

# Genuine Geruchssignaturen der Natur – Perspektiven aus der Lebensmittelchemie für die Biotechnologie

Andreas Dunkel, Martin Steinhäus, Matthias Kotthoff, Bettina Nowak,  
Dietmar Krautwurst, Peter Schieberle und Thomas Hofmann\*

**Stichwörter:**

Biotechnologie · Elektronische Nasen ·

Geruchswahrnehmung ·

Rezeptoren ·

Schlüsselaromastoffe



Die Geruchsqualitäten natürlicher Duftobjekte werden durch die geruchsstoffinduzierten Aktivierungsmuster olfaktorischer Rezeptoren definiert. Die Meta-Analyse in diesem Aufsatz zeigt, dass von den bislang ca. 10000 in Lebensmitteln identifizierten flüchtigen Verbindungen nur ca. 230 zu den genuinen Schlüsselgeruchsstoffen zählen und der typische Geruch von Lebensmitteln durch das charakteristische Verhältnis von nur 3–40 dieser Verbindungen kodiert wird. Dies lässt auf eine Coevolution natürlicher Geruchsstoffmoleküle unserer Nahrung und der etwa 400 humanen Geruchsrezeptorproteine schließen. Der Aufsatz gibt einen Überblick über die genuinen Signaturen natürlicher Geruchsobjekte und die chemische Geruchskodierung von mehr als 220 Lebensmitteln. Es werden biotechnologische Perspektiven für die Herstellung biomimetischer Rekombinate diskutiert, mit denen erstmals die authentische Rekonstruktion natürlicher Geruchssignaturen zur Verwendung in Aromen und Parfüms, biomedizinischen Applikationen, virtuellen Umgebungen oder humanoiden bioelektronischen Nasen möglich wird.

## 1. Einleitung

Seit mehr als 8000 Jahren werden natürliche biochemische Prozesse zur Herstellung von Lebensmitteln wie Brot, Bier und Wein, Käse und Joghurt, Essig sowie Soja- und Fischsauce genutzt. Die Erzeugung neuer Aroma- und Geschmacksnoten durch mikrobiologische Fermentationen oder enzymatischen Verdau leitete somit frühzeitig die Geburt der biotechnologischen Produktion von Geruchs- und Geschmacksstoffen ein.<sup>[1]</sup>

Die metabolische Leistungsfähigkeit der vielfältigen Mikroorganismen verspricht zwar ein enormes Potenzial für die De-novo-Biosynthese von Geruchsstoffen, jedoch sind die Biosyntheseausbeuten dieser natürlichen Wirkmoleküle in der Regel zu gering für eine kommerzielle Nutzung.<sup>[2]</sup> Mit der Ausnahme einiger Primärmetaboliten wie L-Glutaminsäure oder Citronensäure führt die metabolische Diversität von Mikroorganismen meist zu einem breitgefächerten Spektrum strukturverwandter Verbindungen, z.B. der aus dem Aminosäure-Metabolismus resultierenden Fuselalkohole.<sup>[2]</sup>

Die enormen Fortschritte der organischen Synthese im letzten Jahrhundert ermöglichen die wirtschaftliche Herstellung von hochreinen, natürlich vorkommenden sowie chiralen Geruchsstoffen.<sup>[3]</sup> So wurde z.B. die industrielle Produktion des nach Minze riechenden und kühlenden 1*R*,2*S*,5*R*-konfigurierten (–)-Menthols bereits Mitte der 1960er Jahre von Haarmann und Reimer durch Herstellung des racemischen Menthol mit anschließender Enantiomeren-trennung ermöglicht.<sup>[4]</sup> In den späten 1980er Jahren konnte eine Gruppe um Noyori, der 2001 in Anerkennung dieser Leistung mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet wurde, unter Nutzung eines Binap-Ruthenium-Katalysators erstmals eine von Myrcen ausgehende Synthese von (–)-

## Aus dem Inhalt

<b>1. Einleitung</b>	7251
<b>2. Der chemische Raum an Lebensmittelgeruchsstoffen muss vollständig und quantitativ charakterisiert sein</b>	7253
<b>3. Die Mischung von Geruchsstoffen tilgt deren individuelle Qualitäten zugunsten neuer Geruchsempfindungen</b>	7254
<b>4. Der chemische Raum an Geruchsstoffen umfasst weniger als 3% aller flüchtigen Lebensmittelinhaltstoffe</b>	7255
<b>5. Sensomik-Analyse von Geruchsstoffen zeigt Generalisten und Individualisten</b>	7255
<b>6. Kombinatorische Aromacodes setzen sich aus 3–40 Schlüsselgeruchsstoffen zusammen</b>	7258
<b>7. Kombinatorische Aromacodes tragen Informationen über die Herstellungsprozesse von Lebensmitteln</b>	7259
<b>8. Chemisch verwandte Geruchsstoffe aktivieren phylogenetisch verwandte Rezeptorproteine</b>	7261
<b>9. Die Entschlüsselung von Geruchsstoff-Rezeptor-Paaren gelingt am häufigsten mit Schlüsselgeruchsstoffen aus Lebensmitteln</b>	7262
<b>10. Perspektiven für künftige Anwendungen in der chemischen Industrie</b>	7264
<b>11. Abkürzungsliste</b>	7267

[\*] A. Dunkel, Prof. Dr. T. Hofmann  
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik  
Technische Universität München  
Lise-Meitner-Straße 34, 85354 Freising-Weihenstephan (Deutschland)

E-Mail: thomas.hofmann@tum.de

Dr. M. Steinhaus, M. Kotthoff, B. Nowak,  
Priv.-Doz. Dr. D. Krautwurst, Prof. Dr. P. Schieberle

Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie –  
Leibniz Institut

Lise-Meitner-Straße 34, 85354 Freising-Weihenstephan (Deutschland)

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter  
<http://dx.doi.org/10.1002/ange.201309508> zu finden.

Menthol verwirklichen. Dieses heute als „Takasago-Prozess“ bekannte Verfahren beruht auf dem Schlüsselschritt der  $[(S)\text{-Binap}]_2\text{Ru}(\text{ClO}_4)_2$ -katalysierten asymmetrischen Isomerisierung von Diethylgeranylamin zum Enamin des 3-(*R*)-Citronellals.<sup>[5]</sup> Da synthetisches (–)-Menthol heutzutage mit einem jährlichen Bedarf von 25 000–30 000 Tonnen weltweit einer der kommerziell bedeutendsten Geruchsstoffe ist, entwickelte die BASF 2012 einen neuen Prozess auf Basis der asymmetrischen Hydrierung von (*Z*)-Neral mit einem chiralen Rhodiumkatalysator.<sup>[6]</sup> Mithilfe organischer Synthese ist es in der Vergangenheit zudem gelungen, auch nicht natürlich vorkommende Geruchstoffhomologe mit gesteigerter sensorischer Aktivität herzustellen; das heute vielfach eingesetzte Ethylvanillin hat z.B. eine 4-fach höhere Geruchsintensität als sein natürliches Vorbild Vanillin.<sup>[7]</sup>

Ungeachtet der enormen Errungenschaften bei der industriellen Produktion von Geruchsstoffen ist bei Verbraucherorganisationen weltweit eine zunehmende Aversion gegenüber nichtnatürlichen Zusätzen zu Lebensmitteln, Kosmetika und Bedarfsgegenständen zu beobachten. Eine stark wachsende Nachfrage nach natürlichen Geruchssignaturen sowie Geruchsstoffen biologischen Ursprungs ist die Folge.<sup>[2]</sup> Diese Entwicklungen haben im Laufe der letzten Jahrzehnte jedoch zu einer zunehmenden Verknappung an pflanzlichen Rohstoffen wie Vanille und Pfefferminze geführt und wiederum den Einsatz „grüner“ Chemie und umweltfreundlicher, biotechnologischer Verfahren zur industriellen Produktion biologischer Aromen unter Nutzung von Pflanzenzellen, Gewebekulturen, Bakterien, Pilzen, Hefen sowie deren jeweiligen Enzymsystemen forciert.<sup>[2,8–10]</sup> Auch Enzy-

men aus Insekten wird ein bisher stark unterschätztes Potenzial für die industrielle Biotechnologie zugeschrieben.<sup>[11]</sup> Die biotechnologische Produktion von Feinchemikalien, z.B. organischen Säuren, Aminosäuren, Nukleotiden, Vitaminen und Alkoholen,<sup>[12]</sup> biokatalytische regio- und stereoselektive Umwandlungen,<sup>[13]</sup> rationales Protein- und computergestütztes Enzymdesign zur gezielten Entwicklung von gänzlich neuen Biokatalysatoren,<sup>[14,15]</sup> mehrstufige Prozesse mit kombinierten biologisch und chemisch katalysierten Transformationen oder maßgeschneiderte, rekombinante Zellsysteme zur Expression multipler Enzymsysteme<sup>[16]</sup> sowie die selektive Gewinnung von Zielmolekülen durch leistungsfähige Aufreinigungsprozesse haben sich in den letzten Jahren weit entwickelt und sind heute funktionstüchtige „grüne“ Bereiche der chemischen Industrie.<sup>[2,17]</sup> Auch wenn flüchtige Alkohole wie die Fuselalkohole, geruchsaktive Säuren und Ester wie 2-Phenylethylacetat, Aldehyde wie (*Z*)-3-Hexenal und Vanillin, Ketone und 3- und 5-Alkanolide bereits unter Nutzung biokatalytischer Prozesse industriell produziert werden, stellt die enorme chemische Diversität natürlicher Geruchsstoffe die Biotechnologie vor eine hochanspruchsvolle Aufgabe, verspricht dabei aber eine breite wirtschaftliche Anwendbarkeit in Lebens- und Futtermitteln, Kosmetika sowie pharmazeutischen Erzeugnissen.<sup>[2,9,10]</sup>

Ein fortschreitendes Verständnis der molekularen Zusammenhänge der Geruchswahrnehmung ist Grundvoraussetzung für eine gezielte Ausrichtung der post-genomischen Biotechnologie auf die Produktion derjenigen von der Natur evolutionär hervorgebrachten Wirkmoleküle, die den authentischen Geruchseindruck von Lebensmitteln und Ge-



Andreas Dunkel studierte Lebensmittelchemie an der Universität Münster und begann 2004 in der Arbeitsgruppe von Thomas Hofmann am Institut für Lebensmittelchemie der Universität Münster mit seiner Promotion. 2007 wechselte er an den Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik der Technischen Universität München.



Nach einer Ausbildung zum Koch studierte Matthias Kotthoff Ernährungswissenschaften, Lebensmittelchemie sowie Biochemie und molekulare Biophysik an den Universitäten Mönchengladbach, Wuppertal und Yale. Für seine Promotion wechselte er in die Gruppe von Dietmar Krautwurst an der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie der Leibnitz-Gemeinschaft. Er ist zur Zeit Laborleiter für Lebensmittel- und Umweltanalyse am Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie (IME).



Martin Steinhaus studierte Chemie und Lebensmittelchemie an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Er promovierte 2001 an der chemischen Fakultät der TU München bei Peter Schieberle. Nach dreijähriger Postdoc-Zeit an der TU München schloss er sich 2004 der Arbeitsgruppe von Peter Schieberle an der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie der Leibnitz-Gemeinschaft an.



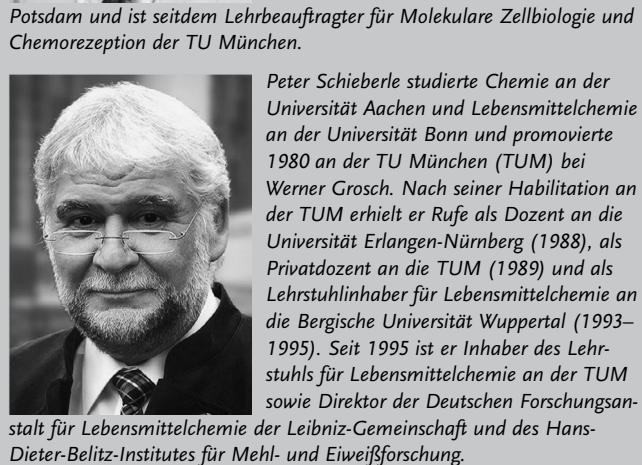
Bettina Nowak studierte Biologie an der Ludwig-Maximilians-Universität in München und erhielt in 2010 ihren Bachelor und 2012 ihren Master in Biologie. Seit 2012 ist sie Doktorandin bei Dietmar Krautwurst an der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie der Leibnitz-Gemeinschaft.

tränen prägen. Dies erfordert jedoch neue Einblicke in die molekularen Mechanismen, die unser Geruchssinn zur Entschlüsselung des komplexen Zusammenspiels von Lebensmittelaromastoffen effizient nutzt. Zur chemosensorisch vermittelten Reizverarbeitung im Gehirn wird die im komplexen Muster an flüchtigen Geruchsstoffen enthaltene chemische Information von ca. 400 Rhodopsin-analogen, G-Protein-gekoppelten, heptahelikalen Transmembranproteinen, so genannten olfaktorischen Rezeptoren (OR), in neurale Informationen umgeschrieben.<sup>[18]</sup> Unter der berechtigten Annahme, dass sich das Repertoire dieser Geruchsrezeptoren für genau diese Aufgabe entwickelt hat, verspricht die Aufklärung ihrer Kodierungsstrategie wertvolle Erkenntnisse für die funktionelle Entschlüsselung der flüchtigen chemischen Signaturen unserer Natur.<sup>[19]</sup> Dies erfordert jedoch Kenntnisse zum chemischen Raum natürlicher Schlüsselgeruchsstoffe sowie zur Gesamtheit aller sensorisch aktiven Schlüsselmoleküle, dem so genannten „Sensometabolom“, das einzelne sensorische Phenotypen kodiert und die Wahrnehmung der typischen Geruchssignatur eines Lebensmittels auslöst.<sup>[20,21]</sup>

Obwohl auf dem Gebiet der molekularen Sensorik in den letzten Jahren enorme technische Fortschritte bei der molekularen Aufklärung des Sensometaboloms von Lebensmitteln („Sensomik“) erzielt werden konnten,<sup>[1,20,21]</sup> ist besonders an der Schnittstelle der Chemie geruchsaktiver Agonisten und der Biologie der Rezeptoren eine neue Erkenntnisqualität notwendig.<sup>[22]</sup> Unser Wissen zur Geruchswahrnehmung wird heute wesentlich durch mangelhafte Kenntnisse über die Interaktion der Geruchsstoffe mit ihren Rezeptorproteinen



Dietmar Krautwurst studierte Biologie an den Universitäten Mainz und Tübingen und promovierte 1994 an der FU Berlin bei Günter Schulz. Nach einem Postdoc-Aufenthalt an der John-Hopkins-Universität/ Howard-Hughes Medical Center bei Randall Reed (1994–1998) wurde er 1998 Gruppenleiter am Deutschen Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke. Seit 2008 ist er Leiter der Arbeitsgruppe Physiologie an der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie der Leibniz-Gemeinschaft. 2010 habilitierte er sich an der Universität Potsdam und ist seitdem Lehrbeauftragter für Molekulare Zellbiologie und Chemorezeption der TU München.



Peter Schieberle studierte Chemie an der Universität Aachen und Lebensmittelchemie an der Universität Bonn und promovierte 1980 an der TU München (TUM) bei Werner Grosch. Nach seiner Habilitation an der TUM erhielt er Rufe als Dozent an die Universität Erlangen-Nürnberg (1988), als Privatdozent an die TUM (1989) und als Lehrstuhlinhaber für Lebensmittelchemie an die Bergische Universität Wuppertal (1993–1995). Seit 1995 ist er Inhaber des Lehrstuhls für Lebensmittelchemie an der TUM sowie Direktor der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie der Leibniz-Gemeinschaft und des Hans-Dieter-Belitz-Institutes für Mehl- und Eiweißforschung.

sowie durch das fehlende Verständnis des kombinatorischen Codes limitiert, mit dem die Identität von Schlüsselgeruchsstoffen auf Rezeptorebene abgebildet wird.<sup>[22]</sup>

Die Aufklärung der humanen Geruchsrezeptorkodierung für einzelne biologisch relevante Schlüsselgeruchsstoffe und besonders für die in der Natur vorkommenden Geruchsstoffmischungen, die eine geruchliche Erkennung von Lebensmitteln in unserem Gehirn überhaupt erst ermöglichen, ist ein Meilenstein für die effiziente und preiswerte biotechnologische Rekonstruktion von authentischen Geruchssignaturen – allesamt erzeugt aus dem Repertoire biologisch inspirierter Schlüsselgeruchsstoffe.

## 2. Der chemische Raum an Lebensmittelgeruchsstoffen muss vollständig und quantitativ charakterisiert sein

Die Suche nach den geruchsaktiven Verbindungen in unserer täglichen Nahrung begann mit der Einführung der Gaschromatographie (GC) in den frühen 1960er Jahren.<sup>[23]</sup> Zu dieser Zeit war die Forschung durch die Annahme geprägt, dass die Gesamtheit aller flüchtigen Verbindungen in Lebensmitteln, Körper- und Umweltgerüchen zur spezifischen Geruchsqualität der chemosensorischen Signatur beiträgt. Zwar waren bis zum Jahr 2013 bereits ca. 8000 flüchtige Verbindungen identifiziert,<sup>[24]</sup> und es werden insgesamt 10 000 Substanzen im Gasraum von Lebensmitteln vermutet,<sup>[25]</sup> allerdings waren erste Experimente zur Rekonstruktion des Aromas von Olivenöl<sup>[26]</sup> und Orangensaft<sup>[27]</sup> aus den jeweils identifizierten flüchtigen Verbindungen nicht erfolgreich. Mangelnde Kenntnisse über potente Spurengeruchsstoffe, die mit den damals verfügbaren analytischen Messtechniken (z.B. GC mit Flammenionisationsdetektor) nicht erfassbar waren, wie auch die fehlerbehaftete quantitative Bestimmung von Geruchsstoffen wurden als Hauptursachen für die sensorische Diskrepanz zwischen dem Geruchsprofil authentischer Lebensmittel und dem biomimetischer Geruchsstoffcocktail angesehen.<sup>[28]</sup>

Erst Dosis-Wirkungs-Betrachtungen haben zunehmend Zweifel genährt, dass tatsächlich die Gesamtheit der ca. 10 000 flüchtigen Lebensmittelinhaltstoffe zu den charakteristischen Gerüchen von Lebensmitteln beiträgt.<sup>[28–30]</sup> Dies



Thomas Hofmann studierte Lebensmittelchemie an der Universität Erlangen-Nürnberg, promovierte 1995 bei Peter Schieberle und habilitierte 1998 an der chemischen Fakultät der TU München (TUM). Von 1999 bis 2002 war er stellvertretender Direktor der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie der Leibniz-Gemeinschaft. 2002 übernahm er den Lehrstuhl für Lebensmittelchemie an der Universität Münster, und seit 2007 hat er den Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik an der TUM inne. Seit 2009 ist er geschäftsführender Vizepräsident für Forschung und Innovation der TUM.

veränderte die Suche nach Schlüsselgeruchsstoffen in Lebensmitteln fundamental und führte zur Entwicklung des aktivitätsgeleiteten „Sensomik“-Konzepts. Nach dem Vorbild der Kopplung von Gaschromatographie mit den Fühlern von Insekten („GC-Elektroantennographie“), die in der experimentellen Entomologie zur Detektion der von Insektenführlern erkannten flüchtigen Verbindungen genutzt wurde,<sup>[31]</sup> wurde die GC-Olfaktometrie (GC-O) entwickelt, um durch „Abriechen“ des Trägergasstroms mit der menschlichen Nase als biologischem Detektor die eigentlichen Geruchsstoffe innerhalb der Vielzahl an sensorisch inaktiven Verbindungen zu lokalisieren.<sup>[28,30,32–34]</sup> Die wiederholte GC-O-Analyse seriell verdünnter Aromadestillate, wie sie z.B. bei der Charm-Analyse<sup>[35,36]</sup> oder der Aromaextraktverdünnungsanalyse<sup>[28,30]</sup> zum Einsatz kommt, ermöglichte eine umfassende Detektion aller geruchsaktiven Moleküle sowie, basierend auf deren relativen Schwellenwerten in Luft, auch eine gestufte Einordnung bezüglich ihrer sensorischen Bedeutung.

Diese aktivitätsorientierte Strategie war enorm hilfreich, um die aufwendigen Identifizierungsexperimente auf die geruchsaktivsten Substanzen in Lebensmitteln zu fokussieren. Da das olfaktorische Screening nach Leitmolekülen mit GC-O jedoch auf Schwellenwerten in Luft und nicht in der jeweiligen Lebensmittelmatrix beruht, begannen Forscher den Beitrag einzelner Geruchsstoffe zum Aroma einzelner Lebensmittel auf Basis von „Geruchseinheiten“ oder „Aroma-werten“ (odor activity values, OAVs) zu untersuchen, die als Quotient der Konzentration eines Geruchsstoffes im Lebensmittel und seinem Geruchsschwellenwert in einer entsprechenden Matrix definiert sind.<sup>[29,30,38]</sup> Die enorme Komplexität der flüchtigen Fraktion und die großen Unterschiede in der Konzentration, Flüchtigkeit und chemischen Stabilität der Schlüsselgeruchsstoffe erschweren jedoch deren akkurate und präzise quantitative Bestimmung in Lebensmitteln.<sup>[28,30]</sup> Ein Durchbruch wurde mit der Verwendung von <sup>13</sup>C- oder <sup>2</sup>H-stabilisotopenmarkierten Zwillingsmolekülen als optimalen internen Standards für die Bestimmung von Schlüsselgeruchsstoffen mit hochauflösender Gaschromatographie/Massenspektrometrie eingeleitet.<sup>[21,28,34,39–42]</sup> Wegen der hiermit erreichten Vermeidung jeglicher Analytendiskriminierung im Zuge der Lebensmittelextraktion, Probenaufreinigung und chromatographischen Analyse ermöglichte diese Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) erstmals eine robuste quantitative Bestimmung der Schlüsselgeruchsstoffe mit einer notwendigen Präzision von < 10%.<sup>[28]</sup>

Die „Sensomik“-Forschung umfasst heute die bioaktivitätsgeleitete Identifizierung der Schlüsselgeruchsstoffe, deren akkurate Quantifizierung sowie deren Validierung durch sensorische Rekombinations- und Weglassesexperimente. Die Anwendung dieses Konzepts machte deutlich, dass die umfassende und quantitative analytische Charakterisierung des chemischen Raums an Geruchsstoffen kompromisslos erforderlich ist, um den hedonisch komplexen Geruchseindruck eines Lebensmittels zu repräsentieren. Jeder unberücksichtigte Schlüsselgeruchsstoff oder die fehlerhafte Konzentration einer oder mehrerer Verbindungen in Geruchsstoffmischungen kann signifikante Abweichungen vom authentischen Geruchsprofil zur Folge haben.<sup>[28,30]</sup>

### 3. Die Mischung von Geruchsstoffen tilgt deren individuelle Qualitäten zugunsten neuer Geruchsempfindungen

Da bei der GC-O einzelne flüchtige Verbindungen nach ihrer chromatographischen Trennung geruchlich bewertet werden, bleiben wahrzunehmende Interaktionen zwischen Geruchsstoffen naturgemäß unberücksichtigt.<sup>[36,43,44]</sup> Diese analytischen Rahmenbedingungen sind jedoch eine unnatürliche Konstellation, da unsere chemosensorischen Rezeptorsysteme im täglichen Leben kontinuierlich komplex zusammengesetzten Mischungen flüchtiger Verbindungen mit großen Variationen in der chemischen Struktur ebenso wie den Konzentrationsbereichen der Einzelkomponenten ausgesetzt sind.<sup>[24,25]</sup> Obwohl die olfaktorische Prozessierung der komplexen chemischen Reizmuster ein zentrales Element in der Wahrnehmung natürlicher Geruchsstoffe wie Lebensmittelaromen, Körper- und Umweltgerüche ist, sind die Mechanismen, die der olfaktorischen Entschlüsselung chemischer Mischungen zugrunde liegend, weitgehend unbekannt.<sup>[18,45]</sup>

Psychophysikalische Studien konnte eindrucksvoll belegen, dass sich die Wahrnehmung von Geruchsstoffmischungen, deren Komponenten einzeln eindeutig identifiziert werden konnten, nicht als die einfache Summe der Empfindung der einzelnen Geruchsstoffe ergibt.<sup>[44–49]</sup> Beim Mischen von mehr als vier Geruchsstoffen konnte der Verlust der individuellen Geruchsqualität der einzelnen Komponenten beobachtet werden, wobei ein neuer Geruchseindruck wahrnehmbar war, der nicht mit dem der Einzelkomponenten vergleichbar war. So ergaben z.B. Studien mit freiwilligen Probanden<sup>[48]</sup> und neugeborenen Kaninchen,<sup>[49]</sup> dass eine Mischung von drei Einzelkomponenten als eine neue, Ananas-artige Geruchsqualität wahrgenommen wurde. Auch das nach Geranien riechende (Z)-1,5-Octadien-3-on und das nach gekochten Kartoffeln riechende 3-(Methylthio)propanal (Methional), die beide als Schlüsselmoleküle für den fischigen Geruch von gekochtem Dorsch,<sup>[37]</sup> gelagerten Sardinen<sup>[50]</sup> wie auch den fischigen Fehlgeruch von getrocknetem Spinat<sup>[51]</sup> identifiziert wurden, verlieren ihre intrinsischen Geruchsqualitäten bei einem Konzentrationsverhältnis von 1:100 zugunsten eines stark fischartigen Geruchseindrucks.<sup>[51]</sup> Dieses Phänomen, bekannt als synthetische oder konfigurale Prozessierung,<sup>[49,52]</sup> wurde kürzlich durch neurophysiologische Experimente bestätigt; dabei respondierten ausgewählte kortikale Neuronen auf binäre Geruchsstoffmischungen, nicht jedoch auf die jeweiligen Einzelkomponenten.<sup>[49,53]</sup> Dies legt nahe, dass die bloße chemische Struktur einzelner Geruchsstoffe nicht hinreichend ist, um die charakteristische Qualität natürlicher Geruchsstoffe zu identifizieren oder vorherzusagen. Die grundlegenden Prinzipien sowie die Bedeutung elementarer und konfiguraler Prozessierung in der Geruchswahrnehmung des Menschen sind bis heute jedoch nur ansatzweise verstanden.<sup>[18,45]</sup>

Ungeachtet der mangelnden Befähigung zur Identifizierung individueller Geruchsstoffe in Mischungen<sup>[47,52,54]</sup> kann der Mensch verschiedene Mischungen sensorisch leicht von einander unterscheiden, und sogar komplexe Mehrkomponentenmischungen zeigten in humansensorischen Experi-

menten unterscheidbare Geruchseindrücke, die als „Duftgestalt“ bezeichnet werden.<sup>[45]</sup> Kürzlich konnte nachgewiesen werden, dass die Erkennung und die Unterscheidbarkeit chemisch komplex zusammengesetzter Geruchsreize auf der Bildung und Feinregulierung solcher „Duftgestalten“ im olfaktorischen Kortex beruht.<sup>[45]</sup> Darüber hinaus deuten Untersuchungen am Menschen und an Tiermodellen an, dass Geruchsqualitäten und -kategorien als dezentralisierte Aktivierungsmuster im piriformen Kortex des Gehirns repräsentiert werden und für die Konstanz der Wahrnehmung von ökologisch unbeständigen Geruchsreizen ausschlaggebend sind.<sup>[45]</sup>

Die artifizielle Rekonstruktion solcher komplexen „Duftgestalten“ aus synthetischen Mischungen von 3, 12, 27 oder 28 geruchsaktiven Schlüsselmolekülen, jeweils in den im Lebensmittel vorhandenen natürlichen Konzentrationen, ermöglichte eindrucksvoll die Imitation des authentischen Geruchseindrucks von z.B. Sauerrahmbutter,<sup>[55]</sup> frischen Erdbeeren,<sup>[34]</sup> Arabica-Kaffee<sup>[56]</sup> und Rotwein.<sup>[41]</sup> Mit steigender Zahl der Komponenten nehmen Geruchsstoffmischungen hingegen ein zunehmend ähnlicheres Geruchsprofil an.<sup>[57]</sup> Mischungen von mehr als 30 Geruchsstoffen ergeben eine generische Qualität, die als „olfaktorisches Weiß“ beschrieben wurde, wenn mindestens zwei Bedingungen erfüllt sind: 1) wenn die Mischung der Komponenten den gesamten chemischen Raum von Geruchsstoffen abdeckt und 2) wenn die jeweiligen Geruchsstoffe in ähnlichen Geruchsintensitäten vorliegen.<sup>[57]</sup> Um zu verstehen, wie die Vielzahl an Lebensmittelaromen chemisch kodiert ist und warum diese Aromen von einem „olfaktorischen Weiß“ deutlich unterscheidbar sind, muss zunächst der chemische Raum der in der Natur vorkommenden Geruchsstoffe auf molekularer Ebene charakterisiert werden.

#### **4. Der chemische Raum an Geruchsstoffen umfasst weniger als 3 % aller flüchtigen Lebensmittelinhaltstoffe**

Um den chemischen Raum an Geruchsstoffmolekülen in unserer täglichen Nahrung zu definieren, wurden eine umfassende, systematische Literatursuche und Meta-Analyse unter Nutzung der Scifinder-Plattform und der Suchbegriffe „aroma analysis“ und „flavor analysis“ durchgeführt. Nach Entfernung von Replikaten und Patentquellen und zusätzlicher Filterung mit dem Suchbegriff „food“ verblieben 5642 Publikationen aus dem Zeitraum 1980 bis 2013. Darüber hinaus erfolgte eine Recherche in der Datenbank der Deutschen Nationalbibliothek mit den Suchbegriffen „aroma“ und „flavor“, aus der 949 Treffer aus Büchern, Monographien und Doktorarbeiten resultierten.

Da die chemische Charakterisierung der Vielfalt an Geruchsstoffen in Lebensmitteln und Getränken eine lückenlose sowie fehlerfreie qualitative und quantitative Erfassung der Gesamtheit aller Schlüsselgeruchsstoffe voraussetzt<sup>[28]</sup> und eine auf einzelne Stoffgruppen flüchtiger Verbindungen limitierte Betrachtung unzulänglich ist, wurden folgende Selektionskriterien für die Durchführung der Meta-Analyse angewendet:

- aktivitätsorientierte Lokalisierung der intensivsten Geruchsstoffe mit GC-O-Analyse seriell verdünnter Aromaextrakte,<sup>[30,33,35,58]</sup>
- zweifelsfreie Identifizierung der Schlüsselgeruchsstoffe durch Vergleich chromatographischer Retentionszeiten sowie massenspektrometrischer und sensorischer Informationen mit denen unabhängig synthetisierter Referenzverbindungen,<sup>[59]</sup>
- umfassende quantitative Bestimmung aller Schlüsselgeruchsstoffe unter Verwendung akkurate und robuster Analysemethoden wie der Stabilisotopenverdünnungsanalyse.<sup>[21,28,34,42,60]</sup>

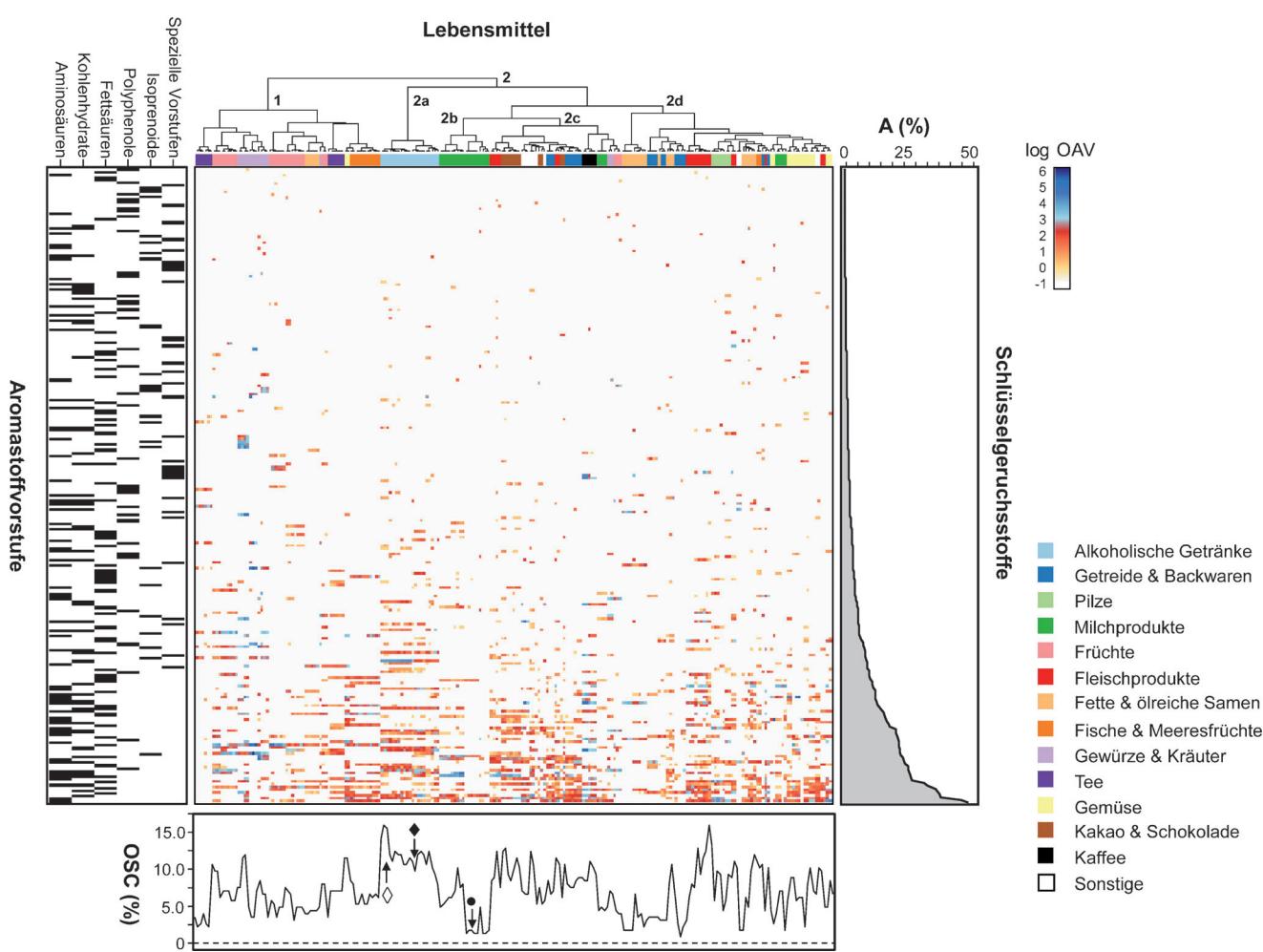
Auf Basis dieser qualitätsgereichten Strategie wurden insgesamt 119 Publikationen für die Studie ausgewählt, die über die Schlüsselgeschmacksstoffe in 227 Lebensmittelproben aus einer breiten Palette an Produktkategorien berichteten, z.B. alkoholische Getränke, Fleischprodukte, Fische und Meeresfrüchte, Getreide- und Backwaren, Milchprodukte, Fette und ölhaltige Samen, Früchte, Gemüse, Pilze, Gewürze und Kräuter, Kakao und Schokolade, Kaffee, Tee sowie weitere Lebensmittel wie Sojasauce, Balsamicoessig, Honig, Malz und Popcorn (Abbildung 1). Eine detaillierte Aufschlüsselung der 227 Lebensmittelproben sowie die entsprechenden Primärliteraturquellen sind Abbildung S1 der Hintergrundinformationen zu entnehmen.

In 81 der 119 Publikationen wurden biomimetische Mischungen der Schlüsselgeruchsstoffe in ihren jeweils im untersuchten Lebensmittel vorkommenden Konzentrationen erstellt, und die Übereinstimmung mit dem Geruchsprofil des authentischen Lebensmittels wurde durch Aromarekombinations-, Weglass- und/oder Zusatzexperimente mit hochreinen, unabhängig synthetisierten Referenzverbindungen validiert. Die sensorische Übereinstimmung der Aromaprofile der Lebensmittel und der Rekombinate dient als finaler Nachweis, dass die Gesamtheit der Schlüsselgeruchsstoffe qualitativ und quantitativ korrekt erfasst wurde.<sup>[34,41,55,56]</sup>

Da allein die Konzentration der identifizierten Geruchsstoffe keine Rückschlüsse auf die wahrgenommene Geruchsintensität ermöglicht, wurde ihr sensorischer Beitrag auf Basis von Aromawerten (odor activity values, OAVs), dem Quotienten aus der Konzentration und dem Geruchsschwellenwert einer Verbindung, abgeschätzt.<sup>[29,30,38]</sup> Dies führte zur Identifizierung von insgesamt 226 Schlüsselgeruchsstoffen (key food odorants, KFOs), die in zumindest einer der 227 Lebensmittelproben einen  $OAV \geq 1$  aufwiesen. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass weniger als 3 % der ca. 10000 flüchtigen Lebensmittelinhaltstoffe zum charakteristischen Geruch eines Lebensmittels beitragen und dass der chemische Raum der Schlüsselgeruchsstoffe unserer Lebensmittel und Getränke nicht viel mehr als etwa 230 Komponenten umfasst.

#### **5. Sensomik-Analyse von Geruchsstoffen zeigt „Generalisten“ und „Individualisten“**

Zur Veranschaulichung der Ergebnisse der Meta-Analyse wurden die 226 KFOs entsprechend der Häufigkeit ihres



**Abbildung 1.** Heatmap-Darstellung der Aromawerte (OAVs) und der relativen Häufigkeit (abundance, A [%]) der 226 Schlüsselaromastoffe (KFOs) aus 227 Lebensmitteln. Die Abdeckung des chemischen Raums der Geruchsstoffe (odorant space coverage, OSC [%]) ist definiert als der Prozentsatz des Geruchsraums (226 KFOs), der in dem jeweiligen Lebensmittel abgedeckt ist; z. B. Cognac (◇; 36 KFOs), Bier (◆; 18 KFOs) und Butter (●; 3 KFOs). Vorstufen der KFOs wurden in sechs Klassen eingeteilt und sind in Tabelle S1 der Hintergrundinformationen aufgeführt. Die Zuweisung der 227 Lebensmittelproben wie auch die Primärliteraturquellen sind in Abbildung S1 der Hintergrundinformationen enthalten.

Vorkommens in den Lebensmitteln sortiert; die Anordnung der 227 Lebensmittelproben erfolgte auf Basis einer hierarchischen Clusteranalyse, der die multivariaten Distanzen zwischen den Mustern der Schlüsselaromastoffe (berechnet auf Basis der OAVs) zugrunde liegt. Insgesamt ergaben sich somit 51 302 Datenpunkte, die entweder die Reizintensität der einzelnen Geruchsstoffe (ausgedrückt als  $\log \text{OAV} \geq 0$ ) auf einer Farbskala anzeigen oder unbesetzt bleiben ( $\log \text{OAV} < 0$ ; Abbildung 1).

Die Reihung der 226 KFOs entsprechend der Häufigkeit ihres Vorkommens in den untersuchten Lebensmitteln lässt eine Gruppe von 16 „Generalisten“ erkennen, die in mehr als 25 % der 227 Lebensmittelproben als Schlüsselgeruchsstoffe detektiert wurden (Abbildung 1, Häufigkeitsverteilung am rechten Bildrand).

So tragen z. B. das nach gekochten Kartoffeln riechende 3-Methional und die malzig riechenden Verbindungen 2- und 3-Methylbutanal zum Aroma von mehr als 50 % aller Lebensmittelproben bei, gefolgt von Butan-2,3-dion (butterartig), (E,E)-2,4-Decadienal (fettig, frittiert), 2,5-Dimethyl-4-hy-

droxy-3(2H)-furanon (karamellartig), Hexanal (grün, grasig), 4,5-Dimethyl-3-hydroxy-2(5H)-furanon (Sotolon; würzig, ahornsirupartig), 1-Octen-3-on (pilzartig), Essigsäure (essigartig), Acetaldehyd (frisch, fruchtig), Ethyl-2- und Ethyl-3-methylbutanoat (fruchtig), (E)-2-Nonenal (pappeartig), Vanillin (vanilleartig), 2-Acetyl-1-pyrrolin (röstit, popcornartig), 2- und 3-Methylbuttersäure (schweißig) und Buttersäure (schweißig; Abbildung 1). Namen und relative Häufigkeiten der „Generalisten“ sind in Tabelle S1 der Hintergrundinformationen zusammengestellt.

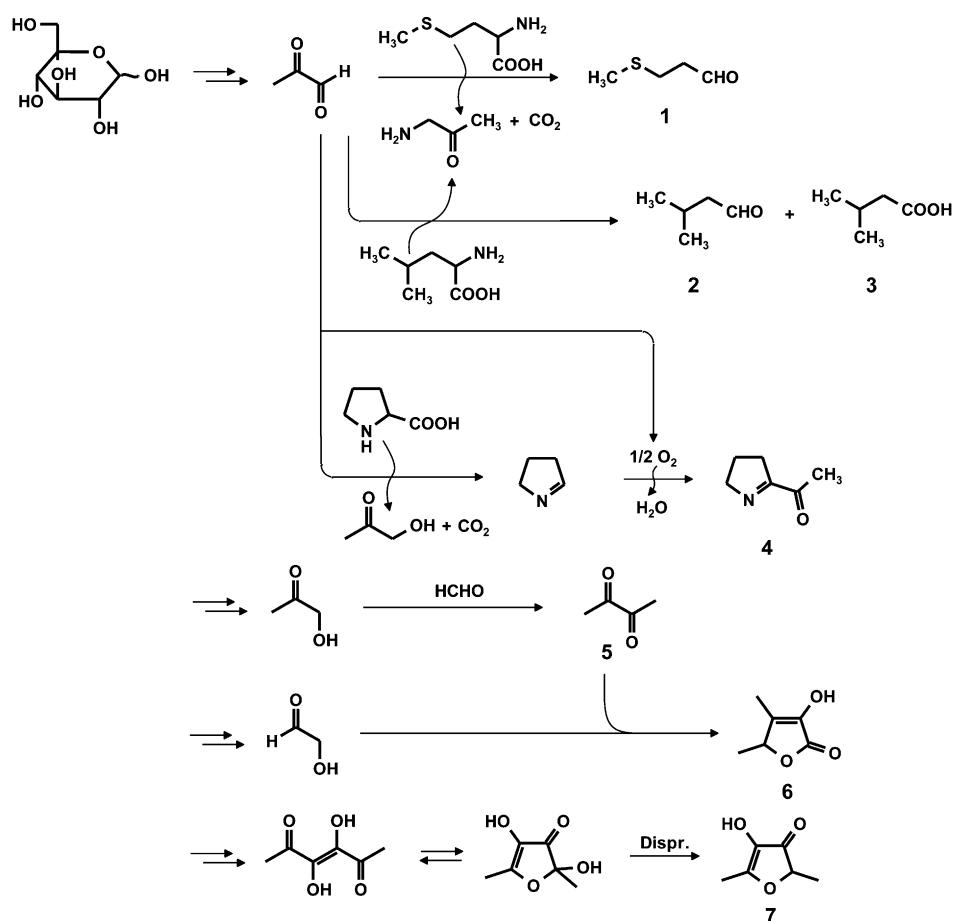
Die weitverbreiteten „Generalisten“ werden hauptsächlich ausgehend von Kohlenhydraten, Aminosäuren und ungesättigten Fettsäuren gebildet, die als biosynthetische Vorstufen in Lebensmitteln ubiquitär vorkommen (Abbildung 1, linker Bildrand, unteres Ende des Barcodes; Tabelle S1 der Hintergrundinformationen). Diese nichtflüchtigen Hauptbestandteile werden entweder enzymatisch (z. B. in pflanzlichen Lebensmitteln und/oder Fermentationen) oder nichtenzymatisch im Zuge der Strecker- und der Maillard-Reaktion z. B. während Trocknungs-, Koch-, Back- oder Röstprozessen

abgebaut: Methional (**1**) entsteht aus Methionin,<sup>[8,62]</sup> 2- und 3-Methylbutanal (**2**) sowie 2- und 3-Methylbuttersäure (**3**) aus Isoleucin und Leucin,<sup>[8,62]</sup> 2-Acetyl-1-pyrrolin (**4**) aus Prolin,<sup>[62-64]</sup> Acetaldehyd wie auch Essigsäure aus Alanin<sup>[8,62]</sup> und Butan-2,3-dion (**5**),<sup>[8,64,65]</sup> 4,5-Dimethyl-3-hydroxy-2(5H)-furanon (**6**),<sup>[65,66]</sup> 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanon (**7**),<sup>[62,64,67]</sup> Acetaldehyd<sup>[8,62]</sup> und Essigsäure<sup>[8,62]</sup> sind Umwandlungsprodukte von Kohlenhydraten (Abbildung 2).

(E,E)-2,4-Decadienal, 1-Octen-3-on und (E)-2-Nonenal werden im Zuge der Lipidperoxidation aus ungesättigten Fettsäuren gebildet.<sup>[64]</sup> Butteräsäure entsteht auch aus der anaeroben Fermentation von Kohlenhydraten sowie der Lipolyse von Triglyceriden,<sup>[8,68]</sup> Ethyl-2- und Ethyl-3-methylbutanoat werden im Zuge des Aminosäure-Katabolismus<sup>[8]</sup> und Vanillin wird aus Phenylpropensäuren oder Lignin gebildet.<sup>[8,69]</sup> Die Bildungswege der Generalisten **1–7** sind exemplarisch in Abbildung 2 aufgeführt.

Neben den 16 „Generalisten“ tragen 57 weitere KFOs zum Aroma von 5–25 % der

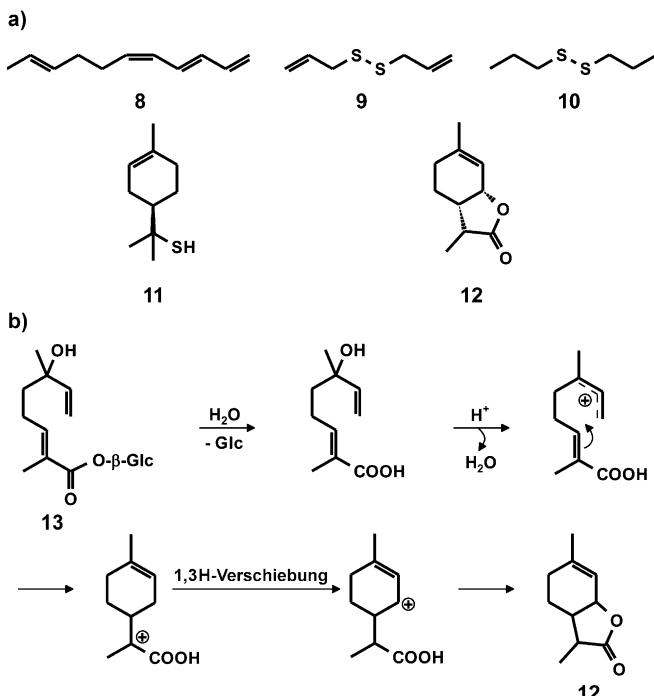
Lebensmittelproben bei („Intermediäre“), während der Hauptanteil von 151 „Individualisten“ in weniger als 5 % der Lebensmittel aromawirksam ist (Tabelle S1 der Hintergrundinformationen). Innerhalb der letztgenannten Gruppe tragen einige distinkte Geruchsstoffe zum typischen Aromaprofil nur eines einzigen oder weniger Lebensmittel bei. Zu diesen „Individualisten“ zählen z. B. das balsamisch riechende (E,E,Z,E)-1,3,5,9-Undecatetraen (**8**) in Hopfen,<sup>[70]</sup> das schweflige, knoblauchartig riechende Diallyldisulfid (**9**) in Knoblauch,<sup>[71]</sup> das nach grüner Zwiebel riechende Di-propyldisulfid (**10**) in Zwiebeln,<sup>[72]</sup> das fruchtige, grapefruitartig riechende 1-p-Menth-8-thiol (**11**) in Grapefruitsaft<sup>[61]</sup> sowie das kokosnussartig riechende (3S,3aS,7aR)-3a,4,5,7a-Tetrahydro-3,6-dimethylbenzofuran-2(3H)-on (Weinlacton; **12**) in Rot- und Weißwein<sup>[41,73]</sup> wie auch Orangensaft (Abbildung 3a).<sup>[74]</sup> Namen und Häufigkeiten der „Individualisten“ sind in Tabelle S1 der Hintergrundinformationen aufgeführt. Die meisten „Individualisten“ weisen äußerst niedrige Geruchsschwellenwerte auf, z. B. 0.02 µg kg<sup>-1</sup> für Weinlacton, 0.0002 µg kg<sup>-1</sup> für 1-p-Menth-8-thiol und 0.00003 µg kg<sup>-1</sup> für das fleischig, brüheartig riechende 2-Methyl-3-furanthiol (Tabelle 1).



**Abbildung 2.** Reaktionswege zur Bildung der Geruchsstoff-„Generalisten“ Methional (**1**), 3-Methylbutanal (**2**), 3-Methylbuttersäure (**3**), 2-Acetyl-1-pyrrolin (**4**), Butan-2,3-dion (**5**), 4,5-Dimethyl-3-hydroxy-2(5H)-furanon (**6**) und 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanon (**7**) durch nichtenzymatische Reaktionen von Kohlenhydraten und Aminosäuren.

Folgerichtig ergibt sich aus dem Fehlen einzelner Vertreter dieser hochpotenten Verbindungen in biomimetischen Aromare kombinationen eine mangelhafte Übereinstimmung mit dem authentischen Geruchsprofil des jeweiligen Lebensmittels. So führt z. B. das Weglassen des kokosnussartig riechenden Weinlactons und des fruchtig, grapefruitartig riechenden 1-p-Menth-8-thiols aus Aromare kombinationen für Weißwein (28 KFOs) und Grapefruitsaft (24 KFOs) zu einer stark reduzierten sensorischen Ähnlichkeit der Geruchsstoffmischungen gegenüber dem authentischen Lebensmittel.<sup>[61,75]</sup>

Im Unterschied zu den „Generalisten“ werden die „Individualisten“ primär durch Umwandlung hoch spezifischer Vorstufen wie Polyphenole und Isoprenoide sowie weiterer, bislang meist unbekannter biosynthetischer Metabolite gebildet (Abbildung 1, linker Bildrand, oberes Ende des Barcodes; Tabelle S1 der Hintergrundinformationen): So führte z. B. die Suche nach der Vorstufe des Weinlactons zur Identifizierung des Glucoseesters der (E)-2,6-Dimethyl-6-hydroxyocta-2,7-diensäure (**13**) sowie dem zugehörigen Aglycon als mögliche Vorstufen in Trauben.<sup>[76]</sup> Mithilfe von Modellexperimenten zur Simulation der Bedingungen der Weinproduktion<sup>[77]</sup> wie auch stereoselektiven Deuteriummarkierungsex-



**Abbildung 3.** a) Chemische Strukturen der Geruchsstoff-„Individualisten“ (*E,E,Z,E*)-1,3,5,9-Undecatetraen (8),<sup>[70]</sup> Diallyldisulfid (9),<sup>[71]</sup> Di-propyl disulfid (10),<sup>[72]</sup> 1-p-Menthene-8-thiol (11)<sup>[61]</sup> und (3*S*,3*a**S*,7*a**R*)-3*a*,4,5,7*a*-Tetrahydro-3,6-dimethylbenzofuran-2(3*H*)-on (Weinlacton, 12).<sup>[41,73]</sup> b) Reaktionsweg der Bildung von 12 aus seiner Vorstufe 13.<sup>[76]</sup>

perimenten<sup>[78]</sup> konnte der Nachweis erbracht werden, dass die freie Säure durch eine nichtenzymatische, stereoselektive kationische Cyclisierung unter Beteiligung einer 1,3-Hydrid-verschiebung in das geruchsaktive Weinlacton (12) umgewandelt wird (Abbildung 3b). Viele dieser „Individualisten“ erfordern das Vorhandensein von speziellen Vorstufen, die charaktergebend für einzelne oder nur wenige Lebensmittel sind. Wenngleich unser Wissen über diese Vorstufenmoleküle noch gering ist, eröffnen die biotechnologische Überproduktion solcher wertgebenden Metabolite und die gesteigerte Freisetzung gewünschter Schlüsselgeruchsstoffe unter milden und kontrollierten Bedingungen doch ein enormes wirtschaftliches Potenzial für künftige biotechnologische Anwendungen.

## 6. Kombinatorische Aromacodes setzen sich aus 3-40 Schlüsselgeruchsstoffen zusammen

Die hierarchische Clusteranalyse der 227 Lebensmittelproben zeigt zwei große Hauptcluster. Cluster **1** enthält Proben der Kategorien Tee, Früchte, Gewürze und Meeresfrüchte. Cluster **2** besteht aus vier Untergruppen: Subcluster **2a** enthält alle alkoholischen Getränke, Subcluster **2b** einen Großteil der Milchprodukte und die diversen Subcluster **2c** und **2d** verschiedene Fleischprodukte, Gemüse, Fette und ölhaltige Samen, Kakao, Kaffee, Getreide- und Backwaren (Abbildung 1). Die kombinatorischen „Aromacodes“ der in

**Tabelle 1:** Geruchsqualitäten und Schwellenwerts Konzentrationen ausgewählter Schlüsselaromastoffe (KFOs).

KFO	Geruchsqualität	Schwellenwert ( $\mu\text{g kg}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ ) <sup>[a]</sup>
Ethanol	alkoholisch	990 000
2-Methyl-1-propanol	malzig	19000
Essigsäure	essigartig	5600
1-Hexanol	grün, grasig	590
( <i>E</i> )-2-Hexenal	grün, apfelartig	110
2-Phenylethanol	blumig, weinartig	18
( <i>R</i> )-Limonen	zitrusartig	13
2-Methoxy-4-vinylphenol	rauchig	5
3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5 <i>H</i> )-furanon	würzig	2
Butan-2,3-dion	butterartig	1
3-Methylbutanal	malzig	0.5
3-(Methylthio)propanal	gekochte Kartoffeln	0.4
( <i>E</i> )-2-Hexenal	grün, grasig	0.1
2-Acetyl-1-pyrrolin	popcornartig	0.05
( <i>E,E</i> )-2,4-Decadienal	fettig, Pommes-Frites-artig	0.03
Weinlacton	kokosnussartig	0.02
( <i>E</i> )- $\beta$ -Damascenon	gekochte Äpfel	0.01
( <i>E,Z</i> )-2,6-Nonadienal	gurkenartig	0.005
( <i>Z</i> )-1,5-Octadien-3-on	geranienartig	0.0003
1- <i>p</i> -Menthene-8-thiol	grapefruitartig	0.0002
2-Methyl-3-furanthiol	fleischig, brüheartig	0.00003

[a] Schwellenwerts Konzentrationen wurden der hauseigenen Datenbank der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie entnommen. Sie wurden in Tafelwasser auf steigenden Konzentrationen durch 3-AFC-Tests (3-alternative forced choice) nach den Empfehlungen der American Society of Testing and Materials (ASTM) ermittelt.

der Meta-Analyse untersuchten 227 Lebensmittel sind aus überraschend wenigen Komponenten zusammengesetzt und rekrutieren sich jeweils aus einer Kerngruppe von maximal 36 (Cognac) der 226 KFOs, jedoch stets in distinkten Konzentrationsverhältnissen.

Im Unterschied zum artifiziellen „olfaktorischen Weiß“<sup>[57]</sup> decken die für die komplexe Duftgestalt eines authentischen Lebensmittels notwendigen Einzelkomponenten nicht die gesamte Bandbreite chemischer Geruchsstimuli ab, was an der niedrigen Ausnutzung des Reizraums (odorant space coverage, OSC) von maximal 16 % über alle Lebensmittelgruppen hinweg klar zum Ausdruck kommt (Abbildung 1, unterer Bildteil). Trotz der niedrigen OSC-Werte gibt es in Abhängigkeit vom betrachteten Lebensmittel signifikante Unterschiede in der Komplexität der jeweiligen Aromacodes; so setzten sich die Aromen verschiedener alkoholischer Getränke aus z.B. 18 (Bier) bis max. 36 KFOs (Cognac) zusammen, was lediglich 8–16 % aller 226 Schlüsselgeruchsstoffe entspricht. Hingegen ist nur 1 % des KFO-Instrumentariums notwendig, um das typische Aroma von Sauerrahmbutter zu generieren; dieses setzt sich lediglich aus den drei Komponenten Butan-2,3-dion (buttrig),  $\delta$ -Decalacton (kokosnussartig) und Buttersäure (schweißig) zusammen.<sup>[55]</sup>

Der wahrgenommene Geruch von Lebensmitteln und Getränken ist jedoch nicht ausschließlich durch die strukturelle Identität, sondern auch durch die großen Unterschiede in der sensorischen Aktivität der einzelnen KFOs kodiert, die durch das Verhältnis aus Konzentration und Geruchsschwel-

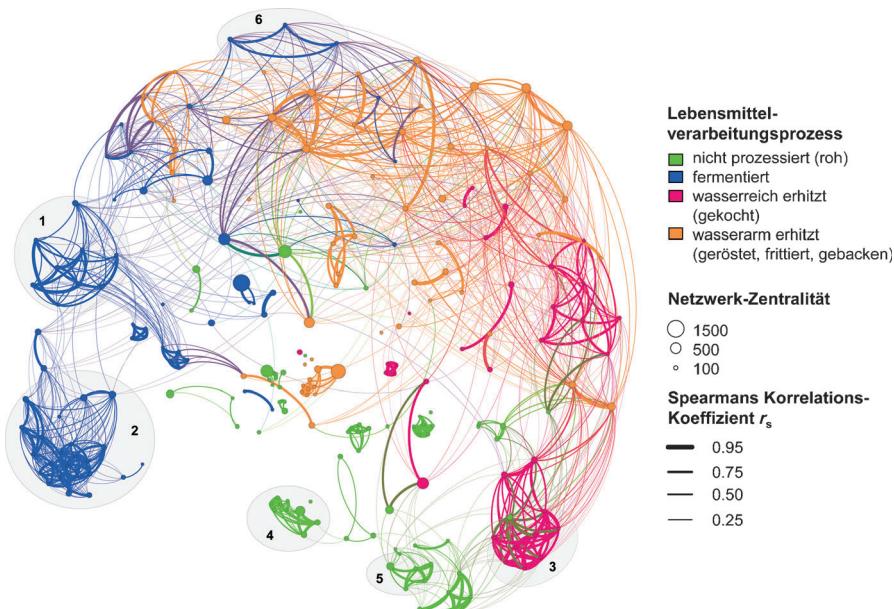
lenwert der einzelnen Komponenten bestimmt wird. So deckt z.B. ein Aromarekombinat, das 28 KFOs jeweils in deren natürlichen Konzentrationen enthielt und im Aromaprofil mit dem eines Dornfelder Rotweins übereinstimmte, einen Konzentrationsbereich von  $0.9 \mu\text{g L}^{-1}$  für das nach gekochten Äpfeln riechende (*E*)-1-(2,6,6-Trimethylcyclohex-1-en-1-yl)but-2-en-1-on ((*E*)-β-Damascenon) über  $79.040 \mu\text{g L}^{-1}$  für das blumig riechende 2-Phenylethanol bis zu  $641.900 \mu\text{g L}^{-1}$  für die Essigsäure ab.<sup>[41]</sup> Unter Berücksichtigung ihrer Geruchsschwellenwerte von 0.01, 18 und  $5.600 \mu\text{g L}^{-1}$  (Tabelle 1) ergeben sich für (*E*)-β-Damascenon, 2-Phenylethanol bzw. Essigsäure hieraus sehr unterschiedliche Aromawerte (OAVs) von 90, 4391 bzw. 115. Dies macht deutlich, dass die KFOs in authentischen Lebensmitteln zum Teil große Unterschiede in ihrem individuellen Geruchs- und Aromabeitrag zeigen und keinesfalls identische Geruchsintensitäten aufweisen.

## 7. Kombinatorische Aromacodes tragen Informationen über die Herstellungsprozesse von Lebensmitteln

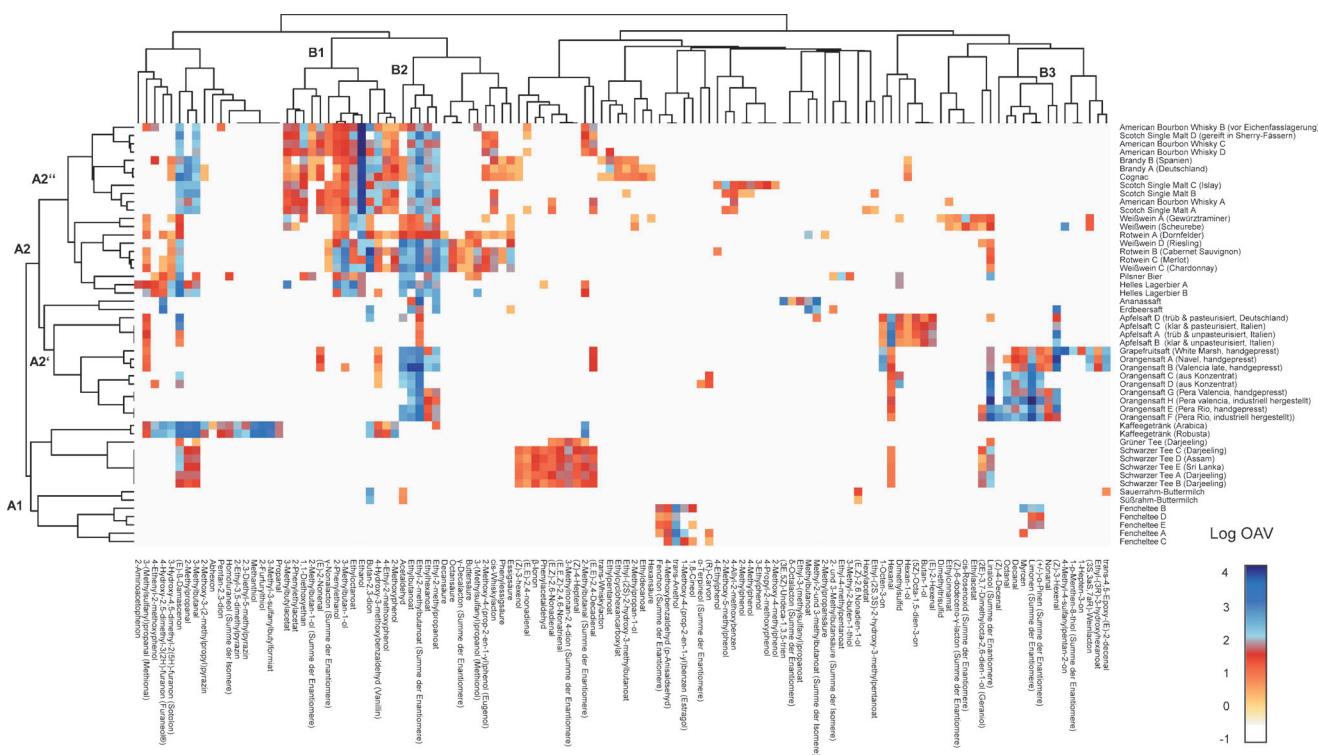
Zur Verdeutlichung des Einflusses der Verarbeitung auf den Aromacode eines Lebensmittels wurde auf Basis der Meta-Analyse ein Netzwerk berechnet; dies ermöglicht quantitative Aussagen über die topologische Bedeutung eines Knotenpunktes (Lebensmittel) im Netzwerk und die Identifizierung von Gemeinschaftsstrukturen innerhalb des Netzwerks durch Analyse der topologischen Zusammenhänge individueller Aromacodes (Abbildung 4). Die farbliche Markierung der den einzelnen Knotenpunkten zugrunde liegenden Verarbeitungsprozesse zeigte eine stark verschachtelte Struktur des Netzwerks mit abgetrennten Clustern für unbehandelte (roh), fermentierte, wässrig erhitze (gekocht) sowie wasserarm/trocken erhitze Lebensmittel (geröstet, frittiert, gebacken). Eng verknüpfte Netzwerkbereiche sind z.B. für fermentierte Lebensmittel wie Käse (Kreis 1; Abbildung 4) und alkoholische Getränke (Kreis 2), für erhitzte Fische (Kreis 3) wie auch für nicht erhitzte Lebensmittel wie Zitrusäfte (Kreis 4) und Apfelsäfte (Kreis 5) zu erkennen. Interessanterweise zeigen einige Lebensmittelproben eine hohe Korrelation zwischen zwei Netzwerkbereichen wegen der kombinierten Anwendung von z.B. Fermentations- und Erhitzungsprozessen (z.B. erhitzter Hefeextrakt, Kreis 6).

Um ein detaillierteres Verständnis der zugrunde liegenden Aromacodes von Getränken zu erhalten, wurden deren KFO-Daten extrahiert, einer hierarchischen Clusteranalyse unterzogen und in einer 123 Schlüsselgeruchsstoffe und 51 Getränkeproben umfassenden Heatmap visualisiert (Abbildung 5). Die Primärliteraturquellen für die jeweiligen Getränke sind in Abbildung S1 der Hintergrundinformationen zusammengestellt. Die Proben von grünem (8 KFOs) und schwarzem Tee (16 KFOs), Fencheltee (9 KFOs), Kaffee (23 KFOs) und Buttermilch (4 KFOs) sind im Cluster A1 gruppiert. Cluster A2 besteht aus dem Subcluster A2' mit Fruchtsäften aus Orangen (22 KFOs), Grapefruit (24 KFOs), Äpfeln (12 KFOs), Ananas (9 KFOs) und Erdbeere (10 KFOs) sowie dem Subcluster A2'' mit alkoholischen Getränken wie Weißwein (22–27 KFOs), Rotwein (24–27 KFOs), Bier (17–20 KFOs), Cognac und Brandies (36 KFOs), Bourbon-Whiskys (24–26 KFOs) und schottischen Single Malt Whiskys (28–30 KFOs).

Alle alkoholischen Getränke zeigten große Ähnlichkeiten in den KFO-Subclustern B1 und B2 mit den zu erwartenden Hefefermentationsprodukten<sup>[79]</sup>. Ethanol (alkoholisch), Butan-2,3-dion (buttrig), 3-Methyl-1-butanol (malzig) und 2-Phenylethanol (blumig) sowie den fruchtig riechenden Estern Ethylbutanoat, Ethyl-2/3-methylbutanoat, Ethyl-2-methylpropanoat, Ethylhexanoat und Ethyloctanoat (Abbildung 5). Zudem trägt auch das nach gekochten Äpfeln riechende



**Abbildung 4.** Quantitative Netzwerkkorrelation des kombinatorischen Aromacodes gruppiert Lebensmittel in Abhängigkeit von der zur Herstellung verwendeten Verarbeitungsprozesse. Durch Berechnung der Netzwerkzentralität wird die topologische Bedeutung eines Knotenpunktes (Lebensmittels) im Netzwerk bestimmt, und Gemeinschaftsstrukturen innerhalb des Netzwerks werden durch Analyse der Korrelation zwischen den einzelnen Geruchsstoffcodes der Lebensmittel visualisiert. Die Größe der Knotenpunkte zeigt an, wie oft ein Knotenpunkt auf dem kürzesten Weg zwischen zwei Knoten im Netzwerk liegt, und ist damit ein Maß für die Bedeutung dieses Lebensmittels im Netzwerk. Die Strichdicke der Verbindungslien entspricht dem Korrelationskoeffizienten zwischen den chemischen Aromacodes der Lebensmittel. Zur Erhöhung der Übersichtlichkeit wurden Korrelationskoeffizienten  $< 0.25$  nicht berücksichtigt. Die hervorgehobenen Lebensmittelgruppen enthalten Käse (Kreis 1), alkoholische Getränke (Kreis 2), gekochten Fisch (Kreis 3), Säfte aus Zitrusfrüchten (Kreis 4), Apfelsäfte (Kreis 5) und erhitzte Hefeprodukte (Kreis 6).



**Abbildung 5.** Hierarchische Clusteranalyse und Heatmap-Visualisierung von Getränken (Reihen-Dendrogramm) und deren Aromacodes (Säulen-Dendrogramm). Eine hochauflöste Version dieser Heatmap ist als Abbildung S2 der Hintergrundinformationen verfügbar.

Norisoprenoid (*E*)- $\beta$ -Damascenon, das aus glycosidischen Vorstufen der pflanzlichen Rohmaterialien (Trauben, Gerste, Mais, Roggen) gebildet wird,<sup>[80]</sup> zum typischen Geruchsprofil aller alkoholischen Getränke bei.

In Ergänzung zu diesen generellen Fermentationsmetaboliten wird das charakteristische Aromaprofil von Branntweinen (Whisky, Brandy, Cognac) durch 1,1-Diethoxyethan (fruchtig), Phenylethylacetat (blumig), Methylbutylacetat (fruchtig), den Phenolen 2-Methoxyphenol (rauchig) und 4-Ethyl-2-methoxyphenol (phenolisch, nelkenartig), Vanillin (vanilleartig), 2-Methyl-1-butanol (malzig), (*E*)-2-Nonenal (pappeartig) und  $\delta$ -Nonalacton (pfirsichartig) geprägt (B1 in Abbildung 5). Anders als bei Bourbon-Whiskys wird die typische rauchig/torfige Geruchsnote von schottischen Single Malt Whiskys durch hohe Aromawerte verschiedener Phenole wie Propyl-2-methoxyphenol (phenolisch), 3- und 4-Ethylphenol (phenolisch), 4- und 5-Methyl-2-methoxyphenol (rauchig), 2- und 4-Methylphenol (rauchig, phenolisch) und 2-Allylmethoxyphenol (nelkenartig) hervorgerufen. Diese phenolischen Geruchsstoffe werden beim Darren des zur Whisky-Herstellung verwendeten Malzes über Torffeuern gebildet.<sup>[81]</sup>

Außer den allgemeinen Fermentationsmetaboliten (Cluster B2) tragen zum Aromaprofil von Bier auch die potenzen Geruchsstoffe 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanon (karamellartig), 4,5-Dimethyl-3-hydroxy-2(5H)-furanon (ahornsirupartig), Methional (nach gekochten Kartoffeln riechend) sowie 2- und 3-Methylbutanal (malzig) bei, die allesamt thermisch im Zuge der Maillard-Reaktion<sup>[62,63]</sup> während des Mälzungsprozesses gebildet werden.

Weitere Schlüsselgeruchsstoffe sind das nelkenartig riechende 4-Ethenyl-2-methoxyphenol, das hauptsächlich während der Fermentation aus Ferulasäure hervorgeht und besonders zum Geruchsprofil von Weißbier beiträgt,<sup>[8,82]</sup> sowie in Pilsner Bieren das blumig riechende Linalool, das aus glycosidischen Vorstufen im Hopfen während der Hefefermentation freigesetzt wird.<sup>[83]</sup>

Der Aromacode von Rot- und Weißweinen wird demgegenüber durch den hohen Geruchsbeitrag zusätzlicher Fermentationsprodukte geprägt, z.B. Essigsäure, Buttersäure, Octansäure, Decansäure,  $\delta$ -Decalacton und Methionol.<sup>[8,84]</sup> Das charakteristische Bouquet einzelner Weißweinsorten wird zusätzlich durch erhöhte Aromawerte distinkter Geruchsstoffe geprägt, z.B. des rosenartig riechenden *cis*-Rosenoxids, das aus der Terpenvorstufe 3,7-Dimethyl-octa-2,5-dien-1,7-diol (Geranylidiol) in Gewürztraminer nach Hefemetabolisierung und Protonen-katalysierter Cyclisierung entsteht,<sup>[85,86]</sup> sowie des nach schwarzen Johannisbeeren riechenden 4-Methyl-4-sulfanyl-2-pentanons, das in der Rebsorte Scheurebe von seinem S-Cysteinkonjugat 4-S-Cysteinyl-4-methyl-2-pentanon durch eine Lyase der Hefe freigesetzt wird.<sup>[85,87]</sup> Der Ausbau alkoholischer Getränke in Eichenholzfässern sowie die Behandlung mit Eichenholzchips bringen weitere charakteristische Geruchsnoten ein. Diese lassen sich auf die hochpotenten Geruchsstoffe (3S,4S)-*cis*-Whisky-lacton (holzig, kokosnussartig)<sup>[88]</sup> und Vanillin zurückführen,<sup>[8,69]</sup> die thermisch beim Ausbrennen der Holzfässer aus 4-O-(6-O-Galloylglucosyl)-3-methyloctansäure<sup>[89]</sup> und Lignin<sup>[69]</sup> gebildet werden.

Zusätzlich zu den in alkoholischen Getränken bedeutsamen Estern Ethylbutanoat, Ethyl-2-methylpropanoat, Ethyl-2/3-methylbutanoat und Ethylhexanoat zeigen die kombinatorischen Aromacodes von Orangen- und Grapefruitsäften (Subcluster A2') große Gemeinsamkeiten im Cluster B3 mit den Terpenen Limonen, Linalool, Myrcen und Pinen sowie den Aldehyden (*Z*)-3-Hexenal, Octanal, Nonanal und Decanal (Abbildung 5).<sup>[90]</sup> Auch Hexanal (grasig, grün) trägt gleichermaßen zum Aroma beider Saftsorten bei, während das nach schwarzen Johannisbeeren riechende 4-Methyl-4-sulfanyl-2-pentanon und das grapefruitartig riechende 1-*p*-Menthens-8-thiol obligat für den charakteristischen Geruch von Grapefruitsaft sind.<sup>[90]</sup>

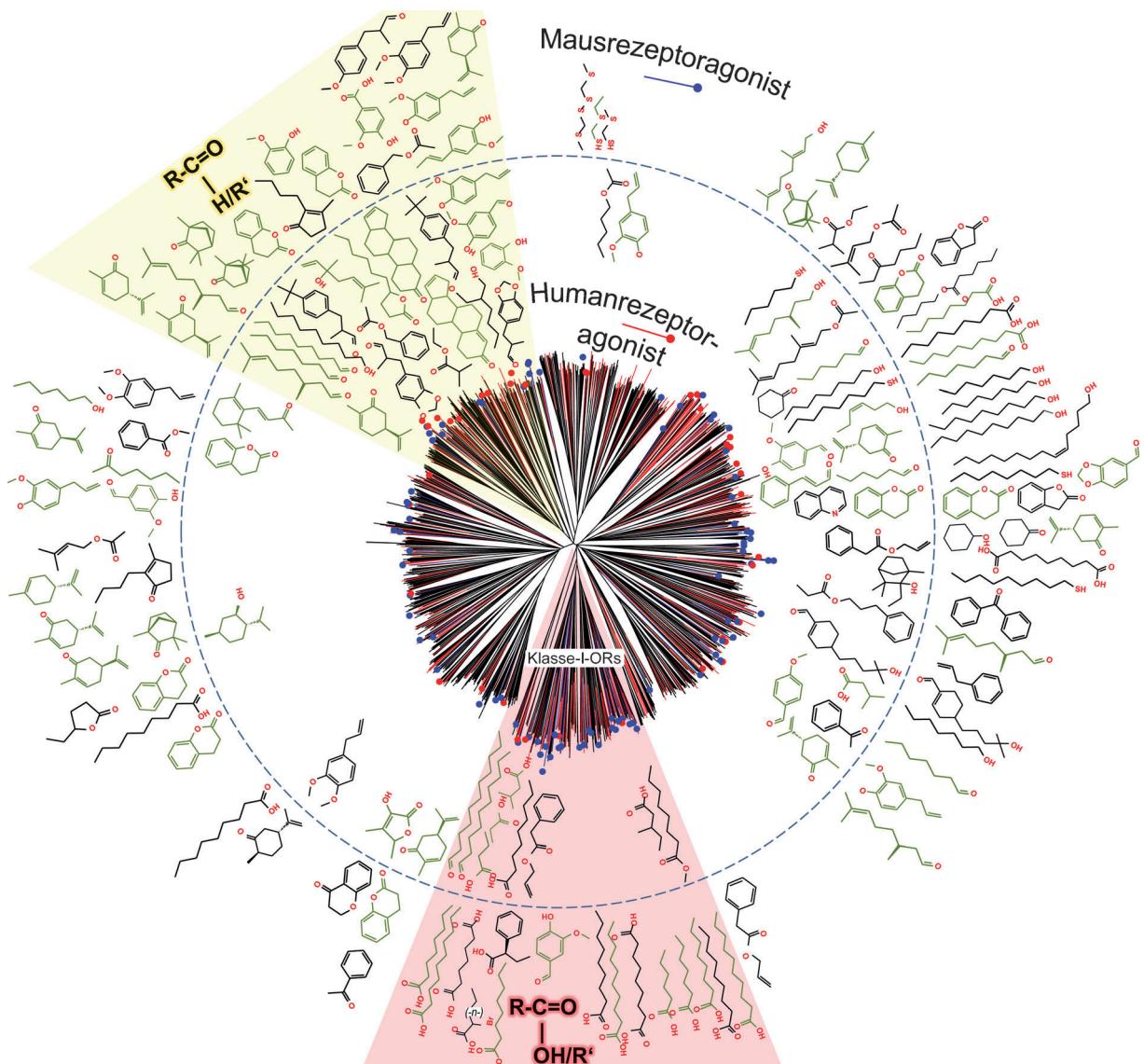
Die grün riechenden Geruchsstoffe Hexanal und (*Z*)-3-Hexenal sowie die fruchtig riechenden Ester 2- und 3-Methylbutanoat sind auch wichtige Komponenten im Aromacode von Apfelsäften und werden durch (*E*)-β-Damascenon, (*E*)-2-Hexenal, 1-Octen-3-on, 1,5-Octadien-3-on, Dimethylsulfid, Methional, 1-Butanol und 1-Hexanol ergänzt.<sup>[91]</sup> Außerdem durch das grün riechende (*Z*)-3-Hexenal und eine Reihe von fruchtig riechenden Estern (Methylbutanoat, Methyl-2/3-methylbutanoat, Ethylbutanoat, Ethyl-2-methylpropanoat, Ethylhexanoat) zeichnen sich die typischen Aromaprofile von Erdbeeren und Ananas auch durch hohe Aromawerte des karamellartig riechenden 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2*H*)-furanons aus,<sup>[34, 92]</sup> während (*E,Z*)-1,3,5-Undecatrien (frisch, ananasartig) und Ethyl-2-methyl-3-sulfanylpropanoat (fruchtig, schweflig) den Aromacode der Ananas von dem der Erdbeere differenzieren.<sup>[92]</sup>

## 8. Chemisch verwandte Geruchsstoffe aktivieren phylogenetisch verwandte Rezeptorproteine

Umgeben von einer Welt chemischer Verbindungen entwickelten die chemischen Sinne von Säugern im Laufe der Evolution die Fähigkeit, effizient Nahrung aufzuspüren und gleichzeitig die Aufnahme potenziell toxischer Substanzen zu vermeiden.<sup>[93]</sup> Im Unterschied zur neural definierten Übersetzung der Aktivierung von Bitter- oder Süßgeschmacksrezeptoren in hedonisch aversive bzw. attraktive Verhaltensweisen, die zum Teil auch kulturell geprägt sein können,<sup>[94]</sup> sind die Mechanismen zu angeborenen Präferenzen für Lebensmittelgerüche sehr viel weniger verstanden, jedoch Gegenstand intensiver Diskussionen.<sup>[95]</sup> Die Fähigkeit zur Unterscheidung von frischer und verdorbener Nahrung sowie das hohe Differenzierungsvermögen unseres multidimensionalen Geruchssystems basieren auf der großen Zahl von etwa 400 genkodierten Geruchsrezeptoren (odorant receptors, ORs), die, ähnlich dem Rhodopsin, zur Klasse der G-Protein-gekoppelten Siebentransmembranhelixrezeptoren zählen.<sup>[96]</sup> Aus Experimenten mit Nagern abgeleitet, jedoch noch nicht beim Menschen belegt wurde hingegen eine olfaktorische Funktion anderer Rezeptor-Multigenfamilien wie der „trace amine-associated“-Rezeptoren (TAAR) für biogene Amine<sup>[97]</sup> oder der „Vomeronasal Typ-I“-Rezeptoren (VN1R),<sup>[98]</sup> die ebenfalls flüchtige Verbindungen in Lebensmitteln erkennen.

Unsere Geruchsrezeptoren sind täglich zehntausenden flüchtigen Chemikalien ausgesetzt, allerdings unterscheidet sich die für eine Geruchsrezeptoraktivierung notwendige Menge um mehrere Größenordnungen und reicht z.B. von 0.00003 µg kg<sup>-1</sup> für 2-Methyl-3-furanthiol bis zu 990 000 µg kg<sup>-1</sup> für Ethanol (Tabelle 1). Interessanterweise ist die Zahl der 226 qualitativ verifizierten, quantitativ bestimmten und sensorisch validierten KFOs, die nach unserem jetzigen Wissensstand unseren nahrungsbezogenen Geruchsstimulusraum repräsentieren, etwa durch die doppelte Zahl (ca. 400) an funktionellen Geruchsrezeptorgenen abgedeckt.<sup>[99]</sup> Dies betont die Rolle der KFOs als potente, oder sogar beste, natürliche Agonisten eines Großteils unseres OR-Repertoires.<sup>[100]</sup> Gegenüber dem Geschmackssinn, der nur wenige Rezeptoren rekrutiert und noch weniger Geschmacksqualitäten umfasst, hat die enorme Flexibilität eines komplexen und in ständiger Dynamik befindlichen Geruchsstoff/Rezeptor-Raums<sup>[97]</sup> den evolutionären Vorteil, eine große Breite an Geruchsobjekte zu erkennen, zur Eröffnung neuer Nahrungsquellen hedonisch-investigatives Verhalten auszulösen sowie kulturellen Prägungen übergreifend Nahrungspräferenzen zu entwickeln.

Bislang konnten nur 42 menschliche Geruchsrezeptoren (ca. 10%) wenigstens einem Geruchsstoff als Agonisten zugeordnet werden.<sup>[100, 116]</sup> Korreliert man alle bislang publizierten, als Rezeptoragonisten identifizierten Geruchsstoffe mit den phylogenetischen Verwandtschaften aller menschlichen ORs, scheinen auf den ersten Blick Geruchsstoffe mit bestimmten physikochemischen Eigenschaften oder funktionalen Gruppen näher verwandte ORs bestimmter phylogenetischer Kladen zu aktivieren (Abbildung 6). Entsprechend der Ähnlichkeit ihrer Aminosäuresequenz können OR-Gene bei Säugern in Klasse I und Klasse II eingeteilt werden.<sup>[101, 102]</sup> Klasse-I-ORs entsprechen der evolutionär älteren Gruppe, die bei Mensch und Maus durch eine einzelnes Gencluster kodiert ist; die Identifizierung dieser ORs bei Fischen<sup>[101]</sup> lässt eher wasserlösliche Geruchsstoffagonisten vermuten.<sup>[102]</sup> Und tatsächlich zeigen sich erhebliche Unterschiede im cLogD, dem Logarithmus des Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten [ $\log(c_{\text{Octanol}}/c_{\text{Wasser}})$ ], beim Vergleich aller publizierten Agonisten für Klasse-I- und Klasse-II-ORs von Mensch und Maus (Tabelle S2 der Hintergrundinformationen). Mehrere Arbeitsgruppen fanden unabhängig voneinander Carbonsäuren und deren Ester als Agonisten für 5 der 55 humanen Klasse-I-ORs (Abbildung 6; Tabellen S2 und S3 der Hintergrundinformationen).<sup>[103–106]</sup> Diese Befunde bekräftigen frühere Berichte zu Mono- und Dicarbonsäuren als Agonisten für 10 der 127 Klasse-I-ORs der Maus (Tabelle S4 der Hintergrundinformationen).<sup>[107]</sup> Innerhalb der Klasse-II-ORs sind 5 der 36 publizierten und desorphanisierten menschlichen Klasse-II-ORs, nämlich OR1A1, OR1A2, OR3A1, OR1D2 und OR1G1, durch Gene auf einem der bestcharakterisierten Genloci auf Chromosom 17@3.1 kodiert.<sup>[108]</sup> Interessanterweise respondieren diese ORs auf strukturell ähnliche Agonisten aus der Gruppe aliphatischer und aromatischer, fruchtig und blumig riechender Aldehyde (Abbildung 6, farblich hinterlegtes Segment oben; Tabelle S3 der Hintergrundinformationen).<sup>[105, 106, 109, 110]</sup> Demgegenüber zeigen einige Subfamilien der Klasse-II-ORs ein eher breites



**Abbildung 6.** Chemische Strukturen der Bioassay-aktiven Geruchsstoffe und phylogenetische Beziehung (radiales phylogenetisches Dendrogramm der humanen (rot) und murinen (schwarz/blau) Rezeptoren) zwischen allen humanen und murinen Geruchsrezeptoren (ORs). Jede Linie repräsentiert einen Rezeptor, die Zweiglänge entspricht dem evolutionären Abstand. Durch Bootstrap-Regression wurde die statistische Verlässlichkeit der vorhandenen Knoten ( $n=500$  Replikate, MEGAS-Software) bestimmt. Die Klade der Klasse-I-ORs ist nach unten ausgerichtet (rot hinterlegter Bereich). Gefüllte Kreise stellen Bioassay-basierte Informationen (Tabellen S3 und S4 der Hintergrundinformationen) zu Geruchsrezeptoren von Mensch (rote Kreise) und Maus (blaue Kreise) dar.<sup>[100–110, 114–116]</sup> Chemische Strukturen der OR-aktivierenden Geruchsstoffe wurden der „Chemical Entities of Biological Interest“ (ChEBI)-Datenbank entnommen und ihren jeweiligen verwandten ORs zugeordnet. Schlüsselgeruchsstoffe sind in Grün hervorgehoben. Die Zahl der desorphanisierten ORs (ausgefüllte Kreise) und der Bioassay-aktiven Geruchsstoffstrukturen stimmt wegen der kombinatorischen Aktivierungsmuster der ORs nicht überein.

Spektrum chemisch unterschiedlicher Agonisten (Abbildung 6).

### 9. Die Entschlüsselung von Geruchsstoff-Rezeptor-Paaren gelingt am häufigsten mit Schlüsselgeruchsstoffen aus Lebensmitteln

Auf den ersten Blick scheinen funktionell identifizierte KFOs und nicht-nahrungsassoziierte Geruchsstoffe (non-KFOs) über den Raum an humanen olfaktorischen Rezeptoren (ORs) gleich häufig repräsentiert zu sein (Abbil-

dung 6). Basierend auf allen bis Februar 2014 publizierten Informationen über KFOs und non-KFOs, die in zellbasierten Bioassays gegen humane ORs und ihre nächstverwandten Maus-ORs getestet wurden, weist unsere Meta-Analyse jedoch auf KFOs als die wahrscheinlicheren Rezeptoragonisten hin.<sup>[100]</sup> Als statistischer Parameter für die Korrelation funktioneller Geruchsstoff-Rezeptor-Paare mit KFOs und non-KFOs wurde die Geruchsstoff-Rezeptor-Trefferhäufigkeit („cognate odorant receptor frequency“, CORF)<sup>[100]</sup> eingeführt [Gl. (1)], mit  $n$  (Treffer) als der Zahl der publizierten, in Bioassays validierten, besten Geruchsstoff-Rezeptor-Paare,  $n$  (getestete Geruchsstoffe) als der Zahl der publizier-

ten, in Bioassays getesteten Geruchsstoffe sowie *n*(aktive Geruchsstoffe) als der Zahl derjenigen Geruchsstoffe, die mindestens einen OR im Bioassay aktivierten.

$$\text{CORF} = \frac{n(\text{Geruchsrezeptor-Treffer})^2}{n(\text{getestete Geruchsstoffe}) n(\text{aktive Geruchsstoffe})} \quad (1)$$

Unter Berücksichtigung aller bis Februar 2014 publizierten Daten zeigen die CORF-Werte für KFOs eine gegenüber non-KFOs 1.8-fach erhöhte Chance, in Testungen funktionelle Geruchsstoff-Rezeptor-Paare zu identifizieren (Tabelle 2). Dieser Unterschied wird noch deutlicher für bestimmte Rezeptorklassen; so ist z.B. bei den ursprünglicheren Klasse-I-ORs der CORF-Wert für KFOs 2.3-mal höher als für non-KFOs (Tabelle 2).

**Tabelle 2:** Aktivierbarkeit von Klasse-I- und Klasse-II-Geruchsrezeptoren (ORs) durch Schlüsselgeruchsstoffe (KFOs) im Vergleich zu anderen Geruchsstoffen (non-KFOs)

	Klasse-I-ORs		Klasse-II-ORs	
	KFOs	non-KFOs	KFOs	non-KFOs
Bioassay-getestete Geruchsstoffe <sup>[a]</sup>	121	171	121	171
Bioassay-aktive Geruchsstoffe <sup>[b]</sup>	10	7	26	32
Treffer <sup>[c]</sup>	23	15	56	64
CORF <sup>[d]</sup>	0.44	0.19	1.00	0.75

[a] Zahl der publizierten, Bioassay-getesteten Geruchsstoffe. [b] Zahl derjenigen Geruchsstoffe, die mindestens einen OR in Bioassays aktivierten. [c] Zahl der publizierten, Bioassay-validierten, besten Geruchsstoff-Rezeptor-Paare. [d] „Cognate odorant receptor frequency“<sup>[100]</sup> als Maß für die Chance der Identifizierung von funktionellen Geruchsstoff-Rezeptor-Paaren. Zahlen wurden aus der Literatur entnommen (Tabellen S3 und S4 der Hintergrundinformationen).<sup>[100,114,116a,b]</sup>

Erst kürzlich berichteten Mainland et al. über umfangreiche Testexperimente an einer vollständigen, menschlichen OR-Bibliothek, einschließlich zahlreicher Rezeptorgenvarianten, gegen eine Sammlung von 60 einzelnen Geruchsstoffen, von denen nur 26 KFOs darstellten (Tabelle S5 der Hintergrundinformationen).<sup>[116c]</sup> Mit 18 funktionellen Geruchsstoff-Rezeptor-Paaren für 16 Bioassay-aktive KFOs (CORF: 0.78) gegenüber 8 funktionellen Geruchsstoff-Rezeptor-Paaren für 8 Bioassay-aktive non-KFOs (CORF: 0.24), bestätigt durch Konzentrations-Wirkungs-Experimente, zeigten die CORF-Werte für KFOs wiederum eine mehr als dreifach erhöhte Chance, in Testungen funktionelle Geruchsstoff-Rezeptor-Paare zu erhalten. Aus dieser Analyse lässt sich schlussfolgern, dass über alle menschlichen ORs hinweg funktionelle KFO-OR-Paare dreimal häufiger sind als non-KFO-OR-Paare, trotz der Tatsache, dass KFOs in allen bislang in der Literatur publizierten Bioassay-basierten Testexperimenten 1.4-fach unterrepräsentiert waren.<sup>[100,116c]</sup>

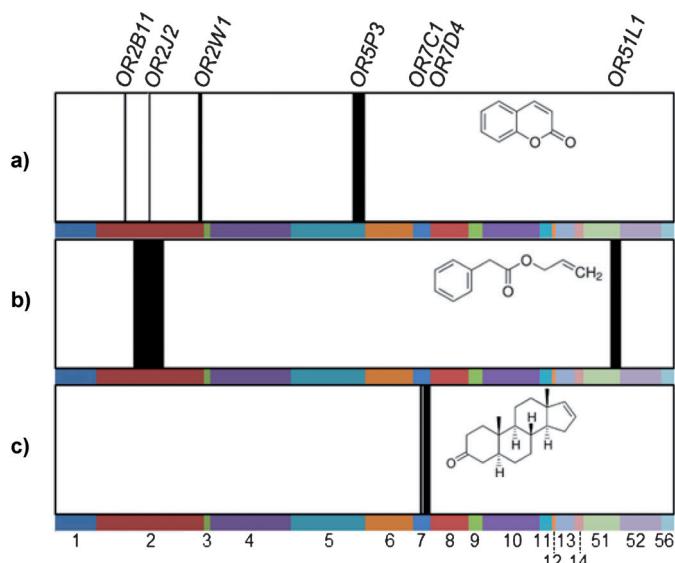
Es verdichten sich die Hinweise, dass für einige wenige flüchtige Verbindungen innerhalb homologer Serien oder Reihen an Stereoisomeren deren Wirkung als Schlüsselgeruchsstoff strikt mit der niedrigsten Geruchsschwelle korreliert ist. Als Beispiel seien die acht möglichen Stereoisomere

des Weinlactons genannt, unter denen das nach Kokos riechende 3aS,4aS,7aR-Isomer nicht nur als das einzige natürlich vorkommende Stereoisomer in Weißweinen und Zitrussäften identifiziert wurde, sondern auch eine außerordentlich niedrige humane Geruchsschwelle von  $0.00002 \text{ ng L}^{-1}$  (Luft) aufweist, während die meisten anderen Stereoisomere dieser Verbindung deutlich höhere Geruchsschwellen von zum Teil über  $1000 \text{ ng L}^{-1}$  zeigen.<sup>[73,74]</sup>

Für eine andere Gruppe wichtiger Lebensmittelgeruchsstoffe, die Pyrazine, ergaben Struktur-Wirkungs-Studien an 70 getesteten Alkylpyrazinen unter Verwendung sensorisch ausgebildeter Probanden die mit Abstand niedrigsten Geruchsschwellen von  $0.007\text{--}0.018 \mu\text{g L}^{-1}$  (Wasser) für die drei erdig oder backkartoffelartig riechenden Substanzen 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin, 2-Ethenyl-3,5-dimethylpyrazin und 2,3-Diethyl-5-methylpyrazin.<sup>[111]</sup> Und genau diese drei Derivate entsprechen innerhalb dieser Stoffklasse auch den am häufigsten detektierten KFOs in erhitzten Lebensmitteln, z. B. in geröstetem Kaffee,<sup>[56]</sup> Pommes Frites,<sup>[112]</sup> Schokolade,<sup>[113]</sup> Kakao<sup>[42,113]</sup> und Erdnussbutter.<sup>[42]</sup> Die hohe Empfindlichkeit der Erkennung von KFOs durch olfaktorische Rezeptoren könnte sich also durch Anpassung an die niedrigen Konzentrationen dieser Moleküle in der Natur entwickelt haben; dies lässt auf eine Coevolution der OR-Gene und der natürlichen Geruchsstoffagonisten schließen und stützt die Ansicht, dass ein durch KFOs definierter Geruchsraum mit bestem Agonistenpotenzial mit dem funktionellen Repertoire an humangen ORs größtenteils überlappt. Aktuell ist jedoch noch unklar, welchen Anteil die KFOs an unserem gesamten olfaktorischen Stimulusraum haben.

Die zur Geruchsstofferkennung notwendige kombinatorische Rezeptorkodierung basiert darauf, dass ein einzelner Geruchsstoff mehrere ORs aktivieren kann oder ein einzelner OR durch mehrere Geruchsstoffe aktiviert werden kann, wenn auch in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen.<sup>[107]</sup> Durch einzelne Geruchsstoffe ausgelöste Rezeptoraktivitätsmuster können zwar überlappen, sind jedoch größtenteils spezifisch.<sup>[104,106,110,114,116]</sup> Als Beispiel sind die OR-Aktivitätsmuster des süß/grasig riechenden 2H-Chromen-2-ons (Cumarin), des fruchtig riechenden Allylphenylacetats sowie des nach Urin riechenden 5a-Androst-16-en-3-ons in Abbildung 7 als EC<sub>50</sub>-basierte Barcodes dargestellt. Diese zeigen das Vorhandensein einer Rezeptorkomplementierung, z. B. Aktivierung von OR2B11, OR2J2, OR2W1 und OR5P3 durch 2H-Chromen-2-on, wie auch einer Rezeptorcoaktivierung, z. B. von OR2J2 durch 2H-Chromen-2-on und Allylphenylacetat.<sup>[104,106]</sup>

Nahrungsassoziierte Aromen repräsentieren zumeist äußerst komplexe Mischungen flüchtiger Verbindungen, deren Einzelsubstanzen auf Rezeptorebene auf syntopisch-kompetitive oder nichtkompetitive Weise miteinander wechselwirken können.<sup>[115]</sup> Während also Geruchsstoffmischungen nicht einfach als Summe ihrer Einzelbestandteile detektiert werden, können mischungsspezifische und konzentrations-abhängige Rezeptoraktivitätsmuster von validierten, lebensmittelrelevanten Aromare kombinaten mithilfe zellbasierter Bioassays als aromaspezifische Barcodes objektiv ausgelesen werden. Dies lässt ein enormes Potenzial für die Entwicklung neuer bioanalytischer Hilfsmittel zur Qualitätskontrolle von



**Abbildung 7.** Geruchsstoffspezifische Rezeptoraktivitätsmuster. Beispiele von OR-Aktivitätsmustern sind als EC<sub>50</sub>-basierte Barcodes für a) 2H-Chromen-2-on (Cumarin), b) Allylphenylacetat und c) 5α-Androst-16-en-3-on wiedergegeben, wobei die Strichdicken logarithmisch proportional zu ihren Potenzen, als Kehrwerte der jeweiligen EC<sub>50</sub>-Werte, dargestellt sind. OR-Familien sind auf der x-Achse farbcodiert und mit ihren taxonomischen Nummern gezeigt. Informationen zu Rezeptoren, deren Agonisten und EC<sub>50</sub>-Werten sowie Literatur siehe Tabelle S3 der Hintergrundinformationen.

Lebensmitteln sowie zur wissensbasierten Herstellung authentischer Lebensmittelaromen erahnen. Ein umfassender Ansatz zur funktionellen Charakterisierung unseres gesamten OR-Repertoires (Abbildung 6) unter Einsatz aller bekannter KFOs (Abbildung 1) könnte erstmals ein hochaufgelöstes Bild der Rezeptorkodierung physiologisch relevanter, lebensmittelrelevanter Geruchsstoffe und ihrer natürlichen Mischungen liefern.

## 10. Perspektiven für künftige Anwendungen in der chemischen Industrie

Entgegen bisherigen Sichtweisen beruht unsere multidimensionale Geruchswahrnehmung einer nahezu unbegrenzten Vielfalt biologisch relevanter Geruchsobjekte auf einem „kombinatorischen Aromacode“, der aus einer Kerngruppe von bis zu 40 der ca. 230 Schlüsselgeruchsstoffe, jeweils in distinkten Konzentrationsverhältnissen, aus den etwa 10 000 flüchtigen Lebensmittelinhaltstoffen zusammengesetzt ist. Dieses chemische Aromamuster wird durch Interaktion der Schlüsselgeruchsstoffe mit einzelnen Rezeptorproteinen aus dem Repertoire der 400 olfaktorischen Rezeptoren in spezifische Rezeptoraktivierungsmuster („Rezeptorbarcode“) übersetzt.

In beeindruckender Weise sind Minimalrekombinate aus 3 bis zu etwa 40 Schlüsselgeruchsstoffen, jeweils in deren natürlichen Konzentrationen, völlig hinreichend, um die authentische Geruchswahrnehmung der meisten, wenn nicht aller Lebensmittel hervorzurufen, und das obwohl die Geruchsqualität der Lebensmittel durch keine der Einzelkom-

ponenten repräsentiert wird.<sup>[34,41,55,56]</sup> Dementsprechend sind die kortikalen Muster der durch Geruchsstoffmischungen hervorgerufenen neuralen Aktivität einzigartig und nicht durch die Kombination der Aktivierungsmuster der verschiedenen Einzelkomponenten zusammengesetzt.<sup>[117,118]</sup> Ein Schlüsselmechanismus bei der Internalisierung des externen chemischen Geruchsstoffmusters und der neuronalen Dekodierung des wahrgenommenen Abbilds von verhaltensrelevanten Geruchsobjekten ist die Synthese olfaktorischer Einzelinformationen in eine neue Wahrnehmungsform oder eine „Duftgestalt“ und nicht etwa die analytische Kombination der Komponenten.<sup>[45,57,118,119]</sup> Angesichts der kombinatorischen Natur des chemischen Aromacodes und der Vielzahl an unterschiedlichen Geruchsrezeptoren (ca. 400) scheint die Zahl der wahrnehmbaren Geruchsqualitäten nahezu unbegrenzt zu sein.<sup>[18]</sup> Dies wird besonders im Vergleich zu unserer trichromatischen Farbwahrnehmung deutlich, die uns die Wahrnehmung von Millionen verschiedener Farbnuancen mit nur drei verschiedenen Photorezeptor-Zapfenarten ermöglicht – den rotempfindlichen L-Zapfen, den grünempfindlichen M-Zapfen und den blauempfindlichen S-Zapfen.<sup>[120]</sup> Ungleich den zum „olfaktorischen Weiß“<sup>[57]</sup> führenden unnatürlichen Bedingungen setzt sich die komplexe Duftgestalt authentischer Lebensmittel keinesfalls aus iso-intensiven Einzelkomponenten zusammen, wie die große Spannweite der OAVs (1–2730 000) in den Aromacodes von Lebensmitteln deutlich macht. Zudem decken die zur Duftgestalt führenden KFOs nicht annähernd den gesamten chemischen Raum natürlicher Geruchsstimuli ab; dies macht das starke Clustering von KFOs bei der Geruchsraumdarstellung einzelner Lebensmittel unter Verwendung der 226 Schlüsselaromastoffe deutlich (Abbildung S1 der Hintergrundinformationen).

Diese neuen molekularen Kenntnisse zur chemosensorischen Geruchswahrnehmung an der Schnittstelle von Chemie und Biologie eröffnen ungeahnte Möglichkeiten für biotechnologische Anwendungen. So kann z.B. die Kenntnis der Aromacodes von Nutzpflanzen und Früchten auf molekularer Ebene bei der wissensbasierten Weiterentwicklung moderner Züchtungsstrategien hilfreich sein, die in der Vergangenheit zumeist unter Vernachlässigung sensorischer Qualitätsparameter (z.B. Aroma, Geschmack) auf die Steigerung der Flächenleistung, des Ertrags sowie der Lagerfähigkeit ausgerichtet wurden.<sup>[121]</sup> Ein integrierter Systemansatz, der Sensormik- und Proteomikdaten sowie Gensequenzierungs- und Genexpressionsdaten kombiniert, kann bisher weitgehend ungeklärte, kausale Zusammenhänge zwischen spezifischen molekularen Strukturen und Qualitätsparametern entzünden helfen und neue Anwendungsgebiete für eine effizientere und gezieltere Optimierung der Qualität von Nutzpflanzen und Früchten eröffnen.<sup>[121,122]</sup> Die analytische Erfassung der Schlüsselgeruchsstoffe würde eine objektive Bewertung einer Vielzahl von Sprösslingen erleichtern, den Züchtungsparametern Geruchsqualität frühzeitiger in den Selektionsprozess rücken und somit die Chancen zur Entwicklung sensorisch überlegener, neuer Sorten für verschiedene Nutzpflanzen deutlich erhöhen.<sup>[123]</sup> Ebenso lässt die Berücksichtigung der Verbraucherwünsche nach authentischen Aromen mit Geruchsstoffen biologischen Ursprungs durch

Ausrichten der biokatalytischen Geruchstoffproduktion auf die ca. 230 natürlichen KFOs, welche die Duftgestalt eines authentischen Lebensmittels ursächlich prägen, ein enormes wirtschaftliches Potenzial erwarten.

Obwohl der Weltmarkt für Aromen und Duftstoffe, inklusive Geruchsstoffmischungen, ätherische Öle und Aromafeinchemikalien, heute bei einem Volumen von etwa 22.2 Milliarden Dollar liegt und ein jährliches Wachstum um 4.4 % auf 26.5 Milliarden Dollar im Jahr 2016 erwartet wird, stammen aktuell weniger als 10 % der Produkte aus biologischen Prozessen.<sup>[124]</sup> So sollten Beispiele wie das Ethyl-(*E,Z*)-2,4-decadienoat, ein Geruchsstoff der Williams Christ Birne und daraus hergestellter Produkte, das heute schon günstiger enzymkatalysiert als durch klassische chemische Synthese hergestellt werden kann, künftige Versuche zur biokatalysierten Herstellung von KFOs als primäre chemosensorisch aktive Zielmoleküle unserer Natur anspornen.<sup>[10]</sup>

Auch wenn bereits fast 400 Enzyme einschließlich hydrolytischer Enzyme (z.B. Lipasen, Glycosidasen, Proteasen), Transferasen (z.B. Cyclodextrin-Glucotransferase), Oxidoreduktasen (z.B. Alkoholdehydrogenase, Lipoxygenase, Peroxidasen, Laccasen) und Lyasen (z.B. D-Fructose-1,6-bisphosphat-Aldolase, Sesquiterpensynthase) kommerziell für enantioselektive organische Synthesen wie auch für die biotechnologische Produktion von Geruchsstoffen verwendet werden, wird das Potenzial der ca. 25000 in der Natur vorkommenden Enzyme für neuartige katalytische Reaktionen in industriellen Anwendungen nicht ansatzweise genutzt.<sup>[125]</sup> Dazu kommt, dass die Einführung neuer Gene in Mikroorganismen und Pflanzen heute bereits Routine geworden ist. So lange jedoch die Regulationsmechanismen biosynthetischer Stoffwechselwege nicht vollkommen verstanden sind, werden gesteigerte Ausbeuten an Zielmolekülen nur zufällig durch Metabolic Engineering erreichbar sein.<sup>[126]</sup> Unverzichtbar sind die detaillierte biochemische Analyse rekombinanter Proteine sowie Studien an transgenen Linien, in denen Gene gezielt hoch- oder herabreguliert worden sind. Fortschritte in der Erforschung der Geruchsstoff-kodierenden Gene und der Gentechnik lassen für die Zukunft die Identifizierung von metabolischen Engstellen erwarten, werden bei der Entwicklung neuer, ertragsstärkerer Pflanzen und mikrobiologischer Stämme hilfreich sein<sup>[8, 10, 126]</sup> und durch Komplementierung mit Bioengineering-Entwicklungen wie verbesserten Substratdosagen, optimierten Reaktionsmedien und In-situ-Produktgewinnung neue wirtschaftlich interessante Produktionsansätze möglich machen.<sup>[8, 10, 127]</sup> Damit wird die Grundlage für die nächste Generation einer Bioaromenproduktion geschaffen, die das Potenzial von Überproduzenten sowie metabolisch optimierten Biosynthesewegen zur industriellen Herstellung hochwertiger Lebensmittelgeruchsstoffe nutzt.<sup>[10, 126, 128]</sup>

Sobald die biotechnologisch produzierte Palette mit allen Schlüsselgeruchsstoffen unserer Natur ausgestattet ist, wird die quantitative Aromarekonstitution den Unternehmen des Lebensmittel-, Futtermittel-, Kosmetik- und pharmazeutischen Sektors die Entwicklung biomimetischer Rekombinate möglich machen, die den authentischen Geruchseindruck von Lebensmitteln, Umweltgerüchen usw. hervorrufen. Denkbar wären z.B. Fertiggerichte und Snackprodukte, die den zeit-

aufgelösten hedonischen Eindruck eines „Geruchsfilms“ wie den der Ernte eines Erdbeerfelds wiedergeben, Kinderarzneimittel mit attraktiven Aromen oder Lüfterfrischer, die die Illusion eines Spaziergangs durch einen Englischen Garten oder einen Kiefernwald erwecken – allesamt hergestellt aus dem gleichen Grundstock an biologisch produzierten Schlüsselgeruchsstoffen der Natur. Zwar ist die bereits 1932 in *Brave New World*<sup>[129]</sup> beschriebene „Geruchsorgel“ bislang ein literarisches Konstrukt geblieben, jedoch können die biomimetische Rekonstitution und Feinabstimmung natürlicher Aromen durch neue Software-gestützte Technologien wie Givaudans „Virtuellen Aroma-Synthesizer“<sup>[130]</sup> mit zunehmender Präzision realisiert werden.

Abgesehen von ihrem wirtschaftlichen Nutzen könnten solche Aromarekombinate auch als hochstandardisierte, molekulare Sonden in der künftigen Geruchsforschung Einsatz finden. Während unser Riechsystem in der Regel ausschließlich mit komplexen chemischen Stoffgemischen unserer Umwelt in Kontakt tritt, basieren die meisten wissenschaftlichen Studien in der Geruchsforschung zur Sicherstellung einer präzisen Reizkontrolle auf der olfaktorischen Simulation mit Einzelsubstanzen vor einem geruchsfreien Hintergrund.<sup>[131]</sup> Die auf der Grundlage solcher Einzelstoffstudien gewonnenen Erkenntnisse sind allerdings bei der Aufklärung der neuralen Mechanismen, die die Erkennung komplexer „Duftgestalten“ vor dem chemisch verrauschten Hintergrund unserer Umwelt ermöglichen, wenig zielführend.<sup>[131]</sup>

Die biotechnologische Rekonstruktion von biologisch relevanten, chemosensorisch aktiven Stoffmischungen wird auch eine neue Qualität immersiver, interaktiver virtueller Umgebungen ermöglichen.<sup>[132]</sup> Als Reaktion auf spezifische Spielzüge oder Situationen („olfactory feedback“) kann die Erzeugung authentischer Dufterlebnisse durch Aromageneratoren im Bereich „Serious Gaming“ die virtuelle Erfahrung zur Verstärkung von Lernprozessen<sup>[133]</sup> sowie das Konzentrationsniveau erhöhen,<sup>[134]</sup> die Verinnerlichung von Informationen verbessern<sup>[135]</sup> und unabhängiges Denken fördern.<sup>[136]</sup> Denkbar wären auch mobile Kommunikationssysteme wie Smartphones und Tablets, die auf Wunsch verschiedene Düfte abgeben und damit eine neue Ära olfaktorisch verstärkter mobiler Nachrichtendienste eröffnen oder durch sensorische Illusionen das Lesen von eBooks zu einem bislang unerreichten Erlebnis machen. Erste computergesteuerte Technologien zur kontrollierten Generierung von „Duftgestalten“ sind bereits kommerziell erhältlich. Ohne die präzise Reproduktion natürlicher Geruchssignaturen werden diese Systeme die Erzeugung authentischer Geruchswelten jedoch kaum ermöglichen.<sup>[137]</sup> Die detailgenaue, biotechnologische Rekonstruktion des chemischen Codes von Lebensmittelaromen, Körper- und Umweltgerüchen wird die programmierbare, computergestützte Realisierung authentischer Geruchsillusionen einen entscheidenden Schritt voranbringen.<sup>[137]</sup> Auch für medizinische Anwendungsbereiche könnten diese Aromarekombinate als wertvolle Hilfsmittel Einsatz finden,<sup>[138]</sup> z.B. um definierte hedonische Erfahrungen als Teil der Rehabilitation von Patienten mit olfaktorischer Hyperästhesie zu ermöglichen. Die Auslösung der Geruchsreize könnte beispielsweise durch den Arzt in Echtzeit als Reak-

tion auf den Verlauf der Unterhaltung mit Patienten erfolgen; andere Anwendungsgebiete liegen in der Therapie von Patienten mit akuten oder chronischen Krebserkrankungen sowie immundefizienten Personen, die wegen ihrer beeinträchtigten chemosensorischen Fähigkeiten und hedonischen Erfahrungen häufig an einer deutlich verringerten Nahrungsaufnahme leiden.

Zudem könnten biotechnologisch hergestellte, authentische Aromarekombinate als vielversprechende Hilfsmittel zur sensorisch induzierten Appetitregulation in der Ernährungsforschung dienen.<sup>[139]</sup> Die orthonasale Geruchswahrnehmung von Lebensmitteln, eine der komplexen Einflussgrößen auf Appetit und Sättigungsregulation, wird als ein Hauptfaktor für eine kurzzeitig übersteigerte Nahrungsaufnahme diskutiert, während die zunehmende Verfügbarkeit energiereicher Lebensmittel als eine Ursache der globalen Zunahme von Adipositas vermutet wird.<sup>[140]</sup> Da die retronaiale Geruchsstimulation einem andauernden Verzehrprozess entgegenwirkt und die Beendigung der Nahrungsaufnahme induziert,<sup>[141]</sup> könnte die sensorisch induzierte Unterdrückung des Heißhunbers nach bestimmten Lebensmitteln durch hochstandardisierte Aromarekombinate („Hedonizer“) mit den sehr authentischen Geruchsprofilen hochkalorischer Lebensmittel (z.B. sahnig/cremig, fettig/frittiert, schokoladenartig, würzig) neue Wege zum frühzeitigen Entgegenwirken von aufkommendem hedonischem Verlangen eröffnen.

Trotz des post-genomischen Fortschritts des letzten Jahrzehnts und der Neuentwicklung von zellbasierten GPCR-Assay-Technologien ist immer noch ungeklärt, wie die chemisch diversen KFOs mit ihren jeweiligen Chemorezeptoren interagieren, um zelluläre und letztlich systemische Reaktionen auszulösen.<sup>[142]</sup> Gegenüber der Anwendung zellbasierter Hochdurchsatz-Screeningtechniken für die Entdeckung neuer Geschmacksmodulatoren (Süß-, Salz- und Umamiverstärker, Bitterblocker)<sup>[143]</sup> ist die Entschlüsselung von Geruchsstoff/Geruchsrezeptor-Mustern durch robuste Screeningassays technisch anspruchsvoller und noch immer in einer früheren Entwicklungsphase, ist aber auch ein deutlich mühsameres Unterfangen.<sup>[142]</sup> Außer durch die bloße Zahl der 400 Geruchsrezeptoren wird die Komplexität auch durch das häufige Vorkommen natürlicher Mutationen durch Einzel-nukleotid-Polymorphismen (single nucleotide polymorphisms, SNPs) sowie Variationen in der Kopienzahl deutlich erhöht, was einerseits zu bis zu ca. 600 Allelvarianten an Geruchsrezeptoren in einem Individuum führt und andererseits die Funktion von etwa 66% unseres Geruchsrezeptor-Repertoires stark beeinträchtigt.<sup>[99,116]</sup> Tatsächlich wurde bereits für vier Geruchsrezeptoren nachgewiesen, dass die genetische Variation durch SNPs mit spezifischen Hyperosmien für Isovaleriansäure oder Anosmien für 2-Heptanon, Androstenon und β-Ionon korreliert.<sup>[144]</sup> Darüber hinaus können sytopisch-kompetitive wie auch nichtkompetitive Interaktionen zwischen Geruchsstoffen in Mischungen auf Rezeptorebene die Wahrnehmung komplexer Duftobjekte durch pharmakologische Prinzipien wie Agonismus, Antagonismus oder allosterische Modulation beeinflussen.<sup>[145]</sup> Die Erfassung von Bindungskinetiken flüchtiger, lipophiler Geruchsstoffe an ihren spezifischen Geruchsrezeptoren befindet sich noch immer in einem frühen Stadium.<sup>[146]</sup> Unsere Kenntnisse über

die humanen Rezeptorcodes für einzelne natürliche Geruchsstoffe sind heute rudimentär (Tabellen S2 und S3 der Hintergrundinformationen),<sup>[100,116]</sup> und Kenntnisse über Rezeptorcodes für biologisch relevante, chemosensorisch aktive Stoffmischungen sind nicht vorhanden.

Biomimetische Rekombinate aus Schlüsselgeruchsstoffen würden das Screening des gesamten Repertoires an menschlichen Geruchsrezeptoren durch ex-vivo-zellbasierte Assays ermöglichen und erstmals die intensitäts- und artspezifischen Rezeptoraktivierungsmuster („Rezeptorbarcode“) für chemosensorische Reize der Natur liefern. Nach Kalibration mit KFO-Mischungen würden solche Technologieplattformen auch die Option eröffnen, nach neuen Verbindungen mit ähnlichen Rezeptoraktivierungsmustern zu suchen oder Fingerabdrücke von Lebensmittelaromen, Körper- oder Umgebungsgerüchen zu erstellen. Zunehmend verdichten sich Literaturbefunde, denen zufolge die olfaktorische Kommunikation auch eine wichtige Rolle bei der Mutter-Kind-Erkennung spielt und distinkte, olfaktorische Reizmuster der Achsellöhle sowie der Brustwarzenregion entscheidend für die Erkennung der eigenen Mutter durch Neugeborene sind oder auch diesen den Weg zu ihrer Nahrung aufzeigen.<sup>[147]</sup> Außerdem enthält Muttermilch charakteristische olfaktorische Komponenten, die den Neugeborenen bei der Orientierung zu Muttermilchquellen helfen.<sup>[148]</sup> Säuglinge sind in der Lage, den Geruch der Milch ihrer Mutter vom dem anderer Mütter zu differenzieren.<sup>[149]</sup> Dennoch bevorzugen Säuglinge den Geruch der Brustmilch anderer Mütter gegenüber dem künstlicher Säuglingsnahrung,<sup>[150]</sup> was wiederum signifikant unterschiedliche Aromacodes von Säuglingsnahrung und Muttermilch anzeigt. Die Identifizierung und quantitative Bestimmung der Schlüsselgeruchsstoffe in kleinvolumigen Muttermilchproben<sup>[151]</sup> ermöglicht die Entwicklung verbesserter Säuglingserstnahrung mit der Geruchsstoffkomposition der Brustmilch der Mutter, wodurch eine verbesserte Akzeptanz nutritiver Erzeugnisse bei Babys und Neugeborenen erreicht werden könnte.<sup>[152]</sup> In der nahen Zukunft wäre mit den oben beschriebenen rezeptorbasierten Techniken das Hochdurchsatzscreening der Geruchssignaturen von Brustmilchproben verschiedener Spenderinnen möglich. Darauf basierend könnten personalisierte biomimetische Rekombinate entwickelt werden, die bei Säuglingen die Akzeptanz hypoallergener Säuglingsnahrung sowie von Stillunterstützungssystemen erhöhen und, nach Anwendung des Geruchsrekombinates, zu einer verringerten Zurückweisung von Vätern oder Pflegekräften führen; auch der Tagesablauf arbeitender Mütter würde somit besser handhabbar werden.<sup>[152]</sup> Zudem könnten diese Aromarekombinate bei der Entwicklung von Techniken Einsatz finden, die Babys bei Unbehagen oder Schmerzen leichter beruhigen lassen. Erste wissenschaftliche Arbeiten haben gezeigt, dass der Geruch der Muttermilch schmerzabhängige Verhaltensweisen (Schreien, Grimassen schneiden, motorische Aktivität) von Neugeborenen während der routinemäßigen Blutabnahme an der Ferse im Vergleich zu Kontrollexperimenten mit dem Geruch künstlicher Säuglingsnahrung deutlich verringert.<sup>[153]</sup>

Die Aufklärung des humanen Rezeptorcodes für einzelne, biologisch relevante Schlüsselgeruchsstoffe und besonders für biologisch relevante und chemosensorisch aktive Stoffmi-

schungen wird ein Meilenstein bei der Entwicklung hochspezifischer, biomimetischer elektronischer Nasen sein, die sich in ihrer Diskriminierungsmethodik grundlegend von konventionellen elektronischen Nasen auf Basis von metall-oxidischen Halbleiterdetektoren oder polymerbeschichteten Oberflächenwellen-Sensoranordnungen<sup>[154]</sup> unterscheiden. Nach Kalibration mit biomimetischen Geruchsstoffrekombinaten ermöglichen diese Systeme die Detektion und Diskriminierung der komplexen Signaturen natürlicher Gerüche in Echtzeit mit höchster Empfindlichkeit und Selektivität. Möglich wird dies in idealer Weise durch ein Biosensorarray aus den 400 humanen Geruchsrezeptortypen – aufgebracht auf passgenauen Nanosensorelementen, die die biologische Geruchsstoff-Rezeptor-Interaktion in ein elektrisches Signal übersetzen und dieses verstärken.<sup>[99, 155, 156]</sup> Die in diesen komplexen Geruchsstoffmischungen enthaltenen chemischen Informationen werden anschließend in multivariate „Duftbilder“ umgewandelt, die die Bindungsaffinitäten der Schlüsselgeruchsstoffe sowie ihre antagonistischen, additiven und synergistischen Wechselwirkungen auf Ebene der individuellen Proteine des Geruchsrezeptorreertoires repräsentieren. Derartige nichtinvasive Techniken sind vielversprechend für Anwendungen in verschiedenen Bereichen wie der Lebensmittel- und Getränkeindustrie, der Umweltüberwachung, der Biomedizin sowie zur Entwicklung neuer diagnostischer Instrumente für die Krankheitsdiagnose (Urin, Blut, Speichel, Atemluft, Körpergerüche) sowie zur Detektion bakterieller Infektionen.<sup>[155]</sup>

Während die Kluft zwischen den Erwartungen an die wirtschaftliche Nutzbarmachung chemosensorischer Prinzipien und den wissenschaftlichen Erkenntnissen in der Vergangenheit meist groß war, ist nun durch die interdisziplinäre Zusammenarbeit von Chemikern, Biologen, Psychophysikern, experimentellen Psychologen und (Bio)ingenieuren eine neue Qualität der Kenntnissen zu erwarten. Dies wird der chemischen Industrie dabei helfen, die Kenntnisse über die biologischen Mechanismen der Geruchswahrnehmung und der natürlichen chemischen Geruchssignaturen in die Produktion biomimetischer Mischungen geruchsaktiver Feinchemikalien und in zahlreiche wirtschaftliche Innovationen umzumünzen.

## 11. Abkürzungsliste

A	abundance, relative Häufigkeit
CORF	cognate odorant receptor frequency, Geruchsstoff-Rezeptor-Trefferhäufigkeit
GPCR	G protein-coupled seven transmembrane helix receptor, G-Protein-gekoppelter Siebtransmembranelixrezeptor
GC-O	GC-olfactometry, GC-Olfaktometrie
KFO	key food odorant, Schlüsselgeruchsstoff
OAV	odor acuity value, Aromawert
OR	odorant receptor, Geruchsrezeptor

Eingegangen am 1. November 2013,  
veränderte Fassung am 2. Februar 2014  
Online veröffentlicht am 18. Juni 2014

- [1] a) J. H. Swiegers, S. M. G. Saerens, I. S. Pretorius in *Biotechnology in Flavor Production* (Hrsg.: D. Havkin-Frenkel, F. Belanger), Blackwell Publishing Ltd., Oxford, **2008**, S. 1–38; b) A. L. Demain in *Industrial Biotechnology: Sustainable Growth and Economic Success* (Hrsg.: W. Soetaert, E. J. Vandamme), Wiley-VCH, Weinheim, **2010**, S. 17–77; c) M. Behrens, W. Meyerhof, C. Hellfritsch, T. Hofmann, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 2268–2291; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 2220–2242.
- [2] a) S. A. Dubal, Y. P. Tilkari, S. A. Momin, I. V. Borkar, *Adv. BioTech.* **2008**, *3*, 20–31; b) *Biotechnology in Flavor Production* (Hrsg.: D. Havkin-Frenkel, F. Belanger), Wiley-Blackwell, Oxford, **2008**; c) Y. Gounaris, *Flavour Fragrance J.* **2010**, *25*, 367–386; d) *Aroma Biotechnology* (Hrsg.: R. G. Berger), Springer, Berlin, **2012**.
- [3] a) P. Kraft, J. A. Bajgrowicz, C. Denis, G. Fráter, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3106–3138; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2980–3010; b) M. Gautschi, J. A. Bajgrowicz, P. Kraft, *Chimia* **2001**, *55*, 379–387; c) P. Kraft in *Chemistry and Technology of Flavours and Fragrances* (Hrsg.: D. J. Rowe), Blackwell Publishing Ltd., Oxford, **2004**, S. 143–168; d) „Challenges in the Synthesis of Natural and Non-Natural Volatiles“: A. A. Birkbeck in *Chemistry and Biology of Volatiles* (Hrsg.: A. Herrmann), Wiley, Chichester, **2010**, S. 173–194; e) *Scent and Chemistry—The Molecular World of Odors* (Hrsg.: G. Ohloff, W. Pickenhagen, P. Kraft), Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, **2011**.
- [4] B. Schäfer, *Chem. Unserer Zeit* **2013**, *47*, 174–182.
- [5] a) S. Akutagawa, *Top. Catal.* **1997**, *4*, 271–274; b) S. Akutagawa, K. Tani in *Catalytic Asymmetric Synthesis* (Hrsg.: I. Ojima), VCH, Berlin, **1993**, S. 41–61; c) R. Noyori in *Les Prix Nobel. The Nobel Prizes 2001* (Hrsg.: T. Frängsmyr), Nobel Foundation, Stockholm, **2002**, S. 186–215.
- [6] a) G. Heydrich et al., USP Applications, 20100249467 & 20100206712, **2010**; b) J. Leffingwell, D. Leffingwell, *Spec. Chem. Mag.* **2011**, *31*, 30–33.
- [7] T. Egawa, A. Kameyama, H. Takeuchi, *J. Mol. Struct.* **2006**, *794*, 92–102.
- [8] J. Schrader in *Flavours and Fragrances - Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (Hrsg.: R. G. Berger), Springer, Berlin, **2007**, S. 507–574.
- [9] a) J. Schrader, M. M. W. Etschmann, D. Sell, J.-M. Hilmer, J. Rabenhorst, *Biotechnol. Lett.* **2004**, *26*, 463–472; b) H. Bouws, A. Wattenberg, H. Zorn, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *80*, 381–388.
- [10] a) R. G. Berger in *Expression of Multidisciplinary Flavour Science: Proceedings of the 12th Weurman Symposium (Interlaken, Switzerland 2008)*, (Hrsg.: B. Imre, M. Wüst, C. Yeretzian), Wädenswil, Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften, **2008**, S. 319–327; b) G. Berger, *Biotechnol. Lett.* **2009**, *31*, 1651–1659.
- [11] N. Mika, H. Zorn, M. Rühl, *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.* **2013**, *136*, 1–17.
- [12] a) A. L. Demain, *Ind. Biotechnol.* **2007**, *3*, 269–283; b) S. Wieschalka, B. Blombach, M. Bott, B. J. Eikmanns, *Microb. Biotechnol.* **2013**, *6*, 87–102.
- [13] a) A. J. Straathof, S. Panke, A. Schmid, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2002**, *13*, 548–556; b) M. Gavrilescu, Y. Chisti, *Biotechnol. Adv.* **2005**, *23*, 471–499; c) J. Schrader, M. Schilling, D. Holtmann, D. Sell, M. V. Filho, A. Marx, J. A. Vorholt, *Trends Biotechnol.* **2009**, *27*, 107–115; d) R. Wohlgemuth, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2010**, *21*, 713–724; e) G.-W. Zheng, J.-H. Xu, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2011**, *22*, 784–792.
- [14] B. M. Nestl, B. A. Nebel, B. Hauer, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2011**, *15*, 187–193.
- [15] a) D. Liu, P. Trodler, S. Eiben, K. Koschorreck, M. Mueller, J. Pleiss, S. C. Maurer, C. Branneby, R. D. Schmid, B. Hauer,

- ChemBioChem* **2010**, *11*, 789–795; b) C. K. Savile, J. M. Janey, E. C. Mundorff, J. C. Moore, S. Tam, W. R. Jarvis, J. C. Colbeck, A. Krebber, F. J. Fleitz, J. Brands, P. N. Devine, G. W. Huisman, G. J. Hughes, *Science* **2010**, *329*, 305–309; c) J. B. Siegel, A. Zanghellini, H. M. Lovick, G. Kiss, A. R. Lambert, J. L. St. Clair, J. L. Gallaher, D. Hilvert, M. H. Gelb, B. L. Stoddard, K. N. Houk, F. E. Michael, D. Baker, *Science* **2010**, *329*, 309–313.
- [16] a) *Multi-Step Enzyme Catalysis—Biotransformations and Chemoenzymatic Synthesis* (Hrsg.: E. Garcia-Junceda), Wiley-VCH, Weinheim, **2008**; b) W. Szymanski, C. P. Postema, C. Tarabiono, F. Berthiol, L. Campbell-Verduyn, S. de Wildeman, J. G. de Vries, B. L. Feringa, D. B. Janssen, *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 2111–2115; c) C. Gruber, S. Krahulec, B. Nidetzky, R. Kratzer, *Biotechnol. J.* **2013**, *8*, 699–708.
- [17] a) K. Muffler, R. Ulber, *Adv. Biochem. Eng./Biotechnol.* **2005**, *97*, 63–103; b) *Downstream Industrial Biotechnology: Recovery and Purification* (Hrsg.: M. C. Flickinger), Wiley-VCH, Weinheim, **2013**; c) A. Jungbauer, *Trends Biotechnol.* **2013**, *31*, 479–492.
- [18] a) H. Hatt, *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*, 1857–1869; b) A. Triller, E. A. Boulden, A. Churchill, H. Hatt, J. Englund, M. Spehr, C. S. Sell, *Chem. Biodiversity* **2008**, *5*, 862–886; c) S. DeMaria, J. Ngai, *J. Cell. Biol.* **2010**, *191*, 443–452.
- [19] M. Schmuker, M. de Bruyne, M. Hähnel, G. Schneider, *Chem. Cent. J.* **2007**, *1*, 11–22.
- [20] a) S. Toelstede, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 5299–5307; b) J. C. Hufnagel, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 9190–9199; c) D. Intelmann, G. Hasleu, A. Dunkel, A. Lagemann, A. Stephan, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 1939–1953; d) J. Kiefl, G. Pollner, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 5226–5235; e) H. Hillmann, J. Mattes, B. Brockhoff, A. Dunkel, W. Meyerhof, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 9974–9990.
- [21] Siehe Lit. [20d].
- [22] „Chemical Biology of Olfaction“: C. S. Sell, *Wiley Encyclopedia of Chemical Biology*, Wiley, Hoboken, **2008**, S. 1–10.
- [23] S. Weurman, G. van Lunteren in *Aroma- and Flavour-Producing Substances in Foods* (Hrsg.: J. Solms, S. Neukom), Forster, Zürich, **1967**, S. 21–34.
- [24] VCF Volatile Compounds in FOOD, database version 14.1 (Hrsg.: L. M. Nijssen, C. A. Ingen-Visscher, J. J. H. van Donders), TNO Triskelion, Zeist, **2013**.
- [25] F. Rijkens, M. H. Boelens in *Aroma Research* (Hrsg.: H. Maarse, P. J. Groenen), Centre of Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, **1975**, S. 203–222.
- [26] R. A. Flath, R. R. Forrey, D. G. Guadagni, *J. Agric. Food Chem.* **1973**, *21*, 948–952.
- [27] P. Dürr, U. Schobinger in *Flavour '81* (Hrsg.: P. Schreier), Walter de Gruyter, Berlin, **1981**, S. 179–193.
- [28] W. Grosch, *Chem. Senses* **2001**, *26*, 533–545.
- [29] M. Rothe, B. Thomas, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1975**, *119*, 302–310.
- [30] a) P. Schieberle in *Characterization of Food—Emerging Methods* (Hrsg.: A. G. Goankar), Elsevier, Amsterdam, **1995**, S. 403–433; b) W. Grosch in *Flavours and Fragrances - Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (Hrsg.: R. G. Berger), Springer, Berlin, **2007**, S. 363–378.
- [31] a) D. Schneider, *Z. Vgl. Physiol.* **1957**, *40*, 8–41; b) J. E. Moorhouse, R. Yeadon, P. S. Beevor, B. F. Nesbitt, *Nature* **1969**, *223*, 1174–1175.
- [32] a) G. H. Fuller, R. Steltenkamp, G. A. Tisserand, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1964**, *116*, 711–724; b) siehe Lit. [31b]; c) T. E. Acree, *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 170A–175A.
- [33] W. Grosch, *Trends Food Sci. Technol.* **1993**, *4*, 68–73.
- [34] P. Schieberle, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 227–232.
- [35] T. E. Acree, J. Barnard, D. G. Cunningham, *Food Chem.* **1984**, *14*, 273–286.
- [36] T. E. Acree in *Flavor Science. Sensible Principles and Techniques* (Hrsg.: T. E. Acree, R. Teranishi), American Chemical Society, Washington DC, **1993**, S. 1–20.
- [37] C. Milo, W. Grosch in *Flavor and Lipid Chemistry of Seafoods* (Hrsg.: F. Shahidi, K. R. Cadwallader), American Chemical Society, Washington DC, **1997**, S. 110–119.
- [38] a) J. E. R. Frijters, *Chem. Senses* **1978**, *3*, 227–233; b) R. G. Butterly in *Flavor Science. Sensible Principles and Techniques* (Hrsg.: T. E. Acree, R. Teranishi), American Chemical Society, Washington DC, **1993**, S. 259–286; c) W. Grosch, *Flavour Fragrance J.* **1994**, *9*, 147–158.
- [39] P. Schieberle, W. Grosch, *J. Agric. Food Chem.* **1987**, *35*, 252–257.
- [40] H. Guth, W. Grosch, *Lebensm.-Wiss. Technol.* **1990**, *23*, 513–522.
- [41] S. Frank, N. Wollmann, P. Schieberle, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 8866–8874.
- [42] M. Fang, K. R. Cadwallader, *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 3580–3588.
- [43] a) D. G. Laing, M. E. Willcox, *Chem. Senses* **1983**, *7*, 249–264; b) D. G. Laing, *Chem. Senses* **1988**, *13*, 463–471.
- [44] D. G. Laing, *Food. Qual. Pref.* **1994**, *5*, 75–80.
- [45] J. A. Gottfried, *Nat. Rev. Neurosci.* **2010**, *11*, 628–641.
- [46] D. G. Laing in *Encyclopedia of human biology*, Vol. 6, 1. Aufl. (Hrsg.: R. Dulbecco), Academic Press, New York, **1991**, S. 759–767.
- [47] A. Jinks, D. G. Laing, *Physiol. Behav.* **2001**, *72*, 51–63.
- [48] E. Le Berre, A. Ishii, N. Beno, C. Chabanet, P. Etievant, T. Thomas-Danguin, *Chem. Senses* **2008**, *33*, 389–395.
- [49] a) G. Coureau, Y. Hamadani, B. Schaal, T. Thomas-Danguin, *J. Exp. Biol.* **2009**, *212*, 2525–2531; b) G. Coureau, D. Gibaud, E. Le Berre, B. Schaal, T. Thomas-Danguin, *Chem. Senses* **2011**, *36*, 693–700.
- [50] R. Triqui, N. Bouchriti, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7540–7546.
- [51] C. Masanetz, H. Guth, W. Grosch, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1998**, *206*, 108–113.
- [52] a) C. D. Derby, M. Hutson, B. A. Livermore, W. H. Lynn, *Physiol. Behav.* **1996**, *60*, 87–95; b) S. Barkat, E. Le Berre, G. Coureau, G. Sicard, T. Thomas-Danguin, *Chem. Senses* **2012**, *37*, 159–166.
- [53] a) K. J. Grossmann, A. K. Mallik, J. Ross, L. M. Kay, N. P. Issa, *Eur. J. Neurosci.* **2008**, *27*, 2676–2685; b) J. D. Howard, J. Plailly, M. Grueschow, J. D. Haynes, J. A. Gottfried, *Nat. Neurosci.* **2009**, *12*, 932–939; c) N. Deisig, M. Giurfa, J. C. Sandoz, *J. Neurophysiol.* **2010**, *103*, 2183–2194.
- [54] D. G. Laing, G. W. Francis, *Physiol. Behav.* **1989**, *46*, 809–814.
- [55] P. Schieberle, K. Gassenmeier, H. Guth, A. Sen, W. Grosch, *Lebensm.-Wiss. Technol.* **1993**, *26*, 347–356.
- [56] M. Czerny, F. Mayer, W. Grosch, *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 695–699.
- [57] Z. Weiss, K. Snitz, A. Yablonka, R. M. Kahn, D. Gafson, E. Schneidman, N. Sobel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 19959–19964.
- [58] a) Q. Zhou, C. L. Wintersteen, K. R. Cadwallader, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 2016–2021; b) O. Gürbüz, J. M. Rouseff, R. L. Rouseff, *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *56*, 3990–3996; c) V. Ferreira, F. San Juan, A. Escudero, L. Culleré, P. Fernández-Zurbano, M. P. Saenz-Navajas, J. Cacho, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 7490–7498; d) M. Miyazawa, S. Hashidume, T. Takahashi, T. Kikuchi, *Phytochem. Anal.* **2012**, *23*, 208–213.
- [59] R. J. Molyneux, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 4625–4629.
- [60] I. Blank, A. Sen, W. Grosch, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1992**, *195*, 239–245.

- [61] A. Buettner, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 1358–1363.
- [62] a) D. S. Mottram in *Flavours and Fragrances—Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (Hrsg.: R. G. Berger), Springer, Berlin, **2007**, S. 269–283; b) J. Kerler, C. Winkel, T. Davidek, I. Blank in *Food Flavour Technology*, 2. Aufl. (Hrsg.: A. J. Taylor, R. S. T. Linforth), Wiley-Blackwell, Oxford, **2010**, S. 51–88.
- [63] a) T. Hofmann, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 2270–2277; T. Hofmann, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 2721–2726; b) P. Schieberle, T. Hofmann in *The Maillard reaction in foods and medicine* (Hrsg.: J. O'Brien, H. Nursten, J. C. Crabbe, J. M. Ames), Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1998**, S. 209–215; c) I. Blank, S. Devaud, W. Matthey-Doret, F. Robert, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3643–3650.
- [64] *Food Chemistry*, 4. revidierte und erweiterte Auflage (Hrsg.: H.-D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle), Springer, Berlin, **2009**.
- [65] a) J. Hugenholtz, M. Kleerebezem, M. Starrenburg, J. Delcour, W. De Vos, P. Hols, *Appl. Environ. Microbiol.* **2000**, *66*, 4112–4114; b) „Heteroatomic Aroma Compounds“: P. Schieberle, T. Hofmann, *ACS Symp. Ser.* **2002**, *826*, 207–226.
- [66] T. Hofmann, P. Schieberle in *Flavour Science—Recent Developments* (Hrsg.: A. J. Taylor, D. S. Mottram), Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1996**, S. 175–181.
- [67] W. Schwab, *Molecules* **2013**, *18*, 6936–6951.
- [68] F. Welsh, W. D. Murray, R. E. Williams, *Crit. Rev. Biotechnol.* **1989**, *9*, 105–169.
- [69] a) H. Peleg, M. Naim, U. Zehavi, R. L. Rouseff, S. Nagy, *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 764–767; b) J. I. Campbell, M. Sykes, M. A. Sefton, A. P. Pollnitz, *Aust. J. Grape Wine Res.* **2005**, *11*, 348–354; c) M. Brebu, G. Cazacu, O. Chirila, *Cellul. Chem. Technol.* **2011**, *45*, 43–50.
- [70] M. Steinhaus, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1776–1783.
- [71] K. Eisgruber, Dissertation, Technische Universität München, **2011**.
- [72] M. Granvogl, Dissertation, Technische Universität München, **2009**.
- [73] H. Guth, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 1559–1571.
- [74] A. Buettner, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2387–2394.
- [75] H. Guth, *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 3027–3032.
- [76] P. Winterhalter, M. Messerer, B. Bonnländer, *Vitis* **1997**, *36*, 55–56.
- [77] J. Giacco, D. L. Capone, A. E. Håkansson, H. E. Smyth, G. M. Elsey, M. A. Sefton, D. K. Taylor, *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 660–664.
- [78] F. Luan, A. Degenhardt, A. Mosandl, M. Wüst, *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 10245–10252.
- [79] a) L. A. Hazelwood, J.-M. Daran, A. J. A. van Maris, J. T. Pronk, J. R. Dickinson, *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74*, 2259–2266; b) K. Krogerus, B. R. Gibson, *J. Inst. Brew.* **2013**, *119*, 86–97.
- [80] a) K. B. Shure, T. E. Acree, *Plant Cell Rep.* **1994**, *13*, 477–480; b) B. Fickert, P. Schieberle, *Nahrung* **1998**, *42*, 371–375; c) C. J. Puglisi, G. M. Elsey, R. H. Prager, G. K. Skouroumounis, M. A. Sefton, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6937–6939; d) F. Chevance, C. Guyot-Declerck, J. Dupont, S. Collin, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3818–3821; e) M. Biendl, H. Kollmannsberger, S. Nitz, *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv.* **2003**, 252–257; f) M. A. Daniel, C. J. Puglisi, D. L. Capone, G. M. Elsey, M. A. Sefton, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 9183–9189; g) „Carotenoid Cleavage Products“: P. Winterhalter, R. Göök, *ACS Symp. Ser.* **2013**, *1134*, 125–137.
- [81] a) K.-Y. M. Lee, A. Paterson, J. R. Piggott, G. D. Richardson, *J. Inst. Brew.* **2001**, *107*, 287–313; b) B. Harrison, F. Priest, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 2385–2391.
- [82] a) S. van Beek, F. G. Pries, *Appl. Environ. Microbiol.* **2000**, *66*, 5322–5328; b) S. Coghe, K. Benoot, F. Delvaux, B. Vanderhaegen, F. R. Delvaux, *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 602–608; c) X. Mo, Y. Xu, *J. Inst. Brew.* **2010**, *116*, 304–311.
- [83] a) H. T. Fritsch, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 7544–7551; b) L. Daenen, D. Saison, L. De Cooman, G. Derdelinckx, H. Verachtert, F. R. Delvaux, *Cerevisia* **2007**, *32*, 24–36; c) S. Hanke, M. Herrmann, J. Rückerl, C. Schönberger, W. Back, *Brew. Sci.* **2008**, *52*, 140–147.
- [84] a) M. G. Lambrechts, I. S. Pretorius, *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **2000**, *21*, 97–129; b) U. Fischer in *Flavours and Fragrances—Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (Hrsg.: R. G. Berger), Springer, Berlin, **2007**, S. 241–264; c) F. M. Carrau, K. Medina, L. Farina, E. Boido, P. A. Henschke, E. Dellacassa, *FEMS Yeast Res.* **2008**, *8*, 1196–1207.
- [85] a) Siehe Lit. [75]; b) „Chemistry of Wine Flavor“: H. Guth, *ACS Symp. Ser.* **1998**, *714*, 39–52; c) R. R. Villamor, C. F. Ross, *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2013**, *4*, 1–20.
- [86] S. Koslitz, L. Renaud, M. Kohler, M. Wüst, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 1371–1375.
- [87] a) T. Tominaga, C. Peyrot des Gachons, D. Dubourdieu, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 5215–5219; b) „Heteroatomic Aroma Compounds“: I. Blank, *ACS Symp. Ser.* **2002**, *826*, 25–53; c) H. Wakabayashi, M. Wakabayashi, K. Engel in *Flavour Research at the Dawn of the Twenty-First Century* (Hrsg.: P. Etievant, J. L. Le Quere), Lavoisier/Intercept Ltd., London, **2003**, S. 350–355.
- [88] a) L. Poisson, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 5820–5826; b) A. Prida, P. Chatonnet, *Am. J. Enol. Vitic.* **2010**, *61*, 408–413; c) „Progress in Authentication of Food and Wine“: S. Frank, P. Schieberle, *ACS Symp. Ser.* **2011**, *1081*, 165–173.
- [89] a) T. Tanaka, I. Kouno, *J. Nat. Prod.* **1997**, *59*, 997–999; b) A. Prida, A. Ducouso, R. J. Petit, G. Nepveu, J.-P. Puech, *Ann. For. Sci.* **2007**, *64*, 313–320; c) K. L. Wilkinson, A. Prida, Y. Hayasaka, *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 4411–4416.
- [90] a) J. Lin, R. L. Rouseff, S. Barros, M. Naim, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 813–819; b) siehe Lit. [61].
- [91] M. Steinhaus, S. Baer, P. Schieberle in *Expression of Multidisciplinary Flavour Science* (Hrsg.: I. Blank, M. Wüst, C. Yeretzian), Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Winterthur, **2010**, S. 76–79.
- [92] Y. Tokitomo, M. Steinhaus, A. Büttner, P. Schieberle, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2005**, *69*, 1323–1330.
- [93] a) C. Bargmann, *Nature* **2006**, *444*, 295–301; b) Y. Niimura, *Hum. Genomics* **2009**, *4*, 107–118; c) D. R. Reed, A. Knaapila, *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **2010**, *94*, 213–240; d) W. Meyerhof, C. Bertram, C. Kuhn, A. Brockhoff, E. Chudobal, B. Buße, G. Appendino, M. Behrens, *Chem. Senses* **2010**, *35*, 157–170.
- [94] a) D. A. Yarmolinsky, C. S. Zuker, N. J. P. Ryba, *Cell* **2009**, *139*, 234–244; b) S. A. Gravina, G. L. Yep, M. Khan, *Ann. Saudi Med.* **2013**, *33*, 217–222.
- [95] a) P. Joussain, A. Chakirian, F. Kermen, C. Rouby, M. Bensafi, *Commun. Integr. Biol.* **2011**, *4*, 563–565; b) R. M. Khan, C. H. Luk, A. Flinker, A. Aggarwal, H. Lapid, R. Haddad, N. Sobel, *J. Neurosci.* **2007**, *27*, 10015–10023; c) N. Mandairon, J. Poncet, M. Bensafi, A. Didier, *PLoS One* **2009**, *4*, e4209.
- [96] a) L. Buck, R. Axel, *Cell* **1991**, *65*, 175–187; b) N. S. Levy, H. A. Bakalyar, R. R. Reed, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **1991**, *39*, 633–637; c) C. Bushdid, M. O. Magnasco, L. B. Vosshall, A. Keller, *Science* **2014**, *343*, 1370–1372.
- [97] a) A. Babusyte, D. Krautwurst, *Cell Biol. Res. Ther.* **2013**, *2*, 1–3; b) A. Dewan, R. Pacifico, R. Zhan, D. Rinberg, T. Bozza, *Nature* **2013**, *497*, 486–489; c) S. D. Liberles, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2009**, *1170*, 168–172; d) S. D. Liberles, L. B. Buck, *Nature* **2006**, *442*, 645–650.

- [98] a) C. Dulac, R. Axel, *Cell* **1995**, *83*, 195–206; b) I. Rodriguez, C. A. Greer, M. Y. Mok, P. Mombaerts, *Nat. Genet.* **2000**, *26*, 18–19; c) E. Shirokova, J. D. Raguse, W. Meyerhof, D. Krautwurst, *FASEB J.* **2008**, *22*, 1416–1425.
- [99] T. Olender, S. M. Waszak, M. Viavant, M. Khen, E. Ben-Asher, A. Reyes, N. Nativ, C. J. Wysocki, D. Ge, D. Lancet, *BMC Genomics* **2012**, *13*, 414–429.
- [100] D. Krautwurst, M. Kotthoff, *Methods Mol. Biol.* **2013**, *1003*, 85–97.
- [101] a) Y. Niimura, M. Nei, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 6039–6044; b) Y. Niimura, *Curr. Genomics* **2012**, *13*, 103–114.
- [102] M. Nei, Y. Niimura, M. Nozawa, *Nat. Rev. Genet.* **2008**, *9*, 951–963.
- [103] a) G. Sanz, C. Schlegel, J. C. Pernollet, L. Briand, *Chem. Senses* **2005**, *30*, 69–80; b) Y. Fujita, T. Takahashi, A. Suzuki, K. Kawashima, F. Nara, R. Koishi, *J. Recept. Signal Transduction Res.* **2007**, *27*, 323–334.
- [104] H. Saito, Q. Chi, H. Zhuang, H. Matsunami, J. D. Mainland, *Sci. Signaling* **2009**, *2*, ra9.
- [105] Y. R. Li, H. Matsunami, *Sci. Signaling* **2011**, *4*, ra1.
- [106] K. A. Adipietro, J. D. Mainland, H. Matsunami, *PLoS One* **2012**, *8*, e1002821.
- [107] B. Malnic, J. Hirono, T. Sato, L. B. Buck, *Cell* **1999**, *96*, 713–723.
- [108] a) G. Glusman, I. Yanai, I. Rubin, D. Lancet, *Genome Res.* **2001**, *11*, 685–702; b) M. Lapidot, Y. Pilpel, Y. Gilad, A. Falcovitz, D. Sharon, T. Haaf, D. Lancet, *Genomics* **2001**, *71*, 296–306.
- [109] a) M. Spehr, G. Gisselmann, A. Poplawski, J. A. Riffell, C. H. Wetzel, R. K. Zimmer, H. Hatt, *Science* **2003**, *299*, 2054–2058; b) siehe Lit. [103a]; c) V. Jacquier, H. Pick, H. Vogel, *J. Neurochem.* **2006**, *97*, 537–544.
- [110] K. Schmiedeberg, E. Shirokova, H.-P. Weber, *J. Struct. Biol.* **2007**, *159*, 400–412.
- [111] R. Wagner, M. Czerny, J. Bielohradsky, W. Grosch, *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. A* **1999**, *208*, 308–316.
- [112] R. Wagner, W. Grosch, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1998**, *75*, 1385–1392.
- [113] P. Schnermann, P. Schieberle, *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 867–872.
- [114] K. Kajiyama, K. Inaki, M. Tanaka, T. Haga, H. Kataoka, K. Touhara, *J. Neurosci.* **2001**, *21*, 6018–6025.
- [115] a) D. Munch, B. Schmeichel, A. F. Silbering, C. G. Galizia, *Chem. Senses* **2013**, *38*, 293–304; b) J. P. Rospars, P. Lansky, M. Chaput, P. Duchamp-Viret, *J. Neurosci.* **2008**, *28*, 2659–2666.
- [116] a) X. Duan, E. Block, Z. Li, T. Connelly, J. Zhang, Z. Huang, X. Su, Y. Pan, L. Wu, Q. Chi, S. Thomas, S. Zhang, M. Ma, H. Matsunami, G. Q. Chen, H. Zhuang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 3492–3497; b) J. F. McRae, J. D. Mainland, S. R. Jaeger, *Chem. Senses* **2012**, *37*, 585–593; c) J. D. Mainland, A. Keller, Y. R. Li, T. Zhou, C. Trimmer, L. L. Snyder, A. H. Moberly, K. A. Adipietro, W. L. Liu, H. Zhuang, S. Zhan, S. S. Lee, A. Lin, H. Matsunami, *Nat. Neurosci.* **2014**, *17*, 114–120.
- [117] a) J. A. Boyle, J. Djordjevic, M. J. Ollson, J. N. Lundström, M. Jones-Gotman, *Cereb. Cortex* **2009**, *19*, 66–71; b) D. A. Wilson, *J. Neurosci.* **2007**, *27*, 9105–9114; c) D. D. Stettler, R. Axel, *Neuron* **2009**, *63*, 854–864; d) I. Yoshida, K. Mori, *J. Neurosci.* **2007**, *27*, 9105–9114.
- [118] M. Kadohisa, D. A. Wilson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 15206–15211.
- [119] a) R. J. Stevenson, D. A. Wilson, *Perception* **2007**, *36*, 1821–1833; b) siehe Lit. [45]; c) D. C. Barnes, R. D. Hofacker, A. R. Zaman, L. R. Rennaker, D. A. Wilson, *Nat. Neurosci.* **2008**, *11*, 1378–1380; d) G. Laurent, *Nat. Rev. Neurosci.* **2002**, *3*, 884–895.
- [120] S. G. Solomon, P. Lennie, *Nat. Rev.* **2007**, *8*, 276–286.
- [121] T. P. Michael, R. Alba, *Nat. Biotechnol.* **2012**, *30*, 765–767.
- [122] J. J. Giovannoni, *Nat. Biotechnol.* **2006**, *24*, 418–419.
- [123] a) Y. Wang, S. Kays, *J. Am. Hort. Sci.* **2003**, *128*, 711–720; b) D. Tieman, P. Bliss, L. M. McIntyre, A. Blandon-Ubeda, D. Bies, A. Z. Odabasi, G. R. Rodriguez, E. van der Knaap, M. G. Taylor, C. Goulet, M. H. Mageroy, D. J. Snyder, T. Colquhoun, H. Moskowitz, D. G. Clark, C. Sims, L. Bartoshuk, H. J. Klee, *Curr. Biol.* **2012**, *22*, 1035–1039; c) H. Katayama, M. Ohe, E. Sugawara, *Breed Sci.* **2013**, *63*, 86–95.
- [124] *World Flavors & Fragrances*, The Freedonia Group, Ohio, USA, **2012**.
- [125] M. Menzel, P. Schreier in *Flavours and Fragrances—Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (Hrsg.: R. G. Berger), Springer, Berlin, **2007**, S. 489–505.
- [126] W. Schwab in *Flavours and Fragrances - Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (Hrsg.: R. G. Berger), Springer, Berlin, **2007**, S. 615–628.
- [127] C. Larroche, J.-B. Gros, P. Fontanille in *Flavours and Fragrances—Chemistry, Bioprocessing and Sustainability* (Hrsg.: R. G. Berger), Springer, Berlin, **2007**, S. 575–597.
- [128] a) V. J. J. Martin, D. J. Pitera, S. T. Withers, J. D. Newman, J. D. Keasling, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 796–802; b) H. J. Bouwmeester, *Nat. Biotechnol.* **2006**, *24*, 1359–1361.
- [129] *Brave New World*, First Perennial Classics ed. (Hrsg.: A. Huxley), HarperCollins Publishers, New York, **1998**.
- [130] a) E. Costello, L. McGinty in *Proceedings of Workshop on Intelligence and Interaction*, IJCAI, Pasadena, CA, **2009**; b) S. Leclercq, G. Blancher, *Chem. Senses* **2012**, *37*, 689–700.
- [131] a) R. Hudson, *J. Comp. Physiol.* **1999**, *185*, 297–304; b) siehe Lit. [119a].
- [132] A. Gallace, M. K. Ngo, J. Sulaitis, C. Spence in *Multiple Sensorial Media Advances and Applications: New Developments in MulSeMedia* (Hrsg.: G. Ghinea, F. Andres, S. Gulliver), Information Science Reference, Hershey, **2012**, S. 1–38.
- [133] J. Nakase, K. Moriyama, K. Kivokawa, M. Numao, M. Oyama, S. Kurihara in *VR '12 Proceedings of the 2012 IEEE Virtual Reality*, IEEE Computer Society Washington, DC, USA, **2012**, S. 1–4.
- [134] M. Miyaura, T. Narumi, N. Nishimura, T. Tanikawa, M. Hirose in *VR '11 Proceedings of the 2011 IEEE Virtual Reality*, IEEE Computer Society Washington, DC, USA, **2011**, S. 139–142.
- [135] A. Tijou, E. Richard, P. Richard in *Technologies for E-Learning and Digital Entertainment* (Hrsg.: Z. Pan, R. Aylett, H. Diener, X. Jin, S. Göbel, L. Li), Springer, Berlin, **2006**, S. 1223–1233.
- [136] a) H. Matsukura, T. Nihei, A. Ohno, H. Ishida, *Trans. Virtual Reality Soc. Jpn.* **2010**, *15*, 563–570; b) H. Matsukura, T. Yoneda, H. Ishida, *IEEE Trans. Visualization and Computer Graphics* **2013**, *19*, 606–615.
- [137] J. N. Kaye, Masterarbeit, MIT Media Lab, **2001**.
- [138] *Virtual Reality in Medicine* (Hrsg.: R. Riener, M. Harders), Springer, London, **2012**.
- [139] a) E. T. Massolt, P. M. van Haard, J. F. Rehfeld, E. F. Posthuma, E. van der Veer, D. H. Schweitzer, *Regul. Pept.* **2010**, *161*, 81–86; b) R. J. Stevenson, *Chem. Senses* **2010**, *35*, 3–20.
- [140] a) N. Stroebele, J. M. De Castro, *Nutrition* **2004**, *20*, 821–838; b) R. J. Stubbs, S. Whybrow, *Physiol. Behav.* **2004**, *81*, 755–764; c) T. A. Wadden, K. D. Brownell, G. D. Foster, *J. Consult. Clin. Physiol.* **2002**, *70*, 510–525.
- [141] a) Z. Vickers, E. Holton, *J. Sens. Stud.* **1998**, *13*, 199–212; b) H. M. Snoek, L. Huntjens, L. J. van Gemert, C. de Graaf, H. Weenen, *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *80*, 823–831; c) L. Brondel, M. Romer, V. Van Wymelbeke, P. Walla, T. Jiang, L. Deecke, D. Rigaud, *Int. J. Obes.* **2007**, *31*, 987–995; d) R. C. Havermans, N. Geschwind, S. Filla, C. Nederkoorn, A. Jansen, *Physiol. Behav.* **2009**, *97*, 327–333.
- [142] a) O. Civelli, R. K. Reinscheid, Y. Zhang, Z. Wang, R. Fredriksson, H. B. Schioth, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2013**, *53*,

- 127–146; b) N. Weill, *Curr. Top. Med. Chem.* **2011**, *11*, 1944–1955; c) D. Krautwurst, *Chem. Biodiversity* **2008**, *5*, 842–852.
- [143] C. Sheridan, *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 1203–1205.
- [144] a) I. Gaillard, S. Rouquier, A. Chavanieu, P. Mollard, D. Giorgi, *Hum. Mol. Genet.* **2004**, *13*, 771–780; b) S. R. Jaeger, J. F. McRae, C. M. Bava, M. K. Beresford, D. Hunter, Y. Jia, S. L. Chheang, D. Jin, M. Peng, J. C. Gamble, K. R. Atkinson, L. G. Axten, A. G. Paisley, L. Tooman, B. Pineau, S. A. Rouse, R. D. Newcomb, *Curr. Biol.* **2013**, *23*, 1601–1605; c) A. Keller, H. Zhuang, Q. Chi, L. B. Vosshall, H. Matsunami, *Nature* **2007**, *449*, 468–472; d) J. F. McRae, S. R. Jaeger, C. M. Bava, M. K. Beresford, D. Hunter, Y. Jia, S. L. Chheang, D. Jin, M. Peng, J. C. Gamble, K. R. Atkinson, L. G. Axten, A. G. Paisley, L. Williams, L. Tooman, B. Pineau, S. A. Rouse, R. D. Newcomb, *Curr. Biol.* **2013**, *23*, 1596–1600; e) I. Menashe, T. Abaffy, Y. Hasin, S. Goshen, V. Yahalom, C. W. Luetje, D. Lancet, *PLoS Biol.* **2007**, *5*, 2462–2468.
- [145] a) Siehe Lit. [115a]; b) Y. Oka, M. Omura, H. Kataoka, K. Touhara, *EMBO J.* **2004**, *23*, 120–126; c) E. Shirokova, K. Schmiedeberg, P. Bedner, H. Niessen, K. Willecke, J. D. Raguse, W. Meyerhof, D. Krautwurst, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 11807–11815; d) R. S. Smith, Z. Peterlin, R. C. Araneda, *Methods Mol. Biol.* **2013**, *1003*, 203–209.
- [146] H. Yoon, S. H. Lee, O. S. Kwon, H. S. Song, E. H. Oh, T. H. Park, J. Jang, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 2793–2796; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2755–2758.
- [147] a) B. Schaal, L. Marlier, *Biol. Neonate* **1998**, *74*, 266–273; b) S. Vaglio, *Commun. Integr. Biol.* **2009**, *2*, 279–281; c) S. Vaglio, P. Minicozzi, E. Bonometti, G. Mello, B. Chiarelli, *J. Chem. Ecol.* **2009**, *35*, 131–139.
- [148] a) L. Marlier, B. Schaal, R. C. R. Soussignan, *Acad. Sci. Paris* **1997**, *320*, 999–1005; b) L. Marlier, B. Schaal, *Child Dev.* **2005**, *76*, 155–168.
- [149] J. W. Makin, R. H. Porter, *Child Dev.* **1989**, *60*, 803–810.
- [150] R. Porter, *Physiol. Behav.* **1991**, *50*, 907–911.
- [151] a) P. M. Bingham, E. Lavin, T. Acree, *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* **2003**, *157*, 1031; b) A. Buettner, *Flavour Fragrance J.* **2007**, *22*, 465–473.
- [152] A. Buettner (Fraunhofer Gesellschaft), Patent WO2008138547A2, **2008**.
- [153] S. Nishitani, T. Miyamura, M. Tagawa, M. Sumi, R. Takase, H. Doi, H. Moriuchi, K. Shinohara, *Neurosci. Res.* **2009**, *63*, 66–71.
- [154] a) A. P. F. Turner, N. Magan, *Nat. Rev. Microbiol.* **2004**, *2*, 161–166; b) A. D. Wilson, M. Baietto, *Sensors* **2009**, *9*, 5099–5148; c) A. D. Wilson, *Procedia Technol.* **2012**, *1*, 453–463; d) H. Alam, S. H. Saeed, *Intern. J. Electr. Comp. Engin.* **2013**, *3*, 52–63; e) S.-W. Chiu, K.-T. Tang, *Sensors* **2013**, *13*, 14214–14247.
- [155] E. H. Oh, H. S. Song, T. H. Park, *Enzyme Microb. Technol.* **2011**, *48*, 427–437.
- [156] S. H. Lee, H. J. Jin, H. S. Song, S. Hong, T. H. Park, *J. Biotechnol.* **2012**, *157*, 467–472.