmış olmasıdır. Silaj örneklerinde 2. günde gerçekleşen azalma kurutma örneklerinde ancak 20. gün aynı düzeye ulaşmıştır. Daha sonra kurutma örneklerin azalma devam etmiş ancak silaj örneklerinde CHL miktarı önemli düzeyde değişmemiştir. Çalışmanın ilk döneminde elde edilen mikrobiyoloji analizi sonuçları AKS ve LAB sayılarının bu dönemde hızla arttığını göstermiştir. Yapılan pek çok çalışmada laktik asit bakterilerinin hem enzimatik yolla hem de pestisitleri karbon kaynağı olarak kullanarak pestisitlerin degredasyonunda etkili olduklarını göstermektedir (Cho vd., 2009; Choi vd., 2004; Islam vd., 2010; Kumral & Kumral, 2013; Kumral vd., 2020). Silaj örneklerindeki CHL miktarında denemenin erken döneminde görülen ani azalmanın mikrobiyal faaliyet sonucunda gerçekleştiği, devam eden dönemde ise azalan pH sebebiyle CHL miktarındaki azalmanın durduğu anlaşılmaktadır. Buna karşın kurutma örneklerinde deneme sürecinde devam eden bir azalma görülmüştür.

Degradasyon çalışmasında en yakın örnekleme günü olan 90. gün (~13 hafta) verilerine göre CHL'nin azalma oranı %47 olarak gerçekleşmiştir. Zhang ve diğerleri (2016)'nin mısır silajında chlorpyrifos ve phorate'ın degredasyonuna ilişkin yaptıkları çalışmada silaj yapımı öncesi örneklere 0,36 mg/kg düzeyinde pestisit spike edilmiştir. Spike yapıldıktan 10 hafta sonra gaz kromatografi ile yapılan analizlerde CHL'nin %27,6 düzeyinde azaldığını belirlemişlerdir. Sonuçlar karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda degredasyon oranı daha fazla olmuştur. Çalışmalar arasındaki farklılık ortam koşullarından (pH ve mikrobiyal yük) veya cihaz ölçüm hassasiyetinden kaynaklanmış olabilir.

Bu tez çalışması kapsamında CHL'nin metabolitlerine dönüşümüne baktığımızda ise, CO yalnızca ilk gün örneklerinde 0,012 mg/kg tespit edilmiş, bu miktar 2. gün silaj örneklerinde ise 0,002 mg/kg düşmüş ve daha sonra tespit edilememiştir. Bu durumun

CO'nun hızlı bir şekilde hidrolize uğramasına bağlı olduğu düşünülmektedir. DP metabolitinin en yüksek miktarları kurutma örneklerinin 200. gününde (0,064 mg/kg) ve silaj 90. gün örneklerinde (0,024 mg/kg) belirlenmiştir. Silaj örneklerinde DTP tespit edilememiştir. Kurutma uygulamasında en yüksek DTP konsantrasyonu 90. gün örneklerinde (0,130 mg/kg) bulunmuştur. Bir diğer metabolit TCP miktarları ise yine kurutma örneklerinde silaj örneklerine göre yüksek bulunmuştur. En yüksek TCP konsantrasyonu kurutma uygulamasının 90. ve 200. gün örneklerinde tespit edilmiştir. Deneme süresince silaj örneklerinde tespit edilen TCP miktarları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmazken kurutma uygulamasına göre silaj uygulamasında daha az miktarda TCP tespit edilmiştir.

Deneme başlangıcında ve son örnekleme gününde analizlerinden elde edilen CHL ana molekülü ve metabolitlerine ait sonuçlar incelendiğinde kurutma örneklerinde silaj uygulamasına kıyasla hem miktar hem de sayı bakımından daha fazla metabolit tespit edilmiştir. Bu durumun fermantasyon ortamındaki mikrobiyal faaliyetin denemenin ilk günlerinde hızlı bir şekilde artmasına ve buna bağlı olarak da ortam pH'sının hızlı bir şekilde düşmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Düşük pH şartlarında CHL molekülünün degredasyonu çok daha az olduğundan deneme boyunca tespit edilen TCP miktarları önemli düzeyde değişim göstermemiştir. Degredasyon sürecinde CHL bir yandan oksidasyon etkisiyle CO'ya dönüşmekte diğer yandan ise hidroliz etkisiyle DP ve TCP' ye dönüşmektedir. Oksidasyon yoluyla oluşan CO ise yine hidroliz yoluyla TCP'ye dönüşmektedir (Supreeth & Raju, 2017). Silaj ortamında düşük pH nedeniyle hidroliz çok azaldığından TCP oluşumu kurutma örneklerine göre oldukça düşük düzeyde gerçekleşmiştir. Sonuç olarak silaj ortamı ile açık ortam şartları ile kıyaslandığında, CHL degradasyon sürecini hızlandırıcı bir etkisi olmadığı ve gerçekleşen degredasyon sonucunda çalışmada araştırılan metabolitlerin oluşumunu arttırma yönünde herhangi bir etkisi bulunmadığını göstermektedir.

Deltamethrin (DEL) analizlerinden elde edilen bulgular bu pestisitin deneme sürecindeki azalma oranlarının her iki uygulama örneklerinde de benzer seviyelerde olduğunu göstermiştir. Denemenin son örnekleme günü olan 200. gün kurutma ve silaj örneklerinde tespit edilen DEL kalıntısı miktarları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır. Kurutma örneklerinde 200. gün ilk güne oranla DEL kalıntı miktarı

% 55 azalırken silaj örneklerinde yaklaşık olarak aynı azalma oranı 45. günde (% 54) tespit edilmiştir. Silaj uygulamasında 90. ve 200. gün örneklerinde kalıntı miktarında bir miktar artış tespit edilmiş ancak bu değişim istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır. Gerçekleşen artışın analizden ve örneklemeden kaynaklanan belirsizliğe bağlı olduğu düşünülmektedir. Deltamethrinin degredasyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada su içerisinde, 25 ^{o}C sıcaklıkta, pH 5 ve 7 koşullarında kayda değer bir degredasyona uğramadığını, pH 9 olması durumunda ise yarılanma ömrünün 2,5 güne düştüğünü göstermiştir. Bu koşullarda iz miktarda 3-phenoxybenzaldehyde ve (1R-cis)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2- dimethylcyclopropanecarboxylic acid (Br_2CA) metabolitleri tespit edilmiştir. Bu çalışma abiyotik hidrolizin pH yüksek olmadıkça deltamethrinin degredasyonuna fazla etkili olmadığını ve düşük pH koşullarında deltamethrinin oldukça stabil olduğunu göstermektedir. Deltamethrinin fotoliz ile yarılanma ömrünün ise 48 saat olduğu bildirilmektedir (MacLachlan, 2002). Yapmış olduğumuz çalışmada silaj örnekleri karanlık şartlarda muhafaza edilmiştir. Kurutma örnekleri ise oldukça az ışık alan bir ortamda muhafaza edilmiştir. Örnekler doğrudan ışığa maruz kalmadığından çalışmada fotodegredasyonun fazla etkili olamadığı düşünülmektedir. Buna ek olarak her iki örnek grubunda da başlangıç pH değerlerinin 5'in altında olduğu görülmektedir. Silaj örneklerinde 2. günden sonra ise pH değeri 4'ün altına düşmüştür. Bu bilgiler birlikte değerlendirildiğinde çalışmada 200 günlük deneme süreci sonunda deltamethrinin her iki örnek grubunda da azalma oranının benzer olarak %50 civarında kalmış olmasının pH ve ışık koşulları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

DEL metabolitlerinden 4PBA kalıntısı hiçbir örnekte tespit edilmemiştir. 3PBA kalıntısı ise yalnızca kurutma örneklerinde tespit edilmiş ve deneme süresince tespit edilen miktarlar önemli düzeylerde artmıştır. Çalışmanın 200. gününde yapılan örneklemede 0,259 mg/kg ile en yüksek miktarda 3PBA tespit edilmiştir. Benzer olarak, fermantasyon uygulamasının DEL kalıntısı azalışı üzerine hızlandırıcı bir etkisi bulunmadığı tespit edilmiştir. Yine aynı şekilde bir miktar metabolit oluşumu kurutma şartlarında gözlenmiş ancak silaj ortamında herhangi bir metabolit oluşumu gözlenmemiştir. Liu ve diğerleri (2010) deltamethrinin başlıca fotodegredasyon ürünlerinden birisinin 3PBA olduğunu bildirmektedir. MacLachlan (2002) ise

deltamethrin ana molekülünün sulu ortamlarda biyodegredasyonunun oldukça yavaş olduğunu, bununla birlikte 3PBA'nın mikrobiyal bozunmaya karşı Br_2CA'ya göre muhtemelen daha hassas olduğunu bildirmektedir. Buna göre kurutma örneklerinde bir miktar 3PBA tespit edilmesinin fotodegredasyona bağlı olabileceği düşünülmektedir. Silaj örneklerinde ise pH daha düşük oluğu için ve örnekler karanlık şartlara bulunduğu için metabolit oluşumunun daha zor olacağı ve bir miktar metabolit oluşmuş olsa bile mikrobiyal faaliyet sonucunda degredasyona uğradığı için tespit edilemediği değerlendirilmektedir.

Imidacloprid (IMI) uygulanan gruplarda kurutma ve silaj uygulamalarının örneklerdeki IMI kalıntı miktarının azalışı üzerine etkilerinin istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklı olduğunu göstermiştir. Denemenin 200. gününde alınan örneklerde denemenin başlangıcına kıyasla kurutma uygulamasında IMI kalıntı miktarında %61 oranında azalma gerçekleşirken silaj uygulaması örneklerinde bu oran %31 seviyelerinde kalmıştır. En düşük IMI kalıntı miktarı her iki uygulamada da 200. gün örneklerinde tespit edilmiştir. Bu miktar kurutma örneklerinde 1,50 mg/kg olurken silaj örneklerinde ise 2,73 mg/kg olmuştur. Yapılan çalışmalar imidaclopridin yarılanma ömrünün düşük pH değerlerinde uzarken yüksek pH değerlerinde ise azaldığını ve hidrolize bağlı yarılanma ömrünün pH 7 ve 25 ^{o}C koşullarında 30 günün üzerinde olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte sulu ortamlarda fotolize bağlı yarılanma ömrünün ise 3 saatten az olduğunu göstermektedir (Fossen, 2006). Sarkar ve diğerleri (1999) aynı sıcaklık ve pH koşullarında yarılanma ömrünü 33-44 gün olarak bildirirken, Zheng ve Liu (1999) nötr su ortamında 3 aylık dönemde %1,5'dan azının hidrolize uğradığını, yarılanma ömrünün pH 10,8'de 20 gün, pH 11,8'de ise 2,85 gün olduğunu bildirmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada literatürde verilen bilgiler ile uyumlu olarak daha düşük pH değerine sahip olan fermantasyon ortamında imidaclopridin azalmasının daha yavaş olduğu görülmüştür. Kurutma örneklerinde ise hem pH'nın biraz daha yüksek oluşu hemde ışığa daha fazla maruz kalmaya bağlı olarak fotoliz etkisiyle daha fazla azalma olduğu düşünülmektedir. Kumral ve diğerileri (2020)'nin sofralık siyah zeytinlerin farklı işleme tekniklerine ilişkin olarak yaptıkları bir çalışmada imidaclopridin fermantasyona bağlı azalışının yapmış olduğumuz çalışma ile uyumlu olarak oldukça sınırlı gerçekleştiğini bildirmektedir.

Çalışmada IMI'nin metabolitlerinden olan IMO silaj uygulamasında yalnızca ilk gün örneklerinde 0,006 mg/kg düzeyinde tespit edilebilmiştir. Kurutma uygulamasında ise her uygulama döneminde 0,006 ile 0,013 mg/kg arasında değişen miktarlarda tespit edilmiştir. Çalışmada IMI'nin diğer 3 metaboliti tespit edilememiştir. Ding ve diğerleri (2011) yapmış oldukları çalışmada imidacloprid fotodegredasyon ürünleri olarak miktar açısından sırasıyla imidacloprid urea, imidacloprid olefin ve imidacloprid desnitro'yu tespit etmişlerdir. Buna göre yapmış olduğumuz çalışmada kurutma örneklerinde tespit edilen az miktarda IMO'nun örneklerin kısıtlı da olsa ışığa maruz kalmaları neticesinde oluşan fotodegredasyon kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Saha örneklemesi amacıyla İnegöl ve Mustafakemalpaşa ilçelerinin toplam 9 farklı köyden alınan 32 silaj örneğinde çalışmada ele alınan pestisitler ve metabolitlerinin kalıntılarına rastlanmamıştır. Bu durum örnekleme sayısı, örneklerin alındığı tarlalarda bu ilaçların kullanılma durumu, pestisitlerin uygulama dozları veya hasat öncesi bekleme süreleri gibi koşullardan kaynaklanmış olabilir.

5.2. Sonuç

Bu tez çalışmasında mısır bitkilerinin üzerinde farklı insektisitlerin kalıntılarının bulunmasının oluşturduğu bazı riskler ortaya konmuştur. Uygulanan insektisit etken maddesine ve mısırın saklanma veya işlenme koşuluna bağlı olarak farklılıkların oluşabileceği ortaya konmuştur. Çalışmada ele alınan her üç insektisitin de daha önceki çalışmalar ile uyumlu olarak alkali koşullarda daha hızlı dekompoze olduğu buna karşın asidik koşullarda ise daha stabil kaldıkları belirlenmiştir. CHL'nin silaj fermentasyonunun yoğun olduğu dönemde mikrobiyal faaliyetin etkisi ile nispeten daha hızlı bozunduğu tespit edilmiştir. Degredasyon hızındaki artışın sebebinin bakterilerin CHL'nin enzimatik yolla parçalanmasına neden olmaları, bununla birlikte CHL'yi karbon kaynağı olarak kullanmaları olduğu düşünülmektedir. DEL için silaj ortamı ile kurutma ortamı arasında bozunma hızı açısında herhangi bir fark oluşmadığı belirlenmiştir. Bu durumun DEL'in çalışmada belirlenen pH seviyelerinde oldukça stabil olmasına ve biyodegredasyonunun oldukça yavaş olmasına bağlı

olduğu tespit edilmiştir. IMI diğer iki pestisite kıyasla silaj ortamında daha stabil kalmıştır. Ancak fotodegredasyona duyarlı olması nedeniyle kurutma örneklerinde azalma daha fazla olmuştur.

Çalışmada elde edilen metabolit bulguları incelendiğinde her üç pestisit için de tespit edilen metabolit miktarlarının oldukça düşük olduğu görülmektedir. Ancak DEL ve IMI için tespit edilen miktarları CHL'ye göre çok daha düşük olmuştur. Bu durum DEL ve IMI'nin çalışmada incelenen metabolitlerinin silaj ve kurutma ortamlarında hem çok az miktarda oluştuğunu hem de oluşan metabolitlerin de hızla bozunduğunu ortaya koymuştur. CHL'nin hidrolizi sonucunda oluşan TCP en yüksek miktarda tespit edilen metabolit olmuştur. Ancak bu metabolitin miktarı da 1 mg/kg'ın altında kalmıştır. Sonuç olarak tespit edilen metabolit miktarları pestisitlerde meydana gelen azalmayı açıklamaktan oldukça uzak olmuştur. Bu durum özellikle tamamen kapalı olan silaj ortamı için pestisitlerin dekompoze olan kısımlarının ya mineralize olduğu ya da başka metabolitlere dönüştüğü şeklinde yorumlanmıştır. Buna bağlı olarak bundan sonra yapılacak benzer çalışmalarda olası diğer metabolitlerin de incelenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde bu pestisit kalıntılarını içeren hammadde ile yapılabilecek mısır silajlarında, kullanım sürelerin sonuna kadar başlangıçtaki kalıntı miktarının yaklaşık olarak yarısının korunduğu görülmektedir. Silaj ortamında pestisit kalıntılarının bulundukları çevrede azalmalarındaki en önemli mekanizmalar olan yıkanma, süzülme, buharlaşma, fotodegredasyon gibi ihtimaller bulunmaması ve buna ek olarak birçok pestisit kalıntısının fermantasyonun neden olduğu düşük pH koşullarında daha stabil olması nedeniyle, silajın pestisit kalıntılarının degredasyonu açısından dezavantajlı bir yem olabileceği öngörülmektedir. Bu nedenle üretim aşamalarında pestisit kullanıldığında hasat öncesi beklenmesi gereken sürelere dikkat edilmesi çok önemlidir. Her nekadar saha örneklerinde hiçbir ana molekül ve onların metabolitleri rastlanmasa da; bu tip bir potansiyel riskin olduğu düşünülerek, gıda ürünlerinde olduğu gibi yem ürünlerinde de hasat öncesi bekleme süresine dikkat edilmesi önemli bulunmuştur.

KAYNAKÇA

Açar, Ö. Ç., & Diler, F. (2018). *Pestisit Analizleri İçin Metot Validasyonu ve Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması Açıklamalı Uygulama Rehberi*.

Akhtar, M. H., Danis, C., Trenholm, H. L., & Hartin, K. E. (1992). Deltamethrin residues in milk and tissues of lactating dairy cows. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, *27*(3), 235–253. https://doi.org/10.1080/03601239209372777

Akhtar, M. H., Hartin, K. E., & Trenholm, H. L. (1986). Fate of [14C]deltamethrin in lactating dairy cows. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *34*(4), 753–758. https://doi.org/10.1021/jf00070a041

Aksoy, H. A., & Bahadiroğlu, C. (2012). Mısır Koçan Kurdu , Sesamia nonagrioides Lefebvre (Lepidoptera: Noctuidae) ve Mısır Kurdu, Ostrinia nubilalis Hübner (Lepidoptera: Pyralidae)' e Karşı Bazı Alternatif Mücadele Yöntemlerinin Değerlendirilmesi. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, *1*(2), 127–136.

Alçiçek, A., & Özkan, K. (1996). Silo Yemlerinde Destilasyon Yöntemi ile Süt Asidi, Asetik Asit ve Bütirik Asit Tayini. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *33(2-3)*, 191–198.

Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M. R., & Martínez, M. A. (2009). Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. *Veterinary Journal*, *182*(1), 7–20. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.04.008

Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of AOAC International*, *86*(2), 412–431. https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412

Anonim. (2017). *Bitki Koruma Ürünleri Veri Tabanı*. https://bku.tarimorman.gov.tr/BKURuhsat/Index?csrt=8486648767066503200

Anonim. (2022a). *Bitki Koruma Ürünleri Veri Tabanı*. https://bku.tarimorman.gov.tr/AktifMadde/YasakliKisitliExcelFileList?csrt=5233069993666388229

Anonim. (2022b). *Bitki Koruma Ürünleri Veri Tabanı*. https://bku.tarimorman.gov.tr/Kullanim/TavsiyeArama?csrt=2180056698204950497&undefined=undefined

Anonim. (2022c). *Pesticide Properties DataBase-Chlorpyrifos*. http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/154.htm

Anonim. (2022d). *Pesticide Properties DataBase-Deltamethrin*. http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/205.htm

Anonim. (2022e). *Pesticide Properties DataBase-Imidacloprid*. http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/397.htm

B. Magnusson and U. Örnemark (eds.). (2014). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics: Second edition (2014)*.

Bai, D., Lummis, S. C. R., Leicht, W., Breer, H., & Sattelle, D. B. (1991). Actions of imidacloprid and a related nitromethylene on cholinergic receptors of an identified insect motor neurone. *Pesticide Science*, *33*(2), 197–204. https://doi.org/10.1002/ps.2780330208

Bal, M. A., Coors, J. G., & Shaver, R. D. (1997). Impact of the Maturity of Corn for Use as Silage in the Diets of Dairy Cows on Intake, Digestion, and Milk

Production. *Journal of Dairy Science*, *80*(10), 2497–2503. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76202-7

Banasiak, U. (2000). Imidacloprid (206). *Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry (BBA)*, *206*, 687–1007. http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation02/IMIDA_EVjjb.pdf

Basmacıoğlu, H., & Ergül, M. (2002). Silaj Mikrobiyolojisi. *Hayvansal Üretim*, *43*(1), 12–24. http://dergipark.gov.tr/hayuretim/issue/7629/99936

Buck, G. R., Merrill, W. G., Coppock, C. E., & Slack, S. T. (1969). Effect of Recutting and Plant Maturity on Kernel Passage and Feeding Value of Corn Silage. *Journal of Dairy Science*, *52*(10), 1617–1623. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(69)86803-7

Calinawan, A., Mendoza, C. S., & Adarna, L. (2016). Preliminary Study on Deltamethrin Residues in Cabbage , Soil and Water from Dalaguete , Cebu ,. *KIMIKA*, *27*(1), 1–11.

Çarpıcı, E. B. (2016). Bursa koşullarında ikinci ürün olarak yetiştirilebilecek bazı silajlık mısır çeşitlerinin ot verimi ve kalitesi üzerine bir araştırma. *Derim*, *33*(2), 297–306. https://doi.org/10.16882/derim.2016.267913

Cerit, İ., Güllü, M., Sarıhan, H., Kanat, A. D., Türkay, M. A., & Uçak, A. B. (2006). Mısır Kurdu (Ostrinia nubilalis Hübner)(Lepidoptera: Crambidae) ve Mısır Koçan Kurdu (Sesamia nonagrioides Lefebvre)(Lepidoptera: Noctuidae)'na Dayanıklı Transgenik Mısır Çeşidi Pioneer 33P67 (MON 810) Bt'nin Alan Denemesi. *Projesi Sonuç Raporu, Adana*.

Chen, J. L., Horne, P. A., Jackson, W. R., Lichti, G., & Park, D. (1994). Volatility control for foliage-applied chlorpyrifos by using controlled release emulsions. *Journal of Controlled Release*, *29*(1–2), 83–95. https://doi.org/10.1016/0168-3659(94)90124-4

Chen, Z., Dong, F., Xu, J., Liu, X., & Zheng, Y. (2015). Management of pesticide residues in China. *Journal of Integrative Agriculture*, *14*(11), 2319–2327. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61110-8

Cho, K. M., Math, R. K., Islam, S. M. A., Lim, W. J., Hong, S. Y., Kim, J. M., Yun, M. G., Cho, J. J., & Yun, H. D. (2009). Biodegradation of Chlorpyrifos by Lactic Acid Bacteria during Kimchi Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(5), 1882–1889. https://doi.org/10.1021/jf803649z

Choi, Y. J., Miguez, C. B., & Lee, B. H. (2004). Characterization and Heterologous Gene Expression of a Novel Esterase from Lactobacillus casei CL96. *Applied and Environmental Microbiology*, *70*(6), 3213–3221. https://doi.org/10.1128/AEM.70.6.3213-3221.2004

Demirel, M., Cengiz, F., Çelik, S., & Erdoğan, S. (2001). Van Ekolojik Koşullarında Yetiştirilen Mısır ve Macar Fiği Karışımlarının Silaj Kaliteleri ve Besin Maddelerinin Rumende Parçalanabilirlikleri Üzerine Bir Araştırma. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)*, *11*(1), 69–78.

Ding, T., Jacobs, D., & Lavine, B. K. (2011). Liquid chromatography-mass spectrometry identification of imidacloprid photolysis products. *Microchemical Journal*, *99*(2), 535–541. https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.07.005

Döğen, E. (2008). Karma Yemlerde Pestisit Düzeylerinin Belirlenmesi. İçinde *T.C. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Koleksiyonu*.

Đorđević, T. M., Šiler-Marinković, S. S., Đurović, R. D., Dimitrijević-Branković, S. I., & Gajić Umiljendić, J. S. (2013). Stability of the pyrethroid pesticide bifenthrin in milled wheat during thermal processing, yeast and lactic acid fermentation, and storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *93*(13), 3377–3383. https://doi.org/10.1002/jsfa.6188

Eaton, D. L., Daroff, R. B., Autrup, H., Bridges, J., Buffler, P., Costa, L. G., Coyle, J., McKhann, G., Mobley, W. C., Nadel, L., Neubert, D., Schulte-Hermann, R., & Spencer, P. S. (2008). Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. *Critical Reviews in Toxicology*, *38*(SUPPL.2), 1–125. https://doi.org/10.1080/10408440802272158

Fagnani, R., Beloti, V., Battaglini, A. P. P., da Dunga, K. S., & Tamanini, R. (2011). Organophosphorus and carbamates residues in milk and feedstuff supplied to dairy cattle. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, *31*(7), 598–602. https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011000700009

FAO. (2000). *Assessing soil contamination A reference manual*. FAO Pesticide Disposal Series 8. https://www.fao.org/3/x2570e/X2570E06.htm

FAO. (2013). *FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides*. https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/Imidacloprid_2013.pdf

FAO. (2022a). *Crops and livestock products*. https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL

FAO. (2022b). *Pesticides Use*. https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP

Filya, İ. (2002). Laktik asit bakteri inokulantlarinin misir ve sorgum silajlarinin fermantasyon, aerobik stabilite ve in situ rumen parçalanabilirlik özellikleri üzerine etkileri. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *26*(4), 815–823.

Filya, İ. (2003). The Effect of Lactobacillus buchneri and Lactobacillus plantarum on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminal Degradability of Low Dry Matter Corn and Sorghum Silages. *Journal of Dairy Science*, *86*(11), 3575–3581. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73963-0

Filya, İ., Ashbell, G., Hen, Y., & Weinberg, Z. G. (2000). The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage. *Animal Feed Science and Technology*, *88*(1–2), 39–46. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00214-5

Filya, İ., & Sucu, E. (2010). The effects of lactic acid bacteria on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass and Forage Science*, *65*(4), 446–455. https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2010.00763.x

Fossen, M. (2006). Environmental Fate of Imidacloprid. *California Department of Pesticide Regulation*, 1–16.

Gözüaçık, C. (2016). The Determination of Lepidopterous Pest Species and Their Distributions, Densities, and Damages in Corn Fields of Iğdır Province in Turkey *. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.*, *6*(1), 7–9.

Heukamp, U. (1992a). *NTN 33893-Cattle feeding study. Bayer AG, Report No. RA-535/92. Date: 1992-09-10.Unpublished*.

Heukamp, U. (1992b). *NTN 33893-Poultry feeding study. Bayer AG, Report No. RA-467/92. Date: 1992-09-10. Unpublished.*

Inc., M. (1993). Imidacloprid (syn. PREMISE, NTN 33893) – Comparative metabolism in plant cell suspension cultures. *Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA.*, *51950–0078*.

International Organization for Standardization. (1998). *Microbiology of food and*

animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria- Colony-count technique at 30 degrees C (ISO Standart No.15214:1998).

International Organization for Standardization. (2013). *Microbiology of the food chain-Horizontal method for the enumeration of microorganisms- Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique (ISO Standat No. 4833-1:2013).*

Islam, S. M. A., Math, R. K., Cho, K. M., Lim, W. J., Hong, S. Y., Kim, J. M., Yun, M. G., Cho, J. J., & Yun, H. D. (2010). Organophosphorus Hydrolase (OpdB) of Lactobacillus brevis WCP902 from Kimchi Is Able To Degrade Organophosphorus Pesticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(9), 5380–5386. https://doi.org/10.1021/jf903878e

Iwata, Y., ONeal, J. R., Barkley, J. H., Dinoff, T. M., & Dúsch, M. E. (1983). Chlorpyrifos Applied to California Citrus: Residue Levels on Foliage and on and in Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *31*(3), 603–610. https://doi.org/10.1021/jf00117a033

Johnson, L. M., Harrison, J. H., Davidson, D., Mahanna, W. C., Shinners, K., & Linder, D. (2002). Corn silage management: Effects of maturity, inoculation, and mechanical processing on pack density and aerobic stability. *Journal of Dairy Science*, *85*(2), 434–444. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74092-7

Kavut, Y. T., & Soya, H. (2015). Ege Bölgesi Koşullarında Bazı Mısır(Zea mays L.) Çeşitlerinin Silaj Kalite Özellikleri Üzerinde Bir Araştırma1. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *49*(3), 223–223. https://doi.org/10.20289/zfdergi.69692

Kılıç, A. (1986). Silo yemi (öğretim, öğrenim ve uygulama önerileri). *Bilgehan Basımevi, İzmir*, *327*.

Koç, F., & Coşkuntuna, L. (2003). Silo Yemlerinde Organik Asit Belirlemede İki Farklı Metodun Karşılaştırması. *Hayvansal Üretim*, *44*(2), 37–46.

Konca, Y., Alçiçek, A., & Yaylak, E. (2005). Süt Sığırcılığı İşletmelerinde Yapılan Silo Yemlerinde Silaj Kalitesinin Saptanması Determination of Quality of the Silage Made in Dairy Cattle Farms. *Hayvansal Üretim*, *46*(2), 6–13.

Kornoşor, S., & Kayapınar, A. (1989). Çukurova Bölgesi mısırlarında zarar yapan Mısır kurdu (Ostrinia nubilalis Hbn., Lepidoptera: Pyralidae)'nun yıllık döl sayısı ve popülasyon gelişmesi. *Turkish Journal of Entomology*, *13*(1), 15–24.

Kumar, S., Sharma, A. K., Rawat, S. S., Jain, D., & Ghosh, S. (2013). Use of pesticides in agriculture and livestock animals and its impact on environment of India. *Asian Journal of Environmental Science*, *8*(1), 51–57.

Kumral, A., & Kumral, N. A. (2013). Decontamination of insecticides by lactic acid bacteria. *Proceedings of the 24th International Scientific-Expert-Conference of Agriculture and Food Industry, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 25-28 September 2013*, 293–296.

Kumral, A., Kumral, N. A., & Gürbüz, O. (2020). Chlorpyrifos and deltamethrin degradation potentials of two Lactobacillus plantarum (Orla-Jensen, 1919) (Lactobacillales: Lactobacillaceae) strains. *Turkish Journal of Entomology*, *44*(2), 165–176. https://doi.org/10.16970/entoted.625156

Kumral, N. A., Kılınç, G., Selvi, A., Özdemir, B. N., Ünveren, B. E., Bozoğulları, H. İ., Demirel, H., Balta, P., Pat, S., & Koçak, U. D. (2017). A survey study: pest problems and pest management strategies of farmers in Bursa province (Turkey). *VIII International Scientific Agriculture Symposium," Agrosym*, 1421–1426.

Kurtuluş, A., & Kornoşor, S. (2015). Effects of some insecticides used in maize (Zea

mays L.) on preimaginal stages of Trichogramma evanescens Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Turkish Journal of Entomology*, *39*(4). https://doi.org/10.16970/ted.40371

Lehotay, S. J., Mastovska, K., Lightfield, A. R., & Gates, R. A. (2010). Multi-Analyst, Multi-Matrix Performance of the QuEChERS Approach for Pesticide Residues in Foods and Feeds Using HPLC/MS/MS Analysis with Different Calibration Techniques. *Journal of AOAC International*, *93*(2), 355–367. https://doi.org/10.1093/jaoac/93.2.355

Lehotay, S. J., O'Neil, M., Tully, J., García, A. V., Contreras, M., Mol, H., Heinke, V., Anspach, T., Lach, G., Fussell, R., Mastovska, K., Poulsen, M. E., Brown, A., Hammack, W., Cook, J. M., Alder, L., Lindtner, K., Vila, M. G., Hopper, M., … Parker, A. (2007). Determination of Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, *90*(2), 485–520. https://doi.org/10.1093/jaoac/90.2.485

Li, W., Morgan, M. K., Graham, S. E., & Starr, J. M. (2016). Measurement of pyrethroids and their environmental degradation products in fresh fruits and vegetables using a modification of the quick easy cheap effective rugged safe (QuEChERS) method. *Talanta*, *151*, 42–50. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.01.009

Liang, C.-P., Sack, C., McGrath, S., Cao, Y., Thompson, C. J., & Robin, L. P. (2021). US Food and Drug Administration regulatory pesticide residue monitoring of human foods: 2009-2017. *Food Additives & Contaminants: Part A*, *38*(9), 1520–1538. https://doi.org/10.1080/19440049.2021.1934574

Liu, P., Liu, Y., Liu, Q., & Liu, J. (2010). Photodegradation mechanism of deltamethrin and fenvalerate. *Journal of Environmental Sciences*, *22*(7), 1123–1128. https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60227-8

Lu, Q., Sun, Y., Ares, I., Anadón, A., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M. R., Yuan, Z., Wang, X., & Martínez, M. A. (2019). Deltamethrin toxicity: A review of oxidative stress and metabolism. *Environmental Research*, *170*, 260–281. https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.12.045

MacLachlan, D. (2002). Deltamethrin (135). *Department of Agriculture, Forestry and Fisheries, Australia*, *3*, 167–357.

Meikle, R. W., & Youngson, R. (1978). The Hydrolysis Rate of Chlorpyrifos , O-O-Diethyl 0- (3 , 5 , 6-Trichloro-2-Pyridyl) Phosphorothioate , and its Dimethyl Analog, Chlorpyrifos-Methyl, in Dilute Aqueous Solution. *Environmental Contamination and Toxicology*, *22*, 13–22.

Moza, P. N., Hustert, K., Feicht, E., & Kettrup, A. (1998). Photolysis of imidacloprid in aqueous solution. *Chemosphere*, *36*(3), 497–502. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00359-7

Nauen, R., Tietjen, K., Wagner, K., & Elbert, A. (1998). Efficacy of plant metabolites of imidacloprid against Myzus persicae and Aphis gossypii (Homoptera: Aphididae). *Pesticide Science*, *52*(1), 53–57. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199801)52:1<53::AID-PS621>3.0.CO;2-6

Omwenga, I., Kanja, L., Zomer, P., Louisse, J., Rietjens, I. M. C. M., & Mol, H. (2021). Organophosphate and carbamate pesticide residues and accompanying risks in commonly consumed vegetables in Kenya. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, *14*(1), 48–58. https://doi.org/10.1080/19393210.2020.1861661

Otitoju Olawale, Moses A. Abah, Otitoju T. Grace, Bilyaminu Habibu, Emmanuel C. Okoli, & Patience U. Omajali. (2022). Risk assessment of pesticide residues in water samples from river Gongola, Adamawa state, Nigeria. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, *13*(1), 424–432. https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.13.1.0015

Öz, A., Kapar, H., & Dok, M. (2017). *Mısır Tarımı (Broşür)*. http://arastirma.tarim.gov.tr/ktae/Belgeler/brosurler/Mısır Tarımı.pdf

Özcan, S. (2009). Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretime Katkısı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, *2*(2), 1–34.

Özdemir, M., & Okumuş, O. (2021). Türkiye'de son beş yılda yapılan bazı silaj çalışmaları. *Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, *4*(2), 30–39.

Pehlivan, S. (2021). Adana İlindeki Mısır Üretim Alanlarında Zararlı Mısır Kurtlarının (Lepidoptera: Crambidae, Noctuidae) Yaygınlık Durumunun Belirlenmesi. *Cukurova University, Agriculture Faculty*, *1*(36), 71–80. https://doi.org/10.36846/CJAFS.2021.36

Phipps, R. H. (1986). The role of conserved forage in milk production systems with particular reference to self and easy-feed systems. *Principles and Practice of Feeding Dairy Cows. Technical Bulletin*, *8*, 133–166.

Racke, K. D. (1993). Environmental fate of chlorpyrifos. Içinde *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (C. 131, ss. 1–150). https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4362-5_1

Robin, S. U. R., & Stork, A. (2003). Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants. *Bulletin of Insectology*, *56*(1), 35–40.

Rouchaud, J., Gustin, F., & Wauters, A. (1996). Imidacloprid insecticide soil metabolism in sugar beet field crops. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, *56*(1), 29–36.

Russell, J. R. (1986). Influence of harvest date on the nutritive value and ensiling characteristics of maize stover. *Animal Feed Science and Technology*, *14*(1–2), 11–27. https://doi.org/10.1016/0377-8401(86)90003-9

Şahin, İ. F., & Zaman, M. (2010). Hayvancılıkta Önemli Bir Yem Kaynağı: Silaj. *Doğu Coğrafya Dergisi*, *15*(23), 1–18.

Salas, J. H., González, M. M., Noa, M., Pérez, N. A., Díaz, G., Gutiérrez, R., Zazueta, H., & Osuna, I. (2003). Organophosphorus Pesticide Residues in Mexican Commercial Pasteurized Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(15), 4468–4471. https://doi.org/10.1021/jf020942i

SANTE/12682/2019. (2019). Guidance document on analytical quality control and method validation for pesticide residues analysis in food and feed. *Safety of the Food Chain Pesticides and Biocides. European Commission*, 1–48. https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/AqcGuidance_SANTE_2019_12682.pdf

Sarkar, M. A., Biswas, P. K., Roy, S., Kole, R. K., & Chowdhury, A. (1999). Effect of pH and Type of Formulation on the Persistence of Imidacloprid in Water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *63*(5), 604–609. https://doi.org/10.1007/s001289901023

Schmuck, R., Nauen, R., & Ebbinghaus-Kintscher, U. (2003). Effects of imidacloprid and common plant metabolites of imidacloprid in the honeybee: Toxicological and biochemical considerations. *Bulletin of Insectology*, *56*(1), 27–34.

Seydoşoğlu, S., & Saruhan, V. (2017). Mısır Bitkisinde (Zea mays L.) Ekim Zamanı ve Çeşidin Silaj Kalitesi Üzerine Etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *54(3)*, 361–366. https://doi.org/10.20289/zfdergi.388117

Shaker, E. M., & Elsharkawy, E. E. (2015). Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in raw buffalo milk from agroindustrial areas in Assiut, Egypt. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *39*(1), 433–440. https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.12.005

Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Tanveer, M., Sidhu, G. P. S., Handa, N., Kohli, S. K., Yadav, P., Bali, A. S., Parihar, R. D., Dar, O. I., Singh, K., Jasrotia, S., Bakshi, P., Ramakrishnan, M., Kumar, S., Bhardwaj, R., & Thukral, A. K. (2019). Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences*, *1*(11), 1–16. https://doi.org/10.1007/s42452-019-1485-1

Shokr, S. A. A., Nasr, I. N., & Hassan, A. S. M. (2006). Residues of Imidacloprid and Tetraconazole on and In Cucumber and Tomato Fruits. *J.Agric.&Env.Sci.Alex.Univ.,Egypt*, *5*(3), 39–51.

Smith, A. M. (1990). Determination of aqueous hydrolysis rate constant and half-life of deltamethrin. *BionomicsLaboratories. DT RA CPHY 90 SPBI A1 US43310. A45079. Unpublished*.

Supreeth, M., & Raju, N. (2017). Biotransformation of chlorpyrifos and endosulfan by bacteria and fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *101*(15), 5961–5971. https://doi.org/10.1007/s00253-017-8401-7

Tajdar-oranj, B., Peivasteh-roudsari, L., Mahdavi, V., Keikavousi Behbahan, A., & Mousavi Khaneghah, A. (2021). Simultaneous multi-determination of pesticide residues in pistachio from Iran's market: A probabilistic health risk assessment study. *Journal of Food Composition and Analysis*, *103*(July), 104085. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104085

Tezel, M. (2018). Türkiye'de silajlık mısır üretimi ve hayvan beslemede yeri. *TÜRKTOB Dergisi*, *25*, 17–19.

Tiryaki, O. (2011). *Pestisit kalıntı analizlerinde kalite kontrol (QC) ve kalite güvencesi (QA)*.

Tiryaki, O. (2016). Türkiye'de yapılan pestisit kalıntı analiz ve çalışmaları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, *32*(1), 72–82.

Tiryaki, O., Canhilal, R., Horuz, S., Seyrani, E. Ü., Fakültesi, Z., & Koruma Bölümü, B. (2010). Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, *26*(2), 154–169.

Tiryaki, O., & Temur, C. (2010). The Fate of Pesticide in the Environment Osman. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, *4*(10), 29–38.

Tomizawa, M., & Casida, J. E. (1999). Minor structural changes in nicotinoid insecticides confer differential subtype selectivity for mammalian nicotinic acetylcholine receptors. *British Journal of Pharmacology*, *127*(1), 115–122. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702526

Tsiplakou, E., Anagnostopoulos, C. J., Liapis, K., Haroutounian, S. A., & Zervas, G. (2010). Pesticides residues in milks and feedstuff of farm animals drawn from Greece. *Chemosphere*, *80*(5), 504–512. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.04.069

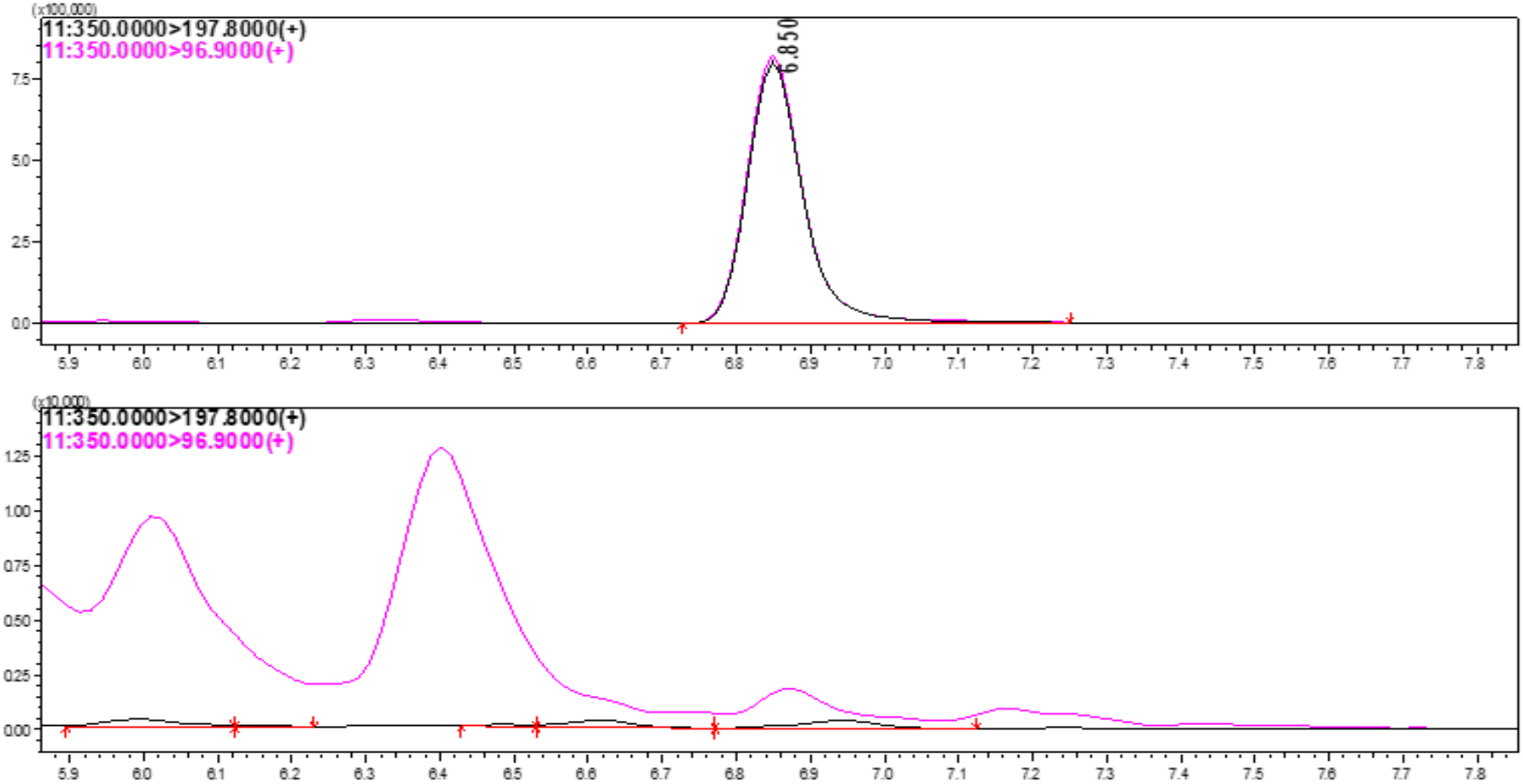
TUİK, T. İ. K. (2022). *No Title*. https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2021-37249

Tümer, S. (1996). Silo yemleri - Silaj. *Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü-*

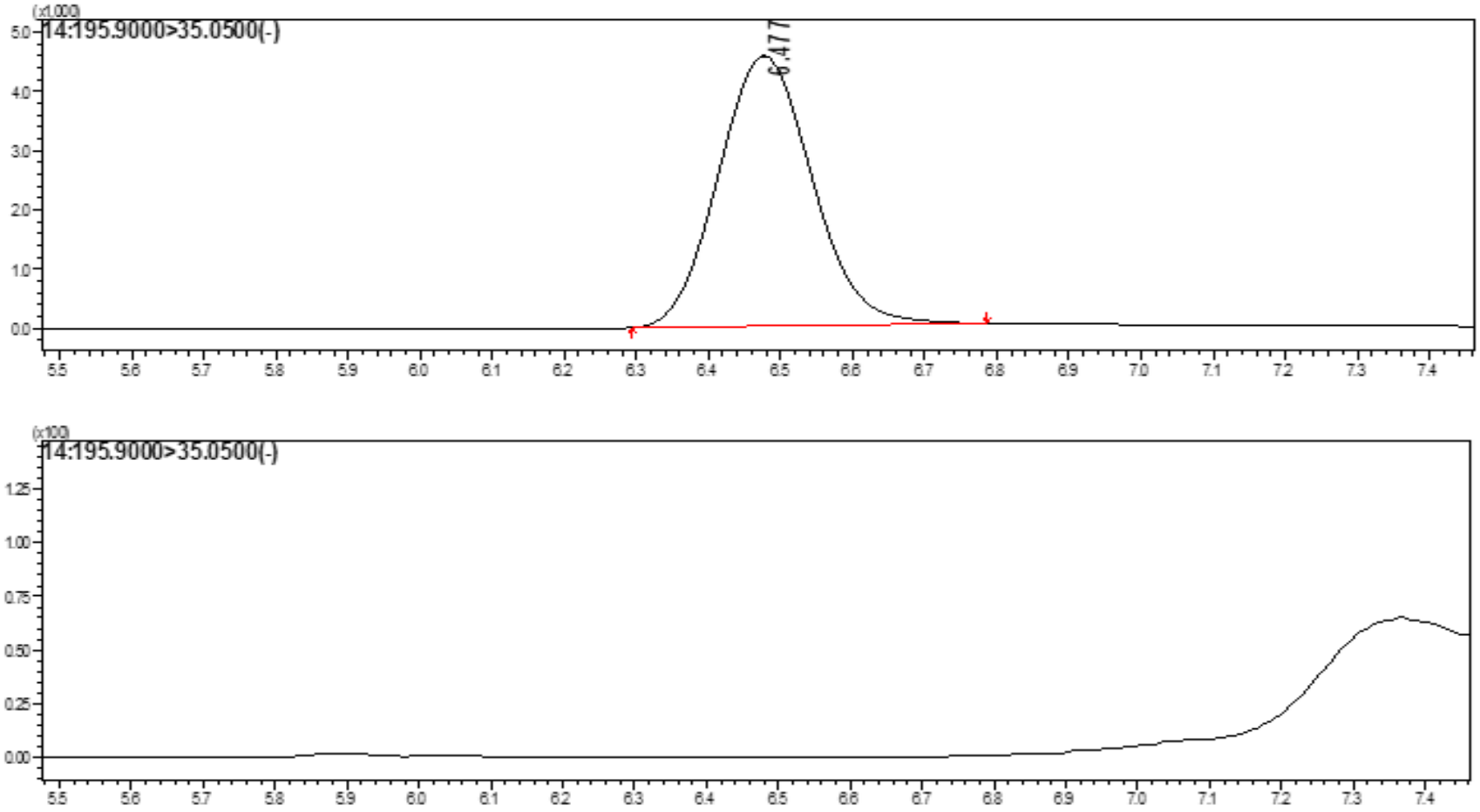
Çİftçi Broşürü.
Turabi, M. S. (2007). Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi. *Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi, TMMOB Zir. Müh Odası ve TMMOB Kimya Müh Odası, Bildiriler Kitabı, 25-26 Ekim*, 50–61.
Turgut, İ. (2002). Silajlık mısır yetiştirme ve verimlilik. *Üretimden Tüketime Mısır Paneli Tebliğleri, i. T.C. Sakarya Valilkiği .19 Aralık 2002. Sakarya*, 45–62.
Türk Standartları Enstitüsü. (2000). *Ölçme Metotlarının ve Sonuçlarının Doğruluğu (Gerçeklik ve Kesinlik)- Bölüm 1 Genel Prensipler ve Tarifler (TS 5822-1 (ISO 5725-1))*.
Wang, W. W. (1991a). Aerobic soil metabolism of 14Cdeltamethrin. *Xenobiotics Laboratories Inc. DT EC EPSM 91 XENO A1 US89097. A47917. Unpublished.*
Wang, W. W. (1991b). Anaerobic soil metabolism of 14Cdeltamethrin. *Xenobiotics Laboratories Inc. DT EC EPSM 91 XENO A1 US8909B. A47918. Unpublished*.
Yaylak, E., & Alçiçek, A. (2003). *Sığır Besiciliğinde Ucuz Bir Kaba Yem Kaynağı : Mısır Silajı*. *44*(2), 29–36.
Yildirim Kumral, A., Kumral, N. A., Kolcu, A., Maden, B., & Artik, B. (2020). Simulation Study for the Degradation of Some Insecticides during Different Black Table Olive Processes. *ACS Omega*, *5*(23), 14164–14172. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01907
Yonow, T., Kriticos, D. J., Ota, N., Van Den Berg, J., & Hutchison, W. D. (2017). The potential global distribution of Chilo partellus, including consideration of irrigation and cropping patterns. *Journal of Pest Science*, *90*(2), 459–477. https://doi.org/10.1007/s10340-016-0801-4
Zhang, M., Zeiss, M. R., & Geng, S. (2015). Agricultural pesticide use and food safety: California's model. *Journal of Integrative Agriculture*, *14*(11), 2340–2357. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61126-1
Zhang, Y. H., Xu, D., Zhao, X. H., Song, Y., Liu, Y. Le, & Li, H. N. (2016). Biodegradation of two organophosphorus pesticides in whole corn silage as affected by the cultured lactobacillus plantarum. *3 Biotech*, *6*(1). https://doi.org/10.1007/s13205-016-0364-3
Zhao, X.-H., & Wang, J. (2012). A brief study on the degradation kinetics of seven organophosphorus pesticides in skimmed milk cultured with Lactobacillus spp. at 42°C. *Food Chemistry*, *131*(1), 300–304. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.046
Zheng, W., & Liu, W. (1999). Kinetics and mechanism of the hydrolysis of imidacloprid. *Pesticide Science*, *55*(4), 482–485. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199904)55:4<482::AID-PS932>3.0.CO;2-3
ZMO, T. Z. M. O. (2020). *Mısır Raporu*. https://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=32780

EKLER

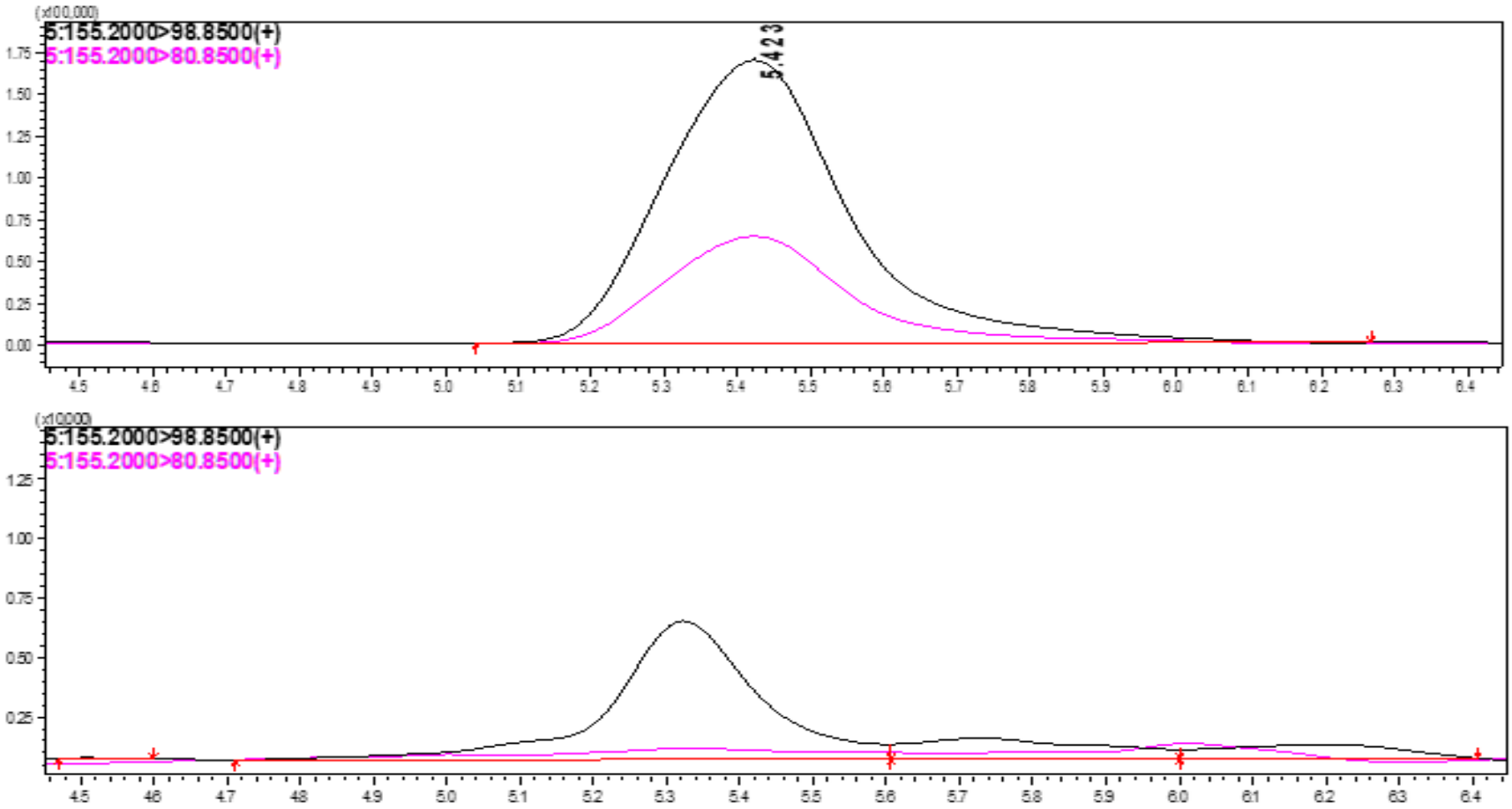
Ek 1. Chlorpyrifos'un spike ve blank kromatogramları



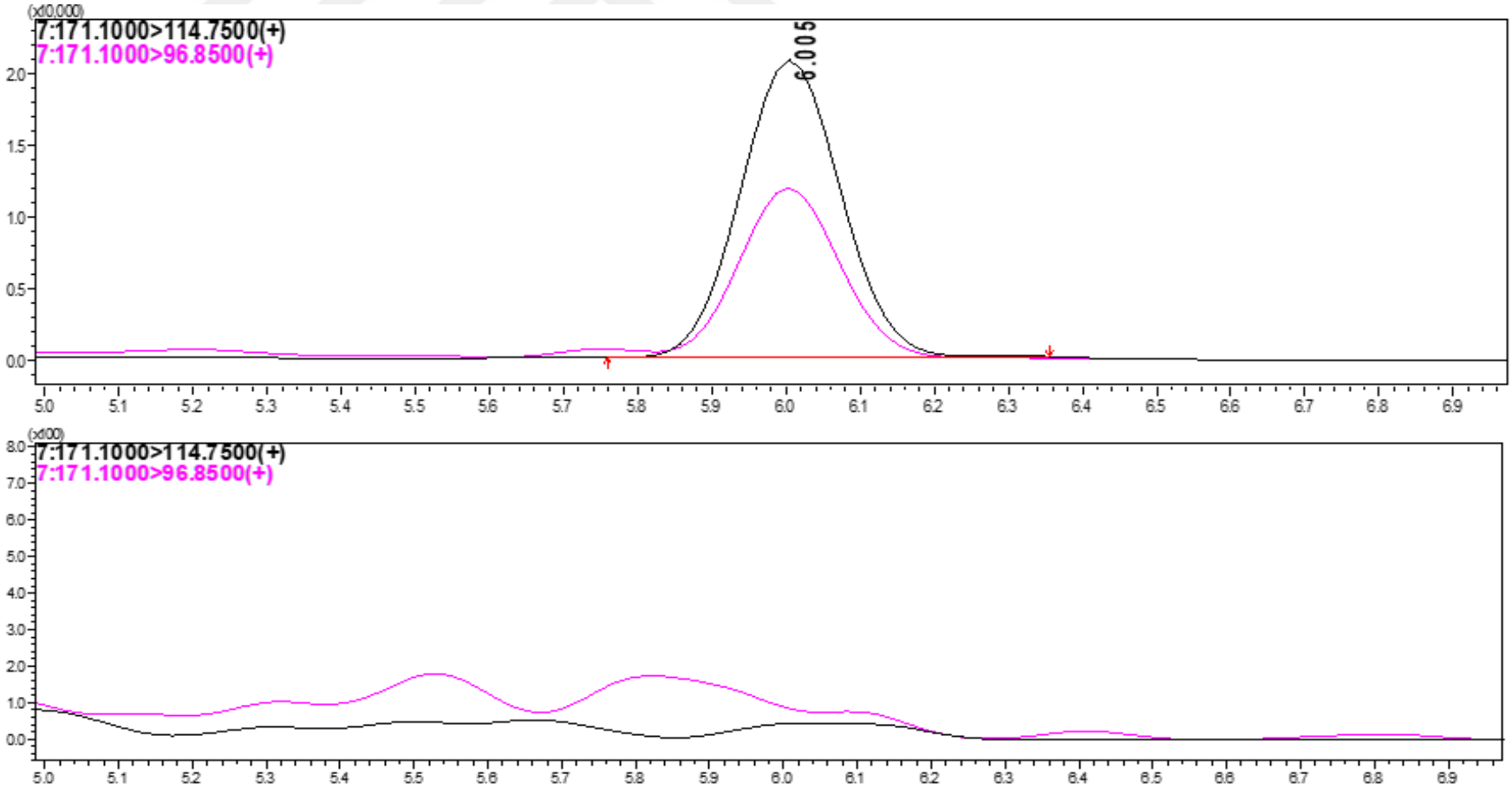
Ek 2. 3,5,6-trichloro-2-pyridinol'un spike ve blank kromatogramları



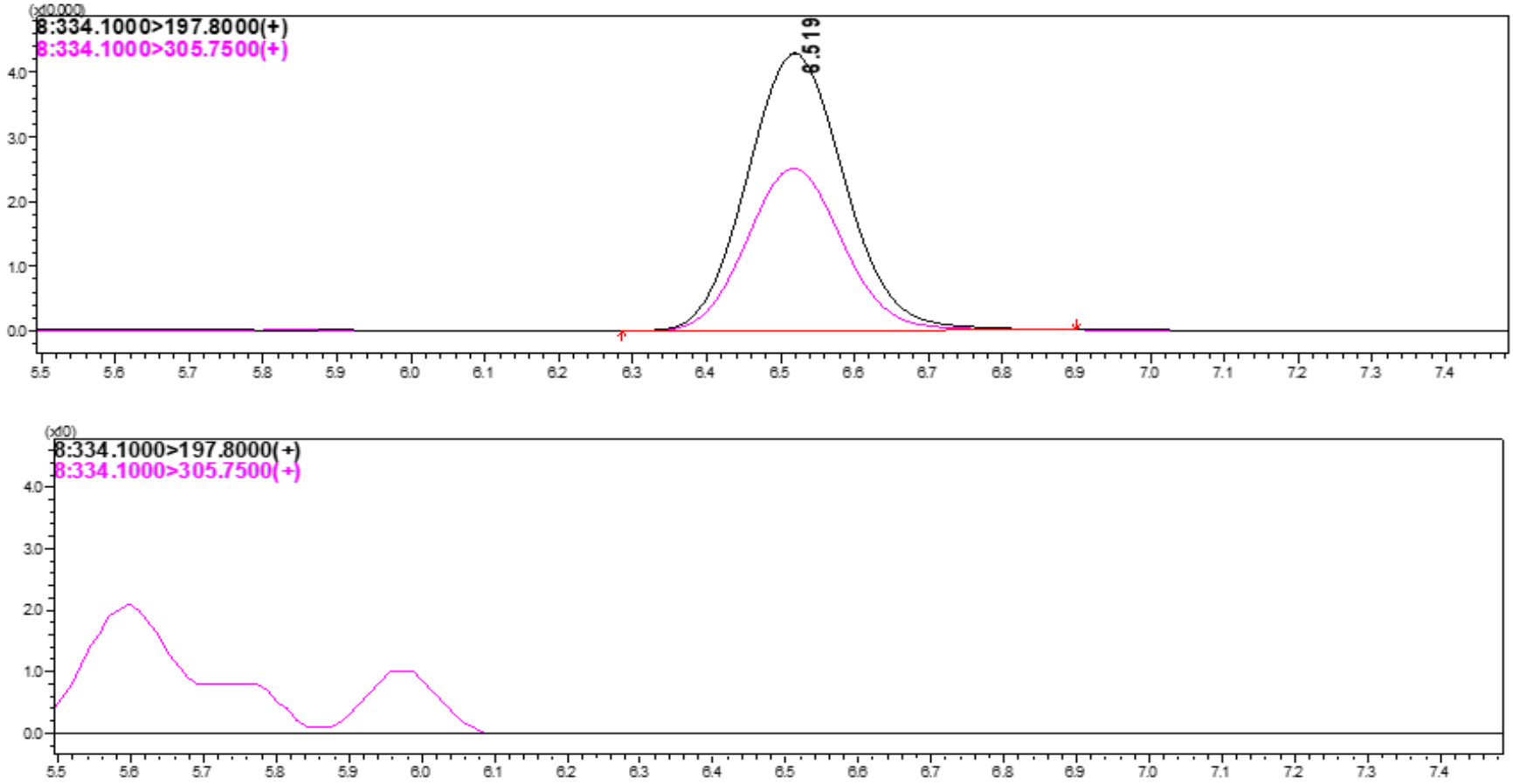
Ek 3. Diethyl phosphate'ın spike ve blank kromatogramları



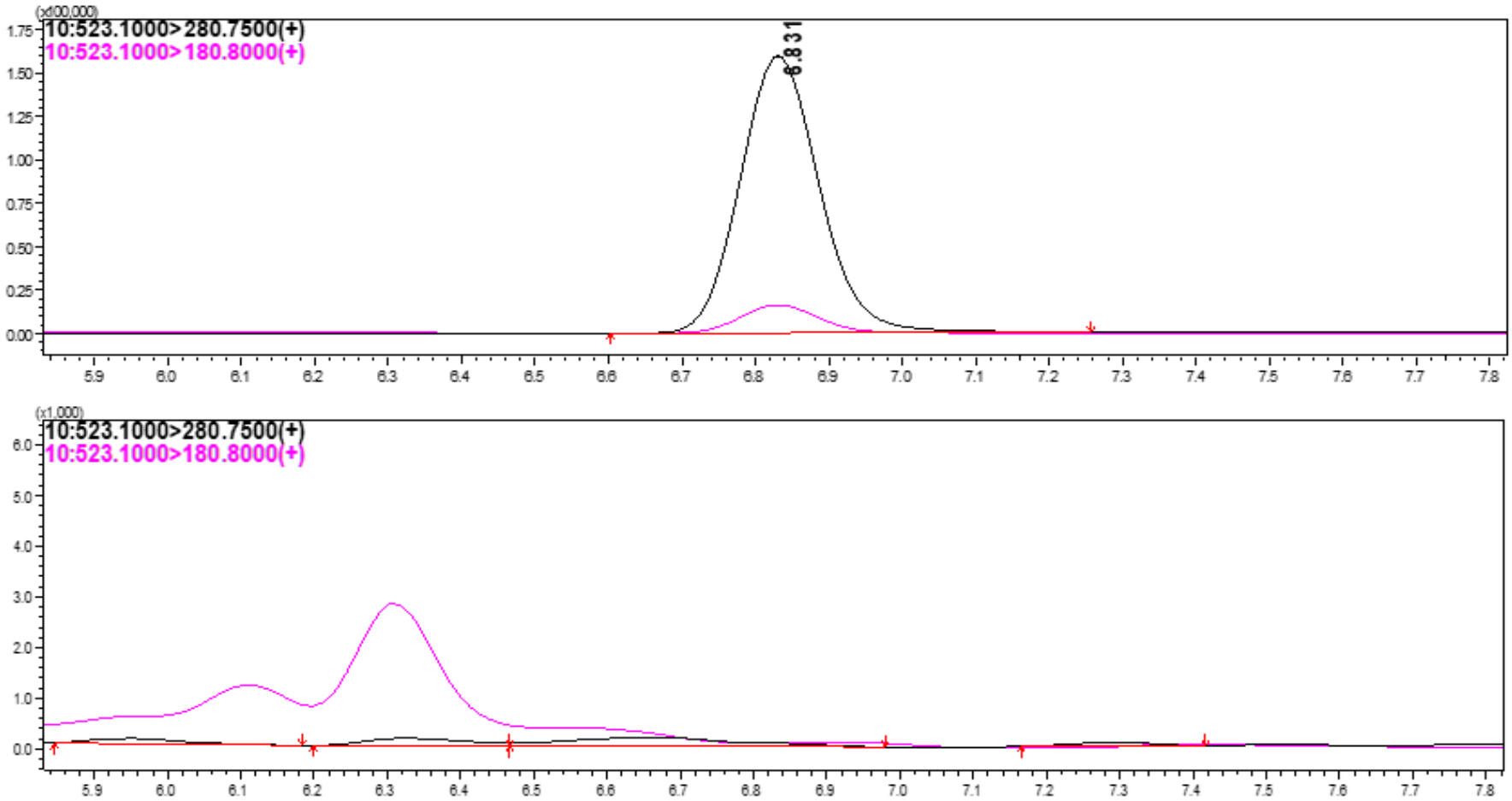
Ek 4. Diethyl thiophosphate'ın spike ve blank kromatogramları



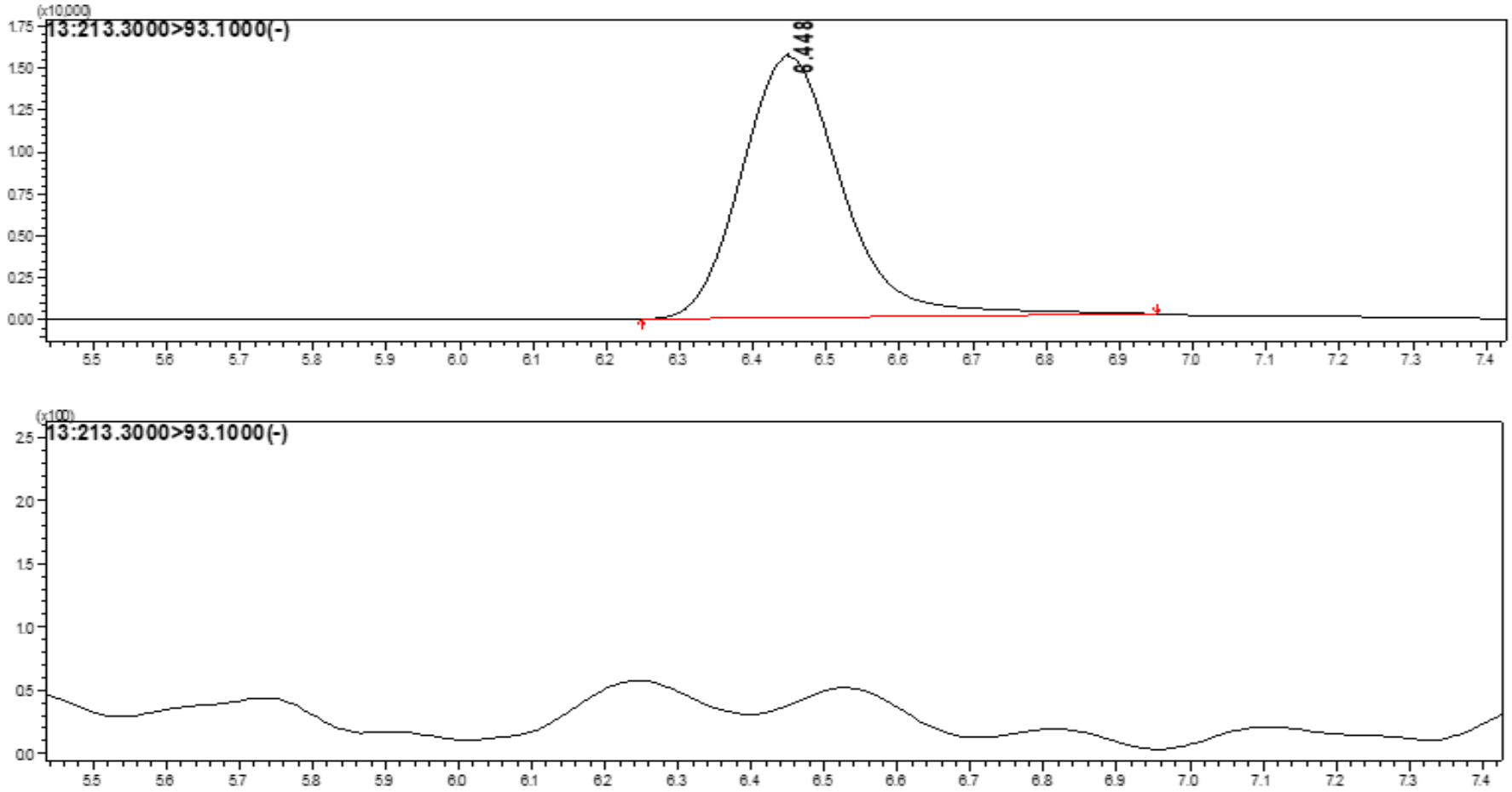
Ek 5. Chlorpyrifos-oxon'un spike ve blank kromatogramları



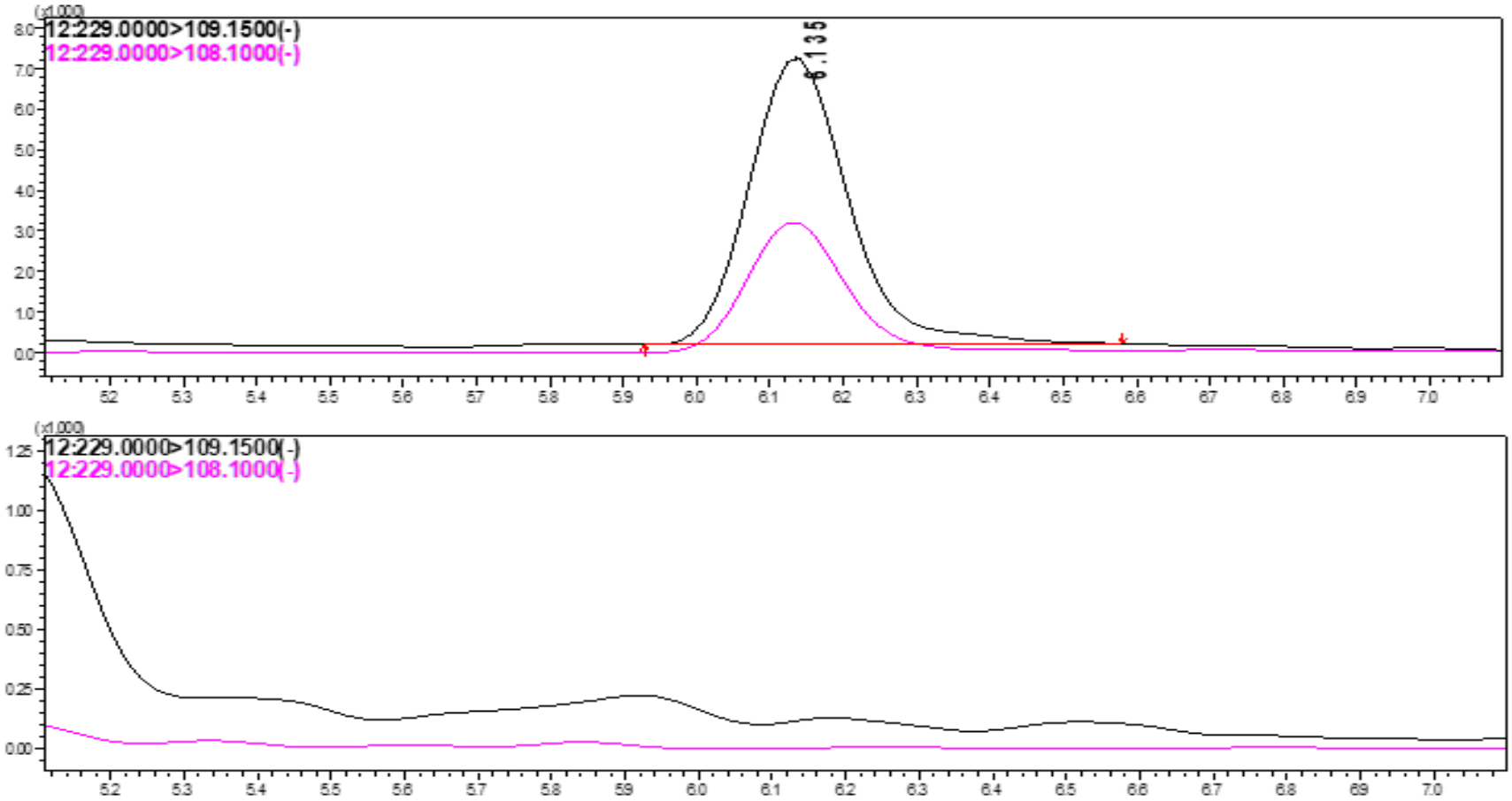
Ek 6. Deltamethrin'in spike ve blank kromatogramları



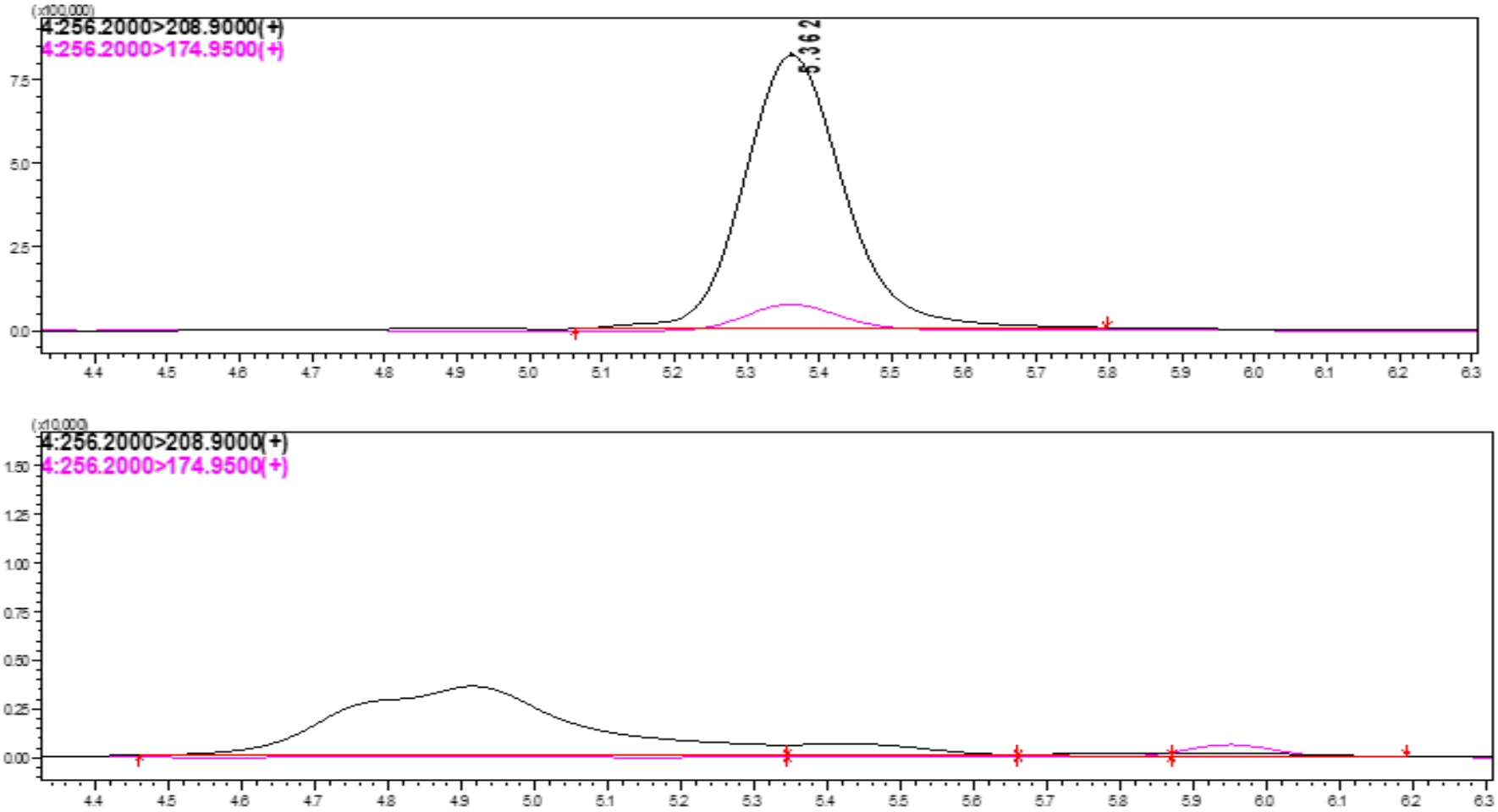
Ek 7. 3-Phenoxybenzoic acid'in spike ve blank kromatogramları



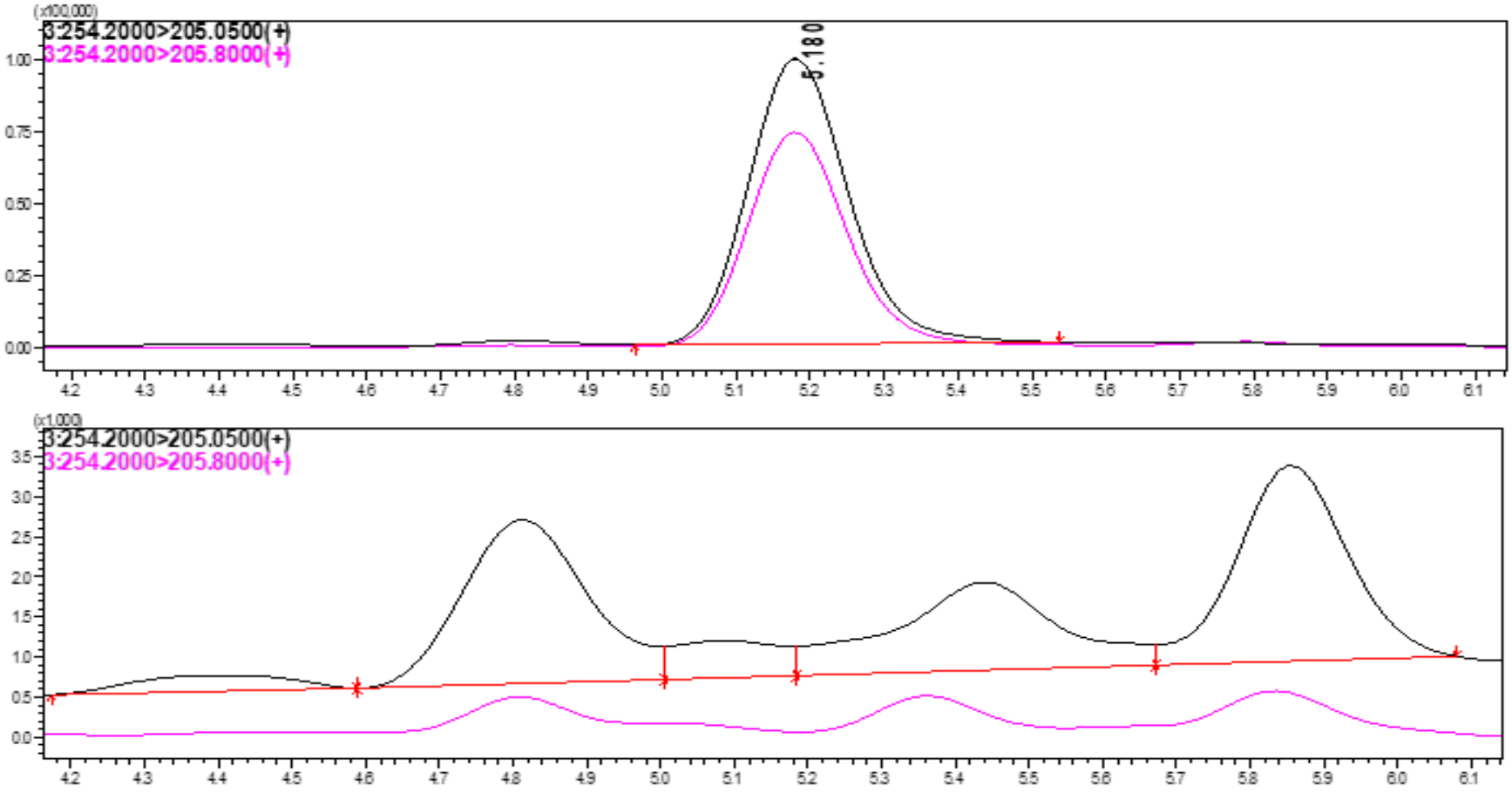
Ek 8. 3-(4-hydroxyphenoxy) benzoic acid'in spike ve blank kromatogramları



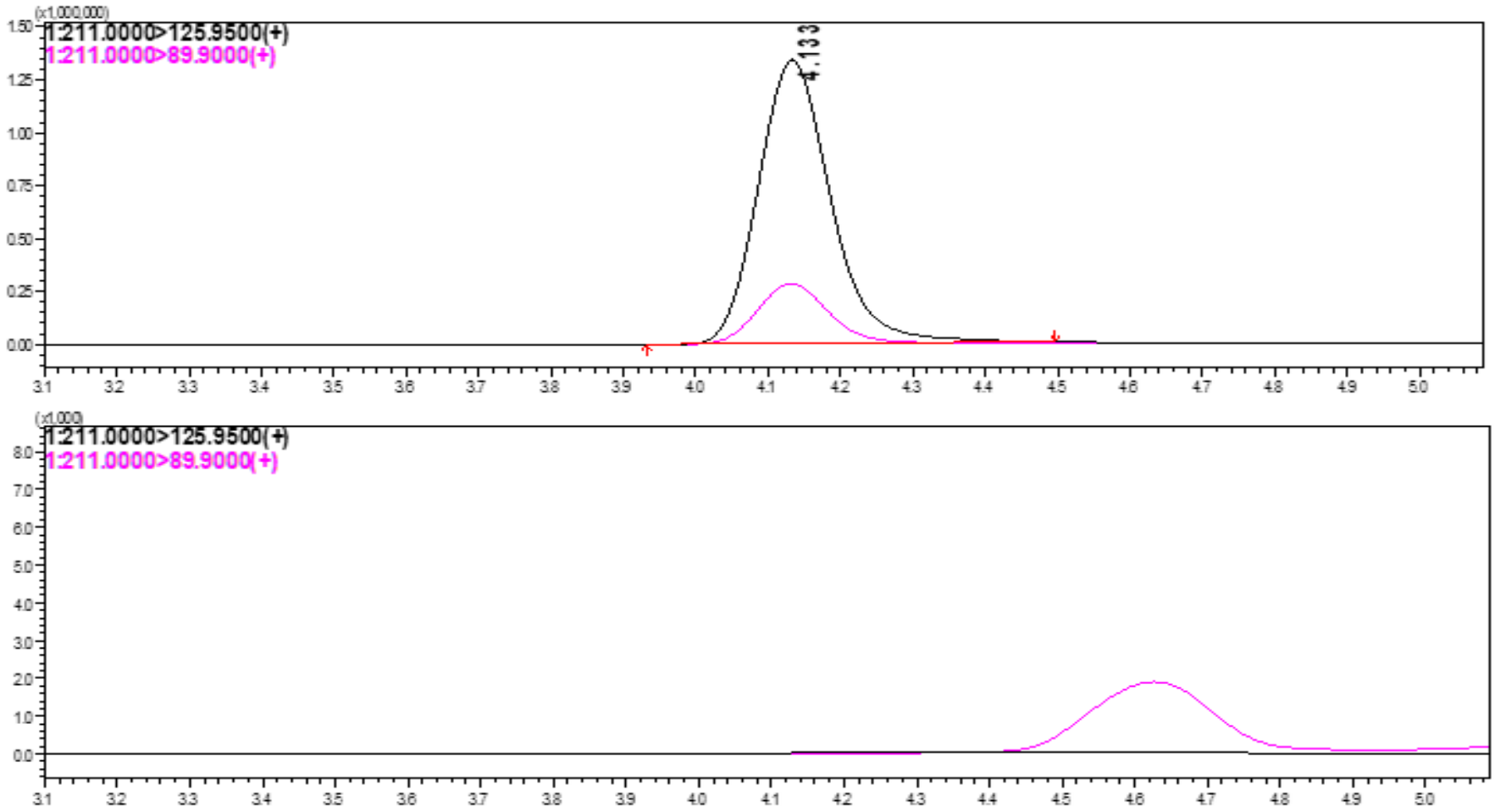
Ek 9. Imidacloprid'in spike ve blank kromatogramları



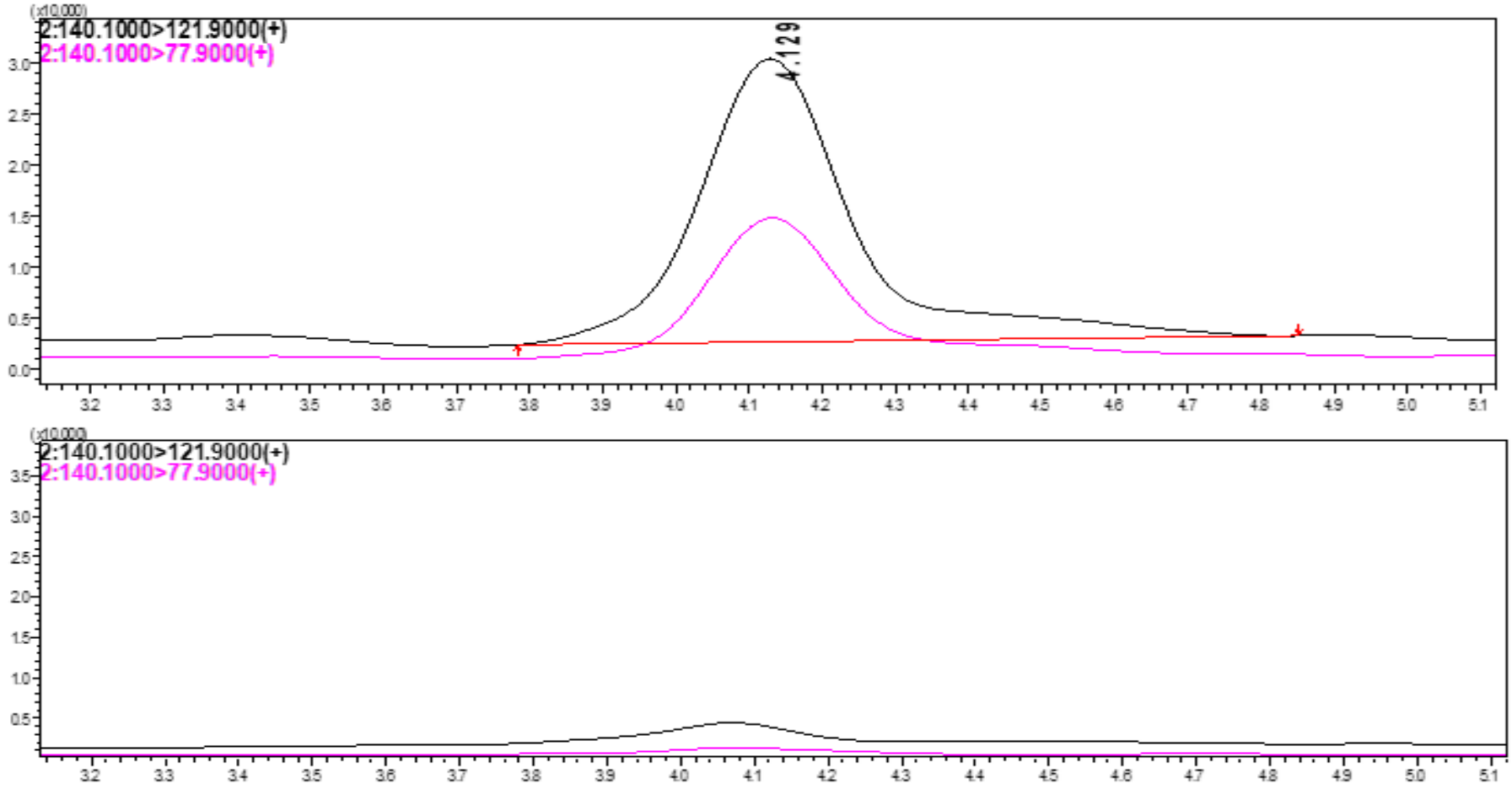
Ek 10. Imidacloprid-olefin'in spike ve blank kromatogramları



Ek 11. Imidacloprid guanidine'in spike ve blank kromatogramları



Ek 12. 6-hydroxynicotinic acid'in spike ve blank kromatogramları



Ek 13. 6-chloronicotinic acid'in spike ve blank kromatogramları

