

'珍珠拔'番石榴幼果採後乙烯生合成與褐化 相關性之探討

林 蒂 盈¹⁾ 謝 慶 昌²⁾

關鍵字：番石榴、幼果、乙烯、褐化

摘要：本試驗調查花後 2 週'珍珠拔'番石榴果實之乙烯釋放率變化與果實褐化過程中成分及酵素活性變化。花後 2 週之'珍珠拔'果實在採收第 1 天會有較高之乙烯釋放率，第 2 天下降後逐漸升高，至第 4 天達到高峰之後下降，果實則在第 5 天開始褐化，至第 6 天完全褐化。果實 phenylalanine-amino lyase (PAL)活性在採收第 1 天較高，而在其後數天維持穩定，而總酚類在果實中的含量達鮮重之 0.8-0.9%，並在褐化開始產生之採收第 5 天開始下降，並於第 6 天果實完全褐化時大幅減少，可溶性蛋白的變化趨勢與總酚類化合物相似，推測在褐化開始發生時會做為基質而被消耗。總游離胺基酸含量則在採收後逐漸升高，並於採收第 4 天及第 5 天升至最高，此時乙烯釋放率也較高，而 peroxidase (POD)及 polyphenol oxidase (PPO)活性也在第 4 天時有偏高之趨勢，而在褐化過程中逐漸下降，推測 POD 及 PPO 之作用為累積褐化物質之前驅物，而在細胞在老化過程中區隔作用消失後使褐化開始產生。

前 言

番石榴 (*Psidium guajava* L.)，為原產於熱帶美洲之秘魯、墨西哥一帶的多年生常綠灌木，目前於熱帶及亞熱帶地區均有栽培，為台灣重要之經濟果樹之一 (張，2011)，其中'珍珠拔'為非更年性番石榴品種，其口感及風味廣受消費者喜愛，為現今台灣番石榴最主要之品種，105 年農產品批發交易行情站的資料中，番石榴交易量約為 4.8 萬噸，其中'珍珠拔'便占了 3.5 萬噸，為台灣番石榴最大宗之品種。

果實依其呼吸形式及乙烯生合成之變化可區分為更年型果實及非更年型之果實，不同

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，通訊作者。

品種番石榴便具有不同之特性，如'梨仔拔'、'中山月拔'屬於更年型，而'世紀拔'、'水晶拔'、'珍珠拔'則屬於非更年型品種 (林，1998；黃，2002；王，2008)，非更年型品種因其耐儲運之特性，屬於市場上農民較多栽培之品種，而在非更年型果實中，在幼果期常具有擬更年型之現象 (林，1998；Eaks, 1970；Katz *et al.*, 2004)，而在果實生長之過程中則逐漸喪失乙烯生合成能力，轉為非更年型果實，如'珍珠拔'番石榴果實在成熟後，雖具有乙烯大量生合成調控之基因，但其為不表現之狀態，因此果實並無乙烯大量生合成之機制出現 (陳，2009)。

而於黃 (2002)及王 (2008)的報告中則皆有非更年型番石榴在幼果期會具有擬更年型現象，並且伴隨果實褐化之現象。本文擬探討'珍珠拔'果實褐化過程中乙烯釋放及果實中之成分變化情況，以了解此現象與乙烯之關聯性。

材 料 與 方 法

一、試驗材料與取樣

材料取自中興大學園藝試驗場葡萄中心之'珍珠拔'番石榴為材料，果園管理依照一般農民之栽培方法，於每週標記當日盛花之花朵，並於兩週後採取標記之果實，果實保留約 3 cm 之果梗並於採後立即將果梗置於含有去離子水之鮮花保鮮管中以減少果實採下當時之失水狀況，並將其迅速送回實驗室，後將果實連同保鮮管置於 1 公升大小之呼吸缸，並通以加濕之空氣，於採後第 1 至第 6 日 (採樣當日視為第 1 日)隨機選取數顆果實，測定果實顏色，並將果實以液態氮進行固定，貯存於-20°C 之凍箱中，之後進行總酚類化合物、可溶性蛋白、總游離胺基酸及 ACC 含量，以及測定過氧化物酶、多酚氧化酶及苯丙胺酸脫氨裂解酶之活性。

二、試驗方法

(一)果實乙烯釋放率及呼吸率

將採取之果實秤重後分別置入 1 公升之呼吸缸中，通以經加濕之空氣，流速調整為每小時 1 公升，並每日自出氣口以 1 ml 塑膠針筒抽取氣體樣品測定二氧化碳及乙烯濃度，測量以採收當日為第一日，持續測量至果實完全褐化或產生腐爛為止。二氧化碳以紅外線二氧化碳分析儀 (IR-analyzer, Maihak, UNOR610)測定，計算其呼吸率，單位為 mL CO₂/Kg·Hr。乙烯以氣相層析儀 (gas chromatograph, Shimadzu. Model GC-8A)並以火焰離子檢出器 (FID)測定，再由乙烯濃度換算出乙烯釋放率，單位為 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4/\text{Kg}\cdot\text{Hr}$ 。

(二)果實顏色之測定

以手持式色差儀 (Hand-held colorimeter, Nippon Denshoku Model NR-3000)於果實赤道處測定果皮顏色，並將果實垂直對切後測取果肉顏色，每果測定兩點，共測定五果，顏色以 L*、a*、b*、C*、h° 表示。

(三)總酚類化合物 (total phenolic compound)含量測定

依 Keith 等人 (1958)之方法，取 0.5 g 之新鮮果肉置於研鉢後，加入 5 mL 之 0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0)及少許海砂，於冰浴中將樣品磨碎後倒入離心管中，在 4°C 下以 20000×g 離心 20 分鐘，取過濾之上清液備用，取 0.1 mL 之上清液稀釋至 1 mL，後依序加入 0.1 mL 之 Folin-ciocaltus reagent、0.2 mL 之 20% Na₂CO₃及 8.7 mL 之去離子水，均勻混和後於沸水中煮 3 分鐘，取出冷卻後以 Elisa reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω, Germany)測定在波長 660 nm 下之吸光值。標準曲線以 100 ppm caffeic acid 配製。單位為 mg/g。試驗五重複，每重複為一果。

(四)可溶性蛋白 (soluble protein)含量測定

取 0.5 g 之新鮮果肉置於研鉢後，加入 5 mL 之 0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0)及少許海砂，於冰浴中將樣品磨碎後倒入離心管中，在 4°C 下以 20000×g 離心 20 分鐘，取過濾之上清液備用，取 0.1 mL 上清液稀釋至 1 mL，加入 5 mL 含有 2g 碳酸鈉、1 mL 2% 酒石酸鉀、1 mL 1% CuSO₄·5H₂O、10mL 1N NaOH 及 90 mL 去離子水之 Reagent A 溶液，震盪後靜置 10 分鐘，後加入 0.5 mL 之 50% Folin-ciocaltus reagent，震盪後靜置 30 分鐘後以 Elisa reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω, Germany)測定在波長 660 nm 下之吸光值。標準曲線以 0.25 mg/mL 之小牛血清蛋白(BSA)配製。單位為 mg/g。試驗五重複，每重複為一果。

(五)總游離胺基酸 (Total free amino acid)含量測定

取 0.5 g 之新鮮果肉置於研鉢後，加入 5 mL 之 0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0)及少許海砂，於冰浴中將樣品磨碎後倒入離心管中，在 4°C 下以 20000×g 離心 20 分鐘，取過濾之上清液備用，取 0.1 mL 上清液稀釋至 1 mL，加入 1 mL 之 ninhydrin reagent，震盪後置入沸水中反應 10 分鐘，取出冷卻後加入 5 mL 之 color diluent，以 Elisa reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω, Germany)測定在波長 570 nm 下之吸光值。標準曲線以 1 mM 之 α -alanine 配製。單位為 mmol α -alanine/g。試驗五重複，每重複為一果。

(六)過氧化物酶 (peroxidase)活性測定

採用 Guaiacol (Johnson and Cunningham,1972)之分析法，秤取 0.5 g 之新鮮果肉並置於研鉢中，加入 5 mL 之 0.1 M 磷酸緩衝液(pH 7.0，含 1% PVP 及 0.25% Triton)及少許海砂，於冰浴中將樣品磨碎後倒入離心管中，在 4°C 下以 20000×g 離心 20 分鐘，取過濾之上清液備用。分析時依序於比色管中加入 2 mL 含有 3.6×10⁻³ M 之 Guaiacol 緩衝溶液(100 mL, 0.1 M 之磷酸緩衝溶液中加入 0.04 mL 之 guaiacol, pH 6.0)、0.4 mL 去離子水、0.2 mL 0.0135 M H₂O₂及 0.1 mL 之酵素萃取液，迅速混合後放入分光光度計 (Shimadzu UV-200S)，以記錄器 (Recorder)記錄在 470 nm 波長下之反應吸光值之變化，並計算 0-60 秒內之反應速率。單位以 $\Delta A/\text{min}/g \cdot \text{FW}$ 表示。試驗四重複，每重複為一果。

(七)多酚氧化酶 (polyphenol oxidase)活性測定

依 Lee and Smith (1979)之方法，秤取 0.5 g 之新鮮果肉並置於研鉢中，加入 5 mL 之

0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0, 含 1% PVP 及 0.25% Triton) 及少許海砂, 於冰浴中將樣品磨碎後倒入離心管中, 在 4°C 下以 20000×g 離心 20 分鐘, 取過濾之上清液備用。分析時依序於比色管中加入 1.9 mL pH 8.0 之磷酸緩衝液、0.2 mL 0.5 M 之 Catechol 及 0.1 mL 之酵素萃取液, 迅速混合後放入分光光度計 (Shimadzu UV-200S), 以記錄器 (Recorder) 記錄在 420 nm 波長下之反應吸光值之變化, 並計算 0-60 秒內之反應速率。單位以 $\Delta A/\text{min}/\text{g}\cdot\text{FW}$ 表示。試驗四重複, 每重複為一果。

(八) 苯丙氨酸脫氨裂解酶 (Phenylalanine ammonia-lyase, PAL) 活性測定

參考 Cheng and Breen(1991) 之方法, 取新鮮果肉 1 g 加入 5 ml 0.1N 硼酸緩衝液 (含 1% PVP、2 mM EDTA 及 2-mercaptoethanol, pH 8.8) 及少許海砂, 於冰浴中將樣品磨碎後倒入離心管中, 置於 4°C 下以 100 rpm 震盪 1 小時, 再於 4°C 下以 20000×g 離心 20 分鐘, 取過濾之上清液備用。分析取上清液 0.1 mL 加入 2.9 mL 30 mM l-phenylalanine 均勻混合後以 40°C 水浴反應 1 小時, 另有一組為 0.1 mL 上清液加入 2.9 mL 0.1 N 硼酸緩衝液為對照, 反應後迅速加入 0.1 mL 6 N HCl 終止反應, 以 Elisa reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω , Germany) 測定在波長 290 nm 下之吸光值。標準曲線以 10 ppm t-cinnamic acid 配製。單位為 mg t-cinnamic acid/Hr/g·FW。試驗四重複, 每重複為一果。

結 果

一、果皮顏色變化

花後 2 週'珍珠拔'果實採收後果皮顏色變化如表 1 所示, 其 L* 值所顯示之亮度在採收後第 1 至 4 天時並無顯著之差異產生, 而在採後第 5 天時開始降低, 至第 6 天時降至 29.90; a* 值、b* 及 C* 值之變化趨勢類似於 L* 值, 採收後至第 4 天並無顯著之差異產生, 至第 5 日起開始產生變化, 至第 6 日 a* 值由負值轉為正, 顯示顏色由綠色轉為偏紅色, 而 b* 值則是 20.84 降低至 5.47, C* 值也在採後第 6 天降低至 6.69, 色相角 h° 則可看出果皮之顏色在前 4 日為綠色, 至第 5 天產生變化, 至第 6 天則已轉變為黃色, 綜合以上個數值之變化, 可以發現'珍珠拔'果實在採收後前 4 天之果皮顏色皆維持綠色, 至第 5 天開始有顏色變化, 至第 6 天時顏色轉變為暗紅褐色。

二、乙烯釋放率及呼吸率變化

乙烯釋放率及呼吸率變化如圖 1 所示, 採收當日有較高之乙烯釋放率及呼吸率出現, 於隔日下降, 並在第 3 天升高, 後於第 4 天達到高峰, 乙烯釋放率達到 11.47 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4/\text{Kg}\cdot\text{Hr}$, 其後便開始下降, 呼吸率也於第 4 天達高峰後下降。

三、總酚類化合物

總酚類化合物含量變化如圖 2 所示, 在採收後第 1 天的總酚類含量約在 8.72 mg/g·FW, 採收後第 1 至第 4 天的總酚類含量在統計上並無顯著性差異, 而趨勢上是略微減少的, 至

採收後第 5 天則有顯著的減少，降低至 6.18 mg/g·FW，此時果實呈現略微褐化之狀態，至採收後第六天之總酚類含量則明顯降至極低，僅有 0.70 mg/g·FW，此時果實則呈現完全褐化之狀態。

表 1. 花後二週'珍珠拔'果實採收後果皮顏色變化

Table 1. Changes in peel color of 'Jen-Ju Bar' guava fruits harvested at 2 weeks after anthesis.

Days after harvest	Peel color				
	L*	a*	b*	C*	h°
1	39.89 a ^z	-9.54 c	20.84 a	22.93 a	114.84 ab
2	38.08 a	-10.08 c	20.87 a	23.18 a	115.91 a
3	39.41 a	-9.64 c	20.17 a	22.37 a	115.72 a
4	39.76 a	-9.14 c	21.22 a	22.67 a	109.81 b
5	34.56 b	-0.04 b	13.16 b	13.31 b	89.33 c
6	29.90 c	3.80 a	5.47 c	6.69 c	55.28 d

zMeans with the same letter in column are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

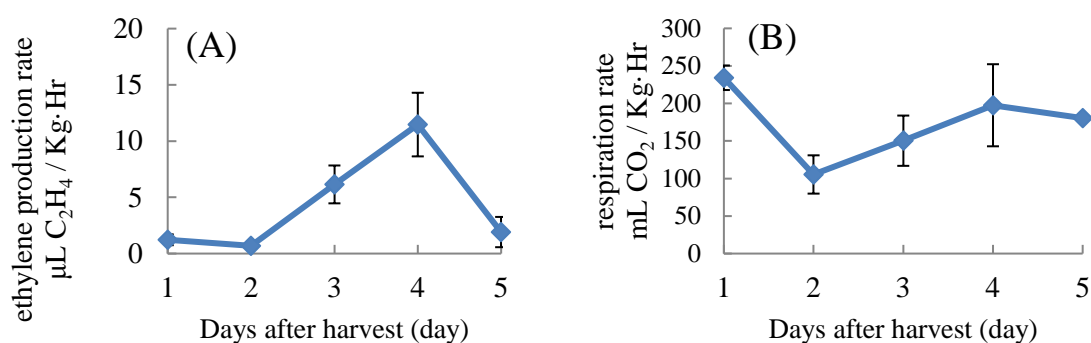


圖 1. 花後 2 週'珍珠拔'番石榴乙烯釋放率(A)及呼吸率(B)變化。

Fig. 1. Changes in ethylene production rate (A) and respiration rate (B) of 'Jen-Ju Bar' guava fruits harvested at 2 weeks after anthesis.

四、可溶性蛋白

圖 3 顯示可溶性蛋白含量變化，第 1 天之含量 (24.69mg/g·FW)與第 2 至第 4 天的含量並無顯著差異，第 2 天之含量則略高於第 3 至 4 天，至採收後第 5 天則明顯下降至 17.47 mg/g·FW，第 6 天則降低至 2.35 mg/g·FW，明顯低於前 5 天之含量。

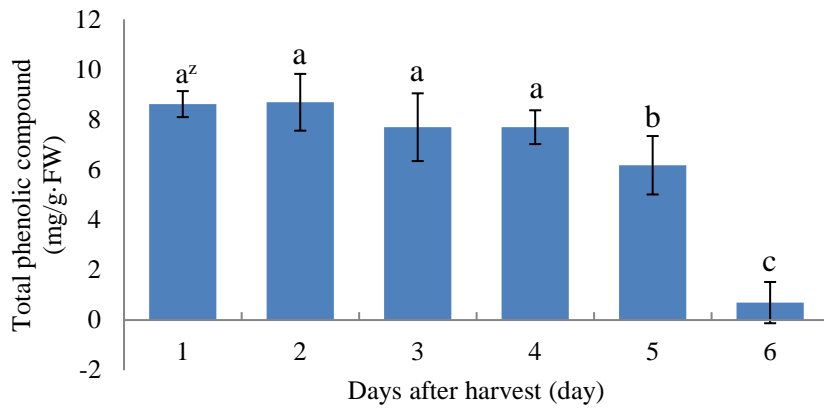


圖 2. 花後二週'珍珠拔'果實採收後總酚類化合物之變化。

Fig. 2. Changes in total phenolic compound content of 'Jen-Ju Bar' guava fruits harvested at 2 weeks after anthesis. The vertical bars represent \pm SD of the means (n = 5).

^zMeans followed by the same letter are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

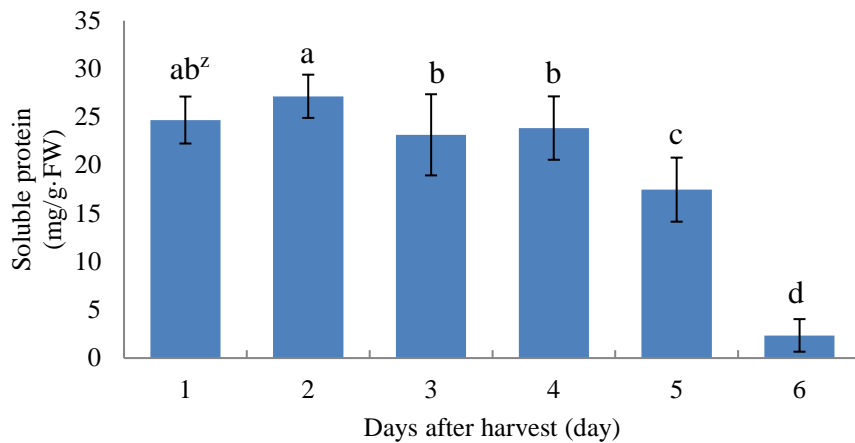


圖 3. 花後二週'珍珠拔'果實採收後可溶性蛋白含量之變化。

Fig. 3. Changes in soluble protein content of 'Jen-Ju Bar' guava fruits harvested at 2 weeks after anthesis. The vertical bars represent \pm SD of the means (n = 5).

^zMeans followed by the same letter are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

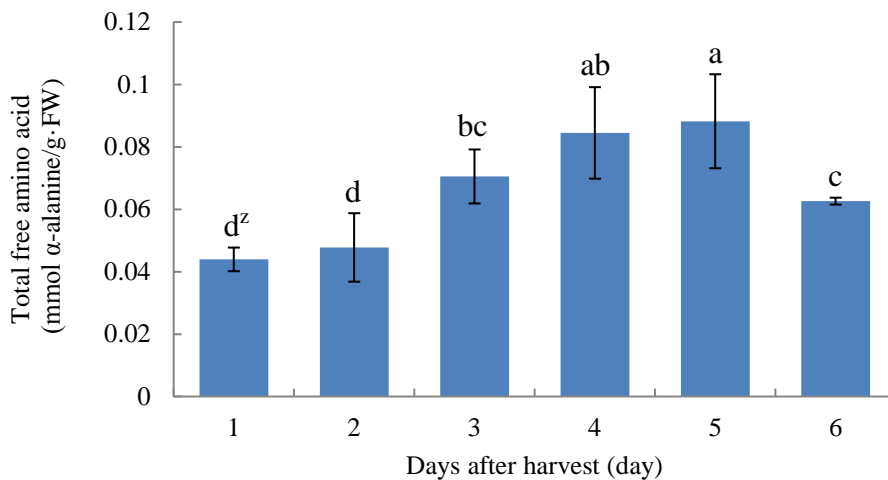


圖 4. 花後二週'珍珠拔'果實採收後總游離胺基酸含量之變化。

Fig. 4. Changes in total free amino acid content of 'Jen-Ju Bar' guava fruits harvested at 2 weeks after anthesis. The vertical bars represent \pm SD of the means (n = 5).

^zMeans followed by the same letter are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

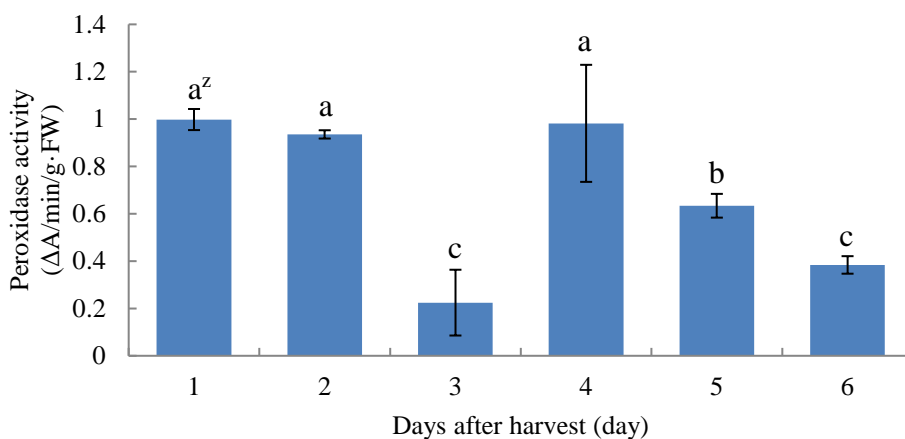


圖 5. 花後二週'珍珠拔'果實採收後過氧化物酶活性之變化。

Fig. 5. Changes in peroxidase activity of 'Jen-Ju Bar' guava fruits harvested at 2 weeks after anthesis. The vertical bars represent \pm SD of the means (n = 4).

^zMeans followed by the same letter are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

五、總游離胺基酸

總游離胺基酸含量變化如圖 4 所示，在採後第 1 及第 2 天時含量偏低，第 1 天之含量為 0.04 mmol alanine/g·FW，其後逐漸上升，至採後第 5 天時含量達最高，為 0.09 mmol alanine/g·FW，至採後第 6 天時則降低至 0.06 mmol alanine/g·FW。

六、過氧化物酶活性變化

過氧化物酶的活性在'珍珠拔'番石榴採收後第 1、2 及 4 天時的活性相似 (圖 5)，皆在 1.0 $\Delta A/\text{min}/\text{g}\cdot\text{FW}$ 左右，而第 3 及第 6 天則偏低，分別為 0.22 及 0.38 $\Delta A/\text{min}/\text{g}\cdot\text{FW}$ ，第 5 天則略低於第 4 天，活性為 0.63 $\Delta A/\text{min}/\text{g}\cdot\text{FW}$ 。

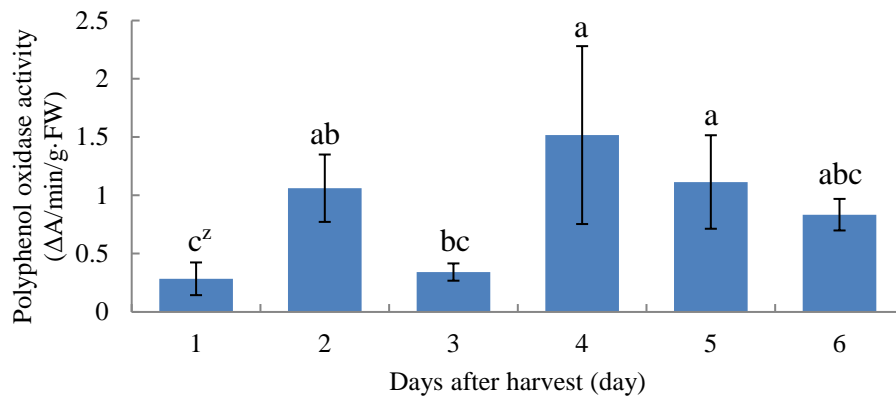


圖 6. 花後二週'珍珠拔'果實採收後多酚氧化酶活性之變化。

Fig. 6. Changes in polyphenol oxidase activity of 'Jen-Ju Bar' guava fruits harvested at 2 weeks after anthesis. The vertical bars represent \pm SD of the means (n = 4).

^zMeans followed by the same letter are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

七、多酚氧化酶活性變化

多酚氧化酶活性變化如圖 6，採收第 1 天時活性偏低，僅 0.28 $\Delta A/\text{min}/\text{g}\cdot\text{FW}$ ，而在第 2 天時略微升高，至採後第 3 天又再降至與第 1 天類似，而至採後第 4 後升高至 1.51 $\Delta A/\text{min}/\text{g}\cdot\text{FW}$ ，第 5 及第 6 天有較第 4 天略微減少，但仍其活性仍是偏高的。

八、苯丙胺酸脫氨裂解酶活性變化

圖 7 所示為苯丙胺酸脫氨裂解酶活性變化，在採收第 1 天其活性呈現最高的狀態，活性為 62.75 mg t-cinnamic acid/Hr/ g·FW，而在第 2 天後下降至 35.08 mg t-cinnamic acid/Hr/ g·FW，其後數天至採後第 6 天果實完全褐化時期酵素活性皆無明顯之變化產生，皆維持在 35-40 mg t-cinnamic acid/Hr/ g·FW。

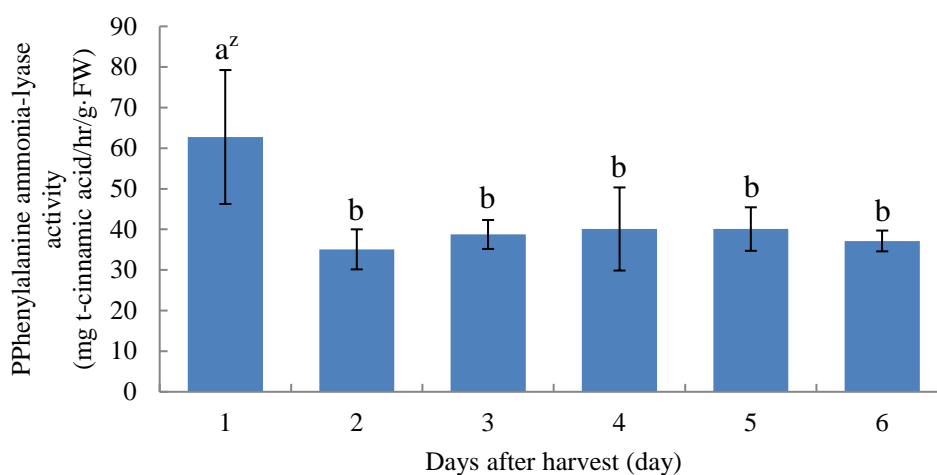


圖 7.花後二週'珍珠拔'果實採收後苯丙胺酸脫氨裂解酶活性之變化。

Fig. 7. Changes in Phenylalanine ammonia-lyase activity of 'Jen-Ju Bar' guava fruits harvested at 2 weeks after anthesis. The vertical bars represent \pm SD of the means ($n = 4$).

^zMeans followed by the same letter are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

討 論

一、花後 2 週'珍珠拔'番石榴採收後果皮顏色變化與乙烯釋放率及呼吸率變化

黃 (2002)調查'水晶拔'及'梨仔拔'花後 30 日之幼果果皮顏色變化，果皮在採收後 4 日開始由深綠色轉為紅褐色，而本試驗中，果實則在採收第 1-4 日無顯著變化，至第 5 日顏色開始轉變，與黃 (2002)之變化情況類似，且褐化之反應相當迅速，前 4 天尚無變化產生，第 5 日時果實開始褐變，此時果實外觀多呈現半褐之狀態，至第 6 日實果實便完全褐化，表示果實之褐化反應約在一天內即完全褐化。而對照乙烯釋放率變化，花後 2 週之果實乙烯釋放率及呼吸率約在採後第 4 天達到高峰，與果皮開始出現變化之時間點相同，並於高峰過後，果實便快速褐化，因此有可能是因乙烯的大量產生會加速褐化之反應進行。

二、花後 2 週'珍珠拔'番石榴採收後之組成分變化

本試驗調查總酚類化合物、可溶性蛋白及游離胺基酸含量變化，其中總酚類化合物被認為是褐化反應中之基質 (Robards *et al.*, 1999)，而可溶性蛋白則常是植物遭受逆境之檢測指標，如 Hurng 及 Kao (1993)指出在煙草於淹水逆境下其葉片中之可溶性蛋白含量會下降。胺基酸則是組成蛋白質的基本物質，並且能夠調整植物之滲透壓，且在逆境下游離胺基酸也可作為呼吸作用之基質，而在淹水逆境下，游離胺基酸則作為滲透調節物質而有增加的趨勢 (林，2009)，且植物體在缺鉀時也會產生大量游離胺基酸以平衡滲透壓 (Smith,

1973)。另 Concellon 等人 (2004)則敘述在褐色物質生成時會先經由 PPO 生成 o-diphenols，而此物質相當不穩定，會迅速與蛋白質及胺基酸產生聚合反應，並生成褐色之物質。

在本試驗中，總酚類化合物與可溶性蛋白之變化趨勢相似，在採收第 1-4 天時皆沒有顯著的變化產生，而在第 5 日時開始下降，至第 6 日則大量減少，此二物質之變化趨勢較支持 Concellon 等人 (2004)之敘述，在果實完全褐化之第 6 日，可能因果實內之酚類化合物在經過 PPO 反應後，生成之物質與可溶性蛋白產生反應，並形成褐色物質導致果實產生褐化，因此在褐化開始發生時總酚類化合物及可溶性蛋白之含量皆有下降，至果實完全褐化時則使總酚類化合物及可溶性蛋白的含量大幅下降，而'珍珠拔'番石榴幼果中含有大量之總酚類化合物，在 Dhillon 等人 (1987)的報告中，其濃度可達鮮重之 0.6-1.1%，在細胞區隔作用消失後便可能產生大量褐化，本試驗中之總酚類化合物含量可達鮮重之 0.8-0.9%，含量也相當高，將果實對切後其切面會在數分鐘內便褐化，可知在番石榴幼果中當細胞受到破壞時便會迅速褐化。而總游離胺基酸含量變化則是在前 2 天較低，後逐漸升高至第 4 及第 5 天時含量最高，後於第 6 天下降，游離胺基酸作為能夠穩定滲透壓之物質，在逆境或鉀缺乏之情況下都有可能增加 (林，2009；Smith, 1973)，在'珍珠拔'番石榴幼果採收後，果實內部之物質可能有不穩定之狀況發生，對於果實產生類似逆境之反應，因此導致游離胺基酸的含量增加。

三、花後 2 週'珍珠拔'番石榴採收後之酵素活性變化

本試驗調查 POD、PPO 及 PAL 之活性變化，PAL 被認為是合成酚類化合物的前驅物，如鳳梨在低溫貯藏的期間，PAL 的活性會增加，為褐化反應提供了基質而導致鳳梨黑心病 (Zhou *et al.*, 2003)，而 PPO 及 POD 則被認為是與褐化相關之酵素 (Robards *et al.*, 1999；Zhang *et al.*, 2005)，如在荔枝果皮中，POD 的活性與褐化程度呈現正相關 (Zhang *et al.*, 2005)，而鳳梨的黑心病病徵也與 PPO 之活性呈正相關 (Zhou, *et al.*, 2003)，而不同品種之圓筒絲瓜中，PPO 活性較高以及酚類化合物累積較多的品種在截切過程中也較易褐化 (張等人，2010)，Olivera 等人 (1994)比較刺番荔枝果實褐化與酚類化合物、PPO 活性之相關性，酚類化合物與褐化之相關性為 $r = 0.647$ ($\rho < 0.05$)，PPO 活性與褐化之相關性則為 $r = 0.817$ ($\rho < 0.01$)。而'水晶拔'番石榴幼果褐化過程中會先有酚類化合物的累積，而 PPO 及 POD 活性則較無明顯變化 (黃，2002)。

本試驗中 PAL 之活性於採後第一天有較高之活性，其後第 2-6 天 PAL 之活性則維持一定之水平，並沒有顯著的變化出現，僅採後第 4 天活性有略微提高，但並沒有顯著之差異產生，對照總酚類化合物含量之變化，可發現果實總酚類化合物含量在第 1 天即有大量累積，後續則無明顯變化，推測在採收當下果實內部可能產生了逆境反應，會刺激乙烯釋放率以及呼吸率在採收第 1 天有些微增加，在此時可能有增加了 PAL 之活性以及酚類化合物累積，而後續數天則維持其活性在一個穩定之水平，Lafuente 等人 (2001)指出施用乙烯可誘導'Fortune'柑橘之 PAL 活性於 4 天後升高，在本試驗中乙烯大量生成於第 4 天產生，然而果實於第 6 天時即完全褐化，可能因此無法觀察到由乙烯誘導之 PAL 活性增加的情

況，而導致果實產生褐化之酚類化合物累積則可能於採收第 1 天即有累積，而後續至褐化時將酚類化合物消耗而形成褐色物質。

本試驗中 POD 之活性除採收第 3 天時活性較低外，在採後第 1-4 天皆維持一定之活性，而在第 5 及第 6 日逐漸降低，PPO 活性變化趨勢也類似，僅第 1 及第 3 天之活性較低，兩者皆在採後第 4 天有偏高的活性，黃 (2002) 調查'水晶拔'幼果褐化及相關酵素活性，則發現 POD 及 PPO 之在果實採收後大致維持平穩之狀態，並沒有因褐化之產生而有變化，本試驗中之 PPO 及 POD 活性在第 4 天有偏高，但並無顯著性之差異，Massoloa 等人 (2011) 以乙烯抑制劑處理 20°C 貯藏之茄子後其 POD 及 PPO 活性化降低，而在低溫貯藏的蘋果則在處理乙烯抑制劑後導致 PPO 活性增加 (Jung and Watkins, 2011)，推測在逆境之情況下(如低溫逆境)，乙烯能夠誘導植物產生逆境的防禦措施，因此低溫貯藏之蘋果施用乙烯抑制劑會使果實寒害情況更嚴重，而在非逆境狀態下之茄子則在處理乙烯抑制劑後使 POD 及 PPO 活性下降，可以推測乙烯可以調控此類酵素活性，但並非唯一可調控之物質，本試驗中之 PPO 及 POD 活性在乙烯釋放率最高的第 4 日僅有略微上升，而在褐化變化較明顯之第 5 及第 6 日則活性降低，黃 (2002) 認為'水晶拔'果實褐化與此二酵素活性變化較無相關，應為細胞區隔作用消失導致褐化產生，推測本試驗中果實在第 4 天乙烯上升的同時，細胞可能已老化或受損，此時 PPO 及 POD 活性偏高，反應並累積了較多褐化物質之前驅物，導致後續的褐化反應快速且大量出現，使果實在第 5 及第 6 天快速褐化，而此時 PPO 及 POD 活性雖下降，但前期反應所累積的物質應是導致褐化產生的因素。

統合以上之結果，可發現花後 2 週之'珍珠拔'番石榴幼果在採收第 1 天會有乙烯釋放及呼吸率略微提高之現象，此時也具有較高的 PAL 活性，細胞內之總酚類化合物含量可能在此時即累積，而在採後第 2 及第 3 天時仍維持穩定，但在第 4 天時果實內部可能遭受逆境反應或細胞老化受損之狀況，此時乙烯的釋放率提高，游離胺基酸的含量也有提升，而 PPO 及 POD 活性有些微提升，同時細胞可能受損而使區隔作用消失，導致褐化反應進一步發生，至第 5 及第 6 天時便產生劇烈的褐化反應，此時酵素活性降低，而總酚類化褐物及可溶性蛋白也因褐化物質的產生而被消耗掉導致含量減少，果實便完全褐化。

參 考 文 獻

- 王歆婷。2008。套袋對珍珠拔番石榴果實發育期間生理特性及果膠酵素活性之影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。87pp.。
- 林宛螢。2009。油菜植株於淹水逆境下生長及生理反應。國立中興大學園藝學系碩士論文。73pp.。
- 林慧玲。1998。番石榴果實後熟生理之研究。國立台灣大學園藝學研究所博士論文。255pp.。

- 張明郎。2011。番石榴產業發展現況。番石榴栽培技術與經營管理研討會論文輯特刊 108 號。pp1-9。
- 張茂鴻、柯立祥、戴順發。2010。圓筒絲瓜果實多酚氧化酵素、過氧化酵素活性及總酚類化合物含量之研究。台灣農學會報 11(2): 131-149。
- 陳國恩。2009。不同後熟特性番石榴品種 ACC 合成酶 cDNA 選殖與分析。國立台灣大學生物資源暨農學院園藝學研究所碩士論文。137pp。
- 黃瑞華。2002。'水晶拔'葉片無機養分周年變化及果實後熟生理之研究。國立中興大學園藝學系碩士論文。101pp。
- Cheng, G. W. and P. J. Breen. 1991. Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116: 865-869.
- Concellon, A., M. C. Anon, and A. R. Chaves. 2004. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. Food Chem. 88: 17-24.
- Dhillon, B. S., S. N. Singh, G. S. Kundal, and P. P. S. Minhas. 1987. Studies on the developmental physiology of guava fruit (*Psidium guajava* L.): II. biochemical characters. Punjab Hort. J. 27: 212-221.
- Eaks, I. L. 1970. Respiratory response, ethylene production, and response to ethylene of citrus fruit during ontogeny. Plant Physiol. 45: 334-338.
- Hurng, W. P. and C. H. Kao. 1993. Loss of starch and increase of α -amylase activity in leaves of flooded tobacco plants. Plant Cell Physiol. 34(4): 531-534.
- Johnson, L. B. and B. A. Cunningham. 1972. Peroxidase activity in healthy and leaf-rust-infected wheat leaves. Phytochem. 1: 547-511.
- Jung, S. K. and C. B. Watkins. 2011. Involvement of ethylene in browning development of controlled atmosphere-stored 'Empire' apple fruit. Postharvest Biol. Technol. 59: 219-226.
- Katz, E., P. M. Lagunes, J. R. D. Weiss, and E. E. Goldschmidt. 2004. Molecular and physiological evidence suggests the existence of a system II-like pathway of ethylene production in non-climacteric Citrus fruit. Planta 219: 243-252.
- Keith, R. W., D. L. Tourneau, and D. Mahlum. 1958. Quantitative paper-chromatographic determination of phenols. J. Chromatogr. 1: 534-536.
- Lee, C. Y. and N. L. Smith. 1979. Blanching effect on polyphenol oxidase activity in table beets. J. Food. Sci. 44: 82-83.
- Massoloa, J. F., A. Concellóna, A. R. Chavesa, and A. R. Vicente. 2011. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) delays senescence, maintains quality and reduces browning of non-climacteric eggplant (*Solanum melongena* L.) fruit. Postharvest Biol. Technol. 59: 10-15.

- Oliviera, L. S., N. B. Guerra, M.I. S. Maciel, and A.V. S. Livera. 1994. Polyphenoloxidase activity, polyphenols concentration and browning intensity during soursop (*Amona muricafa*, L.) maturation. *J. food sci.* 59(5): 1050-1052.
- Robards, K., P. D. Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang, and W. Glover. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* 66: 401-436.
- Smith, T. A. 1973. Amine levels in mineral-deficient *Hordeum vulgare* leaves. *Phytochem.* 12(9): 2093-2100.
- Zhou, Y., J. M. Dahler, S. J. R. Underhill, and R. B. H. Wills. 2003. Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. *Food Chem.* 80: 565-572.
- Zhang, Z., X. Pang, D. Xuwu, Z. Ji, and Y. Jiang. 2005. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chem.* 90(1-2): 47-52.

Investigation on the Correlation between Ethylene Biosynthesis and Browning Reaction of 'Jen-Ju Bar' Guava (*Psidium guajava* L.) Fruitlets.

Di-Ying Lin¹⁾ Ching-Chang Shiesh²⁾

Key words: Guava, Fruitlet, Ethylene, Browning

Summary

In this study, the ethylene biosynthesis and browning reaction of 'Jen-Ju Bar' guava (*Psidium guajava* L.) fruitlets were investigated. Our results indicated that two weeks old 'Jen-Ju Bar' guava fruitlets had higher ethylene production at first day after harvest, decreased at second day after harvest and then gradually increased until the fourth day after harvest. Fruit peel browning started at fifth day and complete browning was observed at sixth day after harvest. Fruit had the highest phenylalanine-amino lyase activity at first day after harvest. The total phenolic content in the fruit is about 0.8-0.9% fruit fresh weight and decreased at the fifth day after harvest. A similar trend was noticed for soluble protein in fresh fruit. It is presumed that total phenolic compound and soluble protein will be consumed in fruits when browning occurs. The total free amino acid content increased gradually after harvest and peaked at the fourth and the fifth day after harvest. While the ethylene production rate was also higher, suggesting that damage may be occurred inside the fruit. The activity of peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) were higher at the fourth day after harvest. It is presumed that POD and PPO function accumulate to the precursor of browning substance. Which may later contribute to the browning process after compartmentation disappears.

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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