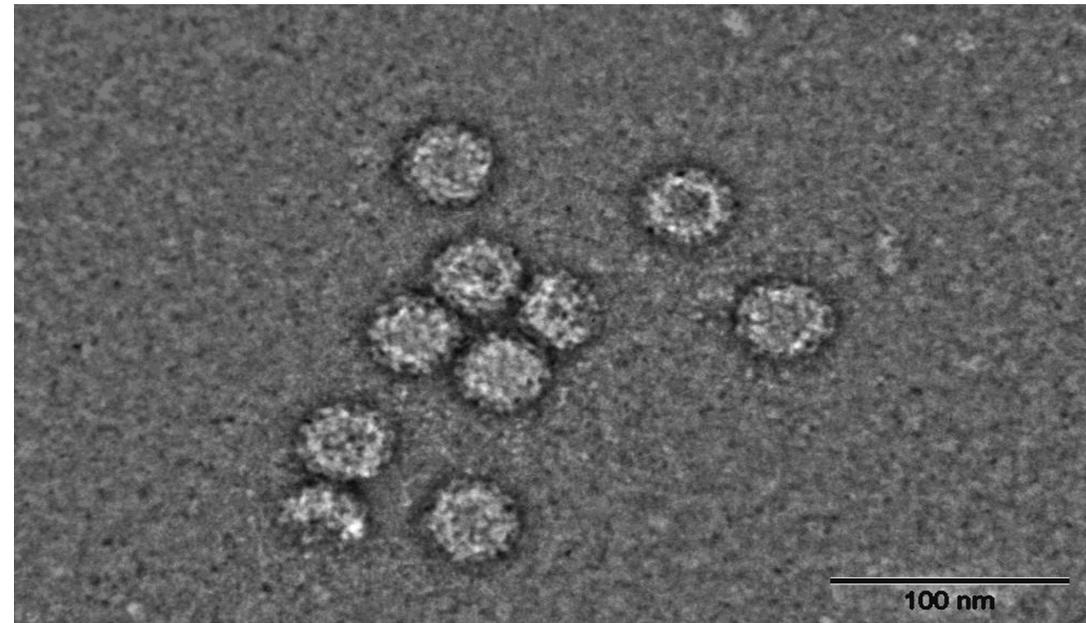


Studien zur viruziden Wirksamkeit von Räucherrauch

Lange-Starke, A., Braun, P.G.,
Truyen, U., Fehlhaber, K., Albert, T.

3. BfR-Symposium „Lebensmittel-assoziierte Viren“
Berlin, 04.11.2015

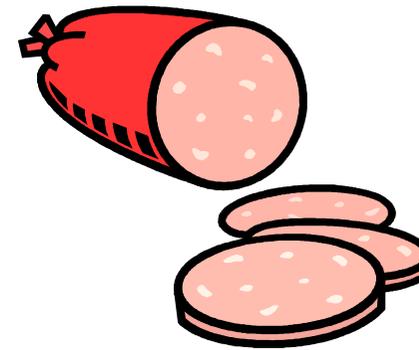


Hintergrund und Ausgangssituation

- Fragen zur Sicherheit von Lebensmitteln im Zusammenhang mit Viren
- z. T. Fehlen wissenschaftlicher Grundlagen für Risikobewertung bestimmter Produkt-Erreger-Kombinationen (Expositionsabschätzung)
- Bedarf nach Daten zur Stabilität von Viren in Lebensmitteln
Welche Faktoren/Technologien führen zur Virusinaktivierung?
- Räuchern – Maßnahme zur Risikominimierung im Zusammenhang mit Viren?

Antimikrobielle Faktoren bei Lebensmitteln

- Kochsalz, Nitritpökelsalz
- Wasseraktivitätswert
- pH-Wert, Milchsäure
- Starterkulturen
- Reife- und Lagerungsbedingungen
- Erhitzung
- Räuchern
- Alternative Verfahren
- ...



Räuchern im Überblick



- Räuchern – eines der ältesten Verfahren zur Haltbarmachung von Lebensmitteln
- Konservierung (antibakteriell, antimykotisch), Aroma, Farbe, Textur
- Räucherrauch: $\approx 5.000.-10.000$ verschiedenen Stoffe (>300 näher charakterisiert)
- Räucherrauch: u. a. Phenole, organische Säuren, Alkohole, Ester, Carbonyle
- unerwünschte Rauchinhaltsstoffe: PAK's, Formaldehyd, Kohlenmonoxid...
- Bisläng keine Daten zur viruziden Wirkung von Räucherrauch

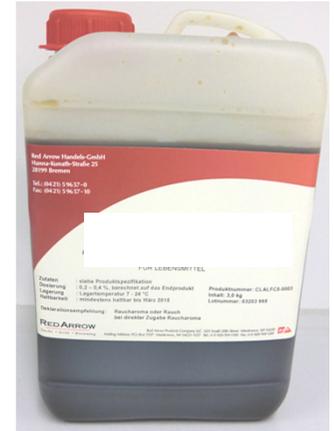
Räuchern - traditionell



- Räucherholz: meist Buche (Erle für Farbgebung), Hickory (USA), Kirsche (Japan)
- Beimengungen: Wacholderbeeren, Kräuter, Tannen- oder Kiefernzapfen und -nadeln (zur Geschmacksgebung)

Räucherung	Temperatur [° C]	Anwendung
kalt	15-25	Rohwurst, roher Schinken, ...
warm	25-50	Frankfurter Würstchen, ...
heiß	> 50	Schinken, Jagdwurst, Aal, Makrele, Sprotten, Heilbutt, ...

Flüssigrauch



- = Lösung, Pyrolyse von Holz (Erhitzung unter O₂-Ausschluss)
- Kondensation von Rauchgasen im Wasser
- mehrstufiges Filtrieren, Entfernung unerwünschter Stoffe (Teerphase, ölige Phase)
- Primärrauchkondensat=Primärprodukte zur Weiterverarbeitung (Raucharoma)
- industrielle Anwendung: Zerstäubung (trockener Rauch), Tauchbad, Berieselung
- seit 2014: Einmischung ins LM (Aroma), VO (EG) Nr. 2065/2003 u. Nr. 1321/2013

Zielstellungen



- Erarbeitung eines Versuchsmodells
- Einfluss von Räucherrauch auf die Virus-Infektiosität

⇒ Einschätzung des antiviralen Potentials von Räucherverfahren bei Fleischerzeugnissen

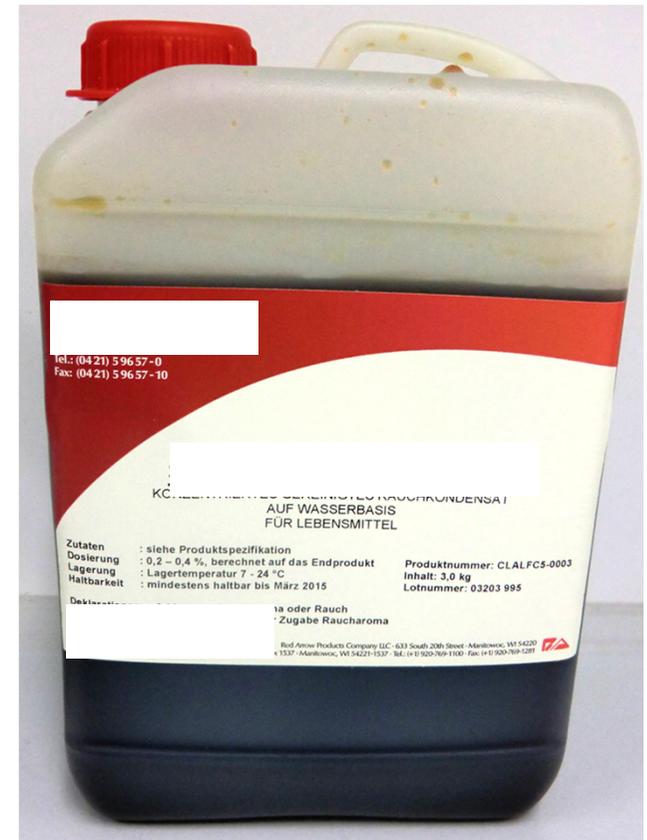
- Projekt Nr. AiF 16479 BR (05/2012-04/2014)
*Virusinaktivierung durch **Erhitzungs- und Räucherverfahren** bei Fleischerzeugnissen -
Erarbeitung von Prozessvorgaben anhand geeigneter Modellviren*

Geprüfte Raucharten

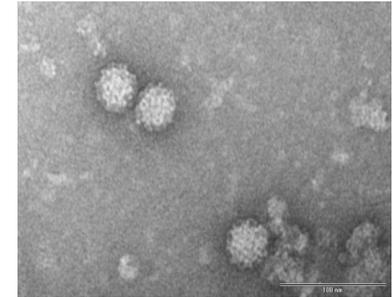
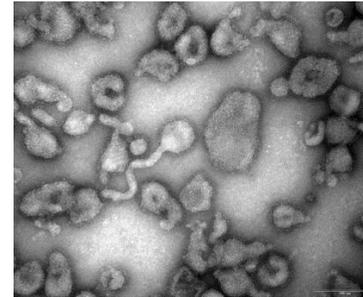
Friktionsrauch / Reiberauch



Flüssigrauch



Modellviren



Gruppe

ausgewählte Viren

behüllte Viren

Influenzavirus H1N1

unbehüllte Viren

Murine Noroviren (MNV) S 99/CW 1

unbehüllte Viren

Bovines Enterovirus (BEV)

Friktionsrauch



Anlage: ASR 1297 Titan, Maurer-AG

Holz: - Rotbuche
(80x80x500 mm)



Friktionsrauch / Versuchsmodell

⇒ Indikatoren zur Standardisierung von Räucherprozessen

Räucherofen (ASR 1297 Titan, Maurer-AG) mit Friktionsrauch
(hermetisch, Umluft langsam, 22 ° C, max. 140 min)

Sensorik

Mettenden: 22 × 2 cm,
Trocknung: 22 ° C, 30 min,
Umluft langsam (Ø 1,2 m/s)



Farbanalyse auf Papier

Spectrophotometer CM-700d/600d Konica Minolta



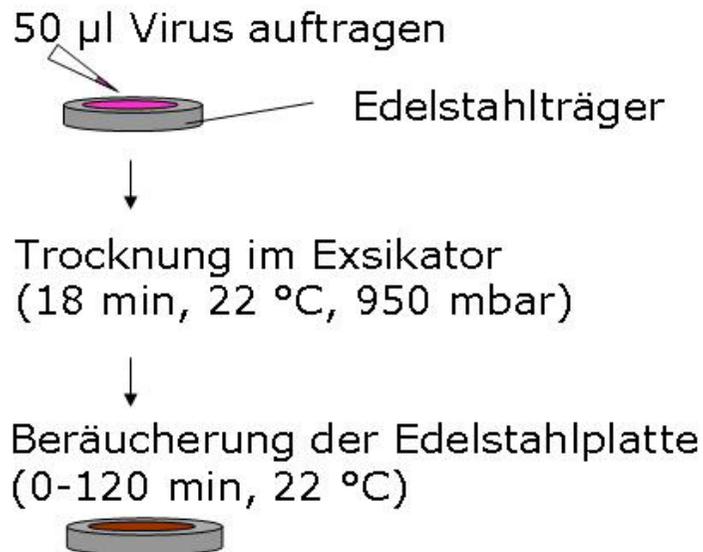
Guajacolgehalt

Zeit [min]	Guajacol- gehalt [mg/kg]
0	0,2
80	13,9
100	18,1
120	20,8
140	23,0

Hitzel et al. (2012)

Antivirale Wirkung von Friktionsrauch/Versuchsmodell

A) Wirkung von Friktionsrauch auf eine getrocknete Virussuspension



B) Wirkung von Friktionsrauch auf einer beräucherten Edelstahlfläche mit sekundärer Viruskontamination



Beräucherung der
Edelstahlplatte
(120 min, 22 °C)



Überschichtung
mit 50 µl Virus



Inkubation (22 °C)

Abstoppen der Reaktion mit PBS

Sterilfiltration (PES-Membran; 0,2 µm)

Virustiterbestimmung mittels Endpunkttitration

Antivirale Wirkung von Friktionsrauch/Ergebnisse

Friktionsrauch, 120 min ⇒ Auftropfen der Virussuspension



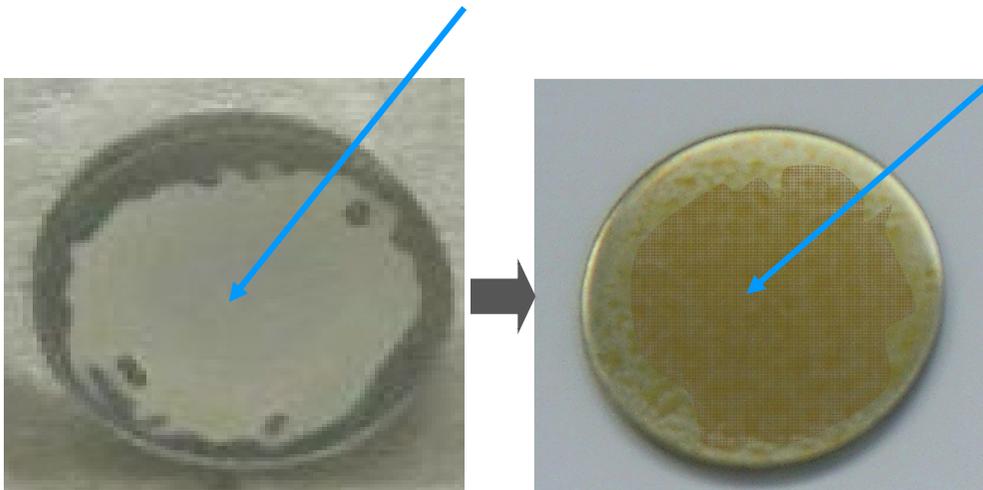
Virus	Titerreduktion*
H1N1	≥ 2,9 log-Stufen nach Direktkontakt n=6; 6,25-6,75 log ₁₀ TCID ₅₀ /ml
MNV S 99 / CW 1	≥ 3,7 log-Stufen nach 20 min n=8; 7,00-8,00 log ₁₀ TCID ₅₀ /ml
BEV	≥ 2,5 log-Stufen nach 80 min n=8; 5,75-6,5 log ₁₀ TCID ₅₀ /ml

* Bezogen auf Ausgangstiter

Nachweisgrenze: 3,5 log₁₀TCID₅₀/ml

Antivirale Wirkung von Friktionsrauch/Ergebnisse

Trocknung der Virussuspension ⇒ Exposition mit Friktionsrauch



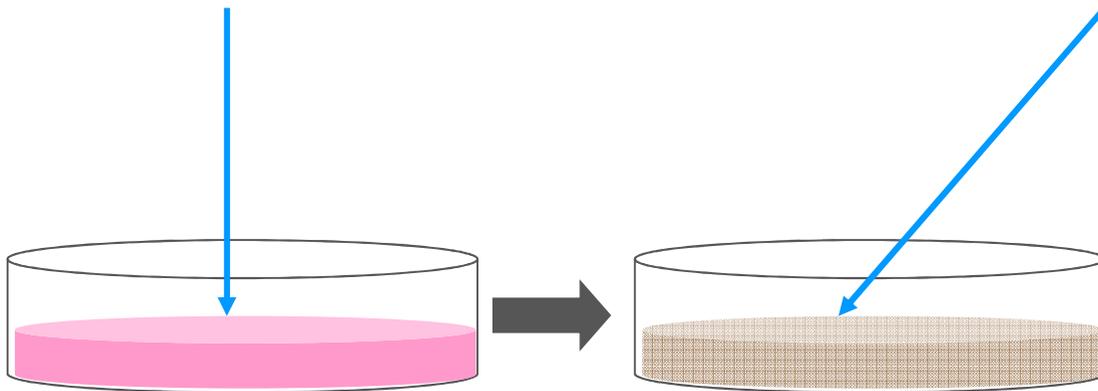
Virus	Titerreduktion*
MNV S99/ CW1	≥ 4,50 log-Stufen nach 40 min (n=3; Ausgangstiter: 8,0 log ₁₀ TCID ₅₀ /ml)
H1N1	Reduktion um 2 log-Stufen durch Umluft (n=3; Ausgangstiter: 5,5 log ₁₀ TCID ₅₀ /ml)
BEV	nicht trocknungsresistent

* Bezogen auf Ausgangstiter

Nachweisgrenze: 3,5 log₁₀TCID₅₀/ml

Antivirale Wirkung von Friktionsrauch/Ergebnisse

Virussuspension in Petrischale \Rightarrow Exposition mit Friktionsrauch



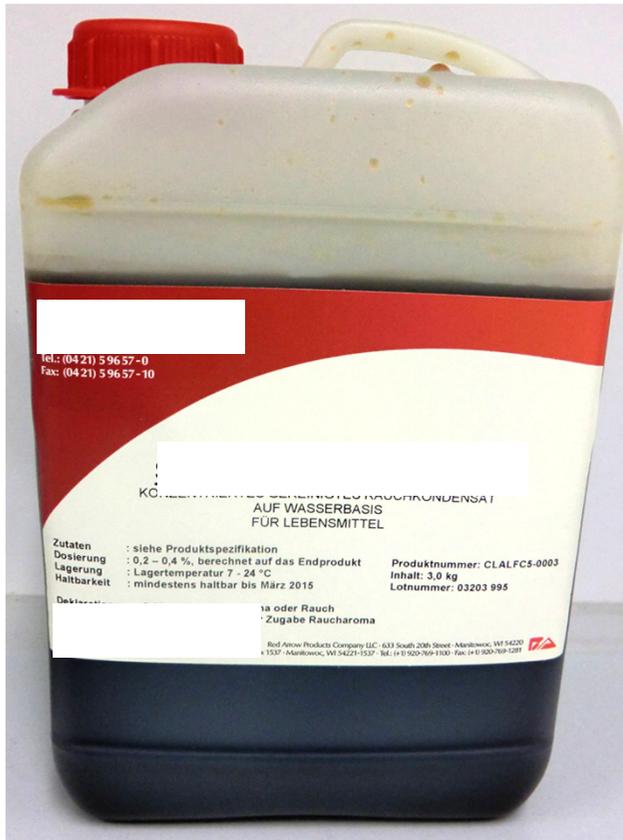
Virus	Titerreduktion*
MNV S99/ CW1	$\geq 3,50$ log-Stufen nach 20 min (n=3; Ausgangstiter: $8,0 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$)

* Bezogen auf Ausgangstiter

Nachweisgrenze MNV: $4,5 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$

H1N1: $5,5 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$

Flüssigrauch



Ausgangshölzer:

- Ahorn (*Acer saccharum*)
- Eiche (*Quercus alba*)
- Hickory (*Carya Ovata*)

Antivirale Wirkung von Flüssigrauch / Versuchsaufbau

A) Wirkung von Flüssigrauch auf eine getrocknete Virussuspension

50 μ l Virus auftragen
Edelstahlträger

Trocknung im Exsikator
(18 min, 22 °C, 950 mbar)

Überschichtung mit 20,4 μ l Flüssigrauch

B) Wirkung von getrocknetem Flüssigrauch bei sekundärer Viruskontamination

20,4 μ l Flüssigrauch auftragen

Trocknung im Exsikator
(40 min, 22 °C, 950 mbar)

Überschichtung mit 50 μ l Virus



Inkubation bei 22 °C

Abstoppen der Reaktion mit PBS

Sterilfiltration (PES-Membran, 0,2 μ m)

Virustiterbestimmung mittels Endpunkttitration

Antivirale Wirkung von Flüssigrauch / Ergebnisse

Trocknung der Virussuspension ⇒ Exposition mit Flüssigrauch



Virus	Ausgangstiter [log ₁₀ TCID ₅₀ /ml]	Reduktion im Vergleich zum Ausgangstiter nach Initialkontakt [log ₁₀ TCID ₅₀] (n=3)	Reduktion durch Flüssigrauch nach Trocknung im Vergleich zur Kontrolle [log ₁₀ TCID ₅₀] (n=3)
MNV S99	8,00-8,50	≥3,08	≥2,33
MNV CW1	7,75-8,25	≥3,25	≥2,08
H1N1	6,00-7,00	≥2,08	≥1,33

- Nachweisgrenze: 4,5 log₁₀TCID₅₀/ml

Antivirale Wirkung von Flüssigrauch / Ergebnisse

Flüssigrauch + Trocknung \Rightarrow Auftropfen der Virussuspension



Virus	Virustiterreduktion*
H1N1	$\geq 1,75$ log-Stufen nach Direktkontakt (n=3; $6,25 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$)
MNV S 99 / CW 1	$\geq 3,10$ / $\geq 3,25$ log-Stufen nach 25 min (n=5; $7,25-8,00 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$)
BEV	$\geq 2,0$ log-Stufen nach 40 min (n=5; $6,75 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$)

* Bezogen auf Ausgangstiter

Nachweisgrenze: $4,5 \log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$

Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

- Friktions- und Flüssigrauch mit deutlichem antiviralem Effekt gegenüber MNV (teilweise Reduktionen bis 4,5 log Stufen)
- Wirkung unmittelbar bzw. nach kurzzeitiger Exposition
- Auswertung z. T. durch zytotoxische Effekte und hohe Nachweisgrenzen erschwert

Fazit: Es konnte erstmals die antivirale Wirkung von Räucherrauch beschrieben werden. Somit kann auch Räuchern zur Risikominimierung im Zusammenhang mit Viren in Lebensmitteln beitragen.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

Kontakt

Dr. Thiemo Albert
Institut für Lebensmittelhygiene
Universität Leipzig
An den Tierkliniken 1
04103 Leipzig

albert@vetmed.uni-leipzig.de

