DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

TIHANYI-KOVÁCS RENÁTA

MOSONMAGYARÓVÁR

2023

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI
SZÉCHENYI ISTVÁN EGYETEM
ALBERT KÁZMÉR MOSONMAGYARÓVÁRI KAR
ÉLELMISZERTUDOMÁNYI TANSZÉK
Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer-tudományi
Multidiszciplináris Doktori Iskola
Pulay Gábor Élelmiszertudományi Doktori Program
Doktori Iskolavezető:
Prof. Dr. Varga László, DSc
egyetemi tanár
Programvezető:
Prof. Dr. Varga László, DSc
egyetemi tanár
Témavezetők:
Dr. habil Ásványi Balázs, PhD
egyetemi docens
Dr. habil Böröcz Péter, PhD
egyetemi tanár

AZ ELLÁTÁSI LÁNCOK FIZIKAI IGÉNYBEVÉTELÉNEK HATÁSA A PALACKOZOTT TERMÉSZETES ÁSVÁNYVIZEK MIKROBIOLÓGIAI MINŐSÉGÉRE

Tihanyi-Kovács Renáta

Mosonmagyaróvár

2023

1. BEVEZETÉS

A globális szállítási láncok napjainkra a világ minden pontjára eljuttatják a palackozott ásványvizet, így azok már nem csak a palackozás közvetlen környezetében kerülnek értékesítésre. Az elmúlt évtizedekben szignifikáns növekedés volt megfigyelhető az ásványvízfogyasztás területén nem csak Magyarországon, hanem az egész világon. A növekvő piac valószínűleg tükrözi a lakosságnak a csapvíz minőségével kapcsolatos szkepticizmusát, mely visszavezethető a városi vízellátás gyakori szennyeződésére - bár ez hazánkban nem releváns -, a csapvíz kellemetlen ízére és szagára, valamint a víz fluorid- és klórt-tartalmára. Már eddig is tapasztalták, hogy a rázkódás sok esetben negatívan befolyásolja az élelmiszerek fiziko-kémiai tulajdonságait, amelyek az alacsony viszkozitású mátrixok esetében fizikailag nem látható elváltozásokban nyilvánulnak meg. A szállítás alatti mechanikai igénybevétel hatását az élelmiszerek mikrobiológiai tulajdonságaira még nem vizsgálták.

Víz nélkül nincs élet és csak az édesvíz alkalmas emberi fogyasztásra. Ugyanakkor az immunszupresszált egyéneknél, mint a HIV-AIDS betegek, a coronavírus fertőzöttek, a tuberculosis-ban szenvedők, de említhetjük az időseket, a csecsemőket, vagy az alultápláltakat, a magas összsejtszámú, patogén mikrobáktól mentes palackozott víz is megbetegedést okozhat.

1.1 CÉLKITŰZÉS

Kutatásom célja a szállítás közben fellépő mechanikai igénybevételek ásványvízre gyakorolt hatásának vizsgálata, ezért egy észak-nyugat magyarországi természetes ásványvizet palackozó üzem gyártósoráról lekerült termék szállítási igénybevételektől függő mikrobiológiai státuszát vizsgáltam. Célom az, hogy az ásványvízből kimutatható mikrobaszám és a mechanikai agitáció, illetve annak intenzitása között összefüggést keressek.

Célul tűztem ki különböző palackozási helyű és idejű, kereskedelmi forgalomban kapható ásványvizek mechanikai igénybevételtől függő összehasonlító vizsgálatát.

Kutatásom további célja annak feltárása volt, hogy a logisztikában általánosan elterjedt csomagolásvizsgálati szabványt alkalmazhatjuk-e az élelmiszerek mikrobiológiai tulajdonságaiban bekövetkező változások vizsgálatához. Ehhez a valós idejű és az időgyorsított vizsgálatok összehasonlítását is elvégeztem.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

A dinamikus mechanikai rázkódás szimulációját a Széchenyi István Egyetem, Audi Hungária Járműmérnöki Kar, Csomagolás és Környezetállósági Vizsgáló Laboratóriumában, míg a mikrobiológiai és egyéb kiegészítő vizsgálatokat a Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi (jogutódja: Albert Kázmér Mosonmagyaróvári) Kar, Élelmiszertudományi Tanszékének Mikrobiológiai Laboratóriumában végeztem el.

A vizsgálatok során három modell mátrixot használtam:

- egy északnyugat-magyarországi palackozóból származó frissen palackozott természetes ásványvizet (F),
- a vizsgált természetes ásványvízből izolált mikrobával beoltott, előzőleg sterilezett ásványvizet,
- három, kereskedelmi forgalomból vásárolt, eltérő palackozási helyű és idejű természetes ásványvizet (A, B, C).

2.1 RÁZÓVIZSGÁLAT

A vizsgálatok során a függőleges irányú rezgésviszonyt reprodukáltam, amit szervohidraulikus elven működő rázóasztalon szimuláltam időgyorsított és valós idejű rázásokkal. Ehhez az ASTM D4169-16 csomagolásvizsgálati szabvány PSD görbéjét vettem alapul, ami a kamion szállítás rázómozgásának viszonyait reprodukálja három teljesítményszinten. A vizsgálati paramétereket az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: A rázóvizsgálatok felépítése

Rázás módja	Rázás ideje (óra)	Pihentetés (óra)	Ismétlés	Hőmérséklet (°C)
Időgyorsított	1	12	4	22±1
Valós idejű	5	19	4	22±1

2.2 MINTAVÉTEL

Mintát minden rázás előtt és után, majd a továbbiakban időgyorsított vizsgálatnál 12 óránként, valós idejű rázás esetén 24 óránként vettem. A kontroll rázás nélküli, 22±1 °C-on tárolt, a rázott mintával azonos palackozási idejű természetes ásványvíz volt.

2.3 MIKROBIOLÓGIAI VIZSGÁLATOK

A vizsgált mikroorganizmusokat, a kimutatásuk alapját képező szabványokat a 2. táblázatban foglaltam össze.

2.4 MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI VIZSGÁLATOK

Elvégeztem a modell kísérlethez használt izolált mikroba rendszertani besorolását. A DNS-molekula bázissorrendjének meghatározása szolgáltató bevonásával történt. Az eredményét az NCBI (National Center for Biotechnology Information) adatbázis szekvenciáira „blast”-oltam. A primertervezés alapját azok a szakaszok adták, melyek az azonosított és a többi, élelmiszeripari szempontból releváns baktériumok szekvenciájában jelentős eltérést, illetve egyezést mutattak, legalább 20-25 bázis hosszúak és maximum 300 bázispárra találhatóak egymástól a hatékony és specifikus amplifikáció érdekében.

A vízben lévő bakteriális DNS kimutatására a Bioline SensiFAST SYBR No-Rox kitet használtam a gyártó által javasolt módon. Az annellációs hő 60 °C, a szintézis idő 20 másodperc volt.

2. táblázat: Vizsgált mikroorganizmusok

Vizsgálati irány	Szabvány	Vizsgált mennyiség (cm^3)	Táptalaj neve	Inkubáció körülményei		
				hőmérséklet (°C)	idő (h)	körülmény
Összcsíra-szám 22 és 37 °C-on	MSZ EN ISO 6222:2000	1	YEA (Biolab)	22±1 36±1	68±4 44±4	aerob
Escherichia coli és kóliform csírák	MSZ EN ISO 9308-1:2015	250	CC agar (Biolab)	36±1	21±3	aerob
Enterococcus	MSZ EN ISO 7899-2:2000	250	SBA (Biolab)	36±1	44	aerob
			EAA agar (Biolab)	44±0,5	2	aerob
Szulfitredukáló anaerob *(Clostridium)* spóraszám	MSZ EN 26461-2:1994	50	TSCA (Merck)	36±1	75±5	anaerob
Pseudomonas aeruginosa	MSZ EN ISO 16266:2008	250	CN agar (Biolab)	36±1	44±4	aerob

YEA: Yeast Extract agar; CC: ChromoBio Coliform agar; SBA: Slanetz-Bartley Agar; EAA agar: Epe-Aesculin-Azide agar; TSCA: Tryptose Sulfite Cycloserine agar, CN: Cetrimid agar

3. EREDMÉMYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

3.1 A FRISSEN PALACKOZOTT MINTÁKBAN LÉVŐ MIKROBÁK SZÁMÁNAK VÁLTOZÁSA A RÁZÁS INTENZITÁSÁNAK FÜGGVÉNYÉBEN

Az eltérő kezdeti sejtszám az eltérő palackozási időknek és a kézi palackozásnak tudható be.

Az alacsony intenzitású mechanikai behatásnak kitett mintában az autochton mikrobák 12 órával korábban érték el a maximális sejtszámot, és egy nagyságrenddel alacsonyabbat, mint a rázás nélküli kontrollban (max. $\log_{10}$ $cfu_{kontroll}/cm^3$ = 5,65, max. $\log_{10}$ $cfu_{rázatott}/cm^3$ = 4,56). Az allochton mikrobák esetén a szaporodás exponenciális szakasza lényegesen rövidebb, mint a rázás nélküli kontroll mintában, az elért maximális sejtszámban lévő különbség 2 nagyságrend (max. $\log_{10}$ $cfu_{kontroll}/cm^3$ = 2,99, max. $\log_{10}$ $cfu_{rázatott}/cm^3$ = 0,94)

Az alacsony intenzitáson rázatott minta esetében 22 °C-on a kontrollhoz viszonyítva az átlagos generációs idő (t_g) közel harmadára csökkent ($t_{g\ kontroll}$=27,54 h; $t_{g\ rázatott}$=10,72 h). A patogén mikrobák esetében is megfigyelhető a mechanikai agitáció serkentő hatása, de a generációs idő csak a felére csökkent ($t_{g\ kontroll}$=28,82 h; $t_{g\ rázatott}$=14,28 h).

A kontroll mintákhoz képest a rázott mintákban megfigyelt fajlagos szaporodási sebesség növekedése autochton és allochton mikrobák esetén is szignifikáns különbséget mutatott (3. táblázat).

3. táblázat: A frissen palackozott és a kontroll ásványvízben a mikrobaszaporodás exponenciális szakaszára vonatkozó fajlagos szaporodási sebesség (μ) a rázás intenzitásának függvényében

Mikrobacsop.	μ±SD [1/h]			
	A rázás intenzitása			Kontroll
	Alacsony	Közepes	Magas	
Autochton	0,093±0,002[a]			0,036±0,003[b]
		0,113±0,005[a]		0,149±0,001[b]
			0,045±0,004	0,048±0,004
Allochton	0,069±0,418[a]			0,035±0,001[b]
		0,053±0,008		0,070±0,025
			0,199±0,034[a]	0,102±0,011[b]

SD (standard deviation = szórás)

[ab] A különböző kitevőjű értékek szignifikánsan eltérnek (p <0,05) a sorokon belül.

A mechanikus agitáció és a mikrobák növekedésének hatását az ASTM D4169-16 szabvány szerinti közepes intenzitáson vizsgálva a mikrobák növekedését csak a rázás megszűnte után figyeltem meg mind 22, mind 37 °C-on. Az autochton mikrobák esetében a mikrobaszám növekedése a mechanikus agitáció megszűnte után 12 órával, míg a szennyező flóra esetében 24 órával később kezdődött. A rázatott minták fajlagos szaporodási sebességében a kontroll mintához képest nem volt szignifikáns különbség a (3. táblázat).

Az autochton mikrobák maximális sejtszáma a rázás hatására két nagyságrenddel alacsonyabb értéket ért el, mint a kontroll mintában (max. $\log_{10}cfu_{kontroll}/cm^3$ = 6,19, max. $\log_{10}$ $cfu_{rázatott}/cm^3$ = 4,00). Az allochton mikrobák esetében nem volt szignifikáns különbség (max. $\log_{10}$ $cfu_{kontroll}/cm^3$ = 0,90, max. $\log_{10}$ $cfu_{rázatott}/cm^3$ = 1,32).

A generációs idők a rázatott mintában: $t_{g\ autochton}$=8,85 h ill. $t_{g\ allochton}$=18,77 h, míg a kontrollnál $t_{g\ autochton}$=6,7 h ill. $t_{g\ allochton}$=9,1 h. Az allochton mikrobák generációs ideje pedig megduplázódott.

A magas intenzitással rázott mintában nem volt különbség az autochton mikrobák fajlagos szaporodási sebességében és az elért sejtszámban a kontrollhoz képest (max. $\log_{10}$ $cfu_{kontroll}/cm^3$ = 5,87, max.

$\log_{10}$ $cfu_{rázatott}/cm^3$ = 5,46). Ezen az intenzitáson végezve a rázást, a szennyező flóra szaporodása jelentősen felgyorsult a kontrollhoz képest, a fajlagos szaporodási sebesség megduplázódott (3. táblázat). Az allochton fajok 12 órával korábban érték el a maximális sejtszámot, mint a kontroll, azonban nagyságrendi különbség nem volt megfigyelhető (max. $\log_{10}$ $cfu_{kontroll}/cm^3$ = 3,46, max. $\log_{10}$ $cfu_{rázatott}/cm^3$ = 3,78). Az autochton mikróbák generációs ideje 21-22 h volt, míg az allochton mikróbáknál 5 ill. 10 óra és az agitációnak kitett mintában szaporodtak gyorsabban.

Az allochton mikrobák esetében az alacsony és magas intenzitású rázás mellett a fajlagos szaporodási sebességben jelentős különbséget találtam (4. táblázat). Ez a különbség figyelhető meg a közepes-magas intenzitások összehasonlításakor is. Hasonló eredményt kaptam az autochoton mikrobák esetén (4. táblázat), azzal a különbséggel, hogy az autochton mikrobák magas intenzitásnál szignifikánsan lassabb, míg az allochton mikroorganizmusok szignifikánsan gyorsabb szaporodást mutattak.

4. táblázat: A frissen palackozott ásványvízben a fajlagos szaporodási sebesség (μ) összehasonlítása a vizsgált mikrobacsoporton között a rázás intenzitásának függvényében

Mikroba	**μ±SD [1/h]**		
	A rázás intenzitása		
	Alacsony	**Közepes**	**Magas**
Autochton	0,093±0,002[a]	0,113±0,005[a]	0,045±0,004[b]
Allochton	0,069±0,418[a]	0,053±0,008[a]	0,200±0,034[b]

SD (standard deviation = szórás)

[ab] A különböző kitevőjű értékek szignifikánsan eltérnek ($p < 0,05$) a sorokon belül

Amennyiben az autochton és az allochton mikrobák fajlagos szaporodási sebességét hasonlítjuk össze, azt találjuk, hogy az autochton mikrobák alacsony és közepes intenzitáson szignifikánsan gyorsabban szaporodnak, mint az allochton mikrobák, ugyanakkor az ASTM D-

4169-es szabvány magas intenzitásán végezve a rázást az allochton mikrobák szaporodási sebességének szignifikáns növekedése szembetűnő (5. táblázat). Az autochton mikrobákhoz képest az allochton mikrobák generációs ideje magas intenzitású agitáció mellett a negyedére csökkent. (6. táblázat)

5. táblázat: A frissen palackozott természetes ásványvízben lévő autochton és allochton mikrobák fajlagos szaporodási sebességének (μ) összehasonlítása a rázási intenzitás függvényében

A rázás intenzitása	**μ±SD [1/h]**	
	Mikrobacsoport	
	Autochton	**Allochton**
Alacsony	0,093±0,002[a]	0,069±0,418[b]
Közepes	0,113±0,002[a]	0,053±0,008[b]
Magas	0,045±0,004[a]	0,200±0,034[b]

SD (standard deviation = szórás)

[ab]A különböző expozíciójú értékek szignifikánsan különböznek ($p<0,05$) a sorokon belül

6. táblázat: A frissen palackozott természetes ásványvízben lévő autochton és allochton mikrobák generációs ideje (t_g) a rázási intenzitás függvényében

A rázás intenzitása	**t_g [h]**	
	Mikrobacsoport	
	Autochton	**Allochton**
Alacsony	10,75	14,50
Közepes	8,85	18,87
Magas	22,2	5,00

3.2 AZ IZOLÁLT MIKROBA AZONOSÍTÁSA

Egyértelműen, minden izolált telep estén az *Acidovorax temperans* szekvenciájával kaptam 99-100%-os egyezést.

3.3 A PRIMERTERVEZÉS EREDMÉNYE

Acidovorax temperans kimutatásához:

- forward primer: 5'-GATGGCAGATTAGGTAGTTGGT-3'
- reverse primer: 5'-G-GTACGGAACGAAAAGACT-3'

Általános primerek az élelmiszeripar szempontjából releváns mikrobák kimutatásához:

- forward primer: 5'-TGYCAGCMGCCGCGGTAA-3'
- reverse primer1: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAATCCT-3'
- reverse primer2: 5'-GACTACHVGGGTWTCTAATCCTGT-3'

3.4 A BEOLTOTT MINTÁKBAN LÉVŐ MIKROBÁK SZÁMÁNAK VÁLTOZÁSA A MECHANIKAI AGITÁCIÓ INTENZITÁSÁNAK FÜGGVÉNYÉBEN

A kontrollhoz képest a rázott minták fajlagos növekedési sebessége mindhárom intenzitásnál szignifikáns különbséget mutatott (7. táblázat). A mechanikus keverés intenzitásának növekedésével a fajlagos növekedési sebesség csökkent és ez a csökkenés az egyes intenzitások között is szignifikáns volt (7. táblázat). Ugyanez a csökkenés volt megfigyelhető a különböző intenzitású vizsgálatokban az elért maximális sejtszám tekintetében (max. $\log_{10}$ cfu/cm$^3_{\text{alacsony}}$ = 6,48, max. $\log_{10}$ cfu/cm$^3_{\text{közepes}}$ = 5,4 és max. $\log_{10}$ cfu/cm$^3_{\text{magas}}$ = 4,83), és a minták az expozíció során (0-50 óra) minden intenzitásnál elérték a maximális sejtszámot. A növekedés mértéke 3-4 nagyságrend volt.

Az *Acidovorax temperans* generációs ideje a különböző intenzitásokon az alábbiak szerint változott: $t_{g\ \text{alacsony}}$ = 7,69 h; $t_{g\ \text{közepes}}$ = 12,35 h; $t_{g\ \text{magas}}$ = 16,13 h.

7. táblázat: A beoltott ásványvízben a mikrobiális növekedés exponenciális fázisára vonatkozó fajlagos szaporodási sebességek (μ) a mechanikai agitáció különböző szintjein

A rázás intenzitása			**Kontroll**
Alacsony	**Közepes**	**Magas**	
0,130±0,003[a]	0,081±0,003[b]	0,062±0,006[c]	0,186±0,008[d]

[abcd] A különböző kitevőjű értékek szignifikánsan különböznek ($p < 0,05$) a sorokon belül

A természetes ásványvizekben vegyes mikrobapopuláció van, és mivel vizsgálatomban csak egy baktériumfajt használtam a beoltáshoz, megvizsgáltam, hogy van-e különbség a két mátrix között a rázás által kiváltott fajlagos szaporodási sebesség változásában. Az *Acidovorax temperans* optimális szaporodási hőmérséklete 37 °C, ezért az összehasonlítást a frissen palackozott ásványvíz azonos adataival végeztem el.

Mindhárom intenzitásnál jelentős különbség volt megfigyelhető a fajlagos szaporodási sebességben a vegyes és a monokultúrát tartalmazó vízminták között (8. táblázat). Magas intenzitású agitáció következtében az allochton mikrobák a frissen palackozott természetes ásványvízben háromszor gyorsabban szaporodtak, mint az *Acidovorax temperans* az inoculált vízben ($t_{g\ friss}$ = 5,00 h és $t_{g\ Acidovorax}$ = 16,13 h). Az ASTM-D4169 szabvány szerinti alacsony és közepes intenzitásnál az általam izolált baktérium 1,8 ill. 1,6-szor gyorsabban szaporodott ($t_{g\ alacsony}$ = 7,87 h és $t_{g\ közepes}$ = 12,35 h), mint a frissen palackozott vízben lévő mikroorganizmusok ($t_{g\ alacsony}$ = 14,50 h és $t_{g\ közepes}$ = 18,87 h).

8. táblázat: A fajlagos szaporodási sebesség (μ) a frissen palackozott és beoltott ásványvízben a mikrobaszaporodás exponenciális szakaszában

Minta	A rezgés intenzitása		
	Alacsony	**Közepes**	**Magas**
Frissen palackozott	0,069±0,013[a]	0,053±0,008[a]	0,199±0,034[a]
Beoltott	0,127±0,005[b]	0,081±0,003[b]	0,062±0,006[b]

[ab] A különböző kitevőjű értékek szignifikánsan különböznek ($p<0,05$) az oszlopokon belül.

A sejtszámok növekedését nagyságrendileg hasonlítottam össze. A magas intenzitású agitáció mindkét mátrixnál azonos, három nagyságrendnyi sejtszámnövekedést eredményezett. Alacsony és közepes intenzitás mellett az inoculált mintában 3,5 nagyságrendnyi növekedést figyeltem meg, míg ugyanez a friss víz allochton mikrobái esetén csak egy nagyságrendnyi volt.

3.5 KVANTITATÍV PCR

3.5.1 Frissen palackozott ásványvízminták valós idejű rázóvizsgálattal kapott eredményeinek elemzése

A rázás nélküli kontroll mintákban a mikrobaszaporodás mindhárom intenzitáson lassabb volt, mint a mechanikai agitációknak kitett mintákban, szignifikáns különbséget alacsony és magas intenzitás mellett tapasztaltam (9. táblázat)

9. táblázat: A fajlagos szaporodási sebesség (μ) a kontroll és a frissen palackozott természetes ásványvízben a mikrobaszaporodás exponenciális szakaszában, valós idejű rázás során

μ±SD [1/h]			
Kontroll	**A vibráció intenzitása**		
	Alacsony	**Közepes**	**Magas**
0,005±0,001[a]	0,013±0,001[b]	0,006±0,001[a]	0,008±0,003[c]

[abc] A különböző kitevők szignifikáns ($p<0,05$) különbséget jelölnek.

Az intenzitásokat egymással összehasonlítva minden esetben szignifikáns különbséget kapunk a fajlagos szaporodási sebesség tekintetében (9. táblázat). A mechanikai behatás következtében az alacsony intenzitáson rázatott mintában lévő mikrobapopuláció generációs ideje annyira lerövidült ($t_{g\ alacsony}$ = 76,92 h, $t_{g\ közepes}$ = 158,7 h, $t_{g\ magas}$ = 120,5 h) hogy azonos idő alatt ugyanazt a sejtszámot kaptuk, mint a másik két intenzitás esetén, holott a kiindulási sejtszám alacsonyabb volt.

3.5.2 Frissen palackozott ásványvízminták időgyorsított rázóvizsgálattal kapott eredményeinek elemzése

AZ ASTM D-4169-es szabvány különböző intenzitásain végezve a mechanikai behatást a kontrollhoz viszonyítva mindhárom intenzitáson szignifikáns különbséget tapasztaltam, melynek következtében a kontrollhoz viszonyított generációs idő ötödére, harmadára csökkent ($t_{g\ kontroll}$ = 200 h; $t_{g\ alacsony}$ = 58,82 h, $t_{g\ közepes}$ = 47,62 h, $t_{g\ magas}$ = 41,67 h).

3.5.3 Időgyorsított rázóvizsgálat frissen palackozott és kereskedelmi forgalomban vásárolt, eltérő palackozási helyű és idejű ásványvízzel

A vizsgálat során elért maximális sejtszámokban a három minta (F, B, C) esetében nem tapasztaltam nagyságrendi különbséget (max. $\log_{10}$ $cfu_{F,B,C}/cm^3$ = 5,98-6,09), ezzel szemben az „A” minta sejtszáma 1 nagyságrenddel alacsonyabb értéken maximalizálódott (max. $\log_{10}$ cfu_A/cm^3= 5,19).

Az ASTM D4169-16 szabvány szerint végzett mechanikai behatás a fajlagos szaporodási sebességre intenzitásonként és mintánként is különbözően hatott. (10. táblázat)

10. táblázat: Fajlagos szaporodási sebesség (μ) a frissen palackozott és kereskedelmi forgalomban vásárolt, különböző palackozási helyű és idejű (A, B, C) természetes ásványvizekben

Minta	μ±SD [1/h]		
	A vibráció intenzitása		
	alacsony	Közepes	Magas
F	0,017±0,001[ad]	0,021±0,006[ab]	0,024±0,003[bcd]
A	0,010±0,002[aef]	0,027±0,004[a]	0,035±0,002[be]
B	0,029±0,007[ad]	0,032±0,009[a]	0,014±0,005[bfg]
C	0,039±0,010[adf]	0,026±0,007[a]	0,021±0,001[ag]

[abc] Az eltérő kitevők szignifikáns (p<0,05) különbséget jelölnek a sorokon belül.
[defg] Az eltérő kitevők szignifikáns (p<0,05) különbséget jelölnek az oszlopokon belül.

3.5.4 Frissen palackozott ásványvízminták valós idejű és időgyorsított rázóvizsgálatának elemzése

Az ASTM D4169-es szabvány mindhárom intenzitásán kivitelezett időgyorsított vizsgálat szignifikánsan gyorsabb szaporodást (11. táblázat), ebből kifolyólag rövidebb generációs időt eredményezett (12. táblázat), mint a valós idejű rázóvizsgálatok.

11. táblázat: A fajlagos szaporodási sebesség (μ) a valós idejű és az időgyorsított vizsgálat hatására a frissen palackozott természetes ásványvízben

Módszer	μ±SD [1/h]		
	A vibráció intenzitása		
	Alacsony	Közepes	Magas
Időgyorsított	0,017±0,001[a]	0,022±0,006[a]	0,002±0,005[a]
Valós idejű	0,013±0,001[b]	0,006±0,001[b]	0,008±0,003[b]

SD – standard deviation (szórás)
[ab] Az eltérő kitevők szignifikáns (p<0,05) különbséget jelölnek az oszlopokon belül.

12. táblázat: A generációs idő (t_g) a frissen palackozott természetes ásványvízben a mikrobaszaporodás exponenciális szakaszában valós idejű és időgyorsított mechanikai agitáció esetén

A rázás intenzitása	**t_g [h]**	
	Rázóvizsgálat típusa	
	Valós idejű	**Időgyorsított**
Alacsony	78,12	57,47
Közepes	158,73	46,51
Magas	120,48	42,19

Közepes és magas intenzitásokhoz tartozó sejtszámnövekmény mértéke (13. táblázat) a valós idejű és az időgyorsított vizsgálati módszer esetében megegyezik. Alacsony intenzitású valós idejű rázás fél nagyságrenddel nagyobb sejtszámbeli változást idézett elő.

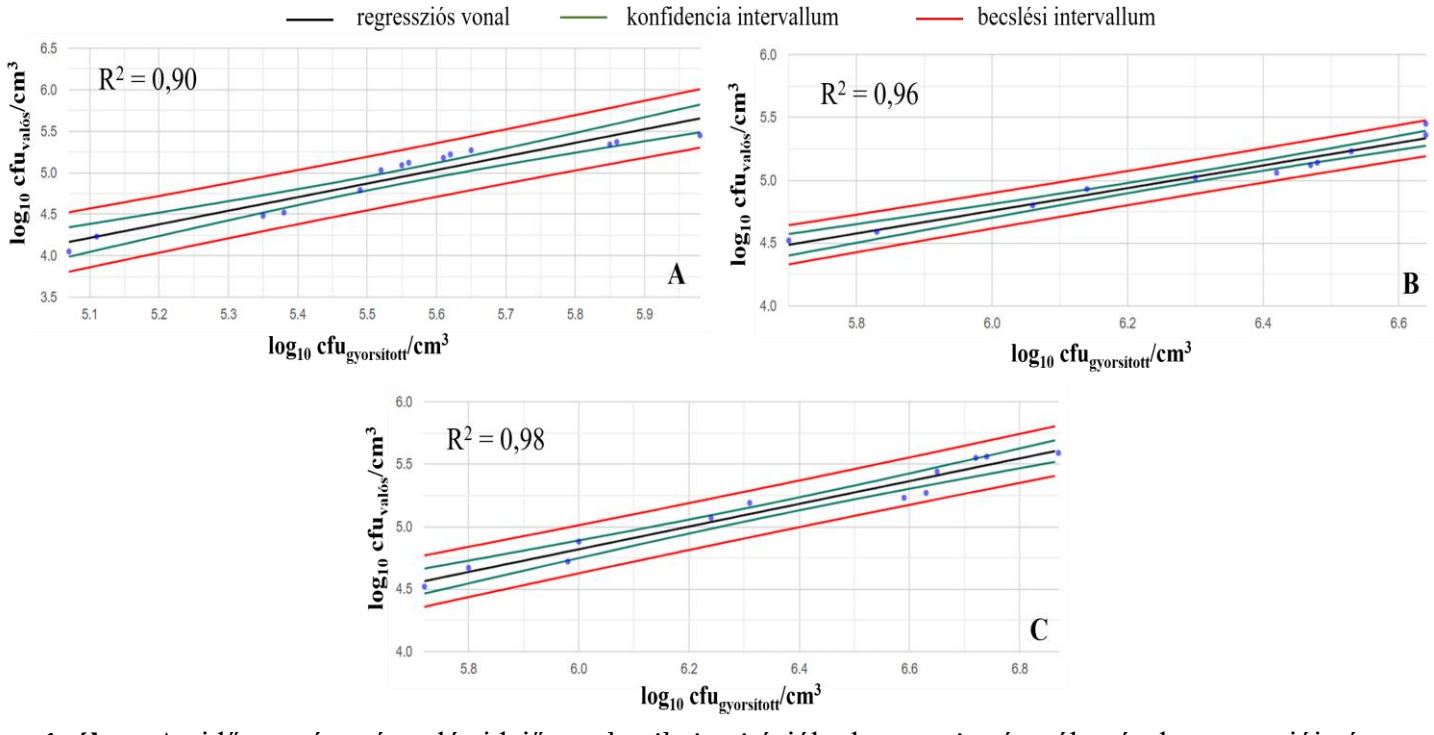
13. táblázat: Sejtszámváltozás a valós idejű és az időgyorsított modellezés esetén

A mechanikai behatás intenzitása	**Sejtszámváltozás (log_{10} dcfu/cm^3)**	
	Módszer	
	Valós	**Időgyorsított**
Alacsony	$0{,}90^a$	$1{,}40^b$
Közepes	$0{,}94^a$	$0{,}93^a$
Magas	$1{,}15^a$	$1{,}07^a$

[ab] A különböző expozíciójú értékek azonos soron belül szignifikánsan különböznek ($p<0{,}05$)

A 1. ábrán jól látható, hogy az időgyorsított mechanikai agitációkkal jó közelítéssel jellemezhetők a valós idejű mechanikai rázkódások okozta sejtszámváltozások. Az intenzitás növekedésével a vizsgált változó regressziója is egyre nagyobb mértékű, melyet jól szemléltetnek az illesztett görbék R^2 értékei ($R^2_{alacsony}$ = 0,90; $R^2_{közepes}$ = 0,96; R^2_{magas} = 0,98).

Mindezek alapján elmondható, hogy az alkalmazott ASTM D-4169-es szabvány a sejtszámváltozások tekintetében alkalmas a valós idejű mechanikai igénybevétel három teljesítményszintű modellezésére.



1. ábra: Az időgyorsított és valós idejű mechanikai agitációk okozta sejtszámváltozások regressziója és konfidencia intervalluma ($p<0,05$) a vizsgált intenzitásokon (A: alacsony; B: közepes; C: magas)

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. *Acidovorax temperans* baktériumot izoláltam egy északnyugat-magyarországi palackozóból származó természetes ásványvízből. Az *Acidovorax temperans-t* napjainkig szennyvíziszapból, csapvízből, forrásvízből és humán klinikai mintákból (pl. vizeletből) izolálták, de természetes ásványvízből még nem mutatták ki.

2. Az északnyugat-magyarországi palackozóból származó természetes ásványvízben lévő mikrobiom generációs ideje, hagyományos tenyésztéses vizsgálattal, a szaporodás exponenciális szakaszában mechanikai agitáció nélkül 6,71-28,57 óra között változott, mely jelentősen különbözik az egyes vízben fellelhető mikrobák jellemző generációs idejétől (20-40 perc).

3. A dinamikus mechanikai agitáció intenzitástól függően befolyásolja a természetes ásványvízben lévő autochton és allochton mikrobák szaporodását. Az autochton mikrobák az ASTM D-4169-16-os szabvány alacsony és közepes intenzitásán végzett mechanikai agitáció hatására gyorsabban szaporodnak ($\mu_{alacsony}$ = 0,093 1/h és $\mu_{közepes}$ = 0,113 1/h), mint az allochton fajok ($\mu_{alacsony}$ = 0,063 1/h és $\mu_{közepes}$ = 0,053 1/h). Szabvány szerinti magas intenzitáson végzett dinamikus mechanikai rázkódás az allochton mikrobák fajlagos szaporodási sebességét ($\mu_{allochton}$ = 0,200 1/h) az autochton ($\mu_{autochton}$ = 0,045 1/h) populációéhoz képest négyszeresére növeli, mely potenciális egészségügyi kockázatot jelenthet.

4. Az általam tervezett primerek (forward primer: 5'-TGYCAGCMGCCGCGGTAA-3'; reverse primer1: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAATCCT-3'; reverse primer2: 5'-GACTACHVGGGTWTCTAATCCTGT-3') a kidolgozott qPCR metódussal együtt (Bioline SensiFAST SYBR No-Rox kit, annellációs hő 60 °C, a szintézis idő 20 másodperc) alkalmasak a vízben lévő össz mikrobiális DNS kvantitatív meghatározására.

5. Az ASTM D-4169-16 szabvány szerint végzett, időgyorsított módszer mindhárom intenzitása alkalmas a valós időben végbemenő mechanikai agitáció mikrobiom változásra gyakorolt hatásának modellezésére. A regresszió mértéke: $R^2_{alacsony}$ = 0,90; $R^2_{közepes}$ = 0,96; R^2_{magas} = 0,98.

5. PUBLIKÁCIÓK

5.1 AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN ÍRT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK, MEGTARTOTT ELŐADÁSOK

FOLYÓIRATCIKK

Lektorált tudományos közlemény

Idegen nyelven

1. **Tihanyi-Kovács, R.,** Böröcz, P., Ásványi, B. (2022): The effect of transportation vibration on the microbiological status of bottled mineral water. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 103(3):1059-1068. (**IF**$_{2021}$**: 4,49**) DOI:10.1002/jsfa.11787
2. **Tihanyi-Kovács, R.,** Hanczné, Lakatos E., Ásványi, B., Böröcz, P. (2018): The effect of the supply chain exerting physical stress on the microbiological status of bottled natural mineral water. *Acta Agraria Debreceniensis*. 74:189-193. DOI: 10.34101/actaagrar/74/1688

Magyar nyelven

1. **Tihanyi-Kovács, R**., Hanczné, Lakatos E., Böröcz, P., Ásványi, B. (2019): Szállítási igénybevétel összcsíra-számra gyakorolt hatásának vizsgálata palackozott természetes ásványvizek esetében. *Konzervújság*. 67(1-4):34-38.
2. **Tihanyi-Kovács, R.,** Hanczné, Lakatos E., Böröcz, P., Ásványi, B. (2018): A szállítás, mint mechanikai igénybevétel hatására bekövetkező változások a palackozott ásványvíz mikrobiotájában. *Konzervújság*. 66(1-4):16-21.

KONFERENCIAKÖZLEMÉNY (teljes terjedelemben megjelent)

Hazai konferencia

Magyar nyelven

1. **Tihanyi-Kovács, Renáta**; Böröcz, Péter; Ásványi, Balázs (2018): A mechanikai agitáció hatása a palackozott természetes ásványvíz mikrobiológiai státuszára In: Szalka, Éva (szerk.) XXXVII. Óvári Tudományos Napok, 2018. november 9-10.: Fenntartható agrárium és környezet, az Óvári Akadémia 200 éve - múlt, jelen, jövő Mosonmagyaróvár, Magyarország: VEAB Agrártudományi Szakbizottság, Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, pp. 28-34. [ISBN 978-615- 5837-15-9]

KONFERENCIAELŐADÁS ÖSSZEFOGLALÓJA (absztrakt)

Külföldi konferencia

Idegen nyelven

1. **Tihanyi-Kovács, R.,** Ásványi, B., Böröcz, P. (2021): The effect of transportation vibration to the microbiological status of bottled mineral water. In: First Circul-A-Bility Conference Università degli Studi di Foggia. p. 37. Paper: 111.

SZAKMAI ELŐADÁS

Magyar nyelven

1. **Tihanyi-Kovács, R**; Hanczné, Lakatos E; Böröcz, P; Ásványi, B. (2019): Szállítási igénybevétel összcsíra-számra gyakorolt hatásának vizsgálata palackozott természetes ásványvizek esetében. LI. Tartósítóipari Napok, Nagykőrös, 2019.05.06-07.
2. **Tihanyi-Kovács, R**; Hanczné, Lakatos E; Böröcz, P; Ásványi, B (2018): A szállítás, mint mechanikai igénybevétel hatására bekövetkező változások a palackozott ásványvíz mikrobiotájában. L. Tartósítóipari Napok, Nagykőrös, 2018.05.07-08.
3. **Tihanyi-Kovács, Renáta**; Böröcz, Péter; Ásványi, Balázs (2018): A mechanikai agitáció hatása a palackozott természetes ásványvíz mikrobiológiai státuszára. In: Szalka, Éva (szerk.) XXXVII. Óvári Tudományos Napok, 2018. november 9-10.

4. **Tihanyi-Kovács, R.**, Hanczné, Lakatos E., Ásványi, B., Böröcz, P. (2017): Az ellátási láncok fizikai igénybevételének hatása a palackozott ásványvíz mikrobiológiai státuszára. „A jövő tudósai, a vidék jövője” doktorandusz konferencia, Debrecen, 2017. november 24.

5.2 EGYÉB PUBLIKÁCIÓ

FOLYÓIRATCIKK

Lektorált tudományos közlemény

Idegen nyelven

1. **Tihanyi-Kovács R.**, Gyömörei T., Posgay M.M., Kiss K.A. (2019): Characterization of nutritional status of young adults based on the calculation of body mass index. *EGÉSZSÉG SPORT GAZDASÁG I.* Győr. Mobilis Közhasznú Nonprofit Kft. pp. 94-103.
2. **Tihanyi-Kovács, R.,** Gyömörei, T., Virág, A. (2020): Quantitative and qualitative analysis of fluid intake in university students and its relationship with Body Mass Index (BMI) and sleep. In: Szakály, Zsolt (szerk.). *Egészség SPORT Gazdaság II.* Győr. Mobilis Közhasznú Nonprofit Kft. pp. 174-195.
3. Virág, A., **Tihanyi-Kovács, R.** Gyömörei, T. (2020): Dietary Habits of University Students Suffering from Diet-Related Diseases. In: Gyömörei, Tamás (szerk.) *Egészség SPORT Gazdaság III.* Győr. Mobilis Közhasznú Nonprofit Kft. pp. 242-260.
4. **Tihanyi-Kovács, R.,** Gyömörei, T., Posgay, M.M. (2020): Health survey of the students of Széchenyi István University regarding their nutrition and the various diets. In: Katona, Zsolt Bálint (szerk.). *Egészség Sport Gazdaság IV.* Konferenciakötet. Győr. Mobilis Közhasznú Nonprofit Kft. pp. 50-59.
5. Varga, L., Szigeti, J., **Kovács, R.**, Földes, T. & Buti, S. (2002) Influence of a Spirulina platensis biomass on the microflora of fermented ABT milks during storage. *Journal of Dairy Science*. 85(5):1031-1038. **IF_{2001}: 1,691.**

Magyar nyelven

1. Ásványi B., Tudós Z., **Tihanyi-Kovács R.** Hanczné Lakatos E. (2018): Az ózon antimikróbás hatásának vizsgálata élelmiszer-alapanyagokon. *Konzervújság*. 66(1-4):16-21.

ISMERETTERJESZTŐ KÖZLEMÉNY

Magyar nyelven

1. Farkas László, **Kovács Renáta**, Sebő Ilona (2002): Az élelmiszerek minőségbiztosításáról. *Moson Megyei Műhely*. 5(1):91-93.

KONFERENCIAELŐADÁS ÖSSZEFOGLALÓJA (absztrakt)

Nemzetközi konferencia

Idegen nyelven

1. Szigeti, J., **Kovács, R**. & Molnár, N. (2004) New trends in the field of food quality control and safety. Sustain Life Secure Survival II – Socially and Environmentally Responsible Agribusiness. Conference proceedings, Prague, p. 174.
2. Ásványi, B., Bugyi, G., Daróczi, L., **Kovács, R**., Szigeti, J. & Varga, L. (2003) Growth of yeast strains during batch production of single-cell protein from cheese whey. 1st FEMS Congress of European Microbiologists. Poster presentation. Abstract Book, Ljubljana, pp. 103-104.
3. **Kovács, R**., Vecseri-Hegyes, B., Ásványi, B., Varga, L., Szigeti, J., Daróczi, L. & Bugyi, G. (2003) Manufacture of honey beer with accharomyces cerevisiae and Saccharomyces pastorianus. 1st FEMS Congress of European Microbiologists. Poster presentation. Abstract Book, Ljubljana, pp. 117- 118.
4. Ásványi, B., **Kovács, R**., Szigeti, J., Varga, L. & Kovács, P. (2003) Selection of Kluyveromyces strains for batch production of single-cell protein from cheese whey. 23rd International Specialised Symposium on Yeasts "Interaction between Yeasts and other Organisms". Poster presentation. Book of Abstracts, Budapest, p. 156.
5. **Kovács, R**., Vecseri-Hegyes, B., Ásványi, B., Varga, L., Szigeti, J., Daróczi, L. & Bugyi, G. (2003) Suitability of Saccharomyces

cerevisiae and Saccharomyces pastorianus for use in honey beer production. 23rd International Specialised Symposium on Yeasts "Interaction between Yeasts and other Organisms". Poster presentation. Book of Abstracts, Budapest, p. 188.