

## Inaktivierung von humanem und murinem Norovirus (hNV, MNV) auf Obst und Gemüse mittels vernebelten H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Dampf

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle:</b>	Hochschule Ostwestfalen-Lippe Institut für Lebensmitteltechnologie ILT-NRW Labor Mikrobiologie, Lemgo Prof. Dr. Barbara Becker/Dr. Jens Pfannebecker
<b>Industriegruppen:</b>	Deutsches Tiefkühlinstitut e. V., Berlin Lemgoer Arbeitskreis Fleisch und Feinkost (LAFF) an der Fachhochschule Lippe und Höxter e.V., Lemgo
	Projektkoordinator: Jürgen Ahlers Conditorei Coppenrath & Wiese GmbH & Co. KG, Mettingen
<b>Laufzeit:</b>	2015 - 2017
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 193.260,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Noroviren rufen Gastroenteritiden mit schwallartigem Erbrechen, Durchfall und abdominalen Schmerzen hervor. Die Übertragung der Viren erfolgt sowohl von Mensch-zu-Mensch als auch über kontaminierte Oberflächen oder Lebensmittel, wobei bereits eine geringe Anzahl Viren (<100 Viruspartikel) ein symptomatisches Krankheitsgeschehen auslösen kann. Nach derzeitigem Wissenstand ist davon auszugehen, dass mehr als 20 % aller Norovirus-Ausbrüche durch Lebensmittel hervorgerufen werden. Bislang sind noch viele Fragen bezüglich der Kontaminationsquellen und Nachweisverfahren, der Qualitätssicherheit und Virusinaktivierung im Zusammenhang mit Noroviren auf Lebensmitteln offen. Im RASFF-Portal (Rapid Alert System for Food and Feed, Europäisches Schnellwarnsystem für Lebensmittel und Futtermittel der Europäischen Kommission) werden regelmäßig Nachweise von Noroviren in Obst und Gemüse, wie z. B. gefrorenen Erdbeeren und Himbeeren, gemeldet.

Ein besonderer Aspekt der Transmission der Viren ist ihre lange Persistenz auf Oberflächen und in Lebensmitteln. Die Toleranz der Viren

gegenüber Umweltfaktoren, wie Einfrieren oder Hitze, ist entscheidend für die Persistenz der Viren. Besonders hervorzuheben ist hierbei, dass Kühltemperaturen, die in der Lebensmittelindustrie das Wachstum bakterieller Kontaminanten hemmen, Noroviren nicht schädigen. In vorangegangenen Untersuchungen im Rahmen des IGF-Vorhabens AiF 16970 N konnte gezeigt werden, dass Norovirus-Surrogate auf Oberflächen bei 7° C länger überdauern als bei Raumtemperatur. Für die Lebensmittelindustrie fehlt bisher eine Applikation, die im Bereich Obst und Gemüse ein „Mehr an Sicherheit“ bietet, damit mögliche Norovirus-Kontaminationen auf Lebensmitteln durch eine Nacherntebehandlung reduziert werden können.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ist ein antimikrobielles Agens, welches bereits sowohl in Privathaushalten (z. B. bei der Desinfektion von Kontaktlinsen) als auch in der Industrie (Flächendesinfektion, Sterilisation von Verpackungsmaterial) Anwendung findet. Die Kaltvernebelung von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ist ein verhältnismäßig neues Verfahren, welches besonders bei der Dekontamination von Oberflächen in Räumen bei Raumtemperatur (Kaltvernebelung) verwendet wird. Mögliche

Einsatzbereiche der Flächendesinfektion mit diesem Verfahren sind vielfältig. Die generelle Wirksamkeit von  $H_2O_2$  gegenüber Norovirus-Surrogaten konnte bereits in verschiedenen Studien nachgewiesen werden.

Ziel des Forschungsvorhabens war es zu untersuchen, ob kaltvernebeltes  $H_2O_2$  zur Behandlung von Obst und Gemüse verwendet werden kann, um Noroviren (unbehülltes Virus) auf Oberflächen zu inaktivieren. Dieser Ansatz dient nicht dazu, Hygienemängel bei der Ernte durch Nacherntebehandlungen mit Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) zu beheben. Vielmehr soll die Behandlung zusätzlich zur optimierten Feldhygiene und umfänglichen Schulungen von Mitarbeitern/-innen diese Produkte sicherer machen.

#### Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Projekts wurden die Untersuchungen mit dem murinen Norovirus (MNV; Surrogatvirus) durchgeführt. Um unterschiedliche Oberflächenbeschaffenheiten zu berücksichtigen, die eventuell die Wirkung des  $H_2O_2$  beeinflussen, wurden Äpfel, Heidelbeeren, Gurken, Erdbeeren und Himbeeren für die Untersuchungen ausgewählt. Neben der Reduktion infektiöser MNV wurden auch sensorische Veränderungen des Obstes und Gemüses durch die Behandlung untersucht. Rückstandsanalysen sollten klären, ob in behandelten Produkten ein höherer Gehalt  $H_2O_2$  gegenüber unbehandelten Kontrollen nachgewiesen werden kann. Weiterhin wurde die antioxidative Kapazität behandelter und unbehandelter Früchte bestimmt, um einen Einfluss auf wertgebende Inhaltsstoffe, wie Polyphenole, zu erfassen.

Es wurden Edelstahlträger, Äpfel, Heidelbeeren, Gurken, Erdbeeren und Himbeeren über 60 min mit  $H_2O_2$  in definierten Räumen unter Einsatz von zwei Vernebelungsanlagen (DCXpert (DCX Technologies, Wien, Österreich) und DiosolGenerator (DIOP GmbH & Co. KG, Rosbach)) behandelt. Die Ergebnisse zeigten, dass kaltvernebeltes  $H_2O_2$  über 60 min (bis zu 260 ppm) auf glatten Oberflächen (Edelstahl, Äpfeln und Heidelbeeren) infektiöse MNV inaktiviert (Reduktion um  $4 \log_{10}$ ). Die Reduktionen infektiöser MNV auf Gurken durch eine analoge Behandlung betragen  $1,9 \log_{10}$  (Median). Infektiöse MNV auf Erdbeeren wurden in einzelnen Ansätzen um bis zu  $2,8$

$\log_{10}$  reduziert. Diese Einzelergebnisse konnten jedoch nicht zuverlässig reproduziert werden. Die  $H_2O_2$ -Applikationsbedingungen und der Einfluss der Frucht (Frische, Sorte, Reifegrad u.a.) müssen verifiziert werden. Äpfel, Heidelbeeren, Gurken und Erdbeeren zeigten keine sensorischen Veränderungen durch eine 60-minütige  $H_2O_2$ -Behandlung mit kaltvernebeltem  $H_2O_2$ , während behandelte Himbeeren bei Dreiecksprüfung deutlich häufiger korrekt von unbehandelten Früchten unterschieden wurden. Die Untersuchungen des  $H_2O_2$ -Gehalts in behandelten und unbehandelten Früchten zeigten, dass keine Rückstände des  $H_2O_2$  im Produkt verbleiben. Weiterhin wurde keine Reduktion der antioxidativen Kapazität der Produkte durch eine 60-minütige Behandlung mit kaltvernebeltem  $H_2O_2$  nachgewiesen.

Gurken und Erdbeeren wurden zusätzlich für 240 min mit max. 234 ppm behandelt, um zu prüfen, ob eine verlängerte Kontaktzeit die viruzide Wirksamkeit gegenüber MNV auf der Oberfläche der Früchte erhöht. Die Reduktionsrate infektiöser MNV auf Gurken erhöhte sich auf  $3,6 \log_{10}$ . Bei der Behandlung von Erdbeeren zeigten sich wiederum stark differierende Reduktionsraten. Sensorisch zeigten Gurken und Erdbeeren jedoch nach einer 240-minütigen  $H_2O_2$ -Behandlung Veränderungen. Sowohl die sensorischen Veränderungen der frischen Himbeeren (Blasenbildung und partielle Aufhellung) nach 60 min  $H_2O_2$ -Behandlung als auch die sensorischen Veränderungen der Erdbeeren nach 240 min  $H_2O_2$ -Behandlung (Oberfläche wird matt, vereinzelt Aufhellungen) könnten bei einer Weiterverarbeitung der Früchte unauffällig sein.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Die Kaltvernebelung von  $H_2O_2$  ist ein relativ neues Verfahren, das bisher nicht im Zusammenhang mit der Dekontamination von Noroviren auf Äpfeln, Gurken, Heidelbeeren, Erdbeeren und Himbeeren untersucht wurde. Um erste Eindrücke der Opportunität der Applikation von  $H_2O_2$  in Kaltvernebelung in diesem Kontext aufzuzeigen, wurde das hNV-Surrogat-Virus MNV genutzt. Es konnte nachgewiesen werden, dass MNV durch kaltvernebeltes  $H_2O_2$  inaktiviert wird, wobei die Inaktivierungsrate abhängig von der Oberflächenbeschaffenheit des zu behandelnden Gutes ist. Es lässt sich nicht ausschließen, dass auch Sorte

und Reifegrad der Früchte die viruziden Wirksamkeit beeinflussen.

Das Projekt gibt erste Impulse bezüglich der Anwendung von kaltvernebeltem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> im Lebensmittelbereich, auf welche in Folgeprojekten mit gezielter Ausrichtung auf weiches Beerenobst oder im Kontext der Weiterverarbeitung bei Fruchtzubereitungen aufgebaut werden kann. Hierbei wären die Applikationsbedingungen und die Anwendung, eventuell in Kombination mit anderen Inaktivierungsmethoden nach dem Hürdenprinzip, zu optimieren, damit das Verfahren zur Behandlung von Erdbeeren und Himbeeren genutzt werden kann.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2017.
2. Becker, B., Dabisch-Ruthe, M. und Pfannebecker, J.: Inactivation of Murine Norovirus on Fruit and Vegetable Surfaces by Vapor Phase Hydrogen Peroxide. J. Food Protec. 83 (1), 45-51 (2020).

#### Weiteres Informationsmaterial:

Hochschule Ostwestfalen-Lippe  
Institut für Lebensmitteltechnologie ILT-NRW  
Labor Mikrobiologie  
Liebigstr. 87, 32657 Lemgo  
Tel.: +49 5261 702-5289  
Fax: +49 5261 702-404  
E-Mail: [barbara.becker@hs-owl.de](mailto:barbara.becker@hs-owl.de)

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)  
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn  
Tel.: +49 228 3079699-0  
Fax: +49 228 3079699-9  
E-Mail: [fei@fei-bonn.de](mailto:fei@fei-bonn.de)

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

Gefördert durch:



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.