



Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie
Lehrstuhl Lebensmittel pflanzlicher Herkunft
Leiter: Prof. Dr. habil. Dr. h.c. Reinhold Carle

**Chemische und morphologische Charakterisierung costa-ricanischer Papaya
(*Carica papaya* L.) Genotypen sowie Untersuchungen zur
Chromoplastenentwicklung und Carotinoidakkumulation während der Reifung**

Diplomarbeit

im Studiengang Lebensmitteltechnologie

vorgelegt von

Christof Björn Steingaß

Stuttgart-Hohenheim, Juni 2010

Diese Arbeit wurde gefördert aus Mitteln der Eiselen-Stiftung Ulm

5 Zusammenfassung

Trotz einer breiten Biodiversität von Papaya (*Carica papaya* L.) lagen die Schwerpunkte wissenschaftlicher Untersuchungen bislang meist bei kommerziellen hawaiianischen Varietäten. Daher wurden in dieser Diplomarbeit eine gelbfleischige mittelamerikanische Wildform sowie drei in Costa Rica kommerziell genutzte rotfleischige Genotypen unter technologischen und ernährungsphysiologischen Gesichtspunkten anhand morphologischer und physikalischer Kriterien untersucht.

Die Genotypen variierten von kleinen, rundlichen Früchten des hawaiianischen Genotyps Solo cv. Sunset (604 ± 98 g) zu großen, länglichen Formen des Genotyps Lucía (2053 ± 601 g). Ferner zeichneten sich die Früchte des Genotyps Solo cv. Sunset durch die höchsten Gehalte an löslicher Trockensubstanz (TSS $13,5 \pm 0,2$ °Brix), Glukose, Fruktose und Saccharose (Gesamtgehalt $8,84 \pm 0,35$ g/100g FG) aus. Der costa-ricanische Genotyp Lucía wies über das enorme Fruchtgewicht von bis zu 2,5 kg hinaus eine besonders kleine Kavität und einen geringen Samenanteil ($2,4 \pm 0,5\%$) auf. Da beim Zerquetschen von Papayasamen während der Verarbeitung die beißend riechenden Benzylisothiocyanate freigesetzt werden, sind für die industrielle Prozessierung insbesondere samenarme Genotypen wie Lucía geeignet.

Während für die kommerzielle Vermarktung die geringfügigen Unterschiede im pH-Wert, den titrierbaren Säuren sowie die Zusammensetzung des Säureprofils eher eine untergeordnete Rolle spielen dürften, wurden bei der für den Transport wichtigen Festigkeit deutliche Unterschiede festgestellt. Insbesondere der sich durch hohe Brixgehalte auszeichnende Genotyp CCR ($10,8 \pm 2,3$ °Brix) sollte dank einer hohen Festigkeit des Exocarps ($9,15 \pm 3,25$ N) für den Transport über größere Distanzen geeignet sein.

Auch aus ernährungsphysiologischer Sicht zeichnete sich der hawaiianische Genotyp Solo cv. Sunset durch hohe Ascorbinsäuregehalte (73 ± 8 mg/100g FG) gegenüber den costa-ricanischen Genotypen (25 ± 5 bis 50 ± 8 mg/100g FG) aus. Zur Abschätzung des Provitamin A-Potentials wurde das Carotinoidprofil der vier Genotypen mittels DAD-LC-MSⁿ weitgehend entschlüsselt. Die bereits anhand der CIE-L*a*b*-Farbwerte erkennbare Einteilung der Genotypen in gelb- und rotfleischige Klassen bestätigte sich durch die An- bzw. Abwesenheit des für die Rotfärbung verantwortlichen Lycopins und seiner Isomere. Insbesondere der costa-ricanische Genotyp CCR ragte mit einem hohen Gehalt dieses Antioxidans von $3,1 \pm 0,3$ mg/100g FG gegenüber den anderen roten Typen hervor ($2,0 \pm 0,4$ bis $2,1 \pm 0,2$ mg/100g FG).

Das Carotinoidprofil der gelbfleischigen Wildform hob sich durch hohe Gehalte an β -Carotin, β -Cryptoxanthin und Cryptoflavin ab, wodurch sich dieser Genotyp als gute Resource für Provitamin A-Carotinoide ($184 \pm 27 \mu\text{g RE}/100 \text{ g FG}$) eignete. Aber auch die Genotypen Lucía ($184 \pm 27 \mu\text{g RE}/100 \text{ g FG}$), Solo cv. Sunset ($184 \pm 27 \mu\text{g RE}/100 \text{ g FG}$) und insbesondere CCR ($210 \pm 47 \mu\text{g RE}/100 \text{ g FG}$) können als gute Provitamin A Quellen angesehen werden. Die entscheidenden Provitamin A Carotinoide waren in allen untersuchten Genotypen β -Carotin, β -Cryptoxanthin sowie hohe Anteile an β -Cryptoxanthincaprat, -laurat und -myristat. Mit einem Gesamtcarotinoidgehalt von $7,1 \pm 1,1 \text{ mg}/100\text{g}$ erwies sich der Genotyp CCR als besonders herausragend.

In einem zweiten Teil der Diplomarbeit wurden deshalb anhand des Genotyps CCR die morphologischen und physiko-chemischen Eigenschaften und insbesondere die Carotinoidakkumulation während der Reifung untersucht. Während in einem frühen Vorerntestadium nur Carotinoidspuren nachweisbar waren, wurde deren Akkumulation über drei Zwischenstadien zur vollreifen Frucht verfolgt. Der Gesamtcarotinoidgehalt korrelierte dabei linear mit dem nach CIE-L*a*b* ermittelten Grün-Gelb-Verhältnis $(a^*/b^*)^2$ der Fruchtschale ($R^2 = 0,88$). Ein exponentieller Zusammenhang zwischen dem a*-Wert (Rot-Grün-Wert) des Mesokarps ($R^2 = 0,94$) könnte ferner eine einfache Abschätzung des Carotinoidgehalts über Farbmessungen ermöglichen.

Während der Carotinoidakkumulation spielten insbesondere β -Carotin, β -Cryptoxanthin und dessen Ester mit der Capron-, Laurin-, und Myristinsäure eine bedeutende Rolle. In Spuren konnten in verschiedenen Reifestadien Phytoen, Phytofluen, ζ - und γ -Carotin nachgewiesen werden, womit abgesehen von Neurosporin alle Stufen der Carotinoidbiosynthese gefunden wurden.

Ferner erwies sich Lycopin mit Anteilen von 47 ± 5 bis $57 \pm 3\%$ des Gesamtcarotinoidgehaltes als dominierendes Carotinoid in allen Reifestadien, wobei der Anteil der Lycopinisomere stets bei 10 - 20% des Gesamtlycopins lag.

Der hohe Isomerenanteil führte zu der Annahme, dass die Carotinoide mehrheitlich in globulösen Chromoplasten akkumuliert werden, da bei der Ablagerung in Kristallen die all-*trans* konfigurierten Carotinoide wenig zu Isomerisierungen neigen.

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen des Mesokarps von Papaya zeigten in frühen Reifestadien undifferenzierte Proplastiden, während in späteren Reifestadien in Übereinstimmung mit der aufgestellten Hypothese globulöse Chromoplasten dominierten, die jedoch teils tubulöse Strukturen aufwiesen. Da als poten-

tielle Vorstufen weder Amyloplasten noch Chloroplasten beobachtet werden konnten, wurde eine direkte Bildung der Chromoplasten aus Proplastiden angenommen.

Durch die beobachtete globulöse-tubulöse Struktur der Chromoplasten kann eine hohe Absorption der Carotinoide im Gastrointestinaltrakt und damit eine hohe Bioverfügbarkeit der Carotinoide in Papaya angenommen werden. Darüber hinaus könnten die in größeren Anteilen vorkommenden cis-Lycopin-Isomere deutlich leichter als all-*trans*-Lycopin resorbiert werden.

Papayafrüchte können abschließend als bedeutende Quelle für Ascorbinsäure, Lycopin und Provitamin A-Carotinoide wie β -Cryptoxanthin und β -Carotin angesehen werden. Durch die vornehmlich globulöse Chromoplastenstruktur wird eine gute Bioverfügbarkeit erwartet, welche in weiterführenden Untersuchungen überprüft werden sollte.

6 Summary

Although papaya (*Carica papaya* L.) fruit shows a broad biodiversity, mainly varieties originating from Hawaii have been described disregarding other genotypes. Therefore, chemical and morphological fruit traits of a Central-American yellow-fleshed wild type and three red-fleshed varieties grown in Costa Rica have been studied for technological and nutritional aspects.

The characterized fruit varied from the small round shaped genotype Solo cv. Sunset (604 ± 98 g) to the big long-shaped genotype Lucía (2053 ± 601 g). Fruits of the genotype Solo cv. Sunset showed furthermore the highest total soluble solids (13.5 ± 0.2 °Brix), glucose, fructose and sucrose contents (total sugars 8.8 ± 0.35 g/100g fresh weight (FW)). Besides its enormous weight of up to 2.5 kg, the Costa Rican genotype Lucía was characterized by a small cavity and low seed proportions ($2.4 \pm 0.5\%$). Since crushed seeds cause product off flavour by the formation and release of pungent benzylisothiocyanates, this genotype might be predestined for industrial processing into shelf stable papaya products.

Moreover, the differences in pH, titratable acidity and composition of non-volatile acids should have less impact on commercial distribution as the revealed variations in fruit firmness. Since Lucía's high exocarp firmness (9.15 ± 3.25 N) would ensure good stability against mechanical damage during transportation, exportation of this genotype may offer new market opportunities for local farmers.

From a nutritional point of view, genotype Solo cv. Sunset showed an high amount of ascorbic acid (73 ± 8 mg/100g FW) in contrast to the Costa Rican genotypes (25 ± 5 to 50 ± 8 mg/100g FW). Evaluating the vitamin A precursor potential, the carotenoid pattern was widely elucidated and striking differences in carotenoid profiles between red- and yellow-fleshed varieties were found. The latter showed high contents of β -carotene, β -cryptoxanthin and cryptoflavin. Xanthophylls mainly were esterified with capric-, lauric-, and myristic acid. However, the yellow genotype only contained trace amounts of lycopene and its isomers, which were shown to be the main pigments in all red-fleshed genotypes with proportions between 45 and 60%. In particular, the content of lycopene in the Costa Rican Genotype CCR (3.1 ± 0.3 mg/100g FW) significantly exceeded the other red-fleshed genotypes (from 2.0 ± 0.4 mg to 2.1 ± 0.2 mg/100g FW). CCR showed furthermore high contents of Vitamin A precursor carotenoids (retinol equivalents (RE) 210 ± 47 μ g/100 g FW) and the highest total carotenoid content (7.1 ± 1.1 mg/100 g FW). Nevertheless, also the genotypes Lucía (184 ± 27 μ g RE/100 g FG), Solo cv. Sunset (184 ± 27 μ g RE/100 g FW) and the

yellow fleshed Silvestre ($184 \pm 27 \mu\text{g RE}/100 \text{ g FW}$) can be considered as good resources of vitamin A precursor carotenoids. The provitamin A carotenoids β -carotene, β -cryptoxanthin and high proportions of β -cryptoxanthin-caprate, -laurate and -myristate were present in all genotypes.

Therefore, morphological and physico-chemical traits of ripening papaya genotype CCR were investigated with special reference to carotenoid accumulation. Whereas in early ripening stages only trace amounts of carotenoids were present, their qualitatively steady carotenoid accumulation was investigated in 3 pre- and postharvest ripening stages. Total carotenoid content in the pulp during ripening showed a good linear correlation with the green-yellow-index (a^*/b^*)² of the fruit's exocarp ($R^2 = 0,88$). Furthermore, a strong exponential correlation ($R^2 = 0,94$) between carotenoid content and the a^* -value of the pulp might enable simple estimation of the carotenoid content by color measurement.

All ripening stages were characterized by high proportions of lycopene and its isomers (47 ± 5 to $57 \pm 3\%$ of total carotenoids). Furthermore β -carotene, β -cryptoxanthin and its fatty acid esters (β -cryptoxanthin-caprate, -laurate, -myristate and traces of -palmitate) played an important role during carotenoid accumulation. Since phytoene, phytofluene, ζ -carotene and γ -carotene were identified, most intermediates of carotenoid biosynthesis except neurosporene were detected.

Subsequent microscopic studies of papaya pulp showed the predominance of undifferentiated proplastids in early ripening stages, whereas globular chromoplasts were found in later stages, which is in accordance with high proportions of lycopene isomers (10 to 20% of total lycopene). Papaya chromoplasts appeared mostly smaller than mango chromoplasts and no typical structures indicated the crystalline deposition of the carotenoids. Moreover, chromoplasts formation was assumed to emerge directly from proplastids since no intermediate plastids like amyloplasts or chloroplasts were observed.

In conclusion, the diploma thesis provided fundamental knowledge regarding the nutritional relevance, carotenoid bioavailability and industrial suitability of Costa Rican papayas. The papaya fruit can be considered an important source for ascorbic acid, antioxidants like lycopene and the provitamin A carotenoids β -cryptoxanthin and β -carotene. Due to the globular structure of their chromoplasts, high absorption of these compounds in the gastro intestine is to be expected. Therefore, further research should be done focusing on nutritional and cell culture based bioavailability studies.