



UNIVERSITY OF
HOHENHEIM

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY
PLANT FOODSTUFF TECHNOLOGY AND ANALYSIS (150d)
Prof. Dr. habil. Dr. h.c. Reinhold Carle

Chemical and morphological characterisation of fruits from wild-growing *Bactris guineensis* (L.) H.E. Moore palms from Costa Rica

Master's Thesis
in
Food Science and Engineering

Submitted by
Julia Christin Berning

1st supervisor: Prof. Dr. habil. Dr. h.c. Reinhold Carle
2nd supervisor: Prof. Dr. habil. Ralf Martin Schweiggert
Date of submission: July 15, 2019

This work was financially supported by the Foundation fiat panis.

Zusammenfassung

Die globale Ernährungssicherung hat einen Einfluss auf alle Ziele für nachhaltige Entwicklung der UN (FAO, IFAD, UNICEF, WFP, & WHO, 2018) und setzt die Verfügbarkeit, Zugänglichkeit, Verwendbarkeit und Stabilität nährstoffreicher Nahrungsquellen voraus (Gibson, 2012). Die Kultivierung traditioneller, bislang nicht hinreichend genutzter Pflanzen ist eine langfristige Lösung für eine ausgewogene Ernährung, den Schutz der Biodiversität und die ökonomischen Stärkung des ländlichen Raumes (Baldermann et al., 2016; Burchi, Fanzo, & Frison, 2011). Ein Beispiel ist die Pfirsichpalme (*Bactris gasipaes* Kunth), die stärke- und lipidhaltige Früchte mit hohen Provitamin A-Konzentrationen liefert (Hempel et al., 2014). Das ernährungsphysiologische Potential weiterer unzureichend genutzter tropischer *Bactris*-Spezies (Arecaceae) ist bislang nicht hinreichend untersucht. Das Ziel dieser Masterarbeit war daher eine umfassende Charakterisierung des morphologischen und phytochemischen Profils von 'Viscoyol' (*B. guineensis* (L.) H.E. Moore)-Früchten.

Gewicht, Länge, Farbe und Trocknungsverlust reifer Früchte wildwachsender Palmen aus Costa Rica wurden charakterisiert. Phenolische Verbindungen in Meso- und Exokarp wurden mittels HPLC-HR-ESI-MS und HPLC-DAD-ESI-MSⁿ bestimmt. Die Analyse von Carotinoiden und Tocopherolen erfolgte mittels HPLC-DAD/FLD, HPLC-DAD-APCI-MSⁿ und HPLC-DAD-ESI-MSⁿ. Der Kernfettgehalt wurde ermittelt und das Fettsäureprofil mittels GC-MS analysiert.

Die abgeflacht kugelförmigen Früchte mit einer Länge von 1,6–2,1 cm und einem Durchmesser von 2,0–2,3 cm enthielten einen einzelnen Samen (Länge: 0,8–0,9 cm, Durchmesser: 1,2–1,5 cm). Das Gesamtfruchtgewicht lag zwischen 3,9–6,4 g, mit relativen Anteilen von 15,9–31,0% Exokarp, 35,1–62,0% Mesokarp, 10,1–16,5% Endokarp und 6,4–22,3% fetthaltigem Endosperm. Die Trocknungsverluste von Exokarp, Mesokarp und Kern betragen jeweils $69,3 \pm 2,3$, $74,7 \pm 3,7$ und $28,4 \pm 3,7\%$. Das Exokarp war tief lila gefärbt, das Mesokarp orange/rötlich/lila.

Neben fünf bereits bekannten Anthocyanen wurden 19 weitere lösliche Phenole aus einem wässrig-methanolischen Extrakt und sechs unlöslich-gebundene Phenole nach alkalischer Hydrolyse und Flüssig-Flüssig-Extraktion mittels Ethylacetat erstmalig identifiziert. Die Gesamtphenolkonzentration im Exokarp von $473,7 \pm 80,7$ mg/100 g Frischgewicht (FG) übertraf die des Mesokarps von $30,4 \pm 7,5$ mg/100 g FG signifikant ($p \leq 0,05$). Die Konzentrationen löslicher Phenole beliefen sich auf 13,9–31,7 und 347,5–574,5 mg/100 g FG im Meso- bzw. Exokarp. Hierbei erwiesen sich Flavonoide, insbesondere Flavanole wie (Epi)-Catechin-Monomere sowie Procyanidin-Di-, Tri- und Pentamere als bedeutendste Stoffklasse gefolgt von Anthocyanen. Letztere konnten in Konzentrationen von 0,4–4,3 und 106,5–240,7 mg/100 g FG im Meso- bzw. Exokarp nachgewiesen werden, wobei Cyanidin-3-O-

rutinosid je ~85% der Anthocyane in Exo- und Mesokarp ausmachte. Die unlöslich-gebundenen Phenole in Konzentrationen von 4,2–16,5 und 23,7–45,0 mg/100 g FG im Exo- und Mesokarp beinhalteten ausschließlich Phenolsäuren, wobei *p*-Hydroxybenzoesäure je ~58% dieser Phenolfraktion in Exo- und Mesokarp ausmachte. Folglich erwiesen sich *B. guineensis*-Früchte als eine hervorragende Ressource hydrophiler Antioxidantien und natürlicher Pigmente, z.B. für die Lebensmittelindustrie.

Die einzige Vitamin E-Verbindung, α -Tocopherol, wies Konzentrationen von 103–592 und 1922–2956 $\mu\text{g}/100\text{ g FG}$ im Exo- bzw. Mesokarp auf. Erstmals wurden zudem 10 Carotinoide, darunter jeweils 5 Xanthophylle und Carotine identifiziert. Deren Gesamtkonzentration von 1541–2064 $\mu\text{g}/100\text{ g FG}$ im Exokarp überstieg die des Mesokarps von 289–420 $\mu\text{g}/100\text{ g FG}$ signifikant ($p \leq 0,05$). Das Mesokarp enthielt moderate Mengen an (all-*E*)- β -Carotin von $196 \pm 33\ \mu\text{g}/100\text{ g FG}$, während hohe Konzentrationen von $782 \pm 126\ \mu\text{g}/100\text{ g FG}$ im Exokarp nachgewiesen wurden. Letzteres enthielt zudem moderate Mengen an (all-*E*)-Lutein, (all-*E*)- α -Carotin und (13*Z*)- β -Carotin von 482 ± 198 , 119 ± 13 bzw. $111 \pm 28\ \mu\text{g}/100\text{ g FG}$. Die *B. guineensis*-Carotinoide weisen einen ernährungsphysiologischen Wert als Vitamin A-Vorstufen oder als Maculapigment im Falle von Lutein auf (Britton, Liaaen-Jensen, & Pfander, 2009). Die Retinolaktivitäts-Äquivalente (*retinol activity equivalents*, RAEs) im essbaren Anteil wurden auf $39 \pm 5\ \mu\text{g}/100\text{ g FG}$ ermittelt, vergleichbar mit der unteren Spanne der RAEs verschiedener *B. gasipaes*-Varietäten von 37–609 $\mu\text{g}/100\text{ g FG}$ (Hempel et al., 2014). Folglich sind auch *B. guineensis*-Früchte eine wertvolle Provitamin A-Quelle.

Die Gesamtlipide im Endosperm des Samens beliefen sich auf $34,1 \pm 2,7\%$ in Trockenmasse (TM). Vorherrschende Fettsäuren waren Laurin- und Myristinsäure, welche $56,3 \pm 1,2$ bzw. $23,0 \pm 0,1\%$ der Fettsäuren ausmachten. Relativ geringe Anteile an Öl- und Linolsäure resultierten in ein Verhältnis von gesättigten zu ungesättigten Fettsäuren von 9,0, vergleichbar mit dem von *Cocos nucifera*-Öl (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2008). Folglich könnte auch das *B. guineensis*-Kernöl vielfältige Anwendungen in der Lebensmittelindustrie finden und eine geeignete Alternative für Kokosöl darstellen.

Zusammenfassend beinhaltet die vorliegende Masterarbeit eine umfassende Charakterisierung lipophiler und hydrophiler sekundärer Pflanzenstoffe in *B. guineensis*-Früchten aus Costa Rica. Eine hohe strukturelle Diversität an Antioxidantien konnte nachgewiesen werden, welche zu einer gesunden Ernährung der lokalen Bevölkerung und zur Lebensmittelsicherheit in den Tropen allgemein beitragen könnte. Zudem wurde ein enormes Potential der Palme in der Lebensmittelindustrie hervorgehoben. Zukünftige Studien könnten die Bioverfügbarkeit der Carotinoide, die Eigenschaften des Kernöls sowie mögliche technologische Anwendungen zum Gegenstand haben.

6 Abstract

Global food security influences all UN Sustainable Development Goals (FAO et al., 2018) and requires the availability, accessibility, usability, and stability of nutritious food resources (Gibson, 2012). The cultivation of traditional, underutilised crops is one long-term solution for balanced diets, biodiversity protection as well as the economic strengthening of rural areas (Baldermann et al., 2016; Burchi et al., 2011). One example is peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth), which provides starchy, lipid-rich fruits with high provitamin A carotenoid levels (Hempel et al., 2014). The nutritional potential of other underutilised *Bactris* sp. (Arecaceae) available in the tropics has not yet been sufficiently explored. Therefore, this master thesis aimed at the comprehensive characterisation of morphological fruit traits and the phytochemical composition of 'Viscoyol' (*B. guineensis* (L.) H.E. Moore) fruits.

Ripe fruits were harvested from wild-growing palms in Costa Rica. Weight, length, colour, and drying loss were determined. Phenolic compounds in exo- and mesocarp were analysed by HPLC-HR-ESI-MS and HPLC-DAD-ESI-MSⁿ. Carotenoids and tocopherols in the aforementioned fruit fractions were assessed by HPLC-DAD/FLD and HPLC-DAD-APCI-MSⁿ and HPLC-DAD-ESI-MSⁿ, respectively. Kernel lipid content was determined, and the fatty acid composition of extracted lipids was elaborated by GC-MS.

B. guineensis fruits were of depressed-globose form with a length of 1.6–2.1 cm, a diameter 2.0–2.3 cm and contained one seed (length: 0.8–0.9 cm, diameter: 1.2–1.5 cm). The total fruit mass varied between 3.9–6.4 g with relative proportions of 15.9–31.0% exocarp, 35.1–62.0% mesocarp, 10.1–16.5% endocarp, and 6.4–22.3% fatty endosperm. Drying losses of exocarp, mesocarp, and kernel were 69.3 ± 2.3 , 74.7 ± 3.7 and $28.4 \pm 3.7\%$, respectively. The exocarp was deep purple and the mesocarp displayed an orange/reddish/purple colour.

In addition to five known anthocyanins, another 19 soluble-free phenolic compounds from an aqueous methanolic extract and six insoluble-bound phenolic compounds extracted with ethyl acetate after alkaline hydrolysis were identified for the first time. Total phenolic compounds amounting to 473.7 ± 80.7 mg/100 g of fresh weight (FW) in the exocarp significantly ($p \leq 0.05$) exceeded those in the mesocarp of 30.4 ± 7.5 mg/100 g of FW. Soluble-free phenolics ranged between 13.9–31.7 and 347.5–574.5 mg/100 g of FW in meso- and exocarp, respectively. Flavonoids, particularly flavanols such as (epi-)catechin monomers in addition to di-, tri- and pentameric procyanidins were the prevailing compound class in the soluble fraction, followed by anthocyanins. The latter amounted to 0.4–4.3 and 106.5–240.7 mg/100 g of FW in meso- and exocarp, respectively. Cyanidin-3-O-rutinoside was the prevailing anthocyanin, accounting for ~85% of the total anthocyanins in both fruit fractions. Insoluble-bound phenolics were in the range of 4.2–16.5 and 23.7–

45.0 mg/100 g of FW in meso- and exocarp, respectively. Bound phenolic compounds were exclusively phenolic acids, whereby *p*-hydroxybenzoic acid accounted for ~58% of the insoluble-bound fraction in both meso- and exocarp. Concluding, *B. guineensis* fruit represents an excellent source of hydrophilic antioxidants and natural pigments, e.g., applicable in the food industry.

α -Tocopherol was the only detected tocochromanol at concentrations of 103–592 and 1922–2956 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ of FW in meso- and exocarp, respectively. In addition, 10 carotenoids, comprising each five xanthophylls and carotenes were identified for the first time. Total carotenoids in the exocarp of 1541–2064 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ of FW significantly ($p \leq 0.05$) exceeded those in the mesocarp of 289–420 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ of FW. The mesocarp contained moderate amounts of (all-*E*)- β -carotene of $196 \pm 33\ \mu\text{g}/100\text{ g}$ of FW which amounted to high concentrations of $782 \pm 126\ \mu\text{g}/100\text{ g}$ of FW in the exocarp. The latter fraction additionally displayed moderate levels of (all-*E*)-lutein, (all-*E*)- α -carotene, and (13*Z*)- β -carotene amounting to 482 ± 198 , 119 ± 13 , and $111 \pm 28\ \mu\text{g}/100\text{ g}$ of FW, respectively. The *B. guineensis* carotenoids are nutritionally relevant as provitamin A precursors or macular pigments in the case of lutein (Britton et al., 2009). The retinol activity equivalents (RAEs) in the edible fruit fraction were estimated at $39 \pm 5\ \mu\text{g}/100\text{ g}$ of FW, thus being comparable to the lower range of RAEs of 37–609 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ of FW reported for different *B. gasipaes* varieties (Hempel et al., 2014). Thus, *B. guineensis* fruits were shown to be a valuable provitamin A source.

The kernel contained $34.1 \pm 2.7\%$ of dry matter (DM) total lipids with lauric- and myristic acid as the most abundant fatty acids contributing to 56.3 ± 1.2 and $23.0 \pm 0.1\%$ of total fatty acids, respectively. Comparatively low proportions of oleic and linoleic acid resulted in a ratio of saturated to unsaturated fatty acids of 9.0, thus being comparable to the composition of *Cocos nucifera* oil (Belitz et al., 2008). Consequently, *B. guineensis* kernel oil may find diverse industrial applications and may provide an alternative for coconut-derived lipids.

In conclusion, this master thesis provides a comprehensive characterisation of lipophilic and hydrophilic phytochemicals in Costa Rican *B. guineensis* fruits. A high structural diversity of antioxidants was revealed that may contribute to a healthy diet for the local population and to ensure food security in the tropics. In addition, the vast potential of this palm in the food industry was highlighted that may promote its future cultivation. Future studies may assess the bioaccessibility of the carotenoids, the oil characteristics, and possible industrial applications in more detail.