

# Über die Biogenese von Aromastoffen bei Pflanzen und Früchten, XVII\*

## Anabole Leistung von Erdbeerfruchtgewebe bei der Biosynthese von Aromastoffen

On the Biogenesis of Aroma Compounds in Plants and Fruits, XVII \*

Anabolic Properties of Strawberry Fruit Tissue for the Biosynthesis of Aroma Compounds

Friedrich Drawert und Ralf G. Berger

Institut für Lebensmitteltechnologie und Analytische Chemie der Technischen Universität München, Lehrstuhl für chemisch-technische Analyse und chemische Lebensmitteltechnologie, D-8050 Freising-Weihenstephan

Z. Naturforsch. 37 c, 849–856 (1982); received April 22/June 14, 1982

Strawberry, Fruit Tissue Culture, Precursor-Feeding, Aroma Compounds, Biotechnological Production

Slices from ripe strawberry fruit (in shape of segments) metabolize exogenous L-alanine, acetate, pyruvate, n-butyrate, 2-ketovalerianate, n-butanal, n-hexanoate or d,l-mevalonic acid- $\delta$ -lactone to yield fruit-typical aroma compounds and some of them to considerable extent. Employing standard-controlled aroma separation by liquid-liquid-extraction, as well as prefractionation on silica gel, the aroma components were determined by GC and GC-MS. Alkyldonors were converted more quickly and selectively than acyldonors, the former resulting in twenty – to thirtyfold increase in some of the concentrations of fruit-esters under specific conditions.

The increase in ester biosynthesis feeding L-alanine is directly proportional to the concentration of substrate up to 3 mmol/l. After addition of the above mentioned precursors the concentration of (+)-nerolidol, a terpenoid compound of strawberry aroma, is increased.

### Einleitung

Submers inkubierte Fruchtscheibchen sind wegen der leichten Zugänglichkeit und der Kontrollierbarkeit der Umgebungsparameter zur Bearbeitung zahlreicher Stoffwechselfragen herangezogen worden [1–4]. In vorausgehenden Arbeiten zur Biosynthese von Aromastoffen ist gezeigt worden, daß in Gewebe Scheibchen aus der Fruchtpulpe von Bananen die Konzentration zahlreicher Hauptaromakomponenten nach Zusatz bestimmter Precursoren abhängig von Reifezustand und Versuchsdauer stark zunimmt [5–7]. Exogene Fettsäuren der Kettenlänge C<sub>3</sub>–C<sub>10</sub> werden zu Estern und Alkoholen, L-Valin und L-Leucin überwiegend zu Alkoholen und 2-Ketosäuren zu Aldehyden und Alkoholen metabolisiert, wobei die nachfolgende Ver-

esterung der gebildeten Alkohole mit endogenen Säuren bevorzugt in der klimakterischen Reife phase stattfindet.

Daraus hat sich die Frage ergeben, inwieweit das Synthesepotential von Fruchtgeweben zur biotechnologischen Darstellung von aromawirksamen Substanzen und komplexen Stoffgemischen genutzt werden kann. Insbesondere die hohe Stereospezifität enzymatischer Reaktionen könnte die Produktion chiraler Substanzen, die oft hohe Aromawerte aufweisen, aber chemischen Synthesen nicht oder nur unter hohem Aufwand zugänglich sind, ermöglichen [8].

Damit rückt die Untersuchung biosynthetischer und regulatorischer Probleme der Bildung von Aromastoffen zunehmend in den Vordergrund. Unter Rückgriff auf die bei Bananenscheibchen entwickelten Vorstellungen zur Biosynthese von Aromastoffen und erste Befunde an Erdbeerpräparaten [9] enthält die vorliegende Mitteilung Angaben zur Quantität der Neogenese von Aromastoffen nach Zusatz exogener Precursoren sowie zur Charakteristik des Produktspektrums und zur Kinetik des Umsatzes bei Schnitten aus Erdbeerfrüchten.

\* XVI. Mitt.: F. Drawert u. H.-J. Künnanz, Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. 3, 185 (1975).

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. F. Drawert, Institut für Lebensmitteltechnologie u. Analytische Chemie der TU München, D-8050 Freising-Weihenstephan.

## Material und Methoden

### Untersuchungsmaterial

Erdbeeren (*Fragaria ananassa* cv. Senga Sengana) aus dem regionalen Anbau; sortieren, waschen, entkelchen und entlang der Symmetriearchse vierteln oder sechsteln.

### Inkubation

Fruchtsegmente (Querschnitt aus 2–3 kg Früchten) gleichmäßig auf Inkubationsansätze verteilen, identische Nettogewichte einstellen, Zellmaterial mit Inkubationslösung (0,13 M Soerensen-Phosphatpuffer pH 5,5) vollständig bedecken, 4 Std. bei 26 °C mit den im Text genannten Zusätzen in aromadichten Erlenmeyerkolben im Dauerdunkeln inkubieren. Zur Erfassung der biologischen Schwankungen bei jeder Inkubation einen Kontrollversuch ohne exogenen Precursor mitführen.

### Abtrennung und Anreicherung der Aromastoffe

Kulturansätze der Fruchtsegmente nach erfolgter Inkubation mit Methanol (Endkonz. 66%) versetzen, homogenisieren, nach Zusatz interner Standards (je 90 µg Heptansäuremethylester, Decansäuremethylester: 1. Fraktion und 80 µg 2-Methyl-1-pentanol, 90 µg 9-Decen-1-ol: 2. Fraktion) abzentrifugieren, mit 5-prozentiger NaHCO<sub>3</sub> auf eine Methanolkonz. unter 50% verdünnen, in Flüssig-Flüssig-Extraktoren mit Pentan/Methylenchlorid (2 + 1) 8 Stunden extrahieren, wie von Drawert beschrieben [10, 11], Extrakte an einer Vigreux-Kolonne (40 °C) auf definierte Volumina konzentrieren.

### Säulenchromatographische Vortrennung

Bedingungen und Durchführung wie von Schreier u. Drawert mitgeteilt [12, 13].

1. Fraktion: 200 ml Pentan/Diäthyläther (9 + 1),
2. Fraktion: 200 ml Diäthyläther,  
trocknen der Fraktionen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (sicc.) und Konzentrieren an einer Vigreux-Kolonne.

### Gaschromatographie

Gerät: Gaschromatograph Fractovap Mod. 2350 AC (Carlo Erba) mit Programmer LT 220, Doppel-eingangssplitter mit Septumspülung. Injektor- u. Detektortemperatur 250 °C, Eingangssplitter 1:50, Injektion 0,5 µl (splitlos). Trägergas H<sub>2</sub> (0,5 bar ≈ 1

ml/min), Brenngase H<sub>2</sub> (0,5 bar ≈ 30 ml/min), N<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> = 80/20 (0,9 bar ≈ 300 ml/min).

### Trennsäulen (TS)

TS 1: Dünnsilanglaskapillarsäule 50 m × 0,32 mm i.D., OV 101 (methyl), TZ 48 (Jaeggi), Temperaturprogramm 40–230 °C, 2 °C/min.

TS 2: Dünnsilanglaskapillarsäule 50 m × 0,32 mm i.D., FFAP, TZ 41 (Jaeggi), Temperaturprogramm 70 °C isotherm 6 min, dann 2 °C/min bis 190 °C. Nur in Verbindung mit der Massenspektrometrie:

TS 3: „Mikropak“-Trennsäule (Glas), 5 m × 1 mm i.D., gefüllt mit 5% FFAP auf Varaport 30 (100/120 mesh). Trägergas He (4 ml/min). Temperaturprogramm 70–100 °C: 1 °C/min; 100–250 °C: 2 °C/min, Einspritzmenge 1 µl.

Qualitative Auswertung der Gaschromatogramme über relative Retentionszeiten mit Hilfe von Vergleichssubstanzen (TS 1 – TS 3). Quantitative Auswertung durch das elektronische Integratorssystem SP 4000/4020 mit Teletyp Mod. 43 (Spectra Physics) bezogen auf den nächstliegenden internen Standard. Alle Konzentrationsangaben sind relative Werte, die unter Vernachlässigung von Responsefaktoren des FID und der Extraktionsausbeuten mit Hilfe der Standardsubstanzen nach  $c_x = c_{\text{sta}} \cdot SE/1000$  ( $c_x$  = Konz. der Komponente pro Ansatz,  $c_{\text{sta}}$  = Konz. des int. Standards pro Ansatz, SE = Standardeinheiten) in Gewichtseinheiten umgerechnet werden können. Standardabweichung = 45, bezogen auf Standard Heptansäuremethylester = 1000 Standardeinheiten

### Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Massenspektrometer Varian MAT CH7. Kopp lung über einen einstufigen Helium-Separator nach Biemann und Watson [14] mit einem Gaschromatographen Varian Aerograph Mod. 1201 (TS 3). Anzeige der getrennten Substanzen über den Totalionenstrom. Temperatur für Injektor, Separator und Verbindungsteile bis zur Ionenquelle: 250 °C. Ionisierungsenergie 70 eV. Kathodenstrom: 100 µA. Scanzeit 3–4 s für den Massenbereich 20–300. Aufnahme der Massenspektren mit einem Oscilloport (Siemens). Identifizierung durch Vergleich mit Massenspektren und Retentionsdaten von Vergleichssubstanzen.

### Chemikalien

Alle Chemikalien sind in p.A. Qualität verwendet worden. 9-Decen-1-ol von K & K, Plainview, NY. Lösungsmittel höchster Reinheit sind durch Destillation von p.A. Qualitäten über eine silberverspiegelte Vakuummantel-Füllkörperkolonne ( $2 \times 100$  cm) erhalten worden. Methanol zur Gaschromatographie von Burdick & Jackson (Vertrieb Fluka).

### Ergebnisse und Diskussion

Leistungsfähige analytische Methoden wie die Kapillargaschromatographie, insbesondere in Kombination mit der Massenspektrometrie, haben in Verbindung mit der Minimierung aufarbeitungsbedingter Veränderungen wesentliche Fortschritte bei der Aufklärung der Zusammensetzung natürlicher Fruchtaromen ermöglicht, so auch bei der Erdbeere [15]. Kultursorten enthalten mehr als 200 Aromakomponenten, wobei die Mengen der Einzelkomponenten sortenabhängig variieren [16, 17]. Bei der Sorte *Senga Sengana* dominieren Essigsäureethyl-, Buttersäuremethyl- und -ethyl, Hexansäureethylester, sowie 2-Heptanon und 2,5-Dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanon [18]. Zahlreiche kurzkettige Fettsäuren, u.a. Essig-, Butter-, 2-Methylbutter- und Hexansäure liegen in Früchten auch in freier Form vor [19].

Während der Seneszenz von Früchten ist der Ablauf von Reaktionsketten offenbar zunehmend gestört, so daß auch Intermediate der  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren in freier Form auftreten können [20]. Tressl u. Drawert haben bei Erdbeerscheibchen eine Resorption von  $[8-^{14}\text{C}]$ Octansäure und anschließende Metabolisierung zu 2-Heptanon, 1-Octanol und zu Octansäureestern beobachtet [21]. Arbeiten von Yamashita [22, 23] beschreiben die Erhöhung der Esterkonzentrationen im Dampfraum über Erdbeerpräparaten nach Zusatz von flüchtigen aliphatischen Alkoholen oder Aldehyden und Fettsäuren. Alle Kombinationen von 12  $\text{C}_1-\text{C}_9$  Alkoholen mit 8  $\text{C}_1-\text{C}_9$  Säuren ergeben die Bildung der erwarteten Ester [22–24].

Wenn die einzelnen Aromakomponenten der Frucht aktive Stoffwechselmetabolite des intakten Zellverbandes sind, könnte eine exogene Auffüllung des Primärstoffpools gezielte Modifikationen des Aromastoffwechsels erlauben [25]. Zur verglei-

chenden Untersuchung der Precursoreignung von Substanzen verschiedener Verbindungsklassen wurden Erdbeersegmente in getrennten Ansätzen mit äquimolaren Mengen (1 mmol/l) einer Fettsäure, einer 2-Ketosäure bzw. einer L-Aminosäure inkubiert (vgl. Abb. 1).

Von den  $\text{C}_2$ -Precursoren verursacht Pyruvat – mit Ausnahme des Octansäureesters – die höchsten Ethylesterkonzentrationen. Acetat wird sowohl reduziert und als Alkylrest in Ester eingebaut als auch direkt mit endogenem 1-Butanol und 1-Hexanol verestert. Diese Precursoren, in besonderem Maße aber L-Alanin, führen zu Konzentrationserhöhungen bei einer Reihe von Komponenten, die weder den Essigsäure- noch den Äthylrest enthalten. Bereits L-Alaninkonzentrationen von 3 mg/100 ml Puffer (entspr.  $3,4 \times 10^{-1}$  mmol/l) genügen, um unter Versuchsbedingungen – mit einer einzigen Ausnahme – die Konzentrationen aller als Indikatorsubstanzen dienenden Ester zu erhöhen, obwohl vermutet wer-

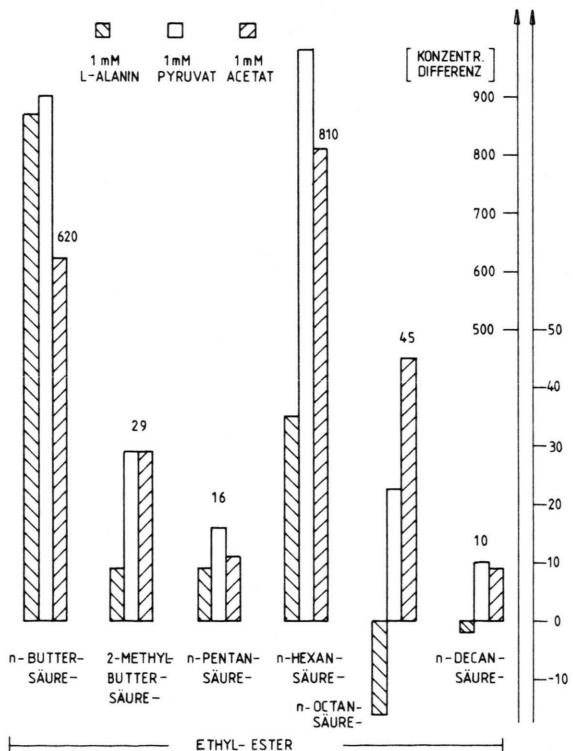


Abb. 1. Konzentrationsänderungen von Ethylestern in Erdbeersegmenten durch Inkubation mit den strukturanalogen exogenen Precursoren L-Alanin, Pyruvat und Acetat (linker Maßstab: n-Buttersäure- und n-Hexansäureester, rechts: andere Ethylester; alle Angaben in Stanardeinheiten).

den muß, daß der Precursor auch zur Protein- und Enzymneogenese, einer der markanten Stoffwechselmodifikationen nach Verwundung pflanzlicher Gewebe, Verwendung findet [26]. 2-Heptanon, 2-Nonanon und  $\gamma$ -Decalacton zeigen keine Konzentrationszunahmen. Maximale Konzentrationen der Aromakomponenten werden durch L-Alaninzusätze von 3–10 mmol/l erreicht. Die Summe der Esterkonzentrationen ohne Precursor beträgt 75095 Standardeinheiten, mit 300 mg/l L-Alanin 94599 Standardeinheiten, d.h. ca. 79 kg mit Precursor inkubierte Erdbeeren enthalten – unter weitgehender Wahrung der natürlichen Proportionen der Komponenten – nach vierstündiger Inkubation die Menge an Estern, die ohne Inkubation ansonsten in 100 kg Erdbeeren enthalten wäre. Bei sensorischen Tests (paarweise Unterschiedsprüfung) sind Proben mit Zusatz signifikant besser beurteilt worden.

In Tab. I sind die Konzentrationsdifferenzen einiger Hauptaromakomponenten in Abhängigkeit von

der L-Alaninkonzentration aufgeführt. Die verschiedenen Ester weisen bei niedrigen Precursorkonzentrationen ähnliche Konzentrationszunahmen auf, so daß, wie in Abb. 2 dargestellt, die Kurvenverläufe der Konzentrationsdifferenzen über der Precursorkonzentration z.T. fast parallel gehen. Die Lage des Konzentrationsoptimums hängt vom Molekulargewicht des Esters ab, da höhere Substratkonzentrationen offenbar eine verstärkten Aufbau mittelketiger Fettsäuren auf Kosten der Konzentrationen an kurzkettigen Molekülen bewirken. Diese Annahme steht in Übereinstimmung mit den Vorstellungen, die Lynen zur Esterbiosynthese entwickelt hat [27]. Durch Precursorkonzentrationen über 10 mmol/l wird die Neogenese niedermolekularer Ester deutlich gehemmt, noch höhere Konzentrationen hemmen schließlich auch die der höhermolekularen Komponenten.

Das aus den Daten der Tab. I erhaltene Lineeweaver-Burk Diagramm (Abb. 3) soll die direkte

Tab. I. Konzentrationen von Aromakomponenten bei Erdbeersegmenten in Abhängigkeit von der Precursorkonzentration (Precursor: L-Alanin; interner Standard = 1000).

L-Alanin [mmol/l]	0	0,34	1,1	3,4	11	34
<i>Ester</i>						
Essigsäure-						
<i>n</i> -butyl-	550	600	640	670	560	580
<i>n</i> -hexyl-	1190	1670	1680	1750	1380	1540
<i>n</i> -Buttersäure-						
methyl-	11620	12550	13170	14580	12510	12550
äthyl-	28590	30510	33130	34040	30360	28320
<i>n</i> -butyl	42	44	51	43	47	40
<i>n</i> -hexyl-						
<i>n</i> -Pentansäure-						
äthyl-	171	205	197	197	202	184
2-Methylbuttersäure-						
äthyl-	1190	1300	1330	1440	1300	1220
<i>n</i> -butyl-	180	170	190	180	160	140
<i>n</i> -Hexansäure-						
methyl-	4330	4870	6135	7740	6850	6180
äthyl-	26390	30120	31690	32580	30690	29020
<i>n</i> -butyl-	78	86	97	99	119	104
<i>n</i> -Octansäure-						
methyl-	174	239	363	389	397	373
äthyl-	540	640	780	780	830	760
<i>n</i> -butyl	50	58	71	71	153	171
Gesamtesterkonzentration	75095	83062	89524	94559	85558	81182
<i>Andere</i>						
Heptanon-(2)-	1700	1660	1900	1920	1750	1490
Nonanon-(2)-	600	550	610	620	500	430
$\gamma$ -Decalacton	110	108	107	107	106	102
(+)-Nerolidol	5430	6880	7450	7360	7050	6540

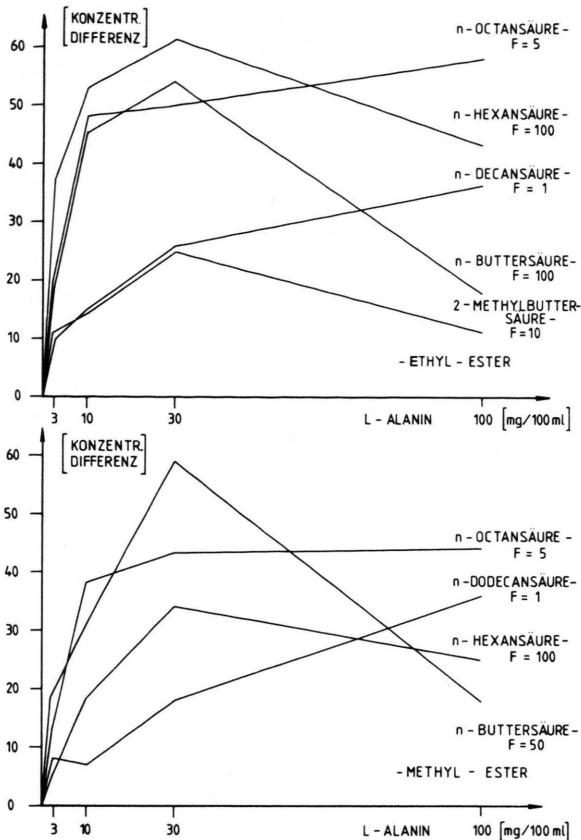


Abb. 2. Konzentrationsänderungen von Methylestern (unten) und Ethylestern (oben) in Erdbeersegmenten durch Inkubation mit exogenem L-Alanin (Skalenteile  $\times$  Faktor = Standardeinheiten).

Proportionalität der L-Alaninkonzentration mit der Geschwindigkeit der Gesamtreaktion der Esterbildung und die ähnlichen Bildungsgeschwindigkeiten der verschiedenen Ester veranschaulichen. Die daraus berechneten Michaelis-Konstanten für die Gesamtreaktion der Hexansäuremethylesterbildung liegen bei  $7,5 \times 10^{-3}$  mol/l und für den Hexansäure-ethylester bei  $2,6 \times 10^{-4}$  mol/l, d.h. die endogene Hexansäure wird in Übereinstimmung mit den originären Konzentrationsverhältnissen in der Frucht schneller zum Ethyl- als zu Methylester umgesetzt. Dieser Befund ist insofern bemerkenswert, als die Michaelis-Konstanten der Gesamtreaktion z.T. deutlich kleiner sind als die bisher bekannten Werte für isolierte pflanzliche Alkoholdehydrogenasen, deren Beteiligung an der Esterbiosynthese postuliert wird [41].

Unter den flüchtigen Inhaltsstoffen der Erdbeere finden sich eine Reihe von Estern der n-Buttersäure [17]. Auf ihre Precursorwirksamkeit sind n-Butyrat, 2-Ketovalerianat und n-Butanal geprüft worden. Die beiden letztgenannten werden überwiegend als Alkylreste, und zwar, wie Art und Umfang der Konzentrationszunahmen erkennen lassen, vermutlich über dasselbe Intermediat in Ester eingebaut (Abb. 4). Die Biosynthese der Butylester ist insgesamt wesentlich besser stimulierbar als die der Ethylester nach Zufuhr der korrespondierenden C<sub>2</sub>-Precursoren. Wahrscheinlich sind C<sub>2</sub>-Donoren die universelleren Precursoren und können von der Zelle in eine Vielzahl Acetyl-CoA verbrauchender Stoffwechselwege eingeschleust werden. Nach 4stündiger Inkubation mit C<sub>4</sub>-Alkyldonoren erreichen die Konzentrationen an Essigsäure-n-butyl- und Buttersäure-n-butylester das 20 bis 30fache der Ausgangswerte.

n-Butyratzufuhr führt zu signifikanten Konzentrationserhöhungen aller identifizierten Buttersäureester (Tab. II); außerdem kann wie schon bei der Zufuhr von C<sub>2</sub> Precursoren von einem aromaverstär-

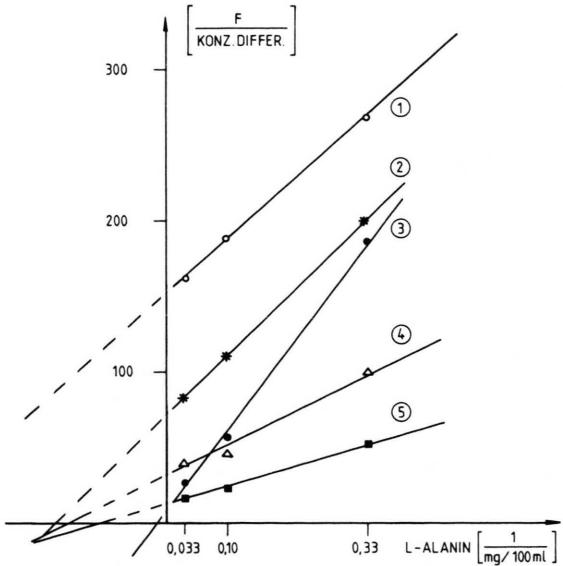


Abb. 3. Lineweaver-Burk-Transformation der Metabolisierung von L-Alanin zu Carboxylestern bei Erdbeersegmenten (Gesamtreaktion).

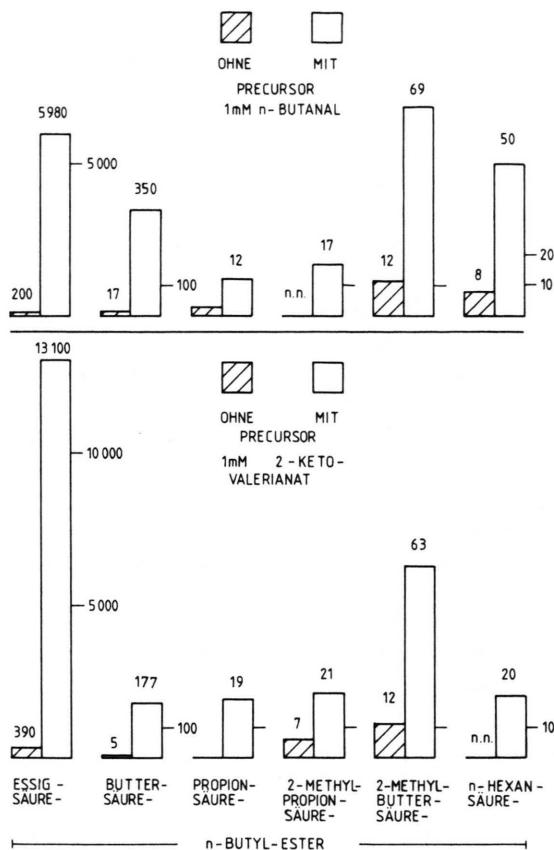


Abb. 4. Metabolisierung von exogenem *n*-Butanal (oben) bzw. 2-Ketovalerianat (unten) durch Erdbeersegmente (zwei zeitlich getrennte Versuche; Werte in Standardeinheiten).

kenden Gesamteffekt gesprochen werden. Bei der direkten Gegenüberstellung von Estern mit C<sub>4</sub>-Resten wird ersichtlich, daß der Acyldonor insgesamt weniger rasch metabolisiert wird als die Alkyldonoren. Entweder stellt die Alkylkonzentration bei Erdbeersegmenten wie bei Bananenscheibchen den limitierenden Faktor der Esterbiosynthese dar [28], oder es liegt ein Kompartimentierungseffekt (intra/extramitochondriale Veresterung) vor.

Es läßt sich eine Zusammenhang zu den von Grab bei Erdbeeren [29] und von Tressl und Jennings bei Bartlettbirnen beobachteten periodischen Schwankungen einiger Esterkonzentrationen herstellen [30, 31]: wenn die Alkyldonoren im Unterschluß vorlägen, hätten die periodischen Schwankungen der Konzentrationen endogener organischer Säuren

während des diurnalen Säurezyklus zwangsläufig parallele Schwankungen der Esterkonzentrationen zu Folge. Die Wirksamkeit eines Precursors wäre dann nicht nur vom Reifegrad der Frucht, sondern auch von periodisch überlagerten Schwankungen der endogenen Substratkonzentrationen abhängig [32].

Auch mittelkettige Fettsäuren werden von Erdbeersegmenten resorbiert und in beträchtlichem Umfang in Fruchterster eingebaut. Durch Inkubation mit *n*-Hexanat (1 mmol/l) werden die Konzentrationen an *n*-Hexansäuremethyl- und -ethylester, beides Hauptkomponenten des natürlichen Aromas, innerhalb von 4 Std. mehr als verdoppelt; auch die Konzentration des -butylesters steigt deutlich an (Abb. 5). Die Konzentrationserhöhungen bei Komponenten ohne C<sub>6</sub>-Rest dürften auf den engen Zusammenhang von Aromabiosynthese und Fettsäurestoffwechsel zurückzuführen sein und dokumentie-

Tab. II. Stimulierung der Biosynthese von Aromakomponenten in Erdbeersegmenten nach Inkubation mit *n*-Butyrat (2 mmol/l) (interner Standard = 1000; Zunahme in % bezogen auf Kontrolle).

	Kontrolle	Prec.	Zunahme
<i>Ester</i>			
<i>Essigsäure-</i>			
<i>n</i> -butyl-	47	65	+ 38
<i>n</i> -hexyl-	750	660	- 12
<i>n</i> -octyl-	530	450	- 15
<i>n</i> -Buttersäure-			
methyl-	5500	13460	+ 145
äthyl-	3190	20120	+ 631
<i>n</i> -propyl-	32	47	+ 47
<i>n</i> -butyl-	18	58	+ 222
(2)-pentyl-	5	26	+ 420
<i>n</i> -hexyl-	99	322	+ 225
<i>n</i> -octyl-	200	605	+ 203
<i>n</i> -Hexansäure-			
methyl-	3070	3440	+ 12
äthyl-	5480	5930	+ 8
<i>n</i> -butyl-	26	104	+ 300
<i>n</i> -Octansäure-			
methyl-	135	147	+ 9
äthyl-	294	350	+ 19
<i>n</i> -butyl-	261	215	- 18
Summe	19611	45895	+ 134
<i>Andere</i>			
Heptanon-(2)	223	279	+ 25
γ-Decalacton	900	922	+ 2
γ-Dodecalacton	80	103	+ 29

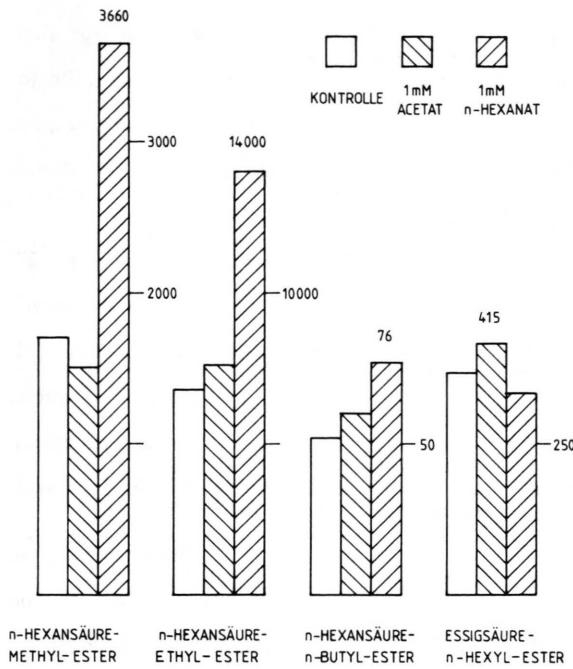


Abb. 5. Vergleich der Metabolisierung von exogenem Acetat bzw. *n*-Hexanoat in Erdbeersegmenten (in Standard-einheiten).

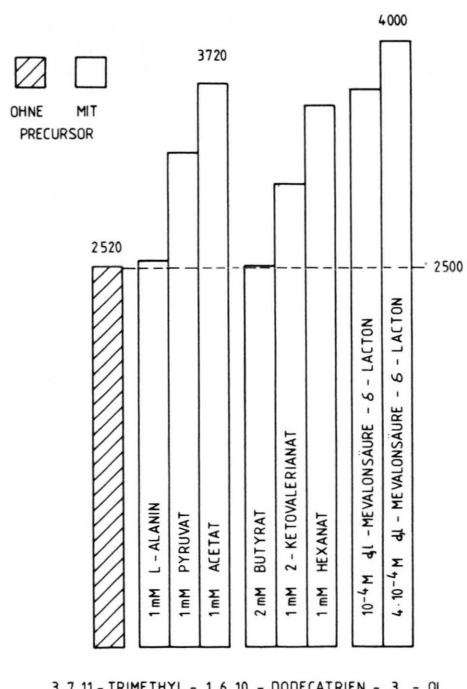


Abb. 6. Stimulierung der Biosynthese von 3,7,11-Tri-methyl-1,6,10-dodecatrien-3-ol in Erdbeersegmenten durch verschiedene Precursoren (in Standardeinheiten).

ren die Aktivität und Flexibilität des Stoffwechsels in diesem späten Stadium der Ontogenese [33].

So wird auch die Neogenese von (+)-Nerolidol (3,7,11-Tri-methyl-1,6,10-dodecatrien-3-ol) durch Zusatz von strukturell einfachen, nicht chiralen Metaboliten des Fettsäurestoffwechsels stimuliert. Es bleibt zu klären, ob ein Abbau der Precursoren über die  $\beta$ -Oxidation oder eine indirekte Einwirkung durch Entlastung des Acetyl-CoA-Pools und nachfolgende Umverteilung endogener Precursoren für diese Beobachtung verantwortlich ist. Für die letztere Annahme spricht, daß ein Zusatz von  $10^{-1}$  mmol/l d,L-Mevalonsäure- $\delta$ -lacton eine bessere Nerolidolausbeute als die zehnfache Pyruvatkonzentration ergibt (Abb. 6).

Es fällt auf, daß die Konzentrationen einiger Aromakomponenten, die nicht aus dem Terpenstoffwechsel abzuleiten sind, nach Inkubation mit d,L-Mevalonsäure- $\delta$ -lacton erhöht sind (u. a. Butter-säuremethylester + 53%). Bereits  $4 \times 10^{-1}$  mmol/l des Lactons rufen jedoch neben einer weiteren Erhöhung der Nerolidolkonzentration eine Abnahme bei allen anderen ausgewerteten Aromakomponenten im Vergleich zur Kontrolle hervor (Ausnahme Essigsäure-*n*-hexylester).

Wie beim Precursor L-Alanin zeigt sich auch hier, daß der Steigerung der Ausbeuten durch Erhöhung der Precursorkonzentration Grenzen gesetzt sind.

Im Unterschied zur Aromabiosynthese im zell-freien System, die sowohl bei Himbeeren [34, 35] als auch bei Bananen [36, 37] erfolgreich gewesen ist, arbeitet das beschriebene Verfahren bei guten Ausbeuten ohne Enzym- oder Substratsolierungsschritte und benötigt keine zusätzlichen biologischen Rohstoffe. Davon abgesehen ist die Solubilisierung der aromabildenden Enzymaktivitäten bei der Erdbeere bisher nur unvollständig gelungen [38].

Die nach Untersuchungen von Paillard [39, 40] auch Fruchtscheibchen verschiedener Apfelsorten lebhafte Precursormetabolisierung zeigen, sollten in weiteren Arbeiten die Voraussetzungen für eine Nutzung des beachtlichen Synthesepotentials von Früchten geschaffen werden.

#### Danksagung

Frl. E. Reindel danken wir für die technische Assistenz.

- [1] N. L. Wade, P. B. H. O'Connel u. C. J. Brady, *Phytochemistry* **11**, 975 (1972).
- [2] M. Liebermann, J. Baker u. M. Sloger, *Plant Physiol.* **60**, 214 (1977).
- [3] B. B. Desai u. P. B. Deshpande, *Physiol. Plant.* **44**, 238 (1978).
- [4] A. Latche, J. C. Pech, H. Codron u. J. Fallot, *Physiol. Veg.* **17**, 119 (1979).
- [5] H.-J. Künanz, Diss. TU München 1973.
- [6] R. Tressl u. F. Drawert, *J. Agric. Food Chem.* **21**, 560 (1973).
- [7] F. Drawert u. H.-J. Künanz, 34. Diskussionstagung Forschungskreis der Ernährungsindustrie, Hannover 1975.
- [8] R. Tressl, *Lebensmittelchemie u. gerichtl. Chemie* **34**, 47 (1980).
- [9] F. Drawert u. R. G. Berger, in: *Flavour '81*, (P. Schreier, ed.), Walter de Gruyter, Berlin, New York 1981.
- [10] F. Drawert u. A. Rapp, *Chromatographia* **1**, 446 (1968).
- [11] F. Drawert, W. Heimann, R. Emberger u. R. Tressl, *Chromatographia* **2**, 57 (1969).
- [12] P. Schreier, F. Drawert u. A. Junker, *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **5**, 45 (1977).
- [13] P. Schreier, F. Drawert u. M. Schmid, *J. Sci. Food Agric.* **29**, 728 (1978).
- [14] K. Biemann u. I. T. Watson, *Anal. Chem.* **36**, 1135 (1964).
- [15] S. Van Straten, (ed.), *Volatile compounds in food*, 4th ed. C.I.V.O., T.N.O., Zeist, 1977.
- [16] F. Drawert, R. Tressl, G. Staudt u. H. Köppler, *Z. Naturforsch.* **28 c**, 488 (1973).
- [17] P. Schreier, *J. Sci. Food Agric.* **31**, 487 (1980).
- [18] T. Pyssalo, E. Honkanen u. T. Hirvi, *J. Agric. Food Chem.* **27**, 19 (1979).
- [19] R. Tressl, F. Drawert u. W. Heimann, *Z. Naturforsch.* **24 b**, 1201 (1969).
- [20] D. E. Heinz u. W. G. Jennings, *J. Food Sci.* **31**, 69 (1966).
- [21] R. Tressl u. F. Drawert, *Z. Naturforsch.* **26 b**, 774 (1971).
- [22] I. Yamashita, Y. Nemoto u. S. Yoshikawa, *Agr. Biol. Chem.* **39**, 2303 (1975).
- [23] I. Yamashita, Y. Nemoto u. S. Yoshikawa, *Phytochemistry* **15**, 1633 (1977).
- [24] I. Yamashita, K. Iino, Y. Nemoto u. S. Yoshikawa, *J. Agric. Food Chem.* **25**, 1165 (1977).
- [25] F. Drawert, W. Heimann, R. Emberger u. R. Tressl, *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **1**, 201 (1972).
- [26] G. Kahl, *Bot. Rev.* **40**, 263 (1974).
- [27] F. Lynen, *Biochem. J.* **102**, 381 (1967).
- [28] P. J. Gilliver u. H. E. Nursten, *J. Sci. Food Agric.* **27**, 152 (1976).
- [29] W. Grab, Report Int. Fed. Fruit Juice Producers, Scientific-Technical Commission **15**, 213 (1978).
- [30] W. G. Jennings u. R. Tressl, *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **3**, 52 (1972).
- [31] R. Tressl u. W. G. Jennings, *J. Agric. Food Chem.* **20**, 189 (1972).
- [32] F. Drawert u. H.-J. Künanz, *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **3**, 185 (1975).
- [33] R. Tressl, F. Drawert, W. Heimann u. R. Emberger, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **144**, 4 (1970).
- [34] C. Weurman, *Food Technol.* **15**, 531 (1961).
- [35] E. E. Bruchmann u. E. Kolb, *Lebensmittel-Wiss. u. Technol.* **6**, 107 (1973).
- [36] H. O. Hultin u. B. E. Proctor, *Food Technol.* **16**, 108 (1962).
- [37] J. A. Ngalani u. J. Crouzet, *Rev. Sci. Tech.* **1**, 57 (1980).
- [38] A. Horubala, M. Klepacka u. H. Karlowicz, *Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego Akademii Rolniczej w Warszawie, Technologia Rolno-Spożywcza* **12**, 165 (1978).
- [39] N. M. M. Paillard, *C. R. Acad. Sc. Paris*, **288**, Ser. D-77 (1979).
- [40] N. M. M. Paillard, *Phytochemistry* **18**, 1165 (1979).
- [41] C. E. Eriksson, in: *Progress in Flavour Research*, (D. G. Land and H. E. Nursten, eds.), Applied Science Publ. Ltd., London 1979.