

## Die molekularen Grundlagen des Erdbeeraromas

Wilfried Schwab<sup>1</sup>, André Schiefner<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biotechnologie der Naturstoffe, <sup>2</sup>Lehrstuhl für Biologische Chemie, Technische Universität München

Ein Frühling ohne Erdbeeren ist wie Fußball ohne Ball. Frisch aus dem Garten oder vom Markt schmecken diese roten, saftigen Früchte in dieser Jahreszeit am besten. Aufgrund ihrer Fülle an Geschmacks- sowie Geruchsstoffen werden sie hierzulande immer beliebter. So verzehrten die Deutschen 2012 knapp 3,5 kg Erdbeeren pro Kopf, was einem Anstieg von einem Kilogramm pro zehn Jahren entspricht. Was aber macht das Aroma dieser kleinen Früchte so unverwechselbar? Eine Antwort darauf können Wissenschaftler von der Technischen Universität München (TUM) liefern, denn ihnen ist es gelungen, die Bildung eines Schlüsselaromastoffes der Erdbeerfrucht mittels chemischer, biochemischer und genetischer Analysen auf molekularer Ebene aufzuklären.

### Erdbeeraroma

Das Aroma eines Lebensmittels wird geprägt von einer Anzahl von Inhaltsstoffen, die in der Nasenschleimhaut die Geruchssinneszellen (Geruchsstoffe) und auf der Zunge die Geschmackssinneszellen (Geschmacksstoffe) aktivieren können. Während die Sinneseindrücke süß, sauer, salzig, bitter und umami (herzhaft) durch die Geschmacksstoffe vermittelt werden, runden erst die flüchtigen Geruchsstoffe mit ihren vielfältigen Düften das Aroma der Nahrungsmittel ab. Untersuchungen zeigten, dass Erdbeerfrüchte mehr als 300 verschiedene flüchtige Naturstoffe in die Gasphase freisetzen. Eine Vielzahl dieser Verbindungen kann jedoch nicht mit der menschlichen Nase wahrgenommen werden, da deren Konzentrationen unterhalb ihrer jeweils individuellen Geruchsschwellenwerten liegen. Aroma-Analysen aber zeigten, dass ungefähr 12 Komponenten dieses komplexen Stoffgemisches sensorisch, in den Konzentrationen wie sie von der Frucht freigesetzt werden, erkannt werden. Darunter befinden sich u.a. Fruchttester, Aldehyde und das 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon (HDMF), das auch unter dem Markennamen Furaneol<sup>®</sup> bekannt ist (Abbildung 1). Rekombinate, d.h. Lösungen, welche die 12 identifizierten

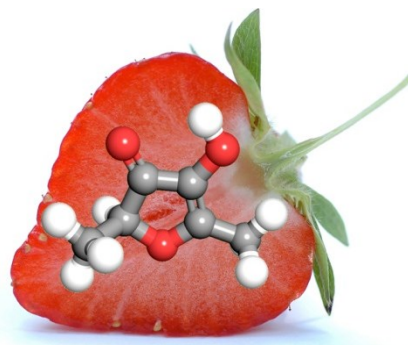
Verbindungen in den erdbeertypischen Konzentrationen enthalten, werden als erdbeerartig beschrieben. Wird jedoch eine Komponente z.B. Furaneol<sup>®</sup> aus der Mischung entfernt, erinnert das Aroma nicht mehr an die Erdbeerfrucht. Aufgrund dieser Befunde wird Furaneol<sup>®</sup> als Schlüsselaromastoff der Erdbeere beschrieben, obwohl sein Eigengeruch mit karamellig-süß angegeben werden kann. Außer in Erdbeeren wird Furaneol<sup>®</sup> auch in Ananas, Tomate, Trauben, Mango, Kiwi und weiteren zuckerhaltigen Früchten gefunden. Aus Ananas konnte HDMF erstmals isoliert werden, was erklärt, weshalb die Verbindung zunächst Ananas-Keton genannt wurde und die Kulturerdbeere vermutlich den botanischen Namen *Fragaria x ananassa* trägt. Neben dieser biologischen Bildung in den Früchten entsteht Furaneol<sup>®</sup> auch bei der thermischen Behandlung von Zuckern, während der sogenannten Maillardreaktion und bildet sich somit bei der Erhitzung von zuckerhaltigen Lebensmitteln während der Zubereitung von Speisen. Einige Hefen und Bakterien können Intermediate der Maillardreaktion zu HDMF umwandeln. Außerdem ist HDMF ein Bestandteil des Pheromons der Küchenschabe.

Aufgrund der lebensmitteltechnologischen Bedeutung dieses Aromastoffes wird er industriell hergestellt und unter seinem Handelsnamen vertrieben. Wegen der

gestiegenen Nachfrage der Verbraucher nach natürlichen Inhaltsstoffen besteht jedoch starkes Interesse an der Entwicklung eines biokatalytischen Verfahrens basierend auf dem natürlichen Biosyntheseweg in Pflanzen. In der reifen Erdbeere liegt der Mengenanteil dieses Aromastoffes mit bis zu 50 mg pro Kilogramm außerordentlich hoch, weshalb sich diese Frucht für die Aufklärung des HDMF-Bildungswegs besonders eignet. Da Hefen und Bakterien Furaneol<sup>®</sup> nicht aus einfachen Molekülen *de novo* synthetisieren, können diese Organismen für derartige Studien nicht herangezogen werden.

### Biologische Bildung von Furaneol<sup>®</sup>

Wissenschaftler des TUM-Fachgebiets Biotechnologie der Naturstoffe beschäftigen sich seit mehreren Jahren mit der biologischen Bildung dieser Substanz. Ihnen ist es zunächst gelungen mit Hilfe verschiedener Markierungsversuche - indem sie radioaktiv markierte oder mit stabilen Atomen markierte Vorläufermoleküle in reifende Früchte injizierten - die Ausgangsstoffe des HDMF-Bildungswegs in der Erdbeerfrucht zu identifizieren. Hierbei konnte der Fruchtzucker als entscheidender Vorläufer des Furaneols<sup>®</sup> nachgewiesen werden, was schließlich zur Isolierung eines Enzyms (*Fragaria x ananassa* Enon Oxidoreduktase, FaEO) führte, welches den letzten Schritt des HDMF-Bildungswegs vermittelt. Interessanterweise wird die komplette Kohlenstoffstruktur des Fruchtzuckers ohne vorherige Spaltung in das Zielmolekül eingebaut. Phosphorylierte Zuckerderivate zeigten in der Regel höhere Einbauraten als nicht-phosphorylierte Verbindungen während Strukturen z.B. Rhamnose, die in der Maillardreaktion hohe Ausbeuten an Furaneol<sup>®</sup> lieferten, in der Erdbeerfrucht nicht zum HDMF umgewandelt wurden. Den TUM-Wissenschaftlern gelang es den grundlegenden Reaktionsweg im Detail abzubilden. Die Klonierung und Herstellung des Biokatalysators FaEO in einem Wirtsorganismus und dessen Charakterisierung lieferte den endgültigen Beweis für die Rolle von FaEO bei der Bildung des Schlüsselaromastoffes. Während dieser Studien konnte zudem erst-



**Abb.1** 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon (HDMF, Furaneol<sup>®</sup>) ist ein Schlüsselaromastoff der Erdbeerfrucht. (Illustration: W. Schwab/TUM)

mals ein bisher unbekanntes Intermediat des Bildungsweges identifiziert werden. Verwandte Gene und Enzyme wurden mittlerweile auch in der Tomate und der Ananas nachgewiesen.

### Reaktionsmechanismus

Um zu verstehen, wie der Biokatalysator die Biosynthese der neuartigen Stoffwechselprodukte katalysiert, wendeten die Forscher in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Biologische Chemie der Technischen Universität München (Leiter Prof. Skerra) das Verfahren der Röntgen-Strukturanalyse an, mit der sich Moleküle dreidimensional darstellen lassen (Abbildung 2). Es wurden wie bei einem Puzzlespiel sechs verschiedene Enzym-Molekül-Konstellationen durchgespielt, bis schließlich verstanden wurde wie FaEO den Aromastoff Furaneol® herstellt. Bei der katalysierten Reaktion handelt es sich um einen noch nicht bekannten Mechanismus, wobei Elektronen zielgerichtet auf eine bestimmte Stelle im Vorläufermolekül übertragen wird (Abbildung 3). Das Protein FaEO ist somit erster Vertreter einer neuartigen Klasse von Biokatalysatoren, was interessante Anwendungen in der industriellen (weißen) Biotechnologie eröffnet.

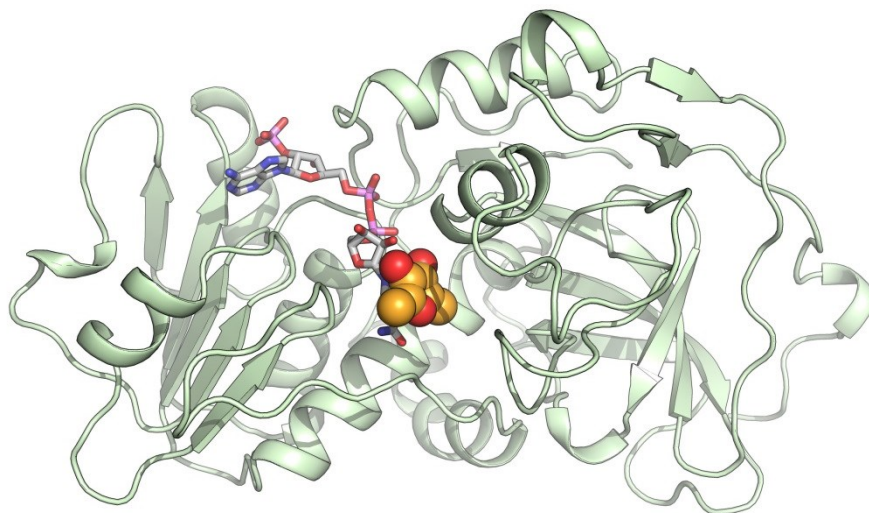
Die Forschungsarbeiten lieferten den Weihenstephaner Wissenschaftlern wertvolle Informationen zur Bildung des Schlüsselaromastoffes Furaneol® in Früchten. Damit könnte dieser industriell bedeutende Aromastoff schon bald biosynthetisch aus Fruchtzucker gewonnen werden, beispielsweise um Getränke oder Lebensmittel wie Joghurt zu verfeinern. Profitieren können auch die Erdbeerbzüchter. Mittels genetischer Analysen können sie Pflanzen künftig zielgerichtet auswählen und solche mit einem Gen-Defekt, der sich etwa auf die Aromabildung auswirken würde, ausschließen. Langwierige Feldversuche bleiben ihnen dadurch erspart.

### Referenzen

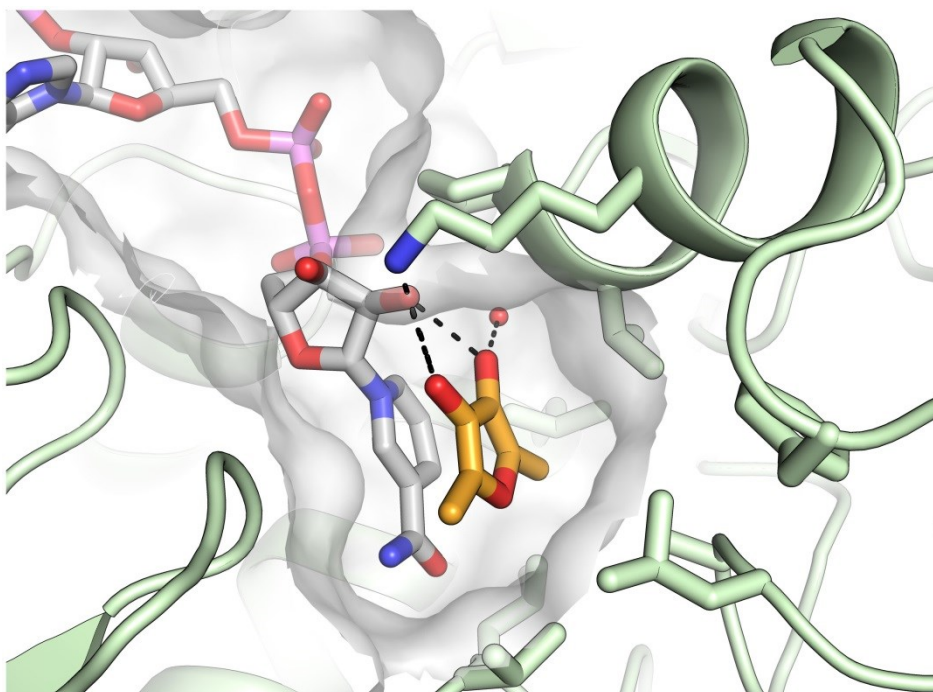
A. Schiefner, Q. Sinz, I. Neumaier, W. Schwab, A. Skerra, *Structural basis for the enzymatic formation of the key strawberry flavor compound 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone*. *Journal of Biological Chemistry* 288 (2013) 16815-16826.

W. Schwab, *Natural 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone (Furaneol®)*. *Molecules* 18 (2013) 6936-6951.

T. Raab, J.A. López-Ráez, D. Klein, J.L. Caballero, E. Moyano, W. Schwab, J. Muñoz-Blanco, *FaQR, required for the biosynthesis of the strawberry flavor compound 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone, encodes an enone oxidoreductase*. *Plant Cell* 18 (2006) 1023-1037.



**Abb. 2:** Die Vorstufe des HDMF-Geruchstoffs (orange und rote Kugeln) bindet an das Enzym FaEO (grün). Das Co-Enzym NADPH, hier als mehrfarbiges Stabmodell dargestellt, liefert die erforderlichen Elektronen für die Bildung von HDMF, die prägende Aromakomponente reifer Erdbeeren. (Illustration: A. Schiefner/TUM)



**Abb- 3:** Die Detailsicht der Substratbindetasche (graue halbtransparente Oberfläche) zeigt die Übertragung zweier Elektronen von NADPH auf die Vorstufe des HDMF-Geruchstoffs (orange-rote Ringstruktur). Dabei entsteht die Aromasubstanz HDMF. (Illustration: A. Schiefner/TUM)

### Links:

[www.leffingwell.com/burnt.htm](http://www.leffingwell.com/burnt.htm)

[www.leffingwell.com/chirality/furaneol.htm](http://www.leffingwell.com/chirality/furaneol.htm)