

Effect of Vinegar and Lemon Juice on Survival of *Salmonella* in Outer Surface of Chicken Eggshell

Uğur UÇAR¹, Hüsnü Şahan GÜRAN^{1*}

¹Dicle University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 21280, Diyarbakır, Türkiye

ABSTRACT

In this study, experimentally contaminated eggs with *Salmonella* were immersed for 3 min in distilled water (DW), lemon juice (L), vinegar (S) and lemon juice+vinegar (LS), and then stored at three different conditions such as: i) 4°C for 28 days, ii) 25°C for 28 days, iii) 4°C for 10 days following 25°C for 18 days. On day 0, *Salmonella* in control (K, without any treatment), DW, L, S and LS groups were detected 3,2±1,0, 3,6±0,4, 1,7±0,5, 1,9±0,8 and 1,8±0,8 log cfu/eggshell, respectively. The decrease in the number of *Salmonella* at day 0 in L and LS groups was statistically significant compared to K and DW groups (P<0,05). The *Salmonella* number decreased below the level of detection on the 18th day of storage in L and LS groups and on the 21st day in S group at 25 °C and 25 °C (18 days)+4 °C (10 days). The difference between *Salmonella* numbers at 4°C was found significant between DW and S and LS groups on the 6th day of storage (P<0,05). According to SEM observation of eggshell, it was determined that washing with L, S and LS caused significant damage to the cuticle layer of the eggshell. This study demonstrated that the use of lemon juice and vinegar in eggs resulted significant reductions in the number of *Salmonella*.

Keywords: Egg, lemon juice, immersion, *Salmonella*, vinegar

Sirke ve Limon Suyunun Tavuk Yumurta Kabuğu Dış Yüzeyinde *Salmonella*'nın Yaşamı Üzerine Etkisi

ÖZ

Bu araştırmada deneysel olarak *Salmonella* ile kontamine edilen yumurtalar kontrol (K) grubu hariç, distile su (DS), limon suyu (L), sirke (S) ve limon suyu+sirke (LS) yıkama sıvılarına daldırılıp 3 dakika bekletildikten sonra i) 4°C'de 28 gün, ii) 25 °C'de 28 gün, iii) 25 °C'de 18 gün ve sonrasında 4°C'de 10 gün olmak üzere üç farklı koşulda muhafaza edildi. K ve DS gruplarında 0. günde *Salmonella* sayısı sırasıyla 3,2±1,0 ve 3,6±0,4 log kob/yumurta kabuğu, L, S ve LS gruplarında ise sırasıyla 1,7±0,5, 1,9±0,8 ve 1,8±0,8 log kob/yumurta kabuğu olarak saptandı. L ve LS gruplarında 0. günde *Salmonella* sayısındaki azalma K ve DS gruplarına göre istatistiksel açıdan önemli bulundu (P<0,05). *Salmonella* sayısının 25 °C ve 25 °C (18 gün)+4 °C (10 gün) muhafazası sırasında L ve LS gruplarında muhafazanın 18. gününde, S grubunda ise 21. gününde tespit seviyesinin altına düştüğü belirlendi. Muhafaza sırasında (4 °C) *Salmonella* sayıları arasındaki farklılık DS ile S ve LS grupları arasında muhafazanın 6. gününde istatistiksel açıdan önemli bulundu (P<0,05). Tarayıcı elektron mikroskop görüntülerine göre L, S ve LS uygulamasının yumurtalarda kütikül tabakasında hasarlara neden olduğu saptandı. Bu çalışma; limon suyu ve sirkenin yumurtalarda *Salmonella* sayısında önemli derecede azalmalara neden olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Daldırma, limon suyu, *Salmonella*, sirke, yumurta

To cite this article: Uçar U, Güran H.Ş. Effect of Vinegar and Lemon Juice on Survival of *Salmonella* in Outer Surface of Chicken Eggshell. Kocatepe Vet J. (2022) 15(4):490-499

Submission: 19.09.2022 Accepted: 13.12.2022 Published Online: 14.12.2022

ORCID ID; UU: 0000-0002-7394-3355, HŞG: 0000-0002-6674-5510

*Corresponding author e-mail: sahanguran@yahoo.com

GİRİŞ

Yumurthanın ucuz ve yüksek besin kaynağı (biyoyararlı bileşiklerden karotenoidler, lutein, zeaksantini bulundurması, iyi bir kolin kaynağı vb.) içeriğine bağlı fonksiyonel bir gıda olarak kabul edilmesi dünyada yumurthanın en çok tüketilen gıdalar arasında yer almasına neden olmaktadır (Réhault-Godbert ve ark. 2019). Dünyada her yıl yaklaşık 86 milyon ton (1 ton = 18.995 adet) yumurta üretimi yapılırken 700 milyar adet yumurta tüketilmektedir (Réhault-Godbert ve ark. 2019, Mattioli ve ark. 2020). Türkiye'de 2020 yılında tavuk yumurtası üretimi yaklaşık 1,2 milyon ton (19,8 milyar adet) olmuştur (Anonim 2022). Ancak yumurta, önemli bir gıda güvenliği riski olan *Salmonella* ile horizontal (dışkı, su, altlık, kan, toprak, toz vb.) ve/veya vertikal (üreme organları) olmak üzere iki farklı yolla kontamine olmaktadır. *Salmonella*'nın insanlara geçişinde yumurta ve ürünleri önemli bir aracı gıda olarak kabul edilmektedir (Sırıken ve Haldun 2013). Avrupa Birliği (AB)'nde 2018 yılında rapor edilen salmonelloz salgınlarının %45,6'sının, 2020 yılında ise %21,9'unun "yumurta ve yumurta ürünleri" tüketimi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (EFSA 2021). Avrupa Birliği üyesi 24 ülkede yapılan bir araştırmada, yumurta tavuklarının insanlarda görülen salmonellozdan sorumlu suşların ana rezervuarı olduğu ve tüm insan enfeksiyon vakalarının %42,4'üne neden olduğu bildirilmiştir (De Knecht ve ark. 2015). Amerika Birleşik Devletleri'ndeki salmonelloz salgınları ile ilişkili hastalıkların çoğunun yumurta ve/veya yumurta ürünleri kaynaklı *Salmonella* kontaminasyonu sonucunda oluştuğu belirtilmektedir (Callejón ve ark. 2015).

Sofralık yumurtalarda (A sınıfı) *Salmonella* kontaminasyonunu azaltmak için fiziksel (ışınlama, mikrodalga, ultraviyole ışık teknolojisi, ultrason vb.), biyolojik (bitki ekstraktlarının kullanımı, probiyotikler vb.) ve kimyasal (hidrojen peroksit, elektrolize su, ozon, organik asitler vb.) dekontaminasyon yöntemleri kullanılmaktadır (Juven ve Pierson 1996, Al-Haq ve ark. 2005, Galiş ve ark. 2013, Keerthirathne ve ark. 2017). Organik asitler ortamın pH'sını düşürerek ve/veya mikroorganizmaların yaşaması için gerekli olan metallerle şelat oluşturarak ya da hücre membranını değiştirip substrat taşınımını bozarak antimikrobiyal etki gösterirler (Cemeroğlu ve ark. 2004). Ükelere göre sofralık yumurtaların yıkanması ile ilgili yasal mevzuatlar farklılık göstermektedir. Türk Gıda Kodeksi Yumurta Tebliğinin madde 5.2. (b) bendinde "A sınıfı yumurta (sofralık) yıkanarak veya başka bir yöntemle temizlenemez ve yağlama işlemine tabi tutulamaz" ibaresinden dolayı böyle yumurtaların yıkanması yasaktır (Anonim 2014). Benzer şekilde Avrupa Birliği'nde A sınıfı yumurtaların yıkanmasına izin verilmemektedir (Galiş ve ark. 2013). ABD, Kanada ve Avustralya gibi bazı ülkelerde sofralık yumurtaların

yıkandıktan sonra satışında ise herhangi bir yasal engel bulunmamaktadır. Ancak yumurtaların yıkanması yumurta kabuğunda hasarlara neden olabilmektedir (Galiş ve ark. 2013). Yumurta kabuğunun taramalı elektron mikroskobu (scanning electron microscope, SEM) görüntüleri daldırma (immersiyon) sonrası özellikle kütikül tabakasının hasar gördüğü veya tamamen ortadan kalktığını göstermektedir. Bu da *Salmonella* gibi patojenlerin yumurtaya penetrasyonunu kolaylaştırmakta ve patojenlerin kolayca yumurthanın içine doğru hareket etmesine katkı sağlamaktadır (Galiş ve ark. 2013, Keerthirathne ve ark. 2017, Juven ve Pierson 1996, Al-Haq ve ark. 2005, Cemeroğlu ve ark. 2004, Ofongo ve ark. 2022, Grudlewska-Buda ve ark. 2022).

Sirke ve limon suyunun düşük pH değerlerine sahip olması ve içeriğindeki organik asitler başta *Salmonella* olmak üzere gıda kaynaklı patojenlere karşı değişen oranlarda antimikrobiyal etki göstermesine neden olur (Elhan 2014, Gökırmaklı ve ark. 2019). Bazı tüketiciler içeriğindeki organik asitlerden dolayı asidik yıkama solüsyonu olarak sirke ve limon suyunu gıda maddelerinde kullanabilmektedir (Şengün ve Karapınar 2006, Henley 2013, Öncül ve Karabıyıklı 2019, Vatrál ve Quinlan 2021). Tüketici düzeyinde yapılan araştırmalar tüketicilerin bir kısmının asidik yıkama solüsyonlarının kanatlı hayvan ürünlerini daha güvenli hale getirdiğine dair çok yanlış bir izlenime sahip olabileceğini ortaya koymaktadır (Prior ve ark. 2010, Koppel ve ark. 2014, Henley ve ark. 2016, Henley ve ark. 2018). Ancak asidik yıkama sıvılarının çığ kanatlı hayvan ürünlerinde *Salmonella* gibi patojenlerin riskini tamamen ortadan kaldırması pek mümkün olmadığı gibi hem ürünün raf ömrünü olumsuz etkileyebilmekte hem de çapraz kontaminasyonlar yoluyla halk sağlığı problemlerine neden olabilmektedir. Türkiye, AB, İngiltere, ABD ve Kanada gibi birçok ülke yumurta gibi çığ kanatlı hayvan ürünlerinin tüketiciler tarafından su dahil herhangi bir yıkama solüsyonu ile yıkanmasını, çapraz kontaminasyonlara neden olabileceğinden önermemektedir [Anonim 2014, Anonim 2022(a), Anonim 2022(b)].

Bu çalışmada asidik (sirke, limon suyu ve bunların karışımları) ve asidik olmayan (su) yıkama sıvılarının: i) yumurta kabuğu dış yüzeyinde *Salmonella*'nın yaşama üzerine etkisi ve ii) yumurta kabuğunun fiziksel yapısında meydana getirdiği değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada Lohmann Sandy ırkı tavuklardan elde edilen ortalama 53-62 g ağırlığındaki yumurtalar materyal olarak kullanıldı. Yumurtalar Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yumurta Tavukçuluğu Araştırma Uygulama Ünitesinden temin edildi. Kirli (dışkı, kan vb.), çatlak ve/veya şekil bozukluğu (kalın kabuklu, aşırı derecede kalsifiye, buruşuk kabuklu vb.) olan yumurtalar çalışmaya dahil edilmedi. Bu çalışma

üç kez tekrar edildi ve her tekrarda 75 adet yumurta olmak üzere toplam 225 adet yumurta kullanıldı.

Kontaminasyon sıvısının hazırlanması

Salmonella typhimurium (ATCC 14028) ve *Salmonella enteritidis* (RSKK 91) suşları yumurtaların kontaminasyonu amacıyla kullanıldı. Stoktan (-20 °C'de bekletilen) alınan her bir *Salmonella* suşu 10 ml'lik Tryptic Soy Broth (TSB) (LABM, Lancashire, UK)'da 37 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. Sonra santrifüjle (Nüve NF 800 R, Ankara, Türkiye) 4200 rpm'de 4 °C'de 15 dakika süre ile santrifüj edildi. Santrifüj sonunda üstte kalan süpernatant uzaklaştırıldı. Geriye kalan pelete 9 ml %0,1'lik peptonlu su (LABM, Lancashire, UK) ilave edildi ve 4200 rpm'de 4 °C'de 15 dakika süre ile santrifüj edildi ve bu işlem 2 kez tekrar edildi. Santrifüj sonunda üstte kalan süpernatant uzaklaştırıldı ve peletler eşit miktarda karıştırılarak %0,1 peptonlu suda süspansiyon haline getirilerek 300 ml steril %0,1'lik peptonlu su ile tamamlandı. Hazırlanan kontaminasyon sıvısındaki *Salmonella* sayısının belirlenmesi için 10⁸e kadar seri dilüsyonlar hazırlandı ve her bir dilüsyondan 0,1 ml alınarak Xylose Lysine Tergitol 4 (XLT4) (Merck, Germany) agar içeren petrilere transfer edildi. 37 °C'de 18-24 saat inkübasyonu takiben XLT4 agarda üreyen tipik kolonilerin sayımı sonrası kontaminasyon sıvısındaki *Salmonella* miktarının 10⁶ kob/ml düzeyinde olduğu tespit edildi. Hazırlanan kontaminasyon sıvısı 30 dakika içinde kullanıldı. Her bir grup için 3 litre olacak şekilde her tekrarda 15 litre kontaminasyon sıvısı hazırlandı.

Yumurtaların *Salmonella* ile deneysel kontaminasyonu

Tablo 1. Deneysel gruplar

Table 1. Treatment groups

Kontrol (K)	Herhangi bir uygulama yapılmamış grup
Distile su (DS)	Yalnız suya daldırılan grup
Limon suyu (L)	Yalnız limon suyuna daldırılan grup
*Sirke (S)	Yalnız sirkeye daldırılan grup
Limon suyu+sirke (LS)	Limon suyu+sirke(1:1)'ye daldırılan grup

* %4-5 asetik asit, pH: 2,38

Yumurta kabuğunda mikrobiyolojik analizlerin yapılması

Muhafazanın 0., 6., 18., 21. ve 28. günlerinde *Salmonella* sayısında meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla her örneklem gününde aseptik koşullarda yumurtalar steril numune alma poşetlerine konuldu ve üzerine 50 ml steril tamponlanmış peptonlu su (BPW) (LABM, Lancashire, UK) ilave edildi. *Salmonella* patojeninin yumurta kabuğundan tamponlanmış peptonlu suya geçişini kolaylaştırmak amacıyla her bir yumurtaya 10 dakika boyunca dikkatli bir şekilde dışarıdan elle masaj işlemi uygulandı. Daha sonra 1/10'luk düzende seri dilüsyonlar hazırlandı ve

Deneysel aşamada kullanılacak her bir yumurta örneği aseptik koşullarda %70'lik alkol içinde 1 dakika bekletildi ve böylece yumurta kabuğunun yüzeyinde bulunan mikroorganizmaların elimine edilmesi sağlandı. Alkol uygulamasını takiben yumurtalar yaklaşık 60 dakika oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Bu işlem sonrası yumurtaların *Salmonella* ile kontaminasyonu gerçekleştirildi (Wang ve Slavik 1998). Yumurtalar 10⁶ kob/ml düzeyinde *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) ve *Salmonella enteritidis* (RSKK 91) suşlarını içeren kontaminasyon solüsyonu içinde tüm yüzeyi temas edecek şekilde 3 dakika bekletildi. Daha sonra *Salmonella* suşlarının yumurta yüzeyine tutunması için yumurtalar oda sıcaklığında 60 dakika bekletildikten sonra yumurtaların yıkanması aşamasına geçildi (Wang ve Slavik 1998).

Yumurtaların yıkama sıvılarına daldırılması ve deneysel grupların oluşturulması

Kontrol, distile su, limon suyu, sirke, limon suyu+sirke olmak üzere Tablo 1'de gösterildiği gibi gruplar oluşturuldu. *Salmonella* ile kontamine edilen her bir yumurta daha önceden hazırlanan yıkama sıvılarına daldırılarak (immersiyon) 3 dakika bekletildi. Süre sonunda aseptik koşullarda yumurtalar çıkarılarak laminar kabinde oda sıcaklığında 60 dakika bekletildi (Wang ve Slavik 1998). Bunu takiben yumurtalar steril spatüller yardımı ile plastik viyollere birbirlerine temas etmeyecek şekilde yerleştirildi ve üç farklı koşulda [4°C'de 28 gün, 25 °C'de 28 gün, 25 °C'de 18 gün ve sonrasında 4°C'de 10 gün] muhafaza edildi.

0,1 ml her bir dilüsyondan alınarak Xylose Lysine Tergitol 4 (XLT4) (Merck, Germany) agar içeren petrilere yayma yöntemine göre ekim yapıldı ve 37 °C'de 18-24 saat bekletildi. Üreyen tipik *Salmonella* kolonileri sayılarak not edildi. Ayrıca, *Salmonella* sayısının tespit seviyesinin altına düşmesi durumuna karşı örneklere zenginleştirme işlemi uygulandı. Bu amaçla her bir örneklem gününde *Salmonella* sayımı için ekimler gerçekleştirildikten sonra numune alma poşetlerinde geriye kalan homojenizatlar (BPW+yumurta) 37 °C'de 18-24 saat bekletildi (ön zenginleştirme). Bunu takiben ön zenginleştirilmiş sıvıdan 0,1 ml alınarak içerisinde 10 ml Rappaport

Vassiliadis Soy broth (LABM, Lancashire, UK) bulunan polipropilen konik tüplere aktarıldı ve tüpler 41,5 °C'de 18-24 saat inkübe edildi (selektif zenginleştirme). Daha sonra zenginleştirilmiş sıvıdan bir öze dolusu alınarak XLT4 agar besiyerine geçildi ve 37 °C'de 18-24 saat bekletilerek tipik *Salmonella* kolonilerinin varlığı yönünden incelendi.

pH analizi

Distile su, limon suyu, sirke ve limon suyu+sirkenin (1:1) pH analizleri pH metre (EcoMet P25, Kore) cihazı kullanılarak her tekrar öncesi gerçekleştirildi. Bu amaçla pH metrenin kalibrasyonu pH'sı bilinen tampon çözeltiler ile yapıldıktan sonra pH ölçümü yapılacak sıvılar bir behere aktarıldı. pH metrenin probu distile su ile yıkanıp kurutulduktan sonra ölçümü yapılacak sıvıya daldırıldı. Bir süre bekledikten sonra ekranda sabitlenen pH değerleri kaydedildi.

Yumurta kabuğunun mikro yapısal özelliklerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi

Yumurtaların su ve asidik sıvılara daldırılması sonrası yumurta kabuğunda meydana gelen değişiklikler taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılarak incelendi. Bu amaçla kontrol ve daldırma sonrası her bir gruptan (DS, S, L, LS) 1 cm²lik yumurta kabuğu aseptik koşullarda alındı. Kurutma sonrası yumurta kabukları standart SEM modu Quanta FEG 250 (FEI, Netherland) kullanılarak X500 büyütmede incelendi (II, Hitachi, Tokyo, Japonya).

İstatistiksel Analiz

Salmonella tespit seviyesi (the level of detection, LOD), kullanılan BPW miktarı (50 ml) ile BPW+yumurta homojenizatından alınan miktarın (0,1 ml) ml başına saptanabilir en düşük koloni sayısı (10 kob) çarpılmasıyla elde edildi. Bu çalışmada *Salmonella* sayısı için tespit seviyesi (the level of detection, LOD) 500 kob/yumurta kabuğu (2,69 log kob/yumurta kabuğu) olarak hesaplandı. Tüm gruplarda *Salmonella* sayıları log kob/yumurta kabuğu'na dönüştürülerek 5x5x3 (test grubu x örneklem zamanı x muhafaza sıcaklığı) olacak şekilde varyans analizi (ANOVA) gerçekleştirildi ve gruplar arası, günler arası ve sıcaklıklar arası farklılıklar karşılaştırıldı. Ortalamalar, General Linear Models (GLM) prosedürlerine göre Fisher'in en küçük kareler farkı (Fisher's LSD) kullanılarak ayrıldı ve istatistiksel önem seviyesi P≤0,05 olarak kabul edildi. İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde Statistical Analysis System (SAS) paket programı kullanıldı (SAS 1999).

BULGULAR

Bu çalışmada farklı muhafaza sıcaklıkları ve yıkama sıvılarının, yumurtanın 28 günlük muhafazası sırasında *Salmonella* varlığı üzerine etkileri incelendi. Muhafazanın 0. gününde K ve DS gruplarında *Salmonella* sayısı sırasıyla 3,2±1,0 log kob/yumurta kabuğu ve 3,6±0,4 log kob/yumurta kabuğu olarak

tespit edilirken L, S ve LS gruplarında ise sırasıyla 1,7±0,5 log kob/yumurta kabuğu, 1,9±0,8 log kob/yumurta kabuğu ve 1,8±0,8 log kob/yumurta kabuğu düzeyinde olduğu saptandı. Bu da özellikle L, S ve LS'nin uygulandığı anda (0. gün) DS grubuna göre *Salmonella* üzerine inhibisyon etkisinin fazla olduğunu göstermektedir. Farklı muhafaza sıcaklıklarına göre *Salmonella* sayısında meydana gelen değişimler Tablo 2'de verilmiştir. DS, L, S ve LS'nin pH'sı sırasıyla ortalama 6,10±0,02, 2,02±0,02, 2,38±0,02 ve 2,19±0,03 olarak belirlendi.

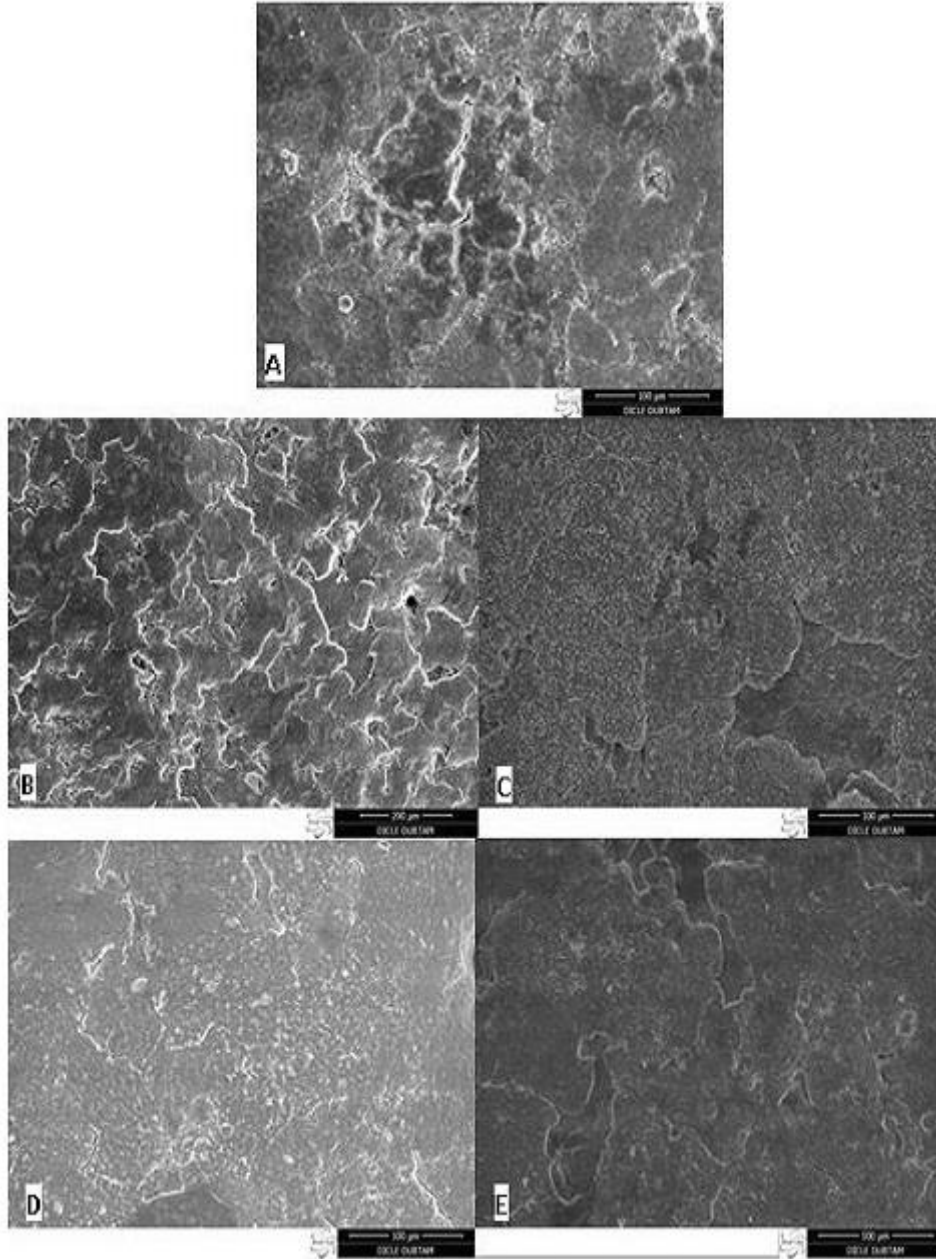
Limon suyu, sirke ve karışımlarının farklı sıcaklıklardaki muhafaza sırasında *Salmonella* üzerine etkisi

Yumurta örneklerinin 4 °C'de muhafazası sırasında K grubu dâhil tüm gruplarda *Salmonella* sayısında azalma saptandı. K ve DS gruplarında *Salmonella* sayısının muhafazanın 0. gününden 28. gününe kadar sırasıyla toplam 1,4 log kob/yumurta kabuğu ve 2,6 log kob/yumurta kabuğu azaldığı ve muhafaza süresince tespit seviyesinin içinde kaldığı belirlendi. *Salmonella* sayısındaki azalmanın DS grubu (3,1±0,5 log kob/yumurta kabuğu) ile S (1,3±0,2 log kob/yumurta kabuğu) ve LS (1,2±0,1 log kob/yumurta kabuğu) grupları arasında muhafazanın 6. gününde istatistiksel açıdan önemli olduğu bulundu (P<0,05). Her ne kadar istatistiksel açıdan gruplar arasında farklılık, muhafazanın sadece 6. gününde tespit edilmiş olsa da muhafazanın diğer günlerinde de S, L ve LS gruplarının K ve DS gruplarına göre *Salmonella*'nın inhibisyonu üzerine daha etkili olduğu görüldü. Her 3 tekrarda muhafazanın 18. gününde LS grubunda, 21. gününde L grubunda ve 28. gününde S grubunda *Salmonella*'nın tespit seviyesinin altında ve ancak zenginleştirme işlemi sonrası pozitif olduğu saptandı. Yumurtaların 25 °C'deki muhafazası sırasında tüm gruplarda *Salmonella* sayısında kademeli bir düşüşün meydana geldiği belirlendi. 0. günün dışında gruplar arasında *Salmonella* sayılarındaki değişimin istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edildi (P>0,05). Her ne kadar gruplar arasında istatistiksel açıdan *Salmonella* sayısında bir farklılık tespit edilmemiş olsa da özellikle 18. gün ve sonrasındaki muhafaza günlerinde L, S ve LS gruplarında *Salmonella* inhibisyonunun diğer gruplara göre daha fazla olduğu saptandı. K ve DS gruplarında muhafazanın sonunda (28 gün) *Salmonella* sayısında sırasıyla toplam 2,1 log kob/yumurta kabuğu ve 2,3 log kob/yumurta kabuğu düzeyinde azalma saptandı. L, LS ve S gruplarında muhafazanın 6. gününde sırasıyla 1,7±0,8 log kob/yumurta kabuğu, 1,7±0,5 log kob/yumurta kabuğu ve 1,2±0,2 log kob/yumurta kabuğu olan *Salmonella* sayısının L ve LS gruplarında muhafazanın 18. gününde, S grubunda ise 21. gününde tespit seviyesinin altında ve ancak zenginleştirme işlemi sonrası pozitif olduğu bulundu. Yumurtaların 25 °C'de 18 günlük muhafazası sırasında *Salmonella* sayısı L ve LS gruplarında tespit seviyesinin altında, K, DS ve S gruplarında ise sırasıyla 1,6±0,2 log kob/yumurta kabuğu, 1,8±0,4 log

kob/yumurta kabuğu ve $1,3\pm 0,1$ log kob/yumurta kabuğu düzeyinde olduğu tespit edildi. Muhafazanın 0. günü dışında gruplar arasında *Salmonella* sayısındaki değişiklikler istatistiksel açıdan önemsiz bulundu ($P>0,05$). Diğer muhafaza sıcaklıklarından farklı olarak bu sıcaklık kombinasyonunda muhafazanın sonunda DS grubundaki *Salmonella* sayısındaki azalmanın daha sınırlı olduğu görüldü. Muhafazanın 21. gününde *Salmonella* sayısı S grubunda tespit seviyesinin altında ancak zenginleştirme işlemi sonrası pozitif olduğu bulundu, K ve DS gruplarında ise 21. günde sırasıyla $1,2\pm 0,2$ log kob/yumurta kabuğu ve $2,1\pm 0,4$ log kob/yumurta kabuğu, 28. günde ise $1,2\pm 0,4$ log kob/yumurta kabuğu ve $1,7\pm 0,7$ log kob/yumurta kabuğu olduğu saptandı.

Daldırmanın yumurta kabuğunun mikro yapısı üzerine etkisi

Daldırma işlemi sonrası yumurta kabuklarında meydana gelen değişikliklere ait görüntüler Şekil 1'de verilmiştir. Kontrol grubu ve distile suya daldırma işleminin uygulandığı grup arasında önemli farklılıklar görülmemekle beraber distile su ile yıkanan grupta çatlakların arttığı ve hafif düzeyde kütikül hasarının meydana geldiği gözlemlendi. Kontrol grubuna göre S, L ve LS'ye daldırmanın yumurta kabuğunun kütikül tabakasında önemli oranlarda kayıplar ve/veya hasarlara neden olduğu belirlendi.



Şekil 1: Yumurta kabuğunun SEM görüntüsü (x500) **A.** Kontrol (K); **B.** Distile Su (DS); **C.** Limon Suyu (L); **D.** Sirke (S); **E.** Limon Suyu + Sirke (LS)

Figure 1: SEM images of eggshell (x500) **A.** Control (K); **B.** Distilled Water (DW); **C.** Lemon Juice (L); **D.** Vinegar (S); **E.** Lemon Juice + Vinegar (LS)

Tablo 2. Farklı koşullarda 28 günlük muhafaza süresince yumurta kabuğu dış yüzeyinde *Salmonella* sayısında meydana gelen değişimler
Table 2. Changes in the number of *Salmonella* in outer surface of chicken eggshell during 28 days of storage at different conditions

Muhafaza Sıcaklığı	Muhafaza Süresi(gün)	Gruplar ve pH Değerleri				
		K ¹	DS ¹ (pH: 6,10)	L ¹ (pH: 2,02)	S ¹ (pH: 2,38)	LS ¹ (pH: 2,19)
4 °C	0	3,2±1,0 ^{xA}	3,6±0,4 ^{xA}	1,7±0,5 ^{yA}	1,9±0,8 ^{xyA}	1,8±0,8 ^{yA}
	6	2,4±0,2 ^{xyA}	3,1±0,5 ^{xAB}	1,5±0,3 ^{xyA}	1,3±0,2 ^{yA}	1,2±0,1 ^{yA}
	18	2,3±0,7 ^{xA}	1,5±0,9 ^{xyA}	1,2±0,8 ^{yA}	1,2±0,2 ^{yA}	<
	21	2,2±0,6 ^{xA}	1,3±0,8 ^{xB}	<	1,2±0,3 ^{xA}	<
	28	1,8±0,2 ^{xA}	1,1±0,3 ^{xB}	<	<	<
25 °C	0	3,2±1,0 ^{xA}	3,6±0,4 ^{xA}	1,7±0,5 ^{yA}	1,9±0,8 ^{xyA}	1,8±0,8 ^{yA}
	6	1,7±0,4 ^{xAB}	1,6±0,5 ^{xB}	1,7±0,8 ^{xA}	1,2±0,2 ^{xA}	1,7±0,5 ^{xA}
	18	1,2±0,4 ^{xB}	1,4±0,5 ^{xB}	<	1,1±0,04 ^{xA}	<
	21	1,3±0,1 ^{xB}	1,4±0,4 ^{xB}	<	<	<
	28	1,2±0,2 ^{xB}	1,3±0,2 ^{xB}	<	<	<
25°C + 4 °C ¥	0	3,2±1,0 ^{xA}	3,6±0,4 ^{xA}	1,7±0,5 ^{yA}	1,9±0,8 ^{xyA}	1,8±0,8 ^{yA}
	6	1,8±0,4 ^{xAB}	2,3±0,3 ^{xAB}	1,6±0,2 ^x	1,5±0,2 ^{xA}	1,9±0,1 ^{xA}
	18	1,6±0,2 ^{xAB}	1,8±0,4 ^{xAB}	<	1,3±0,1 ^x	<
	21	1,2±0,2 ^{xB}	2,0±0,4 ^{xAB}	<	<	<
	28	1,2±0,4 ^{xB}	1,7±0,7 ^{xB}	<	<	<

* Aynı satırda farklı harfler (x, y) ile gösterilen sonuçlar istatistiksel olarak önemlidir (P≤0,05)
 * Aynı sütunda farklı harfler (A,B) ile gösterilen sonuçlar istatistiksel olarak önemlidir (P≤0,05)
 * <: *Salmonella* sayısının tespit seviyesinin altına düştüğü durumları ifade eder.
 * K: kontrol, DS: distile su, L: limon suyu, S: sirke, LS: limon suyu+sirke
 ¥ İlk 18 gün 25 °C'de sonraki 10 gün 4 °C'de muhafaza
¹ log kob/yumurta kabuğu

TARTIŞMA

Bu çalışma, farklı sıcaklık ve dekontaminantların muhafaza süresi boyunca tavuk yumurtalarında *Salmonella*'nın varlığı üzerine etkilerinin incelenmesi amacıyla gerçekleştirildi. Çalışma bulgularımız daldırma işlemi uygulanmayan kontrol (K) ve distile su (DS) ile yıkanan gruplarda *Salmonella* patojeninin muhafaza süresince yumurta kabuğunda 1 log kob/yumurta kabuğu'nun üstündeki sayılarda yaşayabileceğini ve 4 °C'ye göre 25 °C'deki muhafaza sırasında *Salmonella*'daki azalmanın daha hızlı olduğu bulundu. Mikroorganizmalar, oda sıcaklığı gibi ortam sıcaklıklarına göre düşük sıcaklıklarda veya buzdolabı sıcaklıklarında azalan metabolik aktivitelerinden dolayı daha uzun süre hayatta kalabilmektedirler. Enzim katalizli reaksiyonlar sıcaklığa bağlı olduğundan, bu aktiviteler düşük sıcaklıkta büyük ölçüde azalır (Jay ve ark. 2005). Radkowski (2002) tarafından yapılan bir araştırmada, *Salmonella enteritidis* ile kontamine edilen 1440 yumurtanın 0, 7, 14 ve 21 gün boyunca 2 °C, 20 °C ve 30 °C olmak üzere üç farklı muhafazası sırasında *Salmonella enteritidis* 20 °C ve 30 °C'ye göre 2 °C'de daha sık saptanmıştır (Radkowski 2002). Başka bir çalışmada *Salmonella enteritidis* ile kontamine edilen yumurta kabuklarının oda sıcaklığına göre 7 °C'de daha uzun süre canlı kaldığı bildirilmiştir (Baker 1990). Muhafaza süresince yumurta kabuk yüzeyinde *Salmonella*'nın yaşamı üzerine muhafaza sıcaklığının dışında relatif rutubetin de etkili olduğu ve rutubet oranı arttıkça *Salmonella*'nın yaşam kabiliyetinin arttığı farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Park ve ark. 2015). Çalışmamızda distile su (DS) ile yıkanan yumurtaların 4 °C'lik muhafaza sırasında *Salmonella* sayısındaki azalma hızının 25 °C'dekine göre çok daha yavaş olduğu görüldü.

Gıda maddelerinde kullanımı genel olarak güvenli kabul edilen (GRAS) sitrik asit limonda, asetik asit ise sirkede doğal olarak bulunur ve bu asitler limon suyu ve sirkenin patojenlere karşı antimikrobiyel etki göstermesinde önemli rol oynarlar (Lytou ve ark. 2019). Ancak kullanılan limon suyu veya sirke konsantrasyonu, uygulama süresi, muhafaza sıcaklığı ve gıda tipi gibi değişkenler antimikrobiyel etkinin ortaya çıkmasında farklılıklara neden olabilmektedir. Şengün ve Karapınar (2004), 10⁸ düzeyinde *Salmonella typhimurium* ile kontamine ettikleri havuçların 15, 30 ve 60 dakika limon suyuna daldırılması sonrasında *Salmonella typhimurium* sayısında sırasıyla 2,68, 2,68 ve 3,95 log kob/g'lık bir azalmanın meydana geldiğini bildirmiştir (Şengün ve Karapınar 2004). Aynı çalışmada 15., 30. ve 60. dakikalar arasında *Salmonella typhimurium* sayısındaki azalma istatistiksel açıdan önemsiz iken (P>0,05), limon suyunun *Salmonella typhimurium*'a karşı ani antimikrobiyal etkisi 0. dakikada anlamlı bulunmuştur (P<0,05). Kışla ve Üzgün (2008), 0. dakikada limon suyunun midye dolmalarında *Salmonella typhimurium*'a karşı ani

antimikrobiyal etkisinin ihmal edilebilir olduğunu bulmuştur (P>0,05). Ancak antimikrobiyal etkinin 5. dakikadan itibaren başladığını ve istatistiksel açıdan önemli olduğunu bildirmişlerdir (P<0,05) (Kışla ve Üzgün 2008). Başka bir araştırma da Bingöl ve ark. (2011), limon suyunun çiğköftede *Salmonella enteritidis*'e karşı 10 ve 30 saniyedeki ani antimikrobiyal etkisinin ihmal edilebilir düzeyde olduğunu (P>0,05), ancak antimikrobiyal etkinin 5. dakikadan itibaren görüldüğünü (P<0,05), 5. ve 15. dakikalar arasında anlamlı bir fark bulunmazken 30. ve 60. dakikalar arasında farklılığın önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Çalışma bulgularımıza göre *Salmonella* ile kontamine edilen yumurta kabuk dış yüzeylerinin limon suyu ile üç dakika maruz bırakılması sonrası ilk uygulama anında (0.gün) *Salmonella* sayısında yaklaşık 2 log kob/yumurta kabuğu bir azalmaya neden olduğu ve bu azalmanın K ve DS grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olduğu bulundu (P<0,05).

Çalışmamızda limon suyunun aksine sirke ile yıkanan yumurta örneklerinde *Salmonella* sayısının muhafazanın 21. (25 °C ve 25 °C+4 °C sıcaklıkta) ve 28. (4 °C sıcaklıkta) gününde tespit seviyesinin altına düştüğü belirlendi. Bu da muhafaza sıcaklığına bağlı *Salmonella* sayısında 1,92 log kob/yumurta kabuğu bir azalma olduğunu göstermektedir. Çalışma bulgularımıza benzer şekilde Lytou ve ark. (2019) %2 asetik asit içeren sirke ile yapılan marinyasyonun tavuk göğüs filetoalarında, 4 °C'nin aksine daha yüksek muhafaza sıcaklıklarında (8, 12 ve 16 °C'de) ve daha uzun muhafaza sürelerinde (7. ve 9. günler) tespit seviyesinin altına düşmesine neden olduğunu saptamıştır (Lytou ve ark. 2019). Hawkins ve ark. (2016), *Salmonella* ile kontamine ettikleri tavuk etlerine sprey kabinleri aracılığıyla 15, 30, 45 ve 60 saniye %0,8 sirke uygulanmasının *Salmonella* sayısında sırasıyla 0,19, 0,32, 0,51, 0,63 log kob/g azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmada 4 °C'de 3 gün muhafaza sonunda sirke uygulanan grupta *Salmonella* sayısında 0,18 log kob/g gibi çok düşük düzeyde azalma görüldüğü bildirilmiştir (Hawkins ve ark. 2016).

Bu çalışmada limon suyu ve sirkenin tek başına kullanıldığı gruplara göre limon suyu+sirke karışımında muhafazanın 6. gününden itibaren her üç farklı koşulda *Salmonella*'nın tespit seviyesinin altına düştüğü saptandı. Bu da limon suyu+sirke karışımının kullanılmasının *Salmonella* inhibisyonunu arttırdığını göstermektedir. Çalışma bulgularımıza benzer şekilde Şengün ve Karapınar (2004), havuçların farklı sürelerde tek başına limon suyu veya sirke ile muamele edilmesinin *Salmonella typhimurium* üzerinde sırasıyla 0,79-3,95 ve 1,57-3,58 log kob/g arasında önemli azalmalara neden olduğunu, limon suyu-sirke karışımının 30 dakika uygulanmasından sonra patojen

sayısının ise tespit seviyesinin altına düştüğünü bildirmiştir (Şengun ve Karapınar 2004).

Tavuk filetolarının marinyasyonu için sitrik asit ve asetik asidin *Salmonella*'nın varlığı ve gelişimi üzerine etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, asetik asidin belirli bir pH ve konsantrasyonunun sitrik asite göre daha etkili olduğu, bunun da asetik asidin daha yüksek miktarlarda ayrılmamış formda olması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lytou ve ark 2019). Aynı çalışmada asit miktarının eşit olduğu durumda (örneğin, limon suyu içinde sitrik asit %2 [v/v] ve elma sirkesi içinde asetik asit %1 [v/v]) asetik asidin patojen üzerine etkisinin daha fazla olmasında toplam asit konsantrasyonu ile ayrılmamış asit konsantrasyonu dışında asit tipinin de antimikrobiyal etkiye katkıda bulunabileceği ifade edilmiştir. Ancak bu çalışmanın aksine çalışmamızda sirke (%4-5 asetik asit, pH: 2,38) grubunda limon suyu ve limon suyu+sirke karışımı gruplarına göre *Salmonella* sayısının tespit seviyesinin altına ancak muhafazanın 21. gününden itibaren düştüğü belirlenmiştir. Antimikrobiyal etkinin ortaya çıkmasında sirke tipi, uygulanan gıda modeli ve *Salmonella* tespitinde kullanılan mikrobiyolojik yöntemler gibi değişkenler sonuçlar arasında farklılıklara neden olabilmektedir.

Sofralık yumurtalarda (A sınıfı) *Salmonella* kontaminasyonunu azaltmak için kullanılan başta organik asitler olmak üzere termal veya termal olmayan dekontaminasyon uygulamalarının yumurta kabuğunun fiziksel yapısında hasarlara neden olabileceğini göstermektedir (Galiş ve ark. 2013, De Souza 2019, Lakins ve ark. 2008). Kütikül, iç proteinleri (sarı ve beyaz) dehidrasyondan ve bakteriyel kontaminasyondan korur. Yapılan bir çalışmada dezenfektanların yumurta kütikülüne zarar verebileceğini ve muhafaza süresine bağlı olarak bakteri hasarının fazla olduğu bildirilmiştir (Wang ve Slavik 1998). Li ve ark. 2019, %2 laktik asidin spreleme yoluyla yumurta kabuklarına uygulamasının *Salmonella enteritidis* sayısında 5,63 logaritmalık bir azalmaya neden olduğunu ancak asit veya su ile yıkama işlemi yapılmayan kontrol grubuna göre laktik asit uygulanan yumurta kabuğunun SEM görüntülerinde kütikül kayıplarının ve hasarlarının meydana geldiğini bildirmiştir (Li ve ark. 2019). Benzer şekilde çalışmamızda asidik sıvılara daldırılan yumurtalara ait kabuklarda kütikül bütünlüğünün bozulduğu ve kütikül kayıplarının oluştuğu belirlendi.

SONUÇ

Çalışma sonuçlarımıza göre limon suyu ve sirkenin yumurta kabuğunda *Salmonella* sayısında azalmalara neden olduğu ancak yumurtadaki *Salmonella* riskini tamamen ortadan kaldırmadığını göstermektedir. Yumurtaların sirke ve limon suyuna daldırılması ile tüketiciler tarafından böyle gıdaların “güvenli gıda” olarak algılanarak tüketilmesi sonrası oluşabilecek halk sağlığı riskleri de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu kapsamda başta tüketiciler olmak üzere gıda

hazırlayıcıların ve ilişkili alanlarda istihdam edilen gıda çalışanlarının bu konuda bilinçlendirilmesinin gerekli olacağı düşünülmektedir. Tavuk yumurtalarında *Salmonella* kontaminasyonlarının önlenmesi ve kontrol altına alınmasında, çiftlikten sofraya gıda güvenliği konsepti yaklaşımının sıkı bir şekilde uygulanması önem arz etmektedir. Özellikle ulusal düzeyde *Salmonella* kontrol programlarının etkin olarak devam ettirilmesi yumurta kaynaklı salmonelloz vakalarının azaltılmasında ciddi katkılar sağlayacaktır.

Çıkar çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Yazarların Katkı Oranı: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan etmişlerdir.

Etik izin: Bu yazıda sunulan veri, bilgi ve belgeler akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde edilmiştir.

Finansal destek: Bu çalışmada herhangi bir kurumdan maddi destek alınmamıştır. Yazarlar öz kaynakları ile çalışmayı finanse etmişlerdir. Beyan ederiz.

Teşekkür: Çalışmanın SEM (Scanning Electron Mikroskobu) görüntüleme aşamalarındaki desteklerinden dolayı Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi SEM laboratuvar sorumlusu Dr. Mehmet ÇOLAK'a teşekkür ederiz.

Açıklama: Bu çalışmanın bir kısmı ilk isim yazarın tezinden üretilmiştir. Bu çalışma daha önce herhangi bir kongre/sempozyumda sunulmamıştır. Yayınlanması için herhangi bir dergiye gönderilmemiştir. Beyan ederiz.

KAYNAKLAR

Al-Haq MI, Junichi S, Seiichiro I. Applications of electrolyzed water in agriculture & food industries. Food Sci Technol Res. 2005; 11(2): 135-150.

Anonim.(2009).

http://www.legislation.gov.uk/ukxi/2009/2163/pdfs/ukxi_20092163_en.pdf; Erişim Tarihi: 07.09.2022.

Anonim.(2022a).

<https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Menu/27/Tarim-Urunleri-Piyasalari>; Erişim Tarihi: 23.05.2022.

Anonim. (2022b). <https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-food-handling-and-preparation/eggs/shell-eggs-farm-table#:~:text=Back%20to%20Top%5DShould%20you%20wash%20eggs%3F,the%20outside%20by%20the%20hen>; Erişim Tarihi: 07.09.2022

Anonim. (2014) Türk Gıda Kodeksi Yumurta ve Yumurta Ürünleri Tebliği. Tebliğ No: 2014/55. Resmi Gazete 20.12.2014-29211, 2014.

- Baker R.** Survival of *Salmonella enteritidis* on and in shelled eggs, liquid eggs and cooked egg products. Dairy Food Environ Sanit. 1990; 10(5): 273-275.
- Bingöl EB, Cetin O, Muratoglu K.** Effect of lemon juice on the survival of *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* in cig kofte (raw meatball). Br Food J. 2011; 113(9): 1183-1194
- Callejón RM, Rodríguez-Naranjo MI, Ubeda C, Hornedo-Ortega R, Garcia-Parrilla MC, Troncoso AM.** Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the United States and European Union: trends and causes. Foodborne Pathog Dis. 2015; 12(1): 32-38.
- Cemeroğlu B, Yemenicioğlu A, Özkan M.** Meyve ve sebze ürünlerinin bileşimi. Meyve ve sebze işleme teknolojisi 2004; 1: 1-188.
- De Knecht LV, Pires SM, Hald T.** Attributing foodborne salmonellosis in humans to animal reservoirs in the European Union using a multi-country stochastic model. Epidemiology & Infection. 2015; 143(6): 1175-1186.
- De Souza PM, de Melo R, de Aguiar Santos MA, Lima FR, Vieira KH.** Risk Management of Egg and Egg Products: Advanced Methods Applied. J Food Eng. IntechOpen; 2019.
- EFSA.** The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. EFSA J. 2021; 19(12): e06971.
- Elhan S.** Farklı Sirke Çeşitleri Ve Konsantrasyonlarının Salata Bileşenlerinin Dezenfeksiyonunda Kullanım İmkanlarının Araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 2014.
- Galiş AM, Marcq C, Marlier D, Portetelle D, Van I, Beckers Y, Théwis A.** Control of *Salmonella* contamination of shell eggs—Preharvest and postharvest methods: A review. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2013; 12(2): 155-82.
- Gökırmaklı Ç, Budak HN, Güzel-Seydim ZB.** Antimicrobial Effect of Vinegar. Turkish JAF Sci Tech. 2019; 7(10): 1635-1640.
- Grudlewska-Buda K, Wiktorczyk-Kapischke N, Wałeczka-Zacharska E, Kwieceńska-Piróg J, Gryń G, Skowron KJ, Skowron K.** Effect of Radiant Catalytic Ionization and Ozonation on *Salmonella* spp. on Eggshells. Foods. 2022; 11(16): 2452.
- Hawkins J, Vimini B, Schwarz JG, Nichols P, Parveen S.** Application of antimicrobial agents via commercial spray cabinet to inactivate *Salmonella* on skinless chicken meat. J Food Prot. 2016; 79(4): 569-573.
- Henley SC, Jeanne G, Jennifer JQ.** Don't wash your chicken!: A food safety education campaign to address a common food mishandling practice. Food Prot Trends. 2016; 36: 43-53.
- Henley SC, Launchi N, Quimlan JJ.** Survival of *Salmonella* on raw poultry exposed to 10% lemon juice and vinegar washes. Food Control. 2018; 94: 229-232.
- Henley, SC.** "Don't Wash Your Chicken!" Results of an Interdisciplinary Approach to Reduce Incidence of Infectious Foodborne Diseases. Philadelphia: Drexel University, 2013.
- Ilhak OI, Guran HS.** Combined Antimicrobial Effect of Thymol and Sodium Lactate against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in Fish Patty. J. Food Saf. 2014; 34(3), 211-217.
- Jay JM, Loessner MJ, Golden DA.** Protection of foods with low-temperatures, and characteristics of psychrotrophic microorganisms. J Microbiol Biotechnol Food Sci. 2005; 395-413.
- Juven BJ, Pierson MD.** Antibacterial effects of hydrogen peroxide and methods for its detection and quantitation. J Food Prot. 1996; 59(11): 1233-1241.
- Keerthirathne TP, Ross K, Fallowfield H, Whiley H.** Reducing risk of Salmonellosis through egg decontamination processes. Int J Environ Res Public Health. 2017; 14(3): 335.
- Kışla D, Üzgün Y.** Microbiological evaluation of stuffed mussels. J Food Prot. 2008; 71(3): 616-620.
- Koppel K, Suwonsichon S, Chitra U, Lee J, Chambers IVE.** Eggs and poultry purchase, storage, and preparation practices of consumers in selected Asian countries. Foods. 2014; 3(1): 110-127.
- Lakins DG, Alvarado CZ, Thompson LD, Brashears MT, Brooks JC, Brashears MM.** Reduction of *Salmonella enteritidis* in shell eggs using directional microwave technology. Poultry Science. 2008; 87(5): 985-991.
- Li Z, Guo R, Wang F, Geng S, Kang X, Meng C, Pan Z.** Inactivation of *Salmonella enteritidis* on eggshells by lactic acid spray. Food Control. 2019; 104: 201-207.
- Lytou AE, Tzortzinis K, Skandamis PN, Nychas GJE, Panagou EZ.** Investigating the influence of organic acid marinades, storage temperature and time on the survival/inactivation interface of *Salmonella* on chicken breast fillets. Int J Food Microbiol. 2019; 299: 47-57.
- Mattioli S, Ortenzi R, Scuto S, Mancinelli AC, Dal Bosco A, Cotozzolo E, Castellini C.** Impact of ozone and UV irradiation sanitation treatments on the survival of *Salmonella* and the physical-chemical characteristics of hen eggs. J Appl Poult Res. 2020; 29(2): 409-419.
- Ofongo RTS, Ohimain EI.** Utilization Of In-Feed Acidifier As A Control Measure For *Salmonella* Contamination Of Eggs from laying hens. Niger J Anim Prod. 2022; 49(3): 60-68.
- Öncül N, Karabiyikli Ş.** Antibacterial effect of verjuice against food-borne pathogens. Br Food J. 2019; 121: 2265-2276.
- Park S, Choi S, Kim H, Kim Y, Kim BS, Beuchat LR, Ryu JH.** Fate of mesophilic aerobic bacteria and *Salmonella enterica* on the surface of eggs as affected by chicken feces, storage temperature, and relative humidity. Food Microbiol. 2015; 48: 200-205.

- Prior G, Hall L, Morris S, Draper A.** Exploring food attitudes and behaviours in the UK: findings from the Food and You Survey 2010. Food Standards Agency. 2011.
- Radkowski, M.** Effect of moisture and temperature on survival of *Salmonella enteritidis* on shell eggs. Archiv für Geflügelkunde. 2002; 66(3): 119-123.
- Réhault-Godbert S, Guyot N, Nys Y.** The golden egg: nutritional value, bioactivities, and emerging benefits for human health. Nutrients. 2019; 11(3): 684.
- SAS. Version 8:** SAS institute Inc., Cary, NC, USA; 1999.
- Şengün İY, Karapinar M.** Bazı Sebzelere İnokule Edilen *Salmonella typhimurium*'un Limon Suyu ve Sirke ile İnaktivasyonu. Gıda. 2006; 31(3): 161-167.
- Şengun İY, Karapinar M.** Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in the elimination of *Salmonella typhimurium* on carrots (*Daucus carota* L.). Int J Food Microbiol. 2004; 96(3): 301-305.
- Sırken B, Haldun T.** Poultry Meat and Salmonellosis. Animal Health Production and Hygiene. 2013; 2(1): 174-182.
- Vatral CD, Quinlan JJ.** Identification of barriers to consumers adopting the practice of not washing raw poultry. Food Control 2021; 123: 107682.
- Wang H, Slavik ME.** Bacterial penetration into eggs washed with various chemicals and stored at different temperatures and times. J Food Prot. 1998; 61(3): 276-279.