

נושא: התמרה ביולוגית של מרכיבי שמנים אתריים לחומרי טעם וריח טבעיים

מוסד: טכניון

ד"ר יובל שהם

חוקר ראשי:

חוקרים שותפים:

2

תקופת מחקר:

1996-1998

מאמרים:

2

תקציר

מטרות המחקר: לחומרי טעם וריח שימושים נרחבים בתעשיות המזון, הקוסמטיקה והרפואה, וחשיבותם הכלכלית רבה. מרכיבי שמנים אתריים מצמחים יכולים לשמש לסינתזת חומרי טעם וריח בעלי ערך כלכלי רב. במידה והסינתזה מבוצעת בתהליך ביולוגי (מיקרוביאל ו/או אנזימטי), חומרי הטעם והריח שמתקבלים מוגדרים כ"טבעיים", וערכם הכלכלי עשוי להיות גבוה מאד. מטרות המחקר הן: -

בידוד מהטבע מק"א, אשר מסוגלים לבצע התמרות ספציפיות בחומרי מוצא שונים, כגון: eugenol, isoeugenol, trans-anethole לקבלת התוצרים וניציל אניס אלדהיד וכו'.

איפיון המערכות האנזימטיות של תהליך ההתמרה.

איפיון צמחים, המכילים שמן אתרי עשיר וחומרי מוצא, שמתאימים להתמרה ביולוגית.

מהלך ושיטות עבודה:

< החיידקים בודדו ישירות מהקרקע.

< בודדו מוטנטים חסומים.

< זוהו תוצרי ביניים.

< נערך מעקב אחר פעילויות אנזימטיות.

תוצאות עיקריות: -

< בודדו זני חיידקים שמסוגלים לבצע התמרות.

< פוענח מסלול הפירוק של ט-אנטול ואופיינו פעילויות אנזימטיות ובקרה של מסלול זה.

< אופיינו צמחים בעלי שמן אתרי עם תכולה גבוהה של חומרי מוצא רצויים.

< נלמד הרכב השמן בזנים ישראליים של בזיל ושל fennel בהשוואה לזנים ממדינות שונות ושמנים מסחריים.

מסקנות והמלצות: הוכח שניתן לבדד זני חיידקים בעלי יכול להתמיר מרכיבי שמנים אתריים.

מוטנטים חסומים שבודדו מחיידקים אלו צוברים תוצרי ביניים בניצולות שיש להם פוטנציאל כלכלי.

בנוסף אופיינו צמחים אשר יכולים להוות מקור מצויין להפקת מרכיבי השמנים האתריים שמשמשים כחומרי מוצא בהתמרות.

הבעיות שנותרו לפיתרון: -

< בידוד מוטנטים חסומים נוספים אשר צוברים אניס אלדהיד וחומרים אחרים שיש בהם עניין כלכלי.

< אופטימיזציה של תהליכי ההתמרה.

< גמלון תהליך הפקת צמחים והפקת השמן האתרי.

התמרה ביולוגית של מרכיבי שמנים אתריים לחומרי טעם וריח טבעיים
Bioconversion of Essential Oil Components to Natural Flavors and Fragrances

דו"ח מסכם 96-98

מוגש לקרן המדען הראשי של משרד החקלאות, צוות היגוי - חומרי טבע

י. שהם¹, ע. רביד², א. פוטיבסקי².

1 הפקולטה להנדסת מזון וביוטכנולוגיה, הטכניון – מכון טכנולוגי לישראל.

2 נווה יער, מרכז מחקר צפון.

Eyal Shimoni¹, Uzi Ravid², E. Putievski², I. Katzir², and Yuval Shoham¹

1 Dept. of Food Engineering & Biotechnology, Technion – Israel Institute of Technology, Haifa 32000, Israel. E-mail: yshoham@tx.technion.ac.il

2 A.R.O, Newe Ya'ar Research Center, Ramat Yishai 30095, P.O.B 1021, Israel.

מבוא

לחומרי טעם וריח שימושים נרחבים בתעשיות המזון, הקוסמטיקה והרפואה, וחשיבותם הכלכלית רבה. חומרי טעם וריח טבעיים מתקבלים בדרך כלל ע"י מיצוי צמחי בשם ותבלין. בגלל ריכוזם הנמוך של המרכיבים הפעילים בצמח, מחירם של התוספים הטבעיים עלול להיות פי 100 ויותר מזה של התוספים הסינטטיים. כיום, חומרי טעם וריח מיוצרים בעיקר ע"י סינתזה כימית לקבלת תוספים סינטטיים. תהליכי סינתזה כימית מורכבים, גורמים לזיהום סביבתי, ויש התנגדות של ציבור הצרכנים לשימוש בתוספים סינטטיים. תעשיות חומרי הטעם והריח מחפשות חומרים חדשים וטכנולוגיות מתקדמות ליצור חומרי טעם וריח טבעיים. אחד התחומים, שמתפתחים כיום בקצב מהיר הוא יצור ביוטכנולוגי של חומרי ארומה, ובמיוחד השימוש באנזימים ומיקרואורגניזמים לביוקטליזה.

לתהליכי התמרה מיקרוביאליים או אנזימטיים יש מספר יתרונות על פני הסינתזה הכימית המסורתית: א. הקטליזה סלקטיבית למבנה ולאתר במולקולה המותמרת. לתכונות המבניות של המולקולה יש חשיבות רבה בחומרי ארומה, ולכן יש חשיבות רבה לריאקציות בעלות ספציפיות מבנית גבוהה. ב. הביוקטליזה מבוצעת בתנאים מתונים. כך ניתן למנוע זיהומים סביבתיים, לחסוך אנרגיה ועלויות שקשורות בבטיחות. ג. ניתן ליצר אנזימים בעלויות נמוכות, פחות מ-\$10 לקילוגרם. ד. ניתן לשפר את האנזימים בטכניקות של הנדסת חלבונים, ולקבל ביוקטליזטורים בעלי תכונות משופרות. ה. במקרים רבים, אנזימים יכולים לפעול על מספר סובסטרטים ולספק מגוון תוצרים. ו. במדינות רבות, אם חומר המוצא להתמרה ביולוגית בא ממקור טבעי, גם התוצר מסווג "טבעי". לכן, התמרות אנזימטיות יכולות לשמש ליצור חומרים טבעיים. למרות שתוצרים טבעיים אלה חסרים את פרופיל הארומה המלא של המקור הצמחי, יש להם ערך רב עבור יצרנים גדולים של מזון, שמעוניינים בתווית "טבעי".

מרכיבי שמנים אתריים שימשו באופן מסורתי כחומרי מוצא לסינתזה של חומרי טעם וריח. צמחים רבים מכילים ריכוזים גבוהים של שמנים אתריים, אשר מכילים חומרים בעלי מבנה דומה לזה של חומרי ארומה שונים. באופן עקרוני, ניתן להפוך מרכיבים אלה לחומרי ארומה רצויים בעזרת ריאקציות כימיות פשוטות. עד היום לא פותח תהליך כלכלי להתמרה ביולוגית של מרכיבי שמנים אתריים, למרות שחידקים בעלי יכולת לבצע חלק מההתמרות הרצויות בודדו בעבר. הסיבה העיקרית לכך היא היעדר ידע בסיסי על המסלולים הביוכימיים, האנזימים, והגנטיקה של החידקים שמבצעים את ההתמרות.

מטרות המחקר

המטרות העיקריות של עבודה זו היו: א. לבדוד זני חיידקים בעלי יכולת לבצע התמרות במרכיבי שמנים אתריים, ב. לאפיין מסלולים מטאבוליים ומערכות אנזימטיות, אשר מעורבות בהתמרות אלה, ג. לפתח תהליך התמרה שמבוסס על זני החידקים המשופרים. עבודה זו התמקדה בהתמרת פנילפרופנואידים משמנים אתריים והפיכתם לאלדהידים ארומאטיים. ההתמרות שנבחרו כמטרה בעבודה זו היו: טרנס-אנטול (*t*-anethole) או אסטרגול לאניסאלדהיד (*anisaldehyde*), אאוגנול (*eugenol*) או איזואאוגנול (*isoeugenol*) לונילין (*vanillin*), ספרול (*safrole*) או איזוספרול (*isosafole*) לפיפרונל (*piperonal*). ד. לאפיין צמחים המכילים שמן אתרי עשיר וחומרי מוצא שמתאימים להתמרה ביולוגית.

פירוט הניסויים

זני חיידקים בעלי יכולת להתמרת מרכיבי שמנים אתריים בודדו מדגימות קרקע, שנלקחו מתממות צמחי תבלין במרכז המחקר של מנהל המחקר החקלאי נוה-יער, ומהגן האקולוגי בטכניון. בידוד החידקים בוצע על ידי בידוד ישיר מהקרקע, ובטכניקות שונות של העשרה. בדרך זו בודדו מספר זני חיידקים, אשר היתה להם היכולת לשרוד בריכוזים רעילים של מרכיבי שמנים אתריים, וכאלה, שיכלו לנצל מרכיבים אלה כמקור פחמן לצורך גידול. גישה זו התבססה על שתי הנחות: א. בגלל התכונות האנטיבקטריאליות של מרכיבי שמנים אתריים, חידקים אשר מסוגלים לשרוד בריכוז גבוה של חומרים אלה, מבצעים זאת בזכות יכולתם לפרק חומרים אלה לנגזרות פחות רעילות, ובחלק מהמקרים מיצרים תוצרים רצויים; ב. חידקים שמסוגלים לנצל מרכיבי שמנים אתריים כמקור פחמן יוצרים תוצרים הרצויים כתוצרי ביניים של מסלול הפירוק. מתוך הגזעים שבודדו נבחרו שני זנים להמשך העבודה: 1) הזן B2, בעל יכולת לשרוד ריכוזי *isoeugenol* גבוהים וליצר *vanillin* (2) הזן tA13, שניצל *t*-anethole כמקור פחמן לצורך גידול.

החידק B2, זוהה על פי פרופיל תומצות השומן שלו כ- *Bacillus subtilis*. כדי לבחון את יכולות ההתמרה של הזן B2, בוצעו ניסויי התמרה של *isoeugenol* בתאים שלמים וכן בתמצית תאים. תאים שלמים התמירו *isoeugenol* ל-*vanillin* בניצולת של 12.35% וריכוז *vanillin* מירבי של 610 מ"ג לליטר. תהליך התמרה דומה על ידי תמצית תאים הניב ניצולת של כ- 14% וריכוז *vanillin* סופי של 900 מ"ג לליטר. התוצאות שהתקבלו דומות לדיווחים שנמצאו בספרות עבור חידקים אחרים ומצביעות על פוטנציאל גבוה שטמון בזן זה, בעיקר משום שניצולת התמרה אלו התקבלו בתהליכים שלא עברו אופטימיזציה.

בחלקו השני, המחקר התמקד בחידק A13, אשר בודד על סמך יכולתו לנצל *t*-anethole כמקור פחמן במצע מינימאלי. חידק זה זוהה על ידי פרופיל חומצות השומן שלו כ- *Arthrobacter protophormiae*. מסלול הפירוק של *t*-anethole בון A13 נלמד על ידי בידוד מוטנטים חסומים (שאינם יכולים לנצל *t*-anethole כמקור פחמן), זיהוי תוצרי ביניים, ומעקב אחרי פעילויות אנזימטיות ספציפיות. כאשר נבדקה יכולתו של A13 לגדול על חומרים החשודים כתוצרי ביניים, נמצא ש- A13 גדל על *anisic acid*, *anisyl alcohol*, *anisaldehyde*, *p*-hydroxybenzoic acid, ו- *protocatechuic acid*. המסקנה שחומרים אלה הם תוצרי ביניים בפירוק *t*-anethole, תוזקה על ידי הממצא, שהטמעת חומרים אלה עברה אינדוקציה בתאי A13 שגדלו על *t*-anethole.

גישה נוספת לזיהוי תוצרי ביניים במסלול הפירוק היתה בידוד מוטנטים חסומים שאינם גדלים על *t*-anethole. מוטנטים כאלה התקבלו על ידי מוטגנזה בעזרת גדלים על *t*-anethole. מוטנטים כאלה התקבלו על ידי מוטגנזה בעזרת 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (MNNG), והעשרה על פניצילין. לאחר סריקה של מעל 15,000 מושבות בודדו 40 מוטנטים, מתוכם נמצאו 3 שצברו *anisic acid*, 4 צברו שאריות של *anisaldehyde* ו- *anisyl alcohol*, ומוטנט אחד צבר כמויות קטנות של *t*-anethole-diol וכמות גדולה של 4,6-dicarboxylate-2-pyrone.

שני החומרים, *t*-anethole-diol ו- *anisic acid* הם תוצרי ביניים טבעיים של *t*-anethole. נגזרות בעלות diol הן תוצרי ביניים בפירוק *eugenol* ו- *isoeugenol* ע"י מיקרואורגניזמים שונים. כמו כן, בעבודות שונות נמצא, שחומצות ארומטיות הן תוצרי ביניים בפירוק פנילפרופנואידים אנאלוגים ל- *t*-anethole. החומר 4,6-dicarboxylate-2-pyrone נוצר ככל הנראה על ידי איזומריזציה ולקטוניזציה של 2-hydroxy-4-carboxymuconic acid, תוצר ביקוע הטבעת הבנונית של *protocatechuic acid* על ידי דיאוקסיגנאזות. מוטנטים חסומים, שהתמירו *t*-anethole ל- *anisic acid* צברו *anisic acid* גם באינקובציה עם *anisaldehyde* ו- *anisyl alcohol*. ממצא זה מעיד על כך ש- *anisaldehyde* ו- *anisyl alcohol* הם ככל הנראה חלק ממסלול הפירוק של *t*-anethole.

זיהוי תוצרי הביניים השונים הצביע בבירור על *anisic acid* ו- *protocatechuic acid* כתוצרי ביניים בפירוק *t*-anethole ע"י החידק A13. הפעילויות האנזימטיות, אשר אחראיות להפיכת *anisic acid* ל- *protocatechuic acid* ולביקוע הטבעת, נבדקו בחידק A13 שגודל על *t*-anethole. פעילותו של האנזים 4-methoxybenzoate-O-demethylase נבדקה תוך שימוש באנלוג 4-methoxy-3-nitrobenzoate, אשר יוצר צבע צהוב עם הפיכתו ל- 4-hydroxy-3-nitrobenzoate. פעילות האנזים 4-hydroxybenzoate-3-hydroxylase נבדקה על ידי צריכת NADH בעקבות הוספת *p*-hydroxybenzoic acid לתמצית חלבונים מתאי A13. פעילותם של דיאוקסיגנאזות שונות, אשר מבקעות את הטבעת הבנונית נבדקה ע"י הוספת סובסטרטים מתאימים (*catechol*, *protocatechuic acid*, *gentisic acid*) לתמצית תאי A13 ומעקב אחרי היווצרות תוצרי ביקוע או צריכת הסובסטרט. נמצא, שכל שלושת הפעילויות האנזימטיות קיימות בחידק A13, וכן, שהדיאוקסיגנאז המבקעת את הטבעת הוא *protocatechuate-4,5-dioxygenase*. כל האנזימים עברו אינדוקציה על ידי גידול החידק על *t*-anethole, כאשר בתאים שגדלו על גלוקוז לא נמצאה פעילות.

בעקבות זיהוי תוצרי ביניים והפעילויות האנזימטיות השונות, נבנה מסלול משוער לפירוק *t*-anethole ע"י החידק A13. שלבי הפירוק הראשונים כוללים את ביקוע הקשר הכפול של שיר ה-

propene. בעקבות זיהוי *l*-anethole-diol כתוצר ביניים בפירוק *l*-anethole, והעובדה שאפוקסיד נמצא בעבודות אחרות כקודמן של diol-, ניתן להציע את *l*-anethole-epoxide כקודמן ל- *l*-anethole-diol במסלול. *anisaldehyde* ו- *anisyl alcohol* הם ככל הנראה תוצרי ביקוע הקשר הכפול, והם מחומצנים ל- *anisic acid*, כפי שהודגם בעזרת המוטנטים החסומים. ה- *anisic acid* שנוצרת מוכנה לביקוע הטבעת ע"י דה-מתילציה בעמדה 4 והידרוקסילציה בעמדה 3 ליצירת *protocatechuic acid*. הטבעת הארומאטית של ה- *protocatechuic acid* מבוקעת על ידי *protocatechuate-4,5-dioxygenase* ונוצר *2-hydroxy-4-carboxymuconic semialdehyde*. תוצר זה של ביקוע הטבעת מפורק עד לפירובאט ואוקסאלואצטאט דרך *2-hydroxy-4-carboxymuconic acid* כפי שצוין קודם.

להבנת הבקרה של מסלול פירוק *l*-anethole יש חשיבות רבה בפיתוח זני חידקים מתאימים להתמרות. השאלה העיקרית שנבחנה היתה: מהם המשרנים הפוטנציאליים של המערכת?! הגישה הניסויית היתה לבדוק איזה פעילויות אנזימטיות שופעלו לאחר גידול של A13 על תוצרי ביניים שונים. השלבים הראשונים של הפיכת *l*-anethole ל- *anisic acid* נבדקו במערכת תאים נחים. נמצא, ש- *l*-anethole ו- *anisaldehyde* משרים יכולת להטמעה של כל תוצרי הביניים הארומאטיים. לעומת זאת, *anisic acid* לא השרתה יכולת הטמעה של *l*-anethole, *anisaldehyde* או *anisyl alcohol*, אלא רק את הפעילות של שלושת האנזימים שצוינו קודם. למרות ש- *anisic acid* השרתה את פעילותם של האנזימים, אשר הופכים אותה ל- *protocatechuic acid* ומבקעים את הטבעת ל- *2-hydroxy-4-carboxymuconic semialdehyde*, ה- *p-hydroxybenzoate* לא השרתה פעילות של *4-methoxybenzoate-O-demethylase*. פעילותו של האנזים *4-hydroxy-3-nitrobenzoate* עברה אינדוקציה בגידול הן על *p-hydroxybenzoate* והן על *protocatechuic acid*. לפיכך, נראה שמסלול פירוק *l*-anethole בחידק A13 מבוקר על ידי 3 יחידות בקרה נפרדות לכל הפחות.

התמרות של פנילפרופאנואידים אנאלוגים ל- *l*-anethole הן אחד הישומים האפשריים עבור A13. במקרים רבים, מערכות אנזימטיות יכולות לזהות חומרים בעלי דמיון מבני ולבצע בהם התמרות. בדיקת ההתמרה של חומרים שונים על ידי הזן A13 בוצעה על ידי גידולו על גלוקוז בנוכחות פנילפרופאנואידים שונים. תוצרי ההתמרות מוצו מהתרבית במס אורגאני וזוהו בשילוב של MS, GC, TLC ו- NMR. החידק A13 (ומוטנטים שלו) צברו תוצרים משורה של פנילפרופאנואידים, כגון: *isoeugenol*, *eugenol*, *estragole*, *isosafole* ו- *safrole*. באופן כללי ניתן לאמר ששיירי *propene* 2 חומצנו לקבלת נגזרות של *benzoic acid*, ושיירי *propene* 3 חומצנו לנגזרות של *cinnamic acid*. *estragole* הותמר ל- *4-methoxycinnamate* על ידי ה- *wild-type*, ול- *anisic acid* על ידי המוטנט 69/9. ה- *wild-type* התמיר *eugenol* ל- *ferulic acid* ו- *vanillic acid*, *isoeugenol* ל- *vanillic acid* ו- *isosafole* ל- *piperonylic acid*. יוצא הדופן היה *safrole*, שהתוצר שנתן היה *di-3,4-dihydroxy-3-propenyl-benzene*. תוצאות אלה מעידות, שהמערכת האנזימטית שמקצרת את שייר ה- *propene* אינה ספציפית במיוחד להתמרות בעמדות 3 ו- 4 של הטבעת הבנונית. תוצאות ההתמרה של האנאלוגים השונים מעידות, כי יתכן שקיצור שיירי ה- *propene* 3 מבוצע במנגנון של β -oxidation. לעומת זאת, מנגנון קיצור השרשרת במקרה של שיירי *propene* 2 אינו ברור, ודורש לימוד נוסף.

המטרה העיקרית של עבודה זו היתה לפתח תהליך ביולוגי יעיל להתמרת מרכיבי שמנים אתריים לחומרי טעם וריח טבעיים. לכן, יצור anisic acid על ידי מוטנטים 8 ו-17 של A13 נבדק כמודל כמותי לתהליך כזה. המוטנטים גודלו על גלוקוז בנוכחות anisyl, anisaldehyde, t-anethole או alcohol, וכמות ה- anisic acid שהצטברה נבדקה על ידי מיצוי התוצרים ואנליזת GC. יעילות ההתמרה בכל התהליכים שנבדקו נעה בין 50% ל-100%. למיטב ידיעתנו, ניצולות התמרה כאלה לא דווחו עבור חומרים אלה עד כה.

הרכב השמן האתרי ב 16 זני בזיל שונים נבדק בעלים טריים ולאחר ייבוש בהקפאה. צמחי הבזיל גודלו בחממות כשישה חודשים, ולאחר מכן כחודש מחוץ לחממות לקבלת אור שמש ישיר. תכולה גבוהה במיוחד של eugenol נמצאה ב- Ocimum basilicum Var. basilicum (flat leaves) cultivar SW (41.3%) וב- Ocimum basilicum Cv. Dark Opal cultivar 100R (48%). בשני זנים נוספים, נמצאה תכולה גבוהה במיוחד של אסטרגול (מתיל-חביקול), Ocimum basilicum Var. purpurascens (89.8%) ו- Ocimum basilicum Var. basilicum (flat leaves) cultivar 145 (91.5%). לזנים אלה יש פוטנציאל לשמש כמקור להפקת אאוגנול ואסטרגול.

אחת הנקודות החשובות בהפקה, רכישה וסחר של שמנים אתריים, היא בקרת האיכות והסטנדרטיזציה. אחת הדרכים לביצוע בקרה זו היא אנליזה של הרכב ויחס האננטיומרים של חומר ידוע בשמן הנבדק. החומר לינלול יכול לשמש לצורך זה, כאשר מדובר בשמן אתרי של זני בזיל שונים. אנליזה כירלית של חומר זה מעידה על הפוטנציאל הרב, שטמון באנליזה כירלית של מרכיבים אופייניים, כדי לבקר את איכותם ומקורם של שמנים אתריים שונים. האננטיומר R- של אינולול נמצא עיקרי ברוב זני הבזיל ובשמנים המיסחריים. התוצאות שהתקבלו מעידות, שניתן להשתמש בהתפלגות האננטיומרים לשם זיהוי וסטנדרטיזציה של שמנים מזני Ocimum שונים.

מסקנות

1. בודדו גזעים מהטבע, שמסוגלים לעשות ביוטרנספורמציה למרכיבי שמנים אתריים.
2. גזע B2 מסוגל להפוך איזואאוגנול לזניל בניצולות דומות לתהליכים ידועים.
3. גזע A13 מסוגל לנצל טרנסאנתול כמקור פחמן.
4. מסלול הפירוק של טרנס אנתול פוענח.
5. ניתן לנצל מוטנטים חסומים לצורך יצור חומצה אניסית בניצולות גבוהות בתהליך בן 24 שעות בלבד.
6. ניתן לקבל שמנים אתריים בעלי תכולה גבוהה של אאוגנול או מתיל חביקול.
7. פרופיל האננטיומרים של שמני בזיל אשר הופקו בישראל דומה לזה של שמנים מסחריים.
8. פרופיל האננטיומרים של שמנים אתריים מ- fennel הגדל בר בישראל זהה בהרכבו לשמנים אתריים של fennel ממקורות שונים בעולם.

1. Shimoni, E., U. Ravid, and Y. Shoham. Biotransformation of essential oil components to natural flavors and fragrances. In: 1996 Proceedings of the International Conference of Aroma and Essentail Oils. pp. 62-69, Tel Aviv
2. Shimoni, E., U. Ravid, and Y. Shoham. Bioconversion of alkene phenols from aromatic plants to natural aroma compounds. In: K. H. C. Baser and N. Kirimer (eds), Progress in Essential Oil Research, 1998, pp. 280-294. Anadolu University Press, Elkisehir.
3. Shimoni, E., U. Ravid, and Y. Shoham. Production of aroma compounds by biotransformation of essential oil compounds. Advances in Biotechnology - Israel , 1997Haifa, February 1997
4. Shimoni, E., U. Ravid, and Y. Shoham. Microbial transformation of essential oil components to natural aroma compounds. The Israel Institute of Chemical Engineering, Annual Meeting, Beer Sheva , April 1997
5. Shimoni, E., U. Ravid, and Y. Shoham. Isolation of bacterial strains capable of transforming isoeugenol to vanillin. Israel Society for Microbiology, Annual Meeting, Tel Aviv, February 1998
6. Shimoni, E., U. Ravid, and Y. Shoham. The trans-anethole degradation pathway in an *Arthrobacter* spp . 8th international Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms (GIM), Jerusalem, Israel, June 1998.
7. Eyal Shimoni, D.Sc. Thesis. 1998. Bioconversion of essential oils to natural flavors and fragrances.
8. Shimoni, E., U. Ravid, and Y. Shoham. Isolation of a *Bacillus* sp. capable of transforming isoeugenol to vanillin. J. Biotechnology (submitted)

<p>1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה: א. בידוד מהטבע (ע"י תרביות העשרה וסלקציה) של מיקרואורגניזמים, אשר מסוגלים לבצע התמרות ספציפיות בחומרי מוצא שונים, כגון- eugenol, iso euganol, trans- anethol לקבלת התוצרים ונילין אניסאלדהיד וכו'. ב. אפיון המערכות האנזימתיות של תהליך ההתמרה. ג. אפיון צמחים, המכילים שמן אתרי עשיר וחומרי מוצא, שמתאימים להתמרה ביולוגית.</p>
<p>2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהוגשו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח: א. בודדו זני חיידקים שמסוגלים לבצע התמרות. ב. פוענח מסלול הפירוק של טרנס אנתול ואופיינו פעולות אנזימתיות ובקרה של מסלול זה. ג. אופיינו צמחים בעלי שמן אתרי עם תכולה גבוהה של חומרי מוצא רצויים. ד. נלמד הרכב השמן בזנים ישראליים של בזיל ושל fennel בהשוואה לזנים ממדינות שונות ושמנים מסחריים.</p>
<p>3. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו: הוכח, שניתן לבדוד זני חיידקים בעלי יכולת להתמיר מרכיבי שמנים אתרים. מוטנטים חסומים שבודדו מחיידקים אלו צוברים תוצרי ביניים בניצולות שיש להם פוטנציאל כלכלי. בנוסף אופיינו צמחים אשר יכולים להוות מקור מצויין להפקת מרכיבי השמנים האתרים שמשמשים כחומרי מוצא בהתמרות.</p>
<p>4. הבעיות שנותרו לפתרון ואו השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן: א. בידוד מוטנטים חסומים נוספים אשר צוברים אניס אלדהיד וחומרים אחרים שיש בהם עניין כלכלי. ב. אופטימיזציה של תהליכי התמרה. ג. גמלון תהליך הפקת הצמחים והפקת השמן האתרי.</p>
<p>5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח – יש לפרט: פרסומים- כמקובל בביליוגרפיה, פטנטים – יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון- יש לפרט מקום ותאריך: 1. Shimoni, E., U. Ravid, and Y. Shoham. Bioconversion of alkene phenols from aromatic plants to natural aroma compounds. In: K.H.C. Baser and N.Kirimer (eds), Progress in Essential Oil Research, 1998, pp. 280-294. Anadolu University Press, Elkisehir. 2. Eyal Shimoni, D.Sc. Thesis. 1998. Bioconversion of essential oils to natural flavors and fragrances.</p>