



Özgün Araştırma/Original Article

Mihaliç peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı gruplarda yer alan bazı pestisitlerin yıkımı üzerine etkilerinin incelenmesi

Investigation of the effects of lactic acid bacteria isolated from Mihalic cheese on the degradation of some pesticides from different groups

Yıldray İstanbullu^{1*}, Mete Yılmaz², Ergün Ayanoglu¹, Sema Demir¹, Vesile Çetin¹, Hakan Tosunoğlu¹

¹Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü, BURSA, TÜRKİYE

²Bursa Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, BURSA, TÜRKİYE
(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID:0000-0001-5336-2580, Gıda Yük. Müh.

ORCID ID:0000-0002-0982-727X, Prof. Dr.

ORCID ID:0000-0002-1774-2380, Dr. Vet. Hek.

ORCID ID:0000-0003-2610-7466, Gıda Yük. Müh.

ORCID ID:0000-0002-6962-8440, Dr. Zir. Müh.

ORCID ID:0000-0003-2163-657X, Dr. Biyolog.

*Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author: yildray.istanbullu@tarimorman.gov.tr

Geliş Tarihi: 22.11.2021

Kabul Tarihi: 29.12.2021

Özet

Amaç: Bu çalışma Mihaliç peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı gruplarda yer alan bazı pestisitlerin biyolojik yıkımı üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

Materyal ve yöntem: Çalışmada Mihaliç peynirinden izole edilmiş olan, Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Süt Ürünleri Gen Bankası bünyesinde muhafaza edilen *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Lactococcus lactis* suşlarının bazı pestisitlerin (malathion, endosulfan sulfat, alfa-endosulfan, beta-endosulfan, cypermethrin ve imidacloprid) yıkımına olan etkileri; QuEChERS metodu temelli pestisit kalıntısı analizi ile GC-MS/MS ve LC-MS/MS sistemleri kullanılarak 0., 24. ve 48. saatlerde belirlenmiştir. Çalışmanın başında 10 mg/kg (ppm) seviyesinde pestisit ilavesi yapılmıştır.

Tartışma ve sonuç: *Lb. fermentum*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Lc. lactis* suşlarının tüm pestisitlerde yıkım oranını kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde arttırdığı ve zamanın bu yıkıma olumlu etkide bulunduğu tespit edilmiştir. 48 saat sonunda en fazla yıkıma uğrayan pestisit etken maddesi cypermethrin olurken cypermethrin etken maddesinde en fazla yıkım yapan suş *Lb. fermentum* olmuştur. Bu değer başlangıçtaki 10,10 ppm değerinden %92,5 oranında azalma ile 0,75 ppm'e düşmüştür. Suşlar içerisinde de 48 saat sonunda pestisitlerde en fazla yıkım yapanın *Lb. fermentum* olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: laktik asit bakterileri, Mihaliç peyniri, pestisit, pestisit yıkımı

Abstract

Objective: This study was carried out to determine the effects of lactic acid bacteria isolated from Mihalic cheese on the biodegradation of some pesticides from different groups.

Materials and methods: In the study, the effect of strains of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* and *Lactococcus lactis* isolated from Mihalic cheese preserved in Dairy Gene Bank on the degradation of some pesticides (malathion, endosulfan sulphate, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, cypermethrin and imidacloprid) were determined by the pesticide residue analysis based on the QuEChERS method at 0, 24 and 48 hours using GC-MS/MS and LC-MS/MS systems. At the beginning of the study, pesticides were spiked at the level of 10 mg/kg (ppm).

Results and conclusion: *Lb. fermentum*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* and *Lc. lactis strains* significantly increased the degradation rate in all pesticides compared to the control group, and time had a positive effect on this destruction. At the end of 48 hours, the pesticide active ingredient most destroyed was cypermethrin and the strain that destroyed the most cypermethrin was *Lb. fermentum*. This value decreased by 92.5% from the initial value of 10.10 ppm to 0.75 ppm. Among the strains, *Lb. fermentum* is the one that causes the most destruction in pesticides after 48 hours.

Keywords: lactic acid bacteria, Mihalic cheese, pesticide, pesticide degradation

1. Giriş

Dünyada nüfus artışına paralel olarak artan gıda ihtiyacı tarımda birim alandan en yüksek verimin alınmasını zorunlu kılmaktadır. Pestisit kullanımı, sürdürülebilir tarım ve yeterli beslenme kaynaklarının sağlanması konusunda sayısız faydalar sağlamaktadır (Turabi, 2007). Günümüzde pestisit kullanımı tarımsal üretimin en büyük verim kayıplarından biri olarak görülen zararlılarla mücadelede kullanılan en etkin ve en verimli yöntem olma özelliğini sürdürmektedir. Tarım ilacı üretimi dünya çapında yıllık 3 milyon ton civarındadır, TÜİK verilerine göre 2018 yılında ülkemizde 60.000 tonluk bir tarım ilacı kullanımı gerçekleşmiştir (Tiryaki vd., 2010; TÜİK, 2019). Pestisitlerin uygun olmayan kullanımları, hedef dışı organizmaları etkilemeleri, çevresel birikime neden olmaları ve tüketilen gıdalar üzerinde oluşturdukları kalıntı nedeniyle direkt ya da dolaylı yollardan insan sağlığını tehdit etmektedir (Lai, 2017; Sierra-Diaz vd., 2019).

Pestisitlerin insan sağlığı üzerine etkileri akut ve kronik olarak iki şekilde ortaya çıkmaktadır. Pestisit kalıntılarının neden olduğu akut etkiler; baş ağrısı, kusma, kaşıntı ve cilt tahrişi, huzursuzluk, baş dönmesi, solunum güçlüğü; kronik etkiler ise nörotoksinite, kanser ve ölüm gibi vakaları içermektedir (Zikankuba vd., 2019). Bu negatif etkileri nedeniyle pestisitlerin kullanımı ve son üründe bulunmasına izin verilen pestisit kalıntıları miktarı hakkında ülkeler tarafından oluşturulmuş birçok yasal düzenleme mevcuttur. Ülkemizde ise Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği'nde belirtilen maksimum limitler gıdalarda veya yemlerde tespit edilen pestisitlerin yasal olarak uygunluğunu kontrol ederken kullanılmaktadır (Anonim, 2021).

Pestisit sınıflandırılmasında kullanılan en yaygın yöntemlerden biri kimyasal yapıları ve aktif grupları göz önünde bulundurularak yapılan sınıflandırmadır. Bu sınıflandırmaya göre pestisitler dört ana başlık altında toplanabilir bunlar: organoklorinler, organofosforlar, karbamatlar, piretrinler ve piretroidler şeklinde sıralanabilir (Kaur vd., 2019).

Malathion, tarımsal ve evsel ilaçlama için yaygın kullanıma sahip olan geniş spektrumlu organofosfor grubunda yer alan bir insektisittir (Wang vd., 2018). Malathion etken maddesinin yarılanma ömrü 11 gün kadardır ve bu süre içerisinde malaon'a dönüşümü gerçekleşmektedir (Martinez ve Leyhe, 2004).

Malathion en temel etkisini asetilkolinesteraz inhibitörü olarak gösterir ve sinirsel iletimde ve dolayısıyla tüm organizmada hasarlara neden olmaktadır (Sparling ve Fellers, 2007).

Endosulfan, tüm dünyada meyve, sebze, çay, tütün ve pamuk gibi ürünler üzerindeki zararlıları kontrol etmek için kullanılan organoklorlu bir insektisittir. Tarımsal kullanımına ek olarak, odun koruyucu olarak ve ev-bahçe zararlılarının kontrolünde de kullanılmaktadır (World Health Organization (WHO), 2003). Hedef olmayan hayvanlara yüksek toksisitesi, çevrede birikim yapması ve endokrin bozucu bir bileşik olması nedeniyle, endosulfan kullanımı şu anda birçok ülkede yasaklanmış veya kısıtlanmıştır (Da Cuña vd., 2016). Ülkemizde ise endosulfan ithalatı ve üretimi 2009 yılında sonlandırılmış, 2011 yılında ise kullanımı tamamen yasaklanmıştır. Ancak bazı ülkelerde devam eden endosulfan kullanımı ve bu ülkelerden yapılacak gıda ithalatları nedeniyle maruziyet riski devam etmektedir. Ticari formunda endosulfan, alfa ve beta endosulfan olmak üzere iki stereoizomerden (70:30 oranında) oluşmaktadır (Camacho-Morales ve Sánchez, 2016). Endosulfan sulfat ise endosulfanın ana metabolitidir (Rand vd., 2010).

Cypermethrin sistemik olmayan etki gösteren piretroid grubu bir insektisittir. Etkisini temas ve sindirim sistemine yaptığı etkiyle göstermektedir. Özellikle Lepidoptera (pul kanatlılar) olmak üzere birçok böcek sınıfına karşı etkili kullanımı bulunmaktadır. Tarımsal kullanımının yanında halk sağlığı açısından sivrisinek, karasinek ve hamam böceklerine karşı da kullanılmaktadır (Tomlin, 2003). Ülkemizde cypermethrin geniş bir ürün grubunda ruhsatlı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.

İmidacloprid sentetik nikotin formunda neonikotinoid grubu bir insektisittir. Genel olarak sinir sistemi üzerinde ve sinirsel uyarının kesilmeden devamını sağlayarak etkisini göstermektedir. Sistemik etkisi nedeniyle bitki bünyesine dahil olarak hedef organizmanın hem yetişkin hem de larval formlarına etki edebilmektedir (Skouras vd., 2021). Ülkemizde ruhsatlı olarak kullanılmaktadır, ancak çevreye ve insan sağlığına olan potansiyel zararları nedeniyle 2019 yılı sonundan itibaren bazı ürünler için ruhsatı iptal edilmiştir.

Tarımsal üretimde hastalıktan, böceklerden, zararlı

ve yabancı otların olumsuz etkilerinden korunabilmek için sentetik pestisitlerin kullanımı tüm dünyada yaygın bir uygulamadır. Dünyada kullanılan yaklaşık 4 milyon ton pestisitinin sadece %1 gibi çok düşük bir miktarı hedeflenen zararlıyı etkilemektedir, geri kalan miktar ise ekosistemde toprak, hava ve su kirliliğine neden olmaktadır. Bundan dolayı doğada pestisit kalıntısının detoksifiye edilmesi oldukça önemli bir konudur (Pimental, 1983; WHO, 2019).

Pestisitlerin aşırı kullanımının çevre için tehlikeli olduğu, toprak verimliliğini etkilediği ve canlılarda toksisiteye neden olduğu bilinmektedir. Pestisitlerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak amacıyla bütün dünyada organik tarım desteklenmekte veya kimyasal girdinin daha az veya hiç kullanılmadığı tarım teknikleri geliştirilmektedir. Artan nüfus ve azalan tarım ürünleri miktarları karşısında ülkelerin organik tarıma geçiş süreçleri zordur ve uzun zaman almaktadır. Bundan dolayı birçok ülkede pestisit kullanımı kaçınılmaz durumdadır. Son yıllarda gıdalardaki pestisit kalıntı miktarının azaltılması yönündeki çalışmalar, temel gıda işleme aşamaları esnasında pestisitlerin önemli derecede yıkılmasını amaçlamaktadır (Şenöz, 2007). Literatürdeki çalışmalar fırınlama, kurutma, fermantasyon, dondurma, öğütme, kabuk soyma, pişirme, yıkama ve meyve/sebze suyu sıkma gibi gıda işleme yöntemlerinin gıdalardaki pestisit kalıntısı miktarını önemli ölçüde azaltabildiğini göstermiştir (Kaushik vd., 2009).

Laktik asit bakterileri çubuk ve kok şekilli, genelde hareketsiz, katalaz ve oksidaz negatif, spor oluşturmeyen, aside toleransı yüksek gram pozitif bakterilerdir. Fermantasyon esnasında başlıca son ürünleri laktik asit olduğu için bu ismi almışlardır (Wood ve Holzapfel, 1992; Axelsson, 2004). Fermantasyon süreçleri boyunca oluşturdukları laktik asit ile pH değerini 3,5'e kadar düşürebilirler. Oksijen ihtiyaçlarına göre anaerobik, aerotolerant ve mikroaerofilik; karbonhidrat metabolizmalarına göre ise homofermantatif, heterofermantatif ve zorunlu heterofermantatif olarak gruplandırılabilirler (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Klaenhammer ve Kulen, 1999). Bir diğer gruplandırma *Lactobacillus* cinsine ait üyeleri sıcaklık isteklerine göre *Betabacterium*, *Streptobacterium* ve *Termobacterium* olarak üç gruba ayırmaktır (Mavhungu, 2005).

Lactobacillus cinsi farklı ekolojik durumlara tolerans gösterebilen türleri barındırdığı için doğada geniş bir yayılım alanına sahiptir. Süt ve süt ürünlerinde, meyve ve sebzelerde, fermente ürünlerde ve hayvanların sindirim sistemleri içerisinde bulunmalarına imkân sağlayan mezofilik, psikrotrofik, termodurik ve termofilik bireylere sahiptirler (Hutkins, 2006).

Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC)'ın tanımına göre biyodegradasyon, bir maddenin enzim aracılığıyla *in vitro* veya *in vivo* şartlarda parçalanma işlemidir (Porto vd., 2011). Biyodegradasyon çevresel pestisit kontaminasyonunun iyileştirilmesinde uygulanan, amaca en uygun, güvenli ve ucuz bir metottur. Biyodegradasyon işlemi iki aşamadan oluşmaktadır. Bunlardan birincisi, mikroorganizmaların aktivitesi, ikincisi ise pestisitlerle kontamine olmuş çevresel maddelerin iyileştirme ve detoksifiye edilmesidir. Biyodegradasyon mekanizması aerobik ve anerobik şartlar altında gerçekleşebilmektedir (Singh vd., 1999).

Mikroorganizmaların, klorlu, poliklorlu, polisiklik aromatik ve organofosforlu pestisit gruplarına ait birçok etken maddenin parçalanmasına veya detoksifiye edilmesine yardımcı olduğu bilinmektedir (Parte vd., 2017). Mikroorganizmalar iki şekilde pestisitlerin parçalanmasını sağlayabilmektedir. Bunlardan ilki metabolizmaları sonucunda değiştirdikleri çevresel şartların pestisitleri parçalaması yoluyla olmaktadır. Bu yollardan diğeri ise oksitleme, dehidrojenizasyon, indirgeme, hidroliz ve sentezi içeren enzimatik tepkimelerle gerçekleşmektedir (Ye vd., 2018). Canlılar için potansiyel tehlike olan pestisitlerin temizlenmesinde biyodegradasyon gelişmiş ülkelerde yaygın olarak kullanılan bir metottur. Toprak örneklerinde yapılan çalışmalarda *Pseudaminobacter*, *Achromobacter*, *Brucella* ve *Ochrobactrum* türlerinin chlorpyrifos ve methyl parathion pestisitlerini degrade ettikleri tespit edilmiştir (Singh vd., 2003; Zhang vd., 2005).

Laktik asit bakterilerinin çeşitli kimyasal gruplara ait pestisitlerin parçalanmaları üzerine etkilerini araştıran birçok çalışma mevcuttur. Azizi ve Homayouni (2009) *Lactobacilli*, *Streptococci*, *Leuconostoc* ve *Pediococci* bakterilerinin diazinon ve malathion'un; Cho vd. (2009) Uzak Doğu'ya özgü geleneksel gıda olan kimchiden izole edilen 4 laktik asit bakterisi *L. mesenteroides*, *L. brevis*, *L. plantarum* ve *L. sakei*'nin chlorpyrifos'un; Zhao vd. (2011) *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lb. paracasei* ve *L. plantarum*'un dimethoate, fenthion, malathion, methyl parathion, monocrotophos, phorate ve trichlorphon'un; Bo vd. (2011) ticari yoğurt susularının dimethoate, fenthion, methyl-parathion, monocrotophos, phorate, malathion ve trichlorphon'un; Harishankar vd. (2013) intestinal bakteriler olan *Lc. lactis*, *Lb. fermentum*, *L. plantarum*, *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis*'in chlorpyrifos'un; Trinder vd. (2016) yaptıkları çalışmada *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) ve *Lb. rhamnosus* GR-1 (LGR-1)'un parathion ve chlorpyrifos'un; Li vd. (2018) *L. plantarum*'un phorate, dimethoate ve omethoat'ın parçalanmalarına olan etkilerini araştırmışlardır. Laktik asit

bakterilerinin pestisitlerin degradasyonu üzerine olan etkileri ile ilgili daha fazla veri elde etmek amacıyla bu araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada, farklı kimyasal grupların üyesi olan malathion, endosulfan sulfat, alfa-endosulfan, beta-endosulfan, cypermethrin ve imidacloprid etken maddelerinin Mihaliç peynirinden izole edilen laktik asit bakterileri (*Lb. fermentum*, *Lb. paracasei*, *Lb.rhamnosus*, *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Lc. lactis*) tarafından farklı zamanlarda (0., 24. ve 48. saat) parçalanma durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Materyal

2.1.1. Kimyasallar ve standartlar

Pestisit referans standartları Dr. Ehrenstorfer'den (Augsburg, Almanya) temin edilmiştir. Asetonitril (ACN), metanol (MeOH), sodyum asetat (NaOAc) ve asetik asit Merck'ten (Darmstadt, Almanya), susuz magnezyum sülfat (anhy. MgSO₄) ve primer sekonder amin (PSA) Agilent'ten (Santa Clara, CA, USA) temin edilmiştir. Her bir pestisit stok standart çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmıştır. Hazırlanan stok solüsyonlar 10 ppm stok olacak şekilde karışım standart hazırlanmıştır. LC-MS/MS cihazı için kalibrasyon noktaları 5, 10, 20, 40, 80 ve 100 ppb olarak GC-MS/MS cihazı için ise 10, 25, 50, 100, 250 ppb olarak kullanılmıştır. Örnekler, sonuçları bu kalibrasyon noktaları arasında olacak şekilde seyreltilmiş, cihaz okuması sonrası bulunan değer seyreltme faktörü ile çarpılarak nihai sonuç elde edilmiştir.

2.1.2. Laktik asit bakterileri

Çalışmada Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü bünyesinde yer alan Süt Ürünleri Gen Bankasında mevcut geleneksel Mihaliç peynirinden izole edilmiş olan *Lb. fermentum*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *L. delbrueckii subsp.bulgaricus* ve *Lc. lactis* suşları kullanılmıştır.

Suşların aktive edilmesi için öncelikle %15 glycerol içeren cryobankta yer alan suştan 1mL alınarak 9 mL MRS Broth'a (Merck10661, Darmstadt, Almanya) alınmış, 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra öze ile MRS agara (de Man Rogosa Sharpe agar, LAbM223-A Ltd., Bury, Lancashire, İngiltere) geçiş yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası gelişen suşlara Gram boyama (Biomerieux. Refxxx, France) ve Katalaz (Sigma, Bactident katalase SRE0041) testi uygulanmış (Norris vd., 1981) ve ışık mikroskopunda (Olympus, BX51 Scientific, Tokyo, Japonya) saflık kontrolleri yapılmıştır (Sharpe, 1979).

2.2. Yöntem

2.2.1. Pestisit uygulaması

Denemede farklı kimyasal grupların üyesi olan 6 adet pestisit etken maddesi seçilmiştir. Bunlar malathion (organofosforlu pestisit), endosulfan (endosulfan sulfat, alfa-endosulfan, beta-endosulfan) (organoklorlu pestisitler), cypermethrin (sentetik piretroid) ve imidacloprid (neonikotinoid)'tir. Laktik asit bakterilerinden *Lb. fermentum*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Lc. lactis* kullanılmıştır. Seçilen kimyasal grupların yine seçilen ve MRS besiyeri içerisinde geliştirilen laktik asit bakterileri uygulaması ile parçalanma durumları 0., 24. ve 48. saatte yapılan pestisit analizleri ile belirlenmiştir. Başlangıç konsantrasyonu 10 ppm olarak seçilerek (bu değer ön denemeler sonucunda 48 saat sonra incelenen pestisitlerin kaldığı bir konsantrasyon olduğu için seçilmiştir) laktik asit bakterisi içeren besiyerine eklenmiş ve çalışma 8 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

2.2.2. Pestisit analizi

Pestisit kalıntı analizi için QuEChERS yöntemi AOAC 2007.01 versiyonu (Lehotay vd., 2007) kullanılmıştır. Örneklerden santrifüj tüpüne 15 g tartılıp üzerine 15 ml asetonitril (%1 asetik asit içeren) eklenip çalkalanmıştır. Akabinde, QuEChERS AOAC ekstraksiyon kiti (6 g MgSO₄ ve 1,5 g sodyum asetat içeren) tüpe eklenmiş çalkalanıp 5000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazdan 8 mL alınıp dispersive katı faz ekstraksiyon tüpüne (400 mg PSA, 400 mg C18 ve 1200 mg MgSO₄ içeren) aktarılmış ve çalkalanıp 5000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Üst faz bir PVDF şırınga filtresi (0,22 µm) kullanılarak süzümüştür. Viale alınan süzüntü, Shimadzu 8040 LC-MS/MS ve Agilent 7000C GC-MS/MS cihazına enjekte edilerek kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirilmiştir.

2.2.3. Mikrobiyolojik analiz

Çalışmada kullanılacak suşların tür düzeyde tanımlamaları MALDI-TOF VITEK MS (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ile yapıp kontrolleri sağlanmıştır. Cihazın kalibrasyon kontrolünde *E. coli* ATCC 8739 (American Type Culture Collection Manassas, ABD) standart bakteri suşu referans olarak kullanılmıştır (Clark vd., 2013; Guo vd., 2014).

Tanımlaması yapılan saf kültürlerden öze ile MRS Broth'a prekültür hazırlanmış ve 18 saat süreyle inkübe edilmiştir (Tigu vd., 2016). İnkübasyon sonrası 600 nanometreoptik yoğunlukta bakteri yükü hesaplanmıştır. Denemeler için 750 ml'lik MRS Broth hazırlanmış, sıvı besiyeri içerisine bakteri yükü 10⁷ kob/mL olduğunda 10 mg/L konsantrasyonunda pestisit karışımı eklenmiş ve 48 saat boyunca 37°C'de

inkübe edilmiştir. Suşların kalıntı parçalama miktarlarını belirlemek için sıvı besiyerinden 0., 24. ve 48. saatlerde numune alınarak pestisit analizleri yapılmıştır.

2.2.4. İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler 'Tesadüf Parselleri Deneme Deseni'ne uygun olarak varyans analizine tabi tutulmuştur (Turan, 1995). Önemlilik testlerinde %5 ve %1 olasılık düzeyleri kullanılmıştır. Ortalama değerler Asgari Önemli Farklılık (AÖF=LSD) testine göre %5 olasılık düzeyinde gruplandırılmıştır (Steel ve Torrie, 1981). Hesaplamalar JUMP (Versiyon 7) paket programından faydalanılarak yapılmıştır.

Tüm bakterilerin yüzde yıkım değerlerinin hesaplamalarında bakteriler tek tek ele alınmış ve 24 ile 48. saatlerdeki yıkımlarından sonra kalan tüm pestisit etken maddelerinin ortalaması alınarak 0.saate göre olan yüzde yıkım değişimleri hesaplanmıştır.

3. Tartışma ve sonuç

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular değerlendirildiğinde farklı kimyasal grupların üyesi olan malathion (organofosforlu pestisit), endosulfan (organoklorlu pestisitler), cypermethrin (sentetik piretroid) ve imidacloprid (neonikotinoid) etken maddelerinin seçilmiş *Laktik asit bakterileri* (*Lb.fermentum*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb.delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Lc. lactis*) tarafından parçalanma durumları incelenmiştir. Laktik asit bakterileri, pestisit etken maddeleri, uygulama zamanı, laktik asit bakterileri × pestisit

etken maddeleri, laktik asit bakterileri × uygulama zamanı, pestisit etken maddeleri × uygulama zamanı, laktik asit bakterileri × pestisit etken maddeleri × uygulama zamanı sonuçlarında istatistiki olarak önemli farklılıklar ($p<0,05$) tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Suşların pestisitlere olan genel etkisine bakıldığında 24. saat ve 48. saat sonunda pestisitlerde en fazla yıkıma neden olan suş *Lb. fermentum* (3,45-0,75 ppm) olarak belirlenmiştir. *Lb. fermentum* suşunun 24. saat sonunda pestisitlerdeki ortalama yıkımı %45,7 olurken, bu oran 48 saat sonunda %86,7'e yükselmiştir. Pestisit yıkımı açısından en az etkinliğe sahip suşlar ise 24 saat sonunda *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* (8,81 ppm), 48 saat sonunda ise *Lc.lactis* (7,39 ppm) olmuştur ve ortalama yıkım oranları sırasıyla %23,5 ve %43,4 olarak belirlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2 incelendiğinde laktik asit bakterisi içeren besiyerlerine eklenen tüm pestisitlerde zamanla değişen oranlarda bir azalma meydana geldiği görülmüştür. 24 saat sonunda 0. saat ile karşılaştırıldığında en yüksek yıkımın *Lb. fermentum* içeren besiyerine eklenen cypermethrin etken maddesinde olduğu görülmüştür. Bu değer 3,45 ppm olarak bulunmuş ve 0. saate göre %68 oranında yıkım gerçekleşmiştir. Benzer şekilde 0. ve 48. saatler arasındaki değerler karşılaştırıldığında en yüksek yıkımın yine *Lb. fermentum* suşu içeren besiyerine eklenen cypermethrin etken maddesinde olduğu tespit edilmiştir. Bu değer 0,75 ppm olarak belirlenmiş ve cypermetrinin başlangıç konsantrasyonuna oranla %92,5 oranında yıkıldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Denemede incelenen laktik asit bakterileri, pestisit etken maddeleri ve uygulama zamanı ile bunlar arası etkileşimlere ait varyans analizi tablosu

Kaynaklar	SD	Hata Kareler Ortalaması	F Oranı	Prob>F
Laktik asit bakterileri	5	219,26**	2.107,355	0,0000
Pestisit etken maddeleri	5	1,99**	19,1268	<,0001
Uygulama zamanı	2	1.988,92**	19.114,55	0,0000
Laktik asit bakterileri × pestisit etken maddeleri	25	4,85**	46,6110	<,0001
Laktik asit bakterileri × uygulama zamanı	10	93,59**	869,4834	0,0000
Pestisit etken maddeleri × uygulama zamanı	10	1,05**	10,1130	<,0001
Laktik asit bakterileri × pestisit etken maddeleri × uygulama zamanı	50	4,19**	40,2592	<,0001

** : Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak %1 olasılık düzeyinde önemlidir

Pestisit stabilitesinin en fazla korunduğu bakteri-pestisit karışımı *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* suşunda cypermethrin etken maddesi olmuş ve 24 saatlik sürede %11,9 oranında bir yıkım sonucunda konsantrasyonu 8,81 ppm olarak belirlenmiştir. 48 saat sonunda ise en az yıkım *Lc.lactis* suşu içerisinde cypermethrin etken maddesinde görülmüştür ve yıkım oranı %26,1 olarak 7,39 ppm tespit edilmiştir. Bu sonuçlar farklı etken maddelerin yıkımlarının kullanılan suşa ve zamana bağlı olarak değiştiğini göstermesi açısından önemlidir.

Çalışmada kullanılan tüm laktik asit bakteri suşlarına eklenen farklı etken maddelerin zamana bağlı olarak yıkımlarının arttığı tespit edilmiştir. Ortalama değerlere bakıldığında ilk 24 saate %25,4'lük bir azalma görülmesine karşın 24. saat ile 48. saat arasında bu azalmanın yaklaşık %35,7 olarak gerçekleştiği görülmüştür. Uygulamanın başlangıcı ile karşılaştırıldığında ise 48 saat sonunda ortalama pestisit miktarı %52,1 azalarak 4,84 ppm'e düşmüştür (Çizelge 2).

Çizelge 2. Laktik asit bakterisi, pestisit etken maddesi ve uygulama zamanına bağlı olarak pestisit konsantrasyonları (ppm)

Uygulama Zamanı (saat)	Bakteri	Pestisit Etken Maddeleri							Zamana göre ortalama pestisit değerleri (ppm)
		Malathion	Endosulfan sulfat	Alfa-endosulfan	Beta-endosulfan	Cypermethrin	Imidacloprid		
0	Kontrol	9,81 EF	10,07 EFGHIJK	10,00 EFGHIJ	9,84 EFG	10,10 FGHJKLM	10,14 GHIJKL		
	<i>Lb. fermentum</i>	10,12 FGHJKLM	10,17 HIJKL	10,13 GHIJKL	10,06 EFGHIJK	10,70 MN	10,71 N		
	<i>Lb. paracasei</i>	10,15 GHIJKL	10,35 KL	10,19 IJKL	10,05 EFGHIJK	10,03 EFGHIJ	10,06 EFGHIJK		
	<i>Lb. rhamnosus</i>	10,19 IJKL	10,27 JKL	10,07 EFGHIJK	10,19 IJKL	10,03 EFGHIJ	10,13 GHIJKL	10,10 c	
	<i>Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	10,05 EFGHIJK	9,88 EFGHI	9,99 EFGHIJ	10,04 EFGHIJK	9,98 EFGHIJ	9,98 EFGHIJ		
	<i>Lc. lactis</i>	9,90 EFGHI	10,39 LM	10,24 JKL	9,86 EFGH	10,02 EFGHIJ	9,88 EFGHI		
24	Kontrol	9,77 E	9,28 BCD	9,09 ABC	9,30 CD	9,11 ABC	9,78 E		
	<i>Lb. fermentum</i>	7,90 uvwx	5,17 ijk	6,96 o	5,13 ij	3,45 f	4,98 i		
	<i>Lb. paracasei</i>	7,98 wx	7,29 pqr	7,15 opq	7,02 op	8,12 x	7,08 opq		
	<i>Lb. rhamnosus</i>	7,66 stuv	7,64s tuv	7,59 rstu	7,60 rstu	8,12 x	7,08 opq	7,53 b	
	<i>Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	8,07 wx	7,77 tuvw	6,40 n	6,38 mn	8,81 zA	8,47 y		
	<i>Lc. lactis</i>	5,48 k	7,93 vwx	7,79 tuvw	7,50 rstu	8,67 yz	7,39 qrs		
48	Kontrol	9,78 E	9,05 ABC	8,98Z ab	9,19 BCD	9,17 BCD	9,44 D		
	<i>Lb. fermentum</i>	1,23 bc	1,41 c	1,39 bc	1,08 b	0,75 a	2,36 d		
	<i>Lb. paracasei</i>	3,07 e	2,91 e	2,94 e	2,97 e	3,06 e	3,95 g		
	<i>Lb. rhamnosus</i>	5,32 jk	5,25 ijk	5,22 ijk	5,27 ijk	3,98 g	4,11 g	4,84 a	
	<i>Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	6,47 n	6,07 lm	4,53 h	4,44 h	3,52 f	3,51 f		
	<i>Lc. lactis</i>	4,58 h	5,29 ijk	5,43 jk	5,34 jk	7,39 qrs	5,94 l		
Pestisit Ortalama Değerleri (ppm)		7,64 c	7,57 bc	7,45 b	7,29 a	7,50 b	7,50 b		

Aynı harf veya harfleri içeren rakamlar arasında istatistiksel olarak farklılık yoktur ($p < 0,05$) (aynı harfin büyük ve küçük yazımı birbirinden farklıdır). Pestisit ortalama değerleri ve zamana göre ortalama pestisit değerleri kendi içinde değerlendirilmiştir. SANTE direktifine göre pestisit analizlerinde ölçüm belirsizliği $\pm \%50$ olarak kullanılmaktadır.

Zamana bağlı olarak pestisit konsantrasyonlarındaki değişime etken maddeler bazında bakıldığında 24 saat sonunda tüm suşlardan elde edilen değerlerin ortalaması göz önüne alındığında beta-endosulfan etken maddesinin ortalama konsantrasyonunun 6,73 ppm'e düştüğü ve bu açıdan 24 saat sonunda en fazla yıkıma uğrayan pestisit etken maddesi olduğu görülmüştür. 48 Saat sonunda ise cypermethrin konsantrasyonunun incelenen suşlar içerisindeki ortalaması 3,74 ppm olarak belirlenmiştir ve 48 saat sonunda en düşük konsantrasyon değerine sahip pestisit etken maddesi olmuştur (Çizelge 2).

Azizi ve Homayouni (2009) *Lactobacilli*, *Streptococci*, *Leuconostoc* ve *Pediococci* bakterilerinin diazinon ve malathion pestisitlerine olan etkilerini incelemiştir. Çalışma başlangıç konsantrasyonu diazinon için 0,6 ppm, malathion için ise 3,5 ppm olarak seçilmiştir. Bakteri karışımı 48 saat fermantasyona bırakılmış ve bu süre sonunda malathion konsantrasyonu ciddi bir düşüşle 0,5 ppm'e inerken, diazinon konsantrasyonu az bir miktar düşerek 0,5 ppm olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada malathion değerleri incelendiğinde benzer şekilde başlangıçta 10 ppm olan malathion seviyesi 48 saat sonunda bütün suşlar ortalamasında 4,13 ppm olarak bulunmuştur. Tespit edilen oranlar arasındaki farklılığın sebebinin farklı türlerin malathion yıkımına farklı etkilerde bulunmasından kaynaklanabileceği şeklinde düşünülmektedir. Diğer taraftan çalışmamızda malathionun farklı suşlarda parçalanma oranlarının istatistiki olarak anlamlı şekilde farklı bulunması da bu düşüncüyü destekler niteliktedir. Diğer bir çalışmada Uzak Doğu'ya özgü geleneksel gıda olan kimchinin fermantasyonu sırasında organik fosforlu pestisitlerin degradasyonu incelenmiş, 30 mg/L chlorpyrifos ilave edilen kimchinin fermantasyonu sırasında 3. günde kalıntı oranının %83,3 azaldığı, 9. günün sonunda ise chlorpyrifos'un tamamen degrade olduğu bulunmuştur (Cho vd., 2009). Benzer bir şekilde Harishankar vd. (2013) ve Trinder vd. (2016) çalışmaları da laktik asit bakterilerinin organofosforlu pestisitlerin yıkımını hızlandırdığına dair kanıtlar içermektedir. Malathion ile birlikte organofosforlu pestisitler grubunun bir üyesi olan chlorpyrifos'ta ve diğer organofosfor grubu pestisitlerde benzer bir düşüşün yaşanması özellikle laktik asit bakterileri ile gerçekleşen fermantasyon sürecinin organofosforlu pestisitlerin yıkımını artırıcı bir etki oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Zhao vd. (2011), dimethoate, fenthion, malathion, methyl parathion, monocrotophos, phorate ve trichlorphon'un *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lb. paracasei* ve *Lb. plantarum* suşları karşısındaki parçalanma kinetiklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda seçilen *Lactobacillus* suşlarının tüm pestisitlerde parçalanmayı hızlandırdığı görülmüştür. Dimethoate ve metil parathion stabilitesini en fazla koruyan pestisitler olurken *Lb. delbrueckii subsp.*

bulgaricus ve *Lb. plantarum* en hızlı parçalanmaya neden olan suşlar olarak tespit edilmiştir. Bir diğer çalışmada ise yedi farklı organik fosforlu pestisit (dimethoate, fenthion, methyl-parathion, monocrotophos, phorate, malathion ve trichlorphon) yoğurt üretimi sırasındaki değişimleri hesaplanmıştır. Pestisit eklenen süttten iki farklı ticari suş kullanılarak yoğurt elde edilmiş ve pestisitlerdeki değişim incelenmiştir. Sonuç olarak proses boyunca malathion hariç diğer pestisitlerin bozulmasının uygulanan starter kültüre göre değişen oranlarda arttığı gözlenmiştir (Bo vd., 2011). Bu çalışmalar ile benzer şekilde yaptığımız çalışmada seçilen laktik asit bakterisi suşuna ve uygulanan pestisitlere bağlı olarak pestisitlerin parçalanma oranının değişiklik gösterdiği görülmüştür. Bu durum mikroorganizmalar tarafından pestisitlerin yıkımında oksitleme, dehidrojenizasyon, indirgeme, hidroliz ve sentezi içeren enzimatik tepkimeler (Ye vd., 2018) gibi farklı yolların olması ve bakterilerin pestisitleri karbon ve fosfor kaynağı olarak farklı kimyasal ihtiyaçları için kullanabilmeleri (Cho vd., 2009) ile açıklanabilmektedir.

Yapılan bir diğer çalışmada mısır silajına ilave edilen *Lb. plantarum* suşlarının (*Lb. plantarum* 1.0315, *Lb. plantarum* 1.0624 ve *Lb. plantarum* 1.0622) organofosfor pestisitlerin parçalanmasına olan etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda bakteri ilavesinin pestisitlerin parçalanma oranını arttırdığı özellikle karışım şeklinde suş uygulamasının bu oranı daha da yukarıya çektiği gözlenmiştir (Zhang vd., 2016). Diğer bir çalışmada ise Li vd. (2018) 121 *Lb. plantarum* suşunun organofosforlu pestisit yıkım aktivitesi için geniş çaplı bir çalışma gerçekleştirmişler ve gıda matrislerinde probiyotik bazlı pestisit bozulunda stratejiler geliştirmek için, hedef pestisitlere etkili olan gıda kaynaklı suşları taramanın önemini vurgulamışlardır. Gerçekleştirilen bu çalışma ile malathion (organofosforlu pestisit), endosulfan (organoklorlu pestisitler), cypermethrin (sentetik piretroid) ve imidacloprid (neonikotinoid) etken maddelerinin seçilmiş laktik asit bakterileri (*Lb. fermentum*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Lc. lactis*) tarafından parçalanma durumları incelenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar laktik asit bakterilerinin pestisitlerin parçalanma süreçlerini hızlandırdığını ortaya koymaktadır. Ancak bu sürecin tam olarak aydınlatılabilmesi ve hem çevrede hem de gıdalarda kalıntı oluşturan pestisitlerin yıkımında bakterilerin kullanımında verim sağlanabilmesi için daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

4. Teşekkür

Bu çalışma Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından desteklenen "Geleneksel Gıda Kaynaklı *Lactobacillus* Suşlarının Bazı Pestisitlerin Parçalanması Üzerine Etkilerinin Araştırılması" isimli projenin bir parçasıdır.

5. Kaynaklar

- Anonim (2021). Türk gıda kodeksi pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri yönetmeliği. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2021/09/20210927M1-1.htm> (Erişim tarihi: 23.10.2021)
- Axelsson, L. (2004) Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Salminen, S., Wright, A.V. and Ouwehand, A., Eds., *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 3rd Edition, Marcel Dekker, New York, 1-67. <https://doi.org/10.1201/9780824752033.ch1>
- Azizi, A. and Homayouni, A. (2009). Bacterial-Degradation of pesticides residue in vegetables during fermentation. *Asian Journal of Chemistry*, 21(8), 6255-6264.
- Bo, L.Y., Zhang, Y.H. and Zhao, X.H. (2011). Degradation kinetics of seven organophosphorus pesticides in milk during yoghurt processing. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 76(3), 353-362.
- Camacho-Morales, R. L. and Sánchez, J. E. (2016). Biotechnological use of Fungi for the degradation of recalcitrant agro-pesticides. In *Mushroom Biotechnology* (pp. 203-214). Academic Press.
- Cho, K. M., Math, R. K., Islam, S. M. A., Lim, W. J., Hong, S. Y., Kim, J. M., ... and Yun, H. D. (2009). Biodegradation of chlorpyrifos by lactic acid bacteria during kimchi fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1882-1889.
- Clark, A. E., Kaleta, E. J., Arora, A. and Wolk, D. M. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(3), 547-603.
- Da Cuña, R. H., Rey Vázquez, G., Dorelle, L., Rodríguez, E. M., Guimarães Moreira, R. and Lo Nostro, F. L. (2016). Mechanism of action of endosulfan as disruptor of gonadal steroidogenesis in the cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part-C: Toxicology and Pharmacology*, 187, 74-80.
- Caplice, E. and Fitzgerald, G. F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2), 131-149.
- Guo, L., Ye, L., Zhao, Q., Ma, Y., Yang, J. and Luo, Y. (2014). Comparative study of MALDI-TOF MS and VITEK 2 in bacteria identification. *Journal of Thoracic Disease*, 6(5), 534.
- Harishankar, M. K., Sasikala, C. and Ramya, M. (2013). Efficiency of the intestinal bacteria in the degradation of the toxic pesticide, chlorpyrifos. *3 Biotech*, 3(2), 137-142.
- Hutkins, R. W. (2006). *Microbiology and technology of fermented foods*. Blackwell Publishing, Oxford, 473p, UK.
- Kaur, R., Mavi, G. K., Raghav, S. and Khan, I. (2019). Pesticides classification and its impact on environment. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(3), 1889-1897.
- Kaushik, G., Satya, S. and Naik, S. N. (2009). Food processing a tool to pesticide residue dissipation—A review. *Food Research International*, 42(1), 26-40.
- Klaenhammer, T. R. and Kulen, J. M. (1999). Selection and design of properties. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2), 45-57.
- Lai, W. (2017). Pesticide use and health outcomes: Evidence from agricultural water pollution in China. *Journal of Environmental Economics and Management*, 86, 93–120.
- Lehotay, S. J., Tully, J., Garca, A. V., Contreras, M., Mol, H., Heinke, V., Anspach, T., Lach, G., Fussell, R., Mastovska, K. and Poulsen, M. E. (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.
- Li, C., Ma, Y., Mi, Z., Huo R., Zhou, T., Hai, H. Kwok, L., Sun, Z., Chen, Y. and Zhang H. (2018). Screening for *Lactobacillus plantarum* strains that possess organophosphorus pesticide-degrading activity and metabolomic analysis of phorate degradation. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-13.
- Martinez, J. and Leyhe, J. (2004). Malathion analysis of risks to endangered and threatened Salmon and Steelhead. Environmental Field Branch Office of Pesticide Programs. US Environmental Protection Agency (EPA) Office.
- Mavhungu, J. (2005). Isolation and identification of lactic acid bacteria from 'Ting'in the Northern Province of South Africa. Department of Microbiology and Plant Pathology, University of Pretoria.
- Norris, J. R., Berkeley, R. C. W., Logan, N. A. and O'Donnell, A. G. (1981). The genera *Bacillus* and *Sporolactobacillus*. In *The Prokaryotes vol II*, pp 1711–1742. Starr MP, Stolp H, Trüper H G, Ballows A and Schlegel H G, eds. Berlin: Springer Verlag.
- Parte S. G., Mohekar A. D. and Kharat A. S. (2017). Microbial degradation of pesticide: A review. *African Journal of Microbiology Research*. 11(24), 992-1012.
- Pimentel, D. (1983). Effects of pesticides on the environment. In *10th International Congress on Plant Protection* (Vol. 10, pp. 685-691).

Porto, A. L. M., Melgar, G. Z., Kasemodel, M. C. and Nitschke, M. (2011). Biodegradation of pesticides. *Pesticides in the Modern World-Pesticides Use and Management*, Stoytcheva M. (Ed.)//Tech, 1, 407-438.

Rand, G. M., Carriger, J. F., Gardinali, P. R. and Castro, J. (2010). Endosulfan and its metabolite, endosulfan sulfate, in freshwater ecosystems of South Florida: a probabilistic aquatic ecological risk assessment. *Ecotoxicology*, 19(5), 879-900.

Sharpe, M. E. (1979). *Identification of the Lactic Acid Bacteria*. In: F.A. Skinner and D.W. Lovelock, Editors. Identification Methods for Microbiologists, Academic Press, London, pp: 244-259.

Sierra-Diaz, E., Celis-de la Rosa, A. D. J., Lozano-Kasten, F., Trasande, L., Peregrina-Lucano, A. A., Sandoval-Pinto, E. and Gonzalez-Chavez, H. (2019). Urinary pesticide levels in children and adolescents residing in two agricultural communities in Mexico. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(4), 562.

Singh, B. K., Kuhad, R. C., Singh, A. and Lal, R. (1999). Biochemical and molecular basis of pesticide degradation by microorganisms. *Critical Reviews in Biotechnology*, 19(3), 197-225.

Singh, B. K., Walker, A., Morgan, A. W. and Wright, D. J. (2003). Effects of soil pH on the biodegradation on chlorpyrifos and isolation of a chlorpyrifos-degrading bacterium. *Applied Environmental Microbiology*, 69, 5198-5206.

Skouras, P. J., Darras, A. I., Mprokaki, M., Demopoulos, V., Margaritopoulos, J. T., Delis, C. and Stathas, G. J. (2021). Toxicity, Sublethal and low dose effects of imidacloprid and deltamethrin on the aphidophagous predator *Ceratomegilla undecimnotata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Insects*, 12(8), 696.

Sparling, D. W. and Fellers, G. (2007). Comparative toxicity of chlorpyrifos, diazinon, malathion and their oxon derivatives to larval *Rana boylei*. *Environmental Pollution*, 147(3), 535-9.

Steel, R. G. D. and Torrie, J. (1981). Principles and Procedures of Statistics: A biometric Approach. 2nd Edition, Mc Graw Hill International Book Co., Singapore City.

Şenöz, B. (2007). Buğday, makarna ve bisküvide organik fosforlu pestisit kalıntıları ve bazı metabolitleri üzerine depolama ve işleme tekniklerinin etkisi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 76 s.

Tigu, F., Assefa, F., Mehari, T. and Ashenafi, M. (2016). Probiotic property of lactic acid bacteria from traditional fermented condiments: Datta and Awaze. *International Food Research Journal*, 23(2), 770.

Tiryaki, O., Canhilal, R. and Horuz, S. (2010). Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2), 154-169.

Tomlin, C.D.S. (2003). The Pesticide manual: A world compendium of pesticides. British Crop Protection Council, UK.

Trinder, M., McDowell, T. W. Daisley, B. A., Ali, S.N., Leong, H. S., Sumarah, M. W. and Reida G. (2016). Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* reduces organophosphate pesticide absorption and toxicity to *Drosophila melanogaster*. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(20), 6204-6213.

Turabi, M. S. (2007). Bitki koruma ürünlerinin ruhsatlandırılması. Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi Bildirileri, 25-26.

Turan, Z. M. (1995). Araştırma ve Deneme Metotları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları*, No: 62, 121s.

TÜİK (2019). Türkiye'de pestisit kullanım verileri. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 (Erişim tarihi: 10.10.2021)

Wang, W., Yang, L. L., Luo, S. M., Ma, J. Y., Zhao, Y., Shen, W. and Yin, S. (2018). Toxic effects and possible mechanisms following malathion exposure in porcine granulosa cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 64, 172-180.

WHO (2003). Endosulfan in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization (WHO/SDE/WSH/03.04/92).

WHO (2019). Detoxifying agriculture and health from highly hazardous pesticides: a call for action. <https://www.fao.org/3/ca6847en/ca6847en.pdf>

Wood, B. J. and Holzappel, W. H. N. (Eds.). (1992). *The genera of lactic acid bacteria* (Vol. 2). Springer Science & Business Media.

Ye, X., Dong, F. and Lei, X. (2018). Microbial resources and ecology-microbial degradation of pesticides. *Natural Resources Conservation and Research*, 23(9), 22-28.

Zhang, R., Cui, Z., Jiang, J., He, J., Gu, X. and Li, S. (2005). Diversity of organophosphorus pesticide-degrading bacteria in a polluted soil and conservation of their organophosphorus hydrolase genes. *Canadian Journal of Microbiology*, 51, 337-343.

Zhang, Y. H., Xu, D., Zhao, X. H., Song, Y., Liu, Y. L. and Li, H. N. (2016). Biodegradation of two organophosphorus pesticides in whole corn silage as affected by the cultured *Lactobacillus plantarum*. *3 Biotech*, 6(1), 73.

Zhao, H., Li, X. and Wang, X. (2011). Heavy metal contents of road-deposited sediment along the urban–rural gradient around Beijing and its potential contribution to runoff pollution. *Environmental Science & Technology*, 45(17), 7120-7127.

Zikankuba, V. L., Mwanyika, G., Ntwenya, J. E. and James, A. (2019). Pesticide regulations and their malpractice implications on food and environment safety. *Cogent Food & Agriculture*, 5(1), 1594-1601.