

Metabolomics: Ungerichtete Analysen bei Lebensmitteln

Ein neuer Ansatz in der Qualitäts- und Sicherheitsforschung

Die Globalisierung der Lebensmittelmärkte, sich verändernde Lebensbedingungen, der steigende Anspruch an die saisonunabhängige Verfügbarkeit vieler Lebensmittel oder der Wunsch nach gesunden Lebensmitteln nehmen großen Einfluss auf das Lebensmittelangebot, deren Produktion und insbesondere die Entwicklung neuer Produkte. Diese Veränderungen stellen auch die Sicherheits- und Qualitätsforschung von Lebensmitteln vor große, mitunter neue und auch wachsende Herausforderungen. Das Max Rubner-Institut (MRI) sieht in der ungerichteten Analyse niedermolekularer Stoffwechselprodukte, der Metabo-

liten, ein großes Potential, diesen Anforderungen auch in der Zukunft gerecht zu werden.

Metabolomics gewinnt in der Medizin und den Lebens- und Biowissenschaften zunehmend an Bedeutung. Durch eine möglichst umfassende Charakterisierung der Metaboliten und ihrer Wechselwirkungen kann der Einfluss innerer wie äußerer Faktoren auf ein biologisches System untersucht werden.

Charakteristisch für Metabolomics sind ungerichtete Metabolom-Analysen. Ziel ist es, mit einer einzigen Analyse eine möglichst große Zahl von Metaboliten, in der

Regel 200 bis 500, zu erfassen. Ob diese bekannt sind und ad hoc identifiziert werden können, ist dabei zunächst nicht relevant. Viel wichtiger ist die generelle, ergebnisoffene Herangehensweise, um auch unerwartete stoffliche Veränderungen erkennen zu können.

Die Zukunft wird es zeigen

Metabolomics wird zukünftig als ein weiteres leistungsfähiges Instrument bei der Qualitäts- und Sicherheitsbewertung von Lebensmitteln und bei der Erforschung ihrer Wirkung eine wichtige Rolle spielen. Aus diesem Grund werden Metabolomics-Methoden derzeit nicht nur in Forschungsinstituten, sondern auch von Lebensmittelüberwachungsbehörden und der Industrie etabliert. Grund genug, in der Ressortforschung ebenfalls die entsprechenden Weichen zu stellen, um gerüstet zu sein. Denn neben vielen Anwendungen in der Grundlagenforschung wird Metabolomics gerade in der Lebensmittelforschung einen hohen praktischen Nutzen haben.

Mögliche Anwendungen von Metabolom-Analysen sind in diesem Bereich vielfältig:

- Erfassung des Einflusses von Verarbeitungsprozessen und neuen Technologien auf die Inhaltsstoffe eines Lebensmittels
- Optimierung von Lagerungsbedingungen und Reifungsprozessen bei Früchten oder Fleisch und Fleischwaren
- Detektion von chemischen wie mikrobiellen Kontaminationen
- Vergleich von Anbaubedingungen, z. B. ökologisch oder konventionell, um Nachweismethoden zu entwickeln
- Unterscheidung und Charakterisierung von Sorten, z. B. um Züchtungen zu optimieren
- detaillierte Analyse der Auswirkungen genetischer Modifikationen von Nutzpflanzen auf das Profil der Inhaltsstoffe
- Prüfung der Authentizität von Lebensmitteln

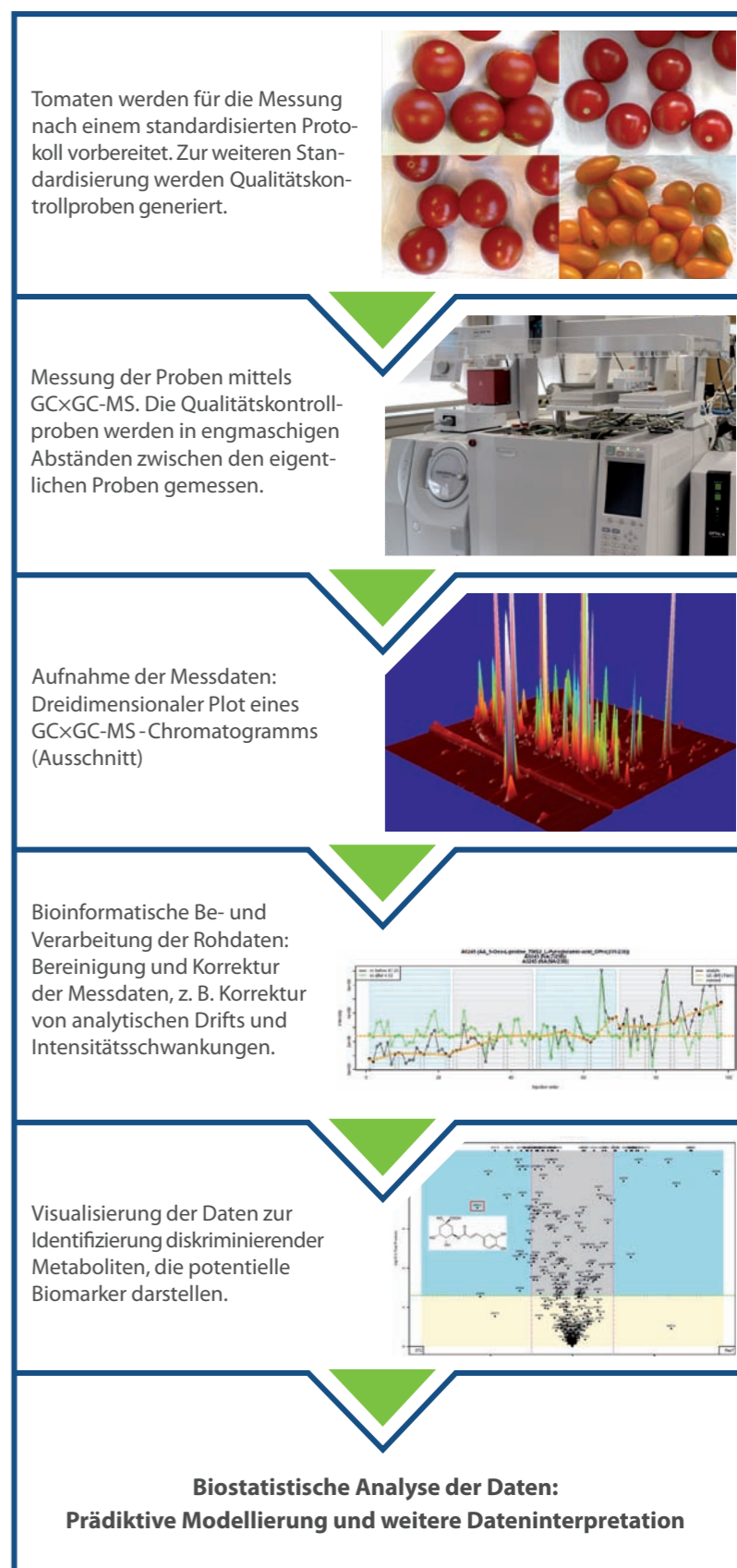


Abbildung 1: Workflow einer Metabolom-Analyse: Von der Probenvorbereitung bis zur statistischen Analyse ist jeder Schritt bedeutend.

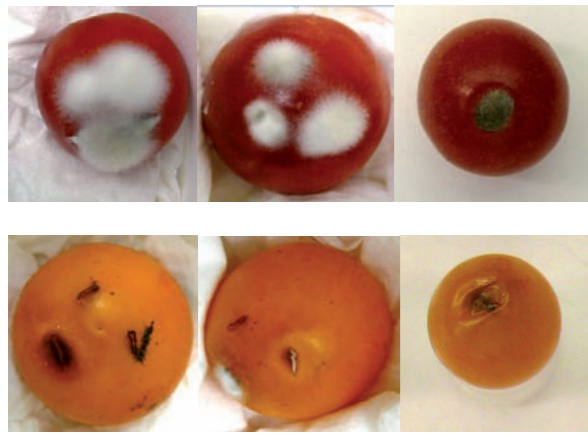


Abbildung 2: Wachstum des Schadpilzes *Alternaria alternata* auf den Tomatensorten Resi (oben) und Schmucktomate (unten).

Ergebnisoffene Analytik

Metabolom-Analysen (Abb. 1) ermöglichen es, durch die ergebnisoffene Herangehensweise neue Arbeitshypothesen zur Beantwortung einer Fragestellung zu generieren. Dies soll am Beispiel der unterschiedlichen Resistenz von Tomatensorten gegenüber dem Befall mit dem Schadpilz *Alternaria alternata* gezeigt werden.

Unterschiedliche Pilzresistenz von Tomatensorten

Alternaria alternata ist ein Schadpilz, der häufig auf Tomaten vorkommt und das Pilzgift (Mykotoxin) Alternariol bildet. Tomatenprodukte enthalten daher häufig geringe Mengen dieses Mykotoxins. Die Züchtung resistenter Sorten ist daher im Sinne des Verbraucherschutzes von Bedeutung.

Vor diesem Hintergrund startete das MRI ein Kooperationsprojekt mit den Universitäten Göttingen und Hohenheim. Von den Kooperationspartnern wurden ausgewählte Tomatensorten im Freiland angebaut, die im MRI hinsichtlich ihrer Pilzresistenz untersucht wurden. Nach Beimpfen der Tomaten mit dem Pilz, zeigten sich große Unterschiede hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit der Tomatensorten. So konnte der Pilz auf den Früchten der Sorte Schmucktomate nur langsam wachsen, während die rote Sorte Resi schnell besiedelt wurde. Außerdem ließen sich deutlich höhere Mengen des Mykotoxins Alternariol nachweisen (Abb. 2).

Zur Charakterisierung der Tomatensorten wurde eine zweidimensionale gaschromatographische Analyse mit massenspektrometrischer Detektion (GC×GC-MS) durchgeführt und hierbei 267 Metaboliten erfasst. Die Metabolitenprofile der Sorten Resi und Schmucktomate wurden statistisch miteinander verglichen. Welche Inhaltsstoffe die

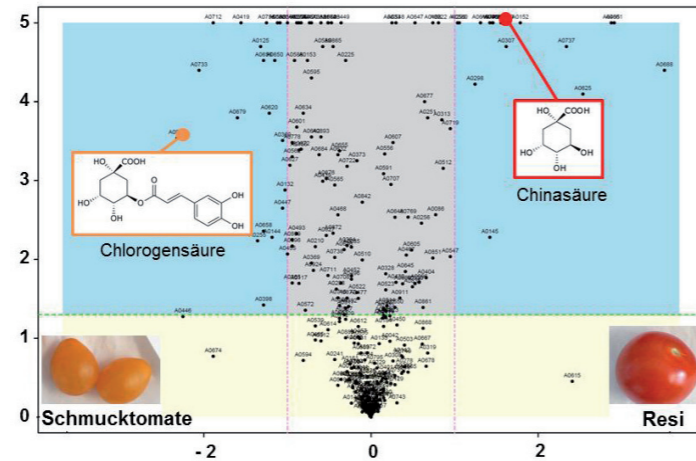


Abbildung 3: Vergleich der Metabolitenprofile der Sorten Schmucktomate und Resi mittels eines Volcano-Plots. Signifikante, sortenabhängige Unterschiede in der Konzentration von Metaboliten, die charakteristischen Verbindungen (jeder Punkt symbolisiert einen Metaboliten) liegen in den hellblauen Feldern. Für die Sorten Schmucktomate und Resi waren dies u. a. die Verbindungen Chlorogensäure und Chinasäure.

beiden Sorten unterscheiden und welche für die Pilzhemmung verantwortlich sein könnten, zeigt Abb. 3. Ein Unterschied war besonders markant: Während die Früchte der resistenteren Schmucktomate größere Mengen des sekundären Pflanzeninhaltsstoffs Chlorogensäure enthielten, wurde in den Früchten der empfindlichen Sorte Resi vor allem die biosynthetische Vorstufe der Chlorogensäure, die Chinasäure, in höheren Mengen nachgewiesen.

Auf Basis dieser Ergebnisse wurde die Hypothese aufgestellt, dass Chlorogensäure für die Resistenz von besonderer Bedeutung ist. In nachfolgenden Experimenten wurde bestätigt, dass Chlorogensäure im Gegensatz zu Chinasäure stark pilzhemmend wirkt. Weitere Analysen verdeutlichten, auf welchem Wege Chlorogensäure das Pilzwachstum und die Bildung des Pilzgiftes Alternariol hemmt (Abb. 4): Chlorogensäure unterbindet die Bildung des Enzyms Polyketidsynthase, welches der Pilz für die Biosynthese von Alternariol benötigt. Zudem fördert Alternariol bei *Alternaria alternata* die Besiedelung und das Wachstum des Pilzes auf der Tomate. Der Pilz bildet in Gegenwart von Chlorogensäure nur wenig Alternariol und wächst infolgedessen langsam. Trotzdem zeigt sich bei der Schmucktomate keine vollständige Resistenz. Der Pilz wird durch hohe Chlorogensäurekonzentrationen angeregt, Enzyme zum Abbau der Chlorogensäure zu bilden.

Das Beispiel zeigt, dass ungerichtete Metabolom-Analysen ein wichtiges Werkzeug sind, um Unterschiede in biologi-

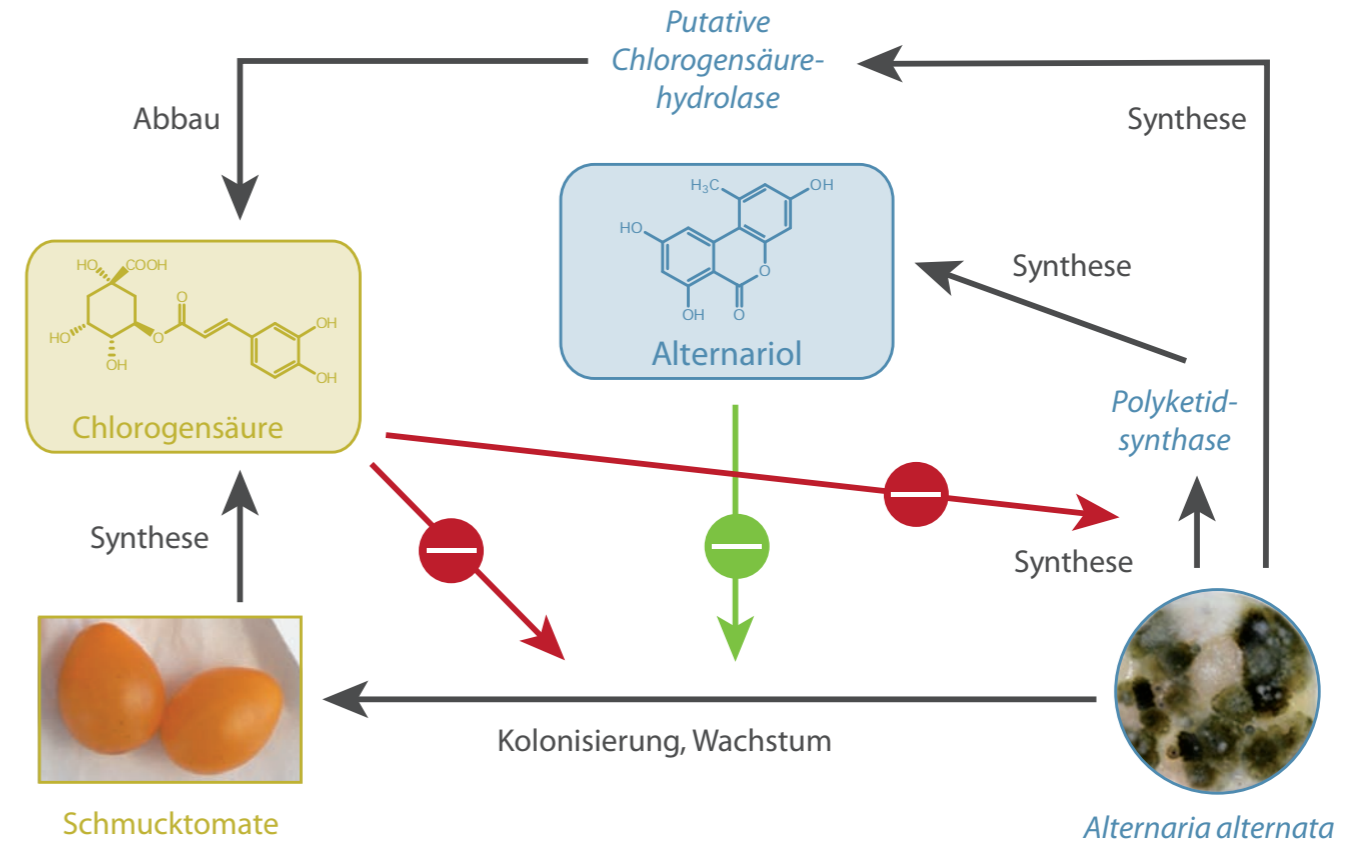


Abbildung 4: Mechanismus der pilzhemmenden Wirkung von Chlorogensäure sowie der Gegenmaßnahmen des Pilzes zur Beseitigung dieser pilzhemmenden Verbindung. Hemmende und fördernde Wirkungen sind durch rote bzw. grüne Pfeile gekennzeichnet.

schen Systemen zu erfassen und Metaboliten mit besonderer Relevanz, sei es als Marker für eine biologische Funktion oder als Marker einer unerwünschten Veränderung, zu identifizieren. In unserem Projekt konnten grundlegende mechanistische Einblicke in die Interaktionen zwischen Pflanzen und Schadpilzen gewonnen werden. Auf dieser Basis können resistenter Sorten gezüchtet werden, um Ernteaufträge zu minimieren und die Mykotoxinbelastung pflanzlicher Lebensmittel zu verringern.

Metabolom-Analysen sind umso aussagekräftiger, je repräsentativer das jeweilige Metabolom erfasst werden kann. Die große Anzahl an Verbindungen (mehrere Tausende), die unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften sowie hohe Konzentrationsunterschiede im Vorkommen der Metabolite machen es erforderlich, verschiedene Analysetechniken kombiniert anzuwenden.

Metabolom-Analysen am MRI

Am MRI wurde aus diesem Grund eine analytische Plattform etabliert: Neben der bereits routinemäßig genutzten GC×GC-MS-Methode, wird in Kooperation mit dem Karlsruher Institut für Technologie auch die Kernspinresonanz (NMR)-Spektroskopie für die ungerichtete Analytik einge-

setzt. Gerichtete Methoden aus der klassischen Analytik sind dabei eine wichtige Ergänzung.

Für jede Art von Lebensmitteln, seien es pflanzliche oder tierische, aber auch für sonstige biologische Materialien wie Plasma oder Urin aus Tierstudien oder humanen Interventionsstudien steht die Plattform zur Verfügung. Neben ihrem Einsatz im Bereich der Lebensmittel wird sie auch in der Ernährungsforschung genutzt, um besser zu verstehen, wie Lebensmittel oder einzelne Inhaltsstoffe wie bei Nahrungsergänzungsmitteln im menschlichen Körper wirken. Metabolomics ist ein vielseitiges und effektives Werkzeug, auf das die Ressortforschung künftig nicht mehr verzichten kann.