

肉桂醛處理對'臺農二號'番木瓜果皮轉色及過氧化物酶與苯丙胺酸解胺酶活性之影響

周 佳 頤¹⁾ 謝 慶 昌²⁾ 林 慧 玲³⁾

關鍵字：後熟、果皮顏色、果實病害

摘要：番木瓜果實在貯運過程中容易產生病害，造成損耗，而肉桂醛對於真菌性病害有抑制效果，故希望了解肉桂醛處理對'臺農二號'番木瓜果實貯藏期間的影響。番木瓜果實經 1000 倍肉桂醛處理使果皮顏色之 h° 值增加，對 L^* 值沒有明顯影響， b^* 值增加，可能因處理濃度過高導致病害發生更為嚴重；使過氧化物酶(Peroxidase, POD)活性在處理後 8 小時及 30°C 催熟 3 天後上升，於 25°C 後熟 3 天後下降；苯丙胺酸解胺酶(Phenylalanine ammonia lyase, PAL)活性於處理後 8 小時及 30°C 催熟 3 天後沒有差異，25°C 後熟 3 天後酵素活性顯著上升。

前 言

番木瓜(*Carica papaya* L.)為原產於熱帶美洲之多年生半草本熱帶果樹，為臺灣重要的經濟果樹之一，主要栽培品種為'臺農二號'，亦為國內具外銷潛力之品項(王，2005；李等，2012)。番木瓜果實不耐長時間的貯運，且採收後容易發生真菌性病害，因此需進行採後處理以控制病害的發生(李等，2012)。肉桂醛為食品添加物，常萃取自肉桂(*Cinnamomum verum* 或 *Cinnamomum cassia*)樹皮或葉片，前人研究(Xing, 2010；Ojaghian *et al.*, 2015)顯示肉桂醛處理能夠延緩或抑制園產品真菌性病害的發生，肉桂油處理能夠控制鮮切網紋甜瓜之氧化逆境，且 POD 酵素活性受到抑制(Carvalho *et al.*, 2016)，因此擬評估使用無食品安全疑慮之肉桂醛進行採後處理為控制番木瓜貯藏病害之效果。為了解肉桂醛處理對於番木瓜果實之影響，經由調查肉桂醛處理後於催熟前、30°C 催熟 3 天以及再經 25°C 後熟後之'臺農二號'番木瓜果皮轉色、抗氧化能力、抗氧化物質含量及抗氧化酶活性的變化，以了解肉桂醛處理對番木瓜病害控制的可行性，期能減緩番木瓜貯運期間之腐損比例。

-
- 1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。
 - 2) 國立中興大學園藝學系副教授。
 - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

材料及方法

一、材料來源

試驗材料來自高雄縣六龜鄉，邱氏果園（東經 120°37'34.54"，北緯 22°52'15.0"）栽培之果實。選取果皮 10-25% 轉色（一至兩溝黃）成熟度、果形大小相近、外觀完整、無機械傷害及病蟲害之果實進行試驗。

二、試驗方法

本試驗共進行一次，於 2016 年 4 月 29 日進行，番木瓜果實以玉桂油(cinnamon oil，而化企業股份有限公司)與介面活性劑(沙拉脫)以 10:1 比例混合成母液後，和水以體積比 1:1000 均質後對番木瓜果實進行處理，將番木瓜果實表面短暫浸漬於上述濃度肉桂醛水溶液中。番木瓜果實分為未經任何處理之對照組(CK)及 1000 倍肉桂醛處理組(CT)，以一顆果實為一重複，每處理 30 重複。處理後將果實套上舒果網，和電石(CaC₂)一起封入紙箱，置於 30°C 恆溫箱催熟 3 天後取出電石，分別於肉桂油處理後 8 小時、30°C 催熟 3 天後及 25°C 後熟 3 天後進行調查果皮顏色及果皮以液態氮固定，作為分析之用。一顆果實為一重複，每次調查 10 顆果實。

三、調查項目

(一)過氧化物酶(Peroxidase, POD)活性

參考 Johnson 及 Cunningham(1972)之方法。削下全果果皮並切碎，混合均勻後稱取 0.5 公克果皮組織加入 5mL 之 0.1M 磷酸緩衝溶液(pH 7.0)及適量海沙於冰浴中研磨，隨後於 4°C 以 20000 × g 離心 20 分鐘，用 Miracloth(Merck)過濾後，取上清液備用。

參考吳和謝(2013)之方法進行分析，分析時取 10μL 酶萃取液加入 200μL 含 3.6×10⁻³ M Guaiacol 之緩衝溶液(100 mL 0.1 M Phosphate buffer pH 6.0 加入 0.04 mL guaiacol)及 40 μL 去離子水，最後加入 20 μL 0.0135 M H₂O₂ 開始反應。以 Elisa Reader(BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω, Germany)測定 470nm 波長下 1 分鐘內之吸光值的變化，為酶萃取液 ΔA₄₇₀。空白組以 10 μL 之萃取緩衝溶液代替酶萃取液進行相關測定。

反應後產物之消光係數為 26.6 mM⁻¹cm⁻¹，POD 活性單位(unit)為每分鐘產生 1 μmol 的 tetraguaiacol。POD 活性計算： $POD \text{ 單位活性}(\text{units} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}) = \Delta A_{470} \div 26.6(\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}) \times 0.27(\text{反應體積, mL}) \div 0.794(\text{cm}) \times (5/0.01)(\text{稀釋倍數}) \div \text{g}(\text{鮮重}) \div 1(\text{分鐘})$ 。其比活性(units · mg⁻¹protein) = $POD \text{ 單位活性}(\text{units} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}) \div \text{酶萃取液總可溶性蛋白質含量}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$ 。

(二)苯丙胺酸解胺酶(Phenylalanine ammonia lyase, PAL)活性

參考 Zhou 等(2003)之方法，稱取 2g 果皮組織，加入 5mL 之 0.1M 硼酸緩衝溶液(pH 8.8) [含 5 mM b-mercaptoethanol、2 mM EDTA 及 1% PVPP] 及適量海沙於冰浴中研磨後，於 4°C 以 100 rpm 震盪一小時，隨後於 4°C 以 20000 × g 離心 20 分鐘，用 Miracloth(Merck)過濾後，取上清液備用。

分析時取 0.1 mL 酶萃取液，加入 2.9 mL 之 60 mM L-苯丙胺酸(溶於 0.1 M 硼

酸緩衝液)，於 40°C 以 100 rpm 震盪反應 1 小時後，加入 0.1 mL 6 N HCl 終止反應。以 Elisa Reader(BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω, Germany)測定 290 nm 波長之吸光值。空白組以 0.1 mL 之萃取液加入 2.9 mL 0.1 M 硼酸緩衝液進行相關測定。

PAL 活性計算：以 0-10 ppm 之 t- cinnamic acid 作標準曲線，換算 PAL 每小時產生之 t-cinnamic acid 濃度，PAL 酵素活性 = 樣品濃度 × (稀釋倍數) ÷ g(鮮重) ÷ 1(小時)。其比活性($\mu\text{g cinnamic acid hr}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}\text{protein}$) = PAL 活性($\mu\text{g cinnamic acid h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$) ÷ 酶萃取液總可溶性蛋白質含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。

(三)果皮顏色

果皮顏色同於貯藏前、30°C 催熟 3 天後及 25°C 後熟 3 天後測量；利用色差儀 (MiniScan®XE Plus, Model 4500S)測量 L*、a*、b*、C*、h°值。L*(lightness)值表示明亮度，100 為白色，0 為黑色；a*值表示紅綠程度，正值表示紅色，負值表示綠色；b*值表示黃藍程度，正值表示黃色，負值表示藍色；C*(chroma)值為彩度，由 $(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ 計算，數值越高表示顏色越濃；h°(hue angle)值為色相角，由 $\tan^{-1}(b^*/a^*)$ 計算，表示顏色色相變化，0 度為紅-紫色，90 度為黃色，180 度為藍-綠色，270 度為藍色。

(四)果實病害發生程度

番木瓜果實病害程度由目視判斷，視病害佔果實之表面積，訂定病害發生指數：病害發生面積 0%：0、1-20%：1、21-40%：2、41-60%：3、61-80%：4、81-100%：5，以每顆果實為重複數換算病害指數進行統計。

二、統計分析

將試驗結果以 SAS 9.3 軟體(Institute Inc., 2012)計算平均值，並利用 ANOVA 進行變方分析(analysis of variance)及最小顯著差異(least significant difference method, LSD)比較各處理間之差異顯著性。

結 果

一、過氧化物酶(Peroxidase, POD)活性

對照組在酵素活性的部分沒有隨著時間有所變化，但在比活性的部分呈現下降趨勢(圖 1)，處理組在活性及比活性部分皆呈現下降趨勢；處理組活性在催熟前及催熟後皆顯著高於對照組，在 25°C 後熟後則是以對照組顯著較高，比活性部分，僅催熟期間處理組活性顯著較高。

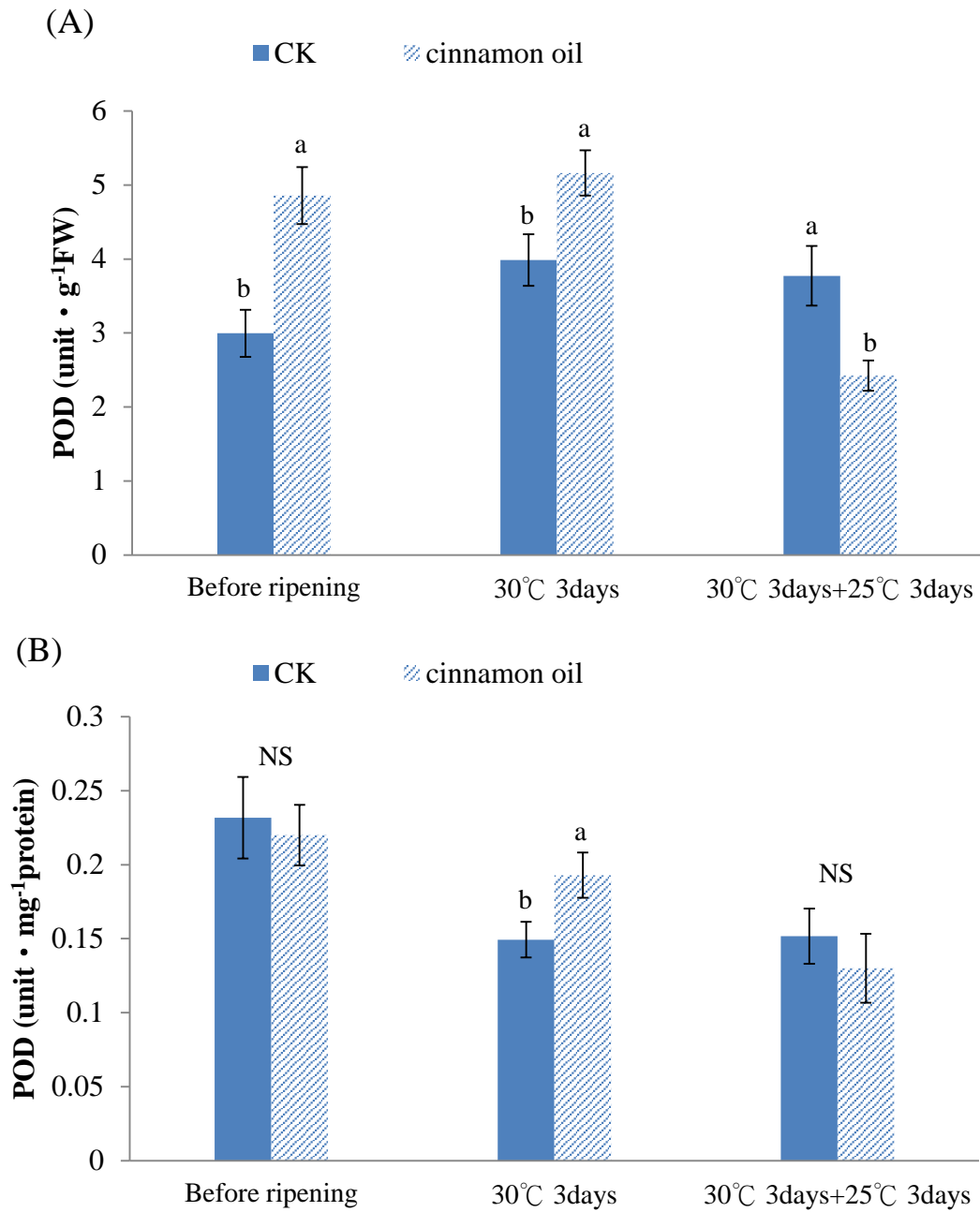


圖 1. 肉桂醛處理於催熟前、30°C 催熟 3 天，25°C 後熟 3 天對'臺農二號'番木瓜果皮過氧化物酶(A)活性及(B)比活性之影響。

Fig. 1. Effect of cinnamon oil treatment on the (A) peroxidase activity and (B) specific activity of 'Tainung NO. 2' papaya fruits peel during ripening. Mean separation was by LSD at $P \leq 0.005$.

二、苯丙胺酸解胺酶(Phenylalanine ammonia lyase, PAL)活性

PAL 酵素比活性皆隨時間遞增而下降，後熟 3 天處理組酶活性顯著高於對照組，處理組於催熟前比活性顯著高於處理組，在後熟 3 天後，肉桂醛處理組比活性顯著高於處理組(圖 2)。

三、果皮顏色

經肉桂醛處理後，番木瓜果實催熟後對照組之果皮明亮程度顯著高於處理組，催熟前及後熟後沒有顯著差異(表 1)；a*值有高於對照組趨勢，並於催熟 3 天及後熟之處理組顯著高於對照組；肉桂醛處理使果皮在催熟 3 天後 b*值顯著高於對照組，顯示肉桂醛處理使果皮轉色相對較快，於催熟後 3 天有較高轉色程度(圖 3)，且處理後果皮顏色較對照組更偏橘。

四、果實病害發生情形

肉桂醛處理相較於對照組有較高的病害指數，肉桂醛處理之果皮表面有較大病斑面積，呈現凹陷及些微水浸狀，於實驗終了時果實表面菌絲延展情形並不嚴重。

表 1. 肉桂醛處理後未風乾對'臺農二號'番木瓜果皮轉色之影響，果實處理後於催熟前、30°C 催熟 3 天，25°C 後熟 3 天進行調查

Table 1. Effect of cinnamon oil treatment on the peel color value of 'Tainung No. 2' papaya fruit. The fruits were ripen at 30°C for 3days following cinnamon oil treatment, then shelf at 25°C for 3days.

Treatment	L*	a*	Peel color value		
			b*	C*	h°
Before ripening					
Control	37.20a	-6.43a	23.90a	24.91a	106.29a
Cinnamon oil	37.55a	-6.80a	24.54a	25.71a	106.68a
30°C 3days					
Control	54.30b	11.51b	48.11b	49.60b	76.69a
Cinnamon oil	58.75a	19.326a	53.77a	57.24a	70.37b
30°C 3days+25°C 3days					
Control	55.38a	20.68b	52.61a	56.58a	68.41a
Cinnamon oil	54.96a	23.56a	51.66a	56.91a	67.81a

^z Mean separation within columns was by LSD at $P \leq 0.005$

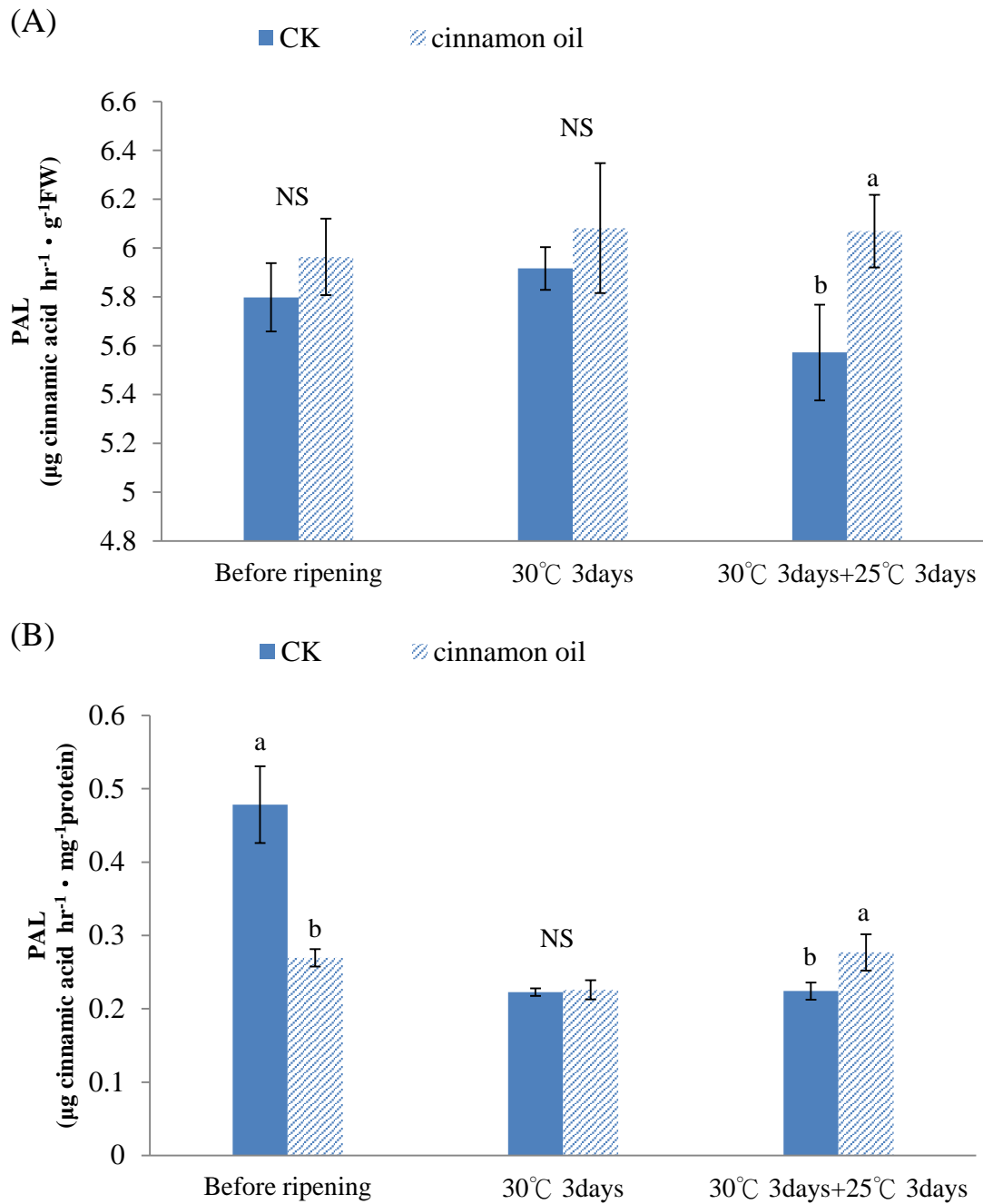


圖 2. 肉桂醛處理於催熟前、30°C 催熟 3 天，25°C 後熟 3 天對'臺農二號'番木瓜果皮苯丙氨酸解氨酶(A)活性及(B)比活性之影響。

Fig. 2. Effect of cinnamon oil treatment on the (A) phenylalanine ammonium-lyase activity and (B) specific activity of 'Tainung NO. 2' papaya fruits peel during ripening. Mean separation was by LSD at $P \leq 0.005$.

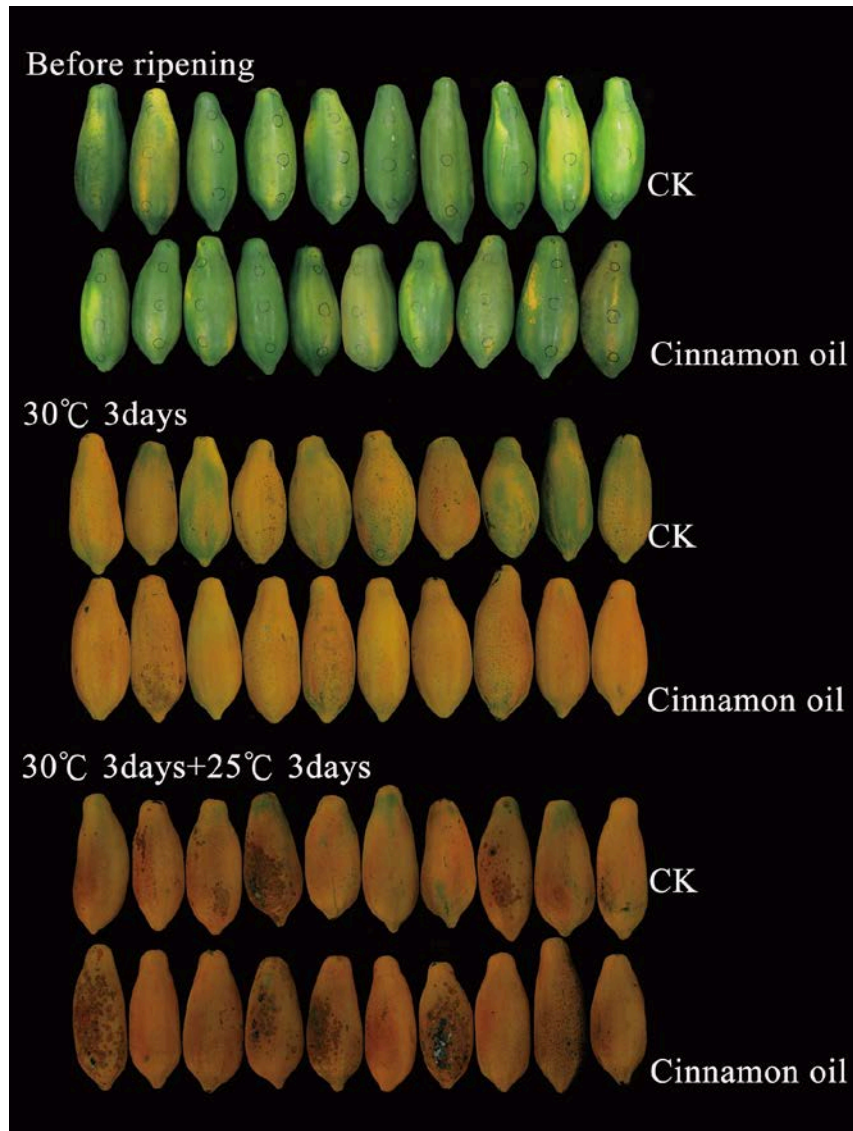


圖 3. 肉桂醛處理後風乾對'臺農二號'番木瓜果皮轉色之影響，果實處理後於催熟前、30°C 催熟 3 天後再置於 25°C 貯藏 3 天進行調查。

Fig. 3. Effect of cinnamon oil treatment on the peel color of 'Tainung No. 2' papaya fruit. The fruits were ripen at 30°C for 3days following cinnamon oil treatment, then put on shelf at 25°C for 3 days.

表 2. 肉桂醛處理於 30°C 催熟 3 天，25°C 後熟 3 天後對'臺農二號'番木瓜果實硬度、全可溶性固形物及病害指數之影響。

Table 2. Effect of cinnamon oil treatment on the fruit firmness, total soluble solid and disease index of 'Tainung NO. 2' papaya fruits.

Treatment	Firmness (N)	TSS (°Brix)	Disease index	Disease infection
30°C 3days+25°C 3days				
Control	7.96b ^z	8.66a	1.1b	100%
Cinnamon oil	8.99a	8.91a	1.89a	100%

^zMean separation within columns was by LSD at $P \leq 0.005$.

Disease index : Incidence area : 0% : 0、1-20% : 1、21-40% : 2、41-60% : 3、61-80% : 4、81-100% : 5。

討 論

經肉桂醛處理後，以 30°C 催熟 3 天加 25°C 後熟 3 天之番木瓜果實病害指數以處理組較高，並且以目視診斷病害種類以炭疽病發生較為嚴重，有部分果實發現輕微蒂腐病症狀，但沒有發現疫病病徵，果皮出現菌絲之面積較少，多為炭疽病之菌絲；對照組之果實雖發病面積較少，且也以炭疽病為主，但蒂腐病稍微較肉桂醛處理組嚴重，且炭疽病病斑分布區域有較多菌絲分布，因此推測肉桂醛處理對於疫病菌有抑制效果，但對於炭疽病及蒂腐病，對於菌絲生長能僅有部分抑制效果，但仍無法完全抑制病兆發生。

肉桂醛處理之番木瓜果實之亮度在催熟 3 天後亮度顯著高於對照組，且 a* 值部分也顯著高於對照組(表 1)，顯示肉桂醛處理後會使番木瓜果皮顏色偏向橘紅，且肉桂醛處理可能可以維持果皮亮度，與前人研究之洋菇(Gao *et al.*, 2014)與鮮切網紋香瓜(Carvalho *et al.*, 2016)之趨勢相同。過氧化物酶活性在催熟前及催熟 3 天後之酶活性顯著高於對照組，但在後熟 3 天後顯著低於對照組，Xing 等人於 2011 年指出，利用肉桂醛抑制甜椒病害時，過氧化物酶、超氧歧化酶和抗壞血酸過氧化物酶活性都有較高趨勢，對照本試驗之結果，抗氧化酶活性顯示在前期番木瓜果實尚未受病菌嚴重侵擾時，肉桂醛處理可能使果皮組織處於較低氧化逆境，而在後熟階段病害開始嚴重發生時，推測由於肉桂醛之抑菌效果在經過一段貯藏時間後可能逐漸失效，且稀釋 1000 倍之肉桂醛可能濃度過高，導致果皮受傷，因此後熟後病害較對照組更加嚴重。

苯丙氨酸解氨酶活性，催熟前之酶比活性顯著低於對照組，在後熟 3 天後顯著高於對照組，Shao 等人在 2013 年研究報告指出，茶樹精油抑制草莓真菌性病害時，PAL 酵素活性於處理前期高於對照組，Gao 等人以肉桂醛薰蒸洋菇處理也有相似趨勢(2014)，因此上述結果顯示肉桂醛處理使 PAL 活性於果實後熟時顯現較高趨勢，可能與肉桂醛處理濃度過高，造成果皮逆境有關。

參 考 文 獻

- 王德男。2005。番木瓜。台灣農家要覽農作篇(二)。財團法人豐年社。台北。pp.129-136。
- 吳庭嘉、謝慶昌。2013。溫湯及蒸熱聯合處理對'臺農二號'番木瓜果皮轉色、抗氧化物含量及抗氧化酶活性之影響。國立中興大學園藝學系研究所碩士論文。臺灣；臺中。62pp。
- 李文立、黃慶文、謝慶昌。2012。番木瓜。主要外銷果樹採後處理專刊。pp.31-40。
- Carvalho, R. L., M. F. Cabral, T. A. Germanoa, W. M. de Carvalhob, I. M. Brasil, M. I. Gallão, C. F. H. Moura, M. M. A. Lopes, and M. R. A. de Miranda. 2016. Chitosan coating with trans-cinnamaldehyde improves structural integrity and antioxidant metabolism of fresh-cut melon. *Postharvest Biol. Technol.* 113: 29-39.
- Gao, M., L. Feng, and T. Jiang. 2014. Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment. *Food Chem.* 149:107-113.
- Johnson, L. B. and B. A. Cunningham. 1972. Peroxidase activity in healthy and leaf-rust-infected leaves. *Phytochemistry.* 1: 547-551.
- Ojaghian, M. R., Q. Wang, X. Li, X. Sun, G. L. Xie, J. Zhang, F. H. Wei, and L. Wang. 2016. Inhibitory effect and enzymatic analysis of E-cinnamaldehyde against sclerotinia carrot rot. *Pestic. Biochem. Physiol.* 127: 8-14.
- Shao, X., H. Wang, F. Xu, and S. Cheng. 2013. Effects and possible mechanisms of tea tree oil vapor treatment on the main disease in postharvest strawberry fruit *Postharvest Biol. Technol.* 77: 94-101.
- Xing, Y., Xihong. Li, Q. Xu, J. Yun, and Y. Lu. 2010. Antifungal activities of cinnamon oil against *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium expansum* in vitro and in vivo fruit test. *Intel. J. Food Sci. Technol.* 45: 1837-1842.
- Xing, Y., Xihong. Li, Q. Xu, J. Yun, Y. Lu, and Y. Tang. 2011. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Food Chem.* 124: 1443-1450.
- Zhou, Y., J. M. Dahler, S. J. R. Undrhill, and R. B. H. Wills. 2003. Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. *Food Chem.* 80: 565-572.

Effect of Cinnamaldehyde on the Peel Color Turning and Peroxidase and Phenylalanine Ammonia Activity of 'Tainung No. 2' Papaya Fruit

Chia-Yi Chou¹⁾ Ching-Chang Shiesh²⁾ Huey-Ling Lin³⁾

Key words: Ripening, Peel color, Fruit disease

Summary

Papaya fruits are susceptible to disease damage which causes commercial loss during storage, transporting and marketing. Cinnamaldehyde has reported to inhibit fungal diseases therefore the main goal of this study is to understand the effect of cinnamaldehyde on the fruit quality of 'Tainung No. 2' papaya. Papaya fruits dipped with cinnamaldehyde improved fruit peel h° color, but cause higher disease severity. Peroxidase activity of fruit peel increase 8 hours after dipping but decreased three days after ripening at 30°C. Phenylalanine ammonia lyase activity of fruit peel was not significantly different between treatment and control during ripening at 30°C but increased thereafter when fruits were transferred to 25°C for three days.

1) Student in M.S. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Associate Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

Corresponding author.