

番石榴果實褐化與乙烯之關係

黃瑞華¹⁾ 林慧玲²⁾

關鍵字：番石榴、幼果、褐化、乙烯

摘要：本試驗調查番石榴幼果採收後果實褐化的發生與乙烯間之關係。'梨仔拔'和'水晶拔'幼果採收後果皮逐漸變暗，由深綠色轉變為紅褐色，且二品種皆具有假性更年期性(Pseudo-climacteric)的現象，並出現乙烯高峰。但當乙烯釋放率明顯上升時，酚類化合物則有下降之趨勢，再以 AVG 及 1-MCP 處理幼果皆無法有效抑制果實褐化，此結果顯示，幼果採收後的褐化可能和乙烯產生無直接相關。此外，幼果採收後酚類化合物有累積現象，可能由於新陳代謝加速，促進老化，造成細胞內胞器間膜之區隔作用消失，造成褐化反應，而使幼果產生褐化現象。

前 言

番石榴(*Psidium guaiava* L.)原產於美洲祕魯、墨西哥一帶，為桃金娘科(Myrtaceae)番石榴屬(*Psidium*)之熱帶果樹，普遍栽培於熱帶及亞熱帶地區，主要產區位於南北緯 25-35 度內，如印度、巴西、墨西哥、美國南部、澳洲北部、台灣、馬來西亞及泰國等地(Lim and Khoo, 1990)。近年來，台灣在品種、栽培技術及產期調節的改進及改良下，番石榴已成為台灣重要之經濟果樹，目前栽培面積達 7,337 公頃，年產量 185,491 公噸，主要集中於高雄縣(2,992 公頃)、台南縣(1,353 公頃)和彰化縣(1,337 公頃)等地(台灣農業統計年報 90 年)。

林(1998)曾對台灣部分番石榴之採後生理及處理技術有詳盡的探討，報告中指出非更年期型品種之番石榴，在成熟果採下後並無呼吸高峰之表現，亦無大量乙烯合成，但在幼果則具有假性更年期型(Pseudo-climacteric)的現象，採收後快速地出現呼吸高峰及乙烯亦大量合成，伴隨此變化，果皮發生褐化現象，不同於成熟果會伴隨軟化黃化等後熟現象(以梨仔拔而言，林, 1998)，所以，本文擬在探討幼果期採收之果實，其褐化之發生與乙烯合成間之關係。

1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。

2) 國立中興大學園藝系副教授，通訊作者。

材料及方法

一、材料來源

本試驗以'梨仔拔'和'水晶拔'約花後30天之果實為材料，'水晶拔'果實採自台中市軍功里廖姓農民果園，'梨仔拔'果實採自彰化縣員林鎮江姓農民果園。

二、試驗方法

(一)番石榴幼果採收後褐化及組成分變化

果實採收後當日送回實驗室，挑選大小相似之果實，重量約4-6克，稱重後置入1公升之呼吸缸中，通以加濕之空氣，流速為1公升/小時，每日調查果皮顏色、總酚類化合物含量、乙烯釋放率、ACC含量和ACC氧化酵素活性。每3顆為一重複，共5重複。

1. 果實顏色之測定

於果實赤道處以手持式色差儀(Hand-held colorimeter, Nippon Denshoku Model NR-3000)測定果皮顏色，每果測定2點，果色以 L^* 、 a^* 、 b^* 表示之。

2. 總酚類化合物(total phenolic compounds)含量測定

依Keith等人(1958)之方法，稱1g之新鮮果肉，置於研鉢，加5ml之0.1M磷酸緩衝液(pH 7.0)及適量海砂，磨碎後倒入離心管中，以20000 ×g離心20分鐘，過濾取上清液備用。取上清液稀釋至1ml，加入0.1ml之Folin-Cio-Calteu's phenol reagent(Merck)及0.2ml之20% Na_2CO_3 及8.7ml之去離子水，混合均勻後，在沸水中煮沸3分鐘，取出後迅速冷卻，再以分光光度計(HITACHI U-2000)測量在波長660nm下之吸收值。標準曲線以100ppm caffeic acid配製。單位以mg/g表示。

3. 乙烯釋放率之測定

果實稱重後分別置入1公升之呼吸缸中，通以加濕之空氣，流速為1公升/小時，爾後每日自出氣口以1ml塑膠針筒抽取空氣樣品測定乙烯濃度。乙烯是以氣相層析儀(gas chromatograph, Shimadzu. Model GC-8A)以火焰離子檢出器(FID)測定，分離管採用不銹鋼管柱(1/8"×6ft)，內充填活性鋁(Activated alumina 80-100 mesh)，再由乙烯濃度換算乙烯釋放率，其單位為 $\mu\text{l C}_2\text{H}_4/\text{kg.hr}$ 。

4. ACC含量之分析

取2g果肉切成小塊，置於試管中，並加入5ml之80%乙醇，在70℃之熱水浴中加熱20分鐘，收集酒精抽出液，殘渣再加入5ml之80%乙醇重複抽取一次，將兩次抽出液合而為一，進行減壓濃縮，直到乙醇完全被蒸發為止，然後加入去離子水，將濃縮的物質完全溶出，再定量到1ml。

依Lizada及Yang(1979)之方法測定ACC含量，單位以nmol ACC/g表示。

5. ACC氧化酵素活性之測定

參考Moya-leon和John(1994)之方法，切果肉組織3片(厚1mm)，稱重後放入25ml

三角瓶，加入 2.9 ml 0.1 M Tris-buffer 含 0.4 M Mannitol 及 0.1 ml ACC(30 mM)，以血清塞密封，置入 30 °C 水浴以 50 rpm 振盪反應 1 小時後，以塑膠針筒抽取三角瓶內之氣體，測定乙烯釋放率，再換算為 ACC oxidase 之活性。單位為 nl C₂H₄/g.hr。

(二)不同藥劑處理對番石榴幼果褐化及乙烯生成之影響

果實採收後當日送回實驗室，清洗後挑選相同大小之果實，分別處理 1000 倍 Retain™(含 15%AVG)約 150 ppm、1-MCP(約 20 ppm)和 0.2 mM CHI，稱重後置入 1 公升之呼吸缸中，通以加濕之空氣，流速為 1 公升/小時，每日調查乙烯釋放率、果皮顏色。每 5 顆為一重複，共 5 重複。另外每日取樣 5 顆果實進行 ACC 含量之分析。

1. 果實顏色之測定：如上述之測定方法。
2. 乙烯釋放率：如上述之測定方法。
3. ACC 含量之分析：如上述之測定方法。

結果與討論

一、酚類化合物與乙烯之關係

蘋果於低溫貯藏 120 日乙烯明顯上升，回溫至 16°C 7 日乙烯釋放率幅度更大，總酚類化合物含量隨之上升(Leja *et al.*, 2003)。Martinez-Tellez 和 Lafuente(1997)指出，貯藏前熱風(37 °C)處理可降低由於寒害引起的乙烯生成和 PAL(phenylalanine ammonia lyase)活性，這一連串的反應，Peiser 等人(1998)推測乙烯作用刺激合成酚類化合物的關鍵酵素 PAL 活性，也使酚類化合物累積。本試驗之結果，以'梨子拔'幼果為例，總酚類化合物含量在採收後第 3 日即見上升現象，然後下降，第 5 日和第 6 日含量最低(圖 1)。乙烯釋放率在採收後 2 日很微量，第 6 日明顯上升至 38 μl/kg.hr(圖 2)，ACC 含量在採收後第 4 日開始上升(圖 3B)，ACC 氧化酵素活性逐漸增加，至第 4 日達最高(圖 4B)，此時酚類化合物已下降(圖 1)，所以由此結果顯示，番石榴幼果之酚類化合物合成可能與乙烯關係不大。

二、褐化與乙烯之關係

比較'水晶拔'及'梨仔拔'約花後 30 日之幼果(平均果重分別為 5.5 克和 4.5 克)，'水晶拔'幼果於採收後 L* 值逐漸下降，而'梨仔拔'幼果則在第 6 日 L* 值有明顯降低(表 1)，a* 值方面，二品種的變化趨勢相同，在調查期間逐漸增加，且採收後第 4 日有急速上升之現象，b* 值之變化顯示，'水晶拔'幼果於採收後 b* 值逐漸下降，至第 6 日 b* 值為 3.5，而'梨仔拔'幼果在採收後 5 日 b* 值明顯下降。綜合以上之結果，二個品種幼果採收後果實外觀逐漸變暗，且由深綠色轉變為紅褐色。

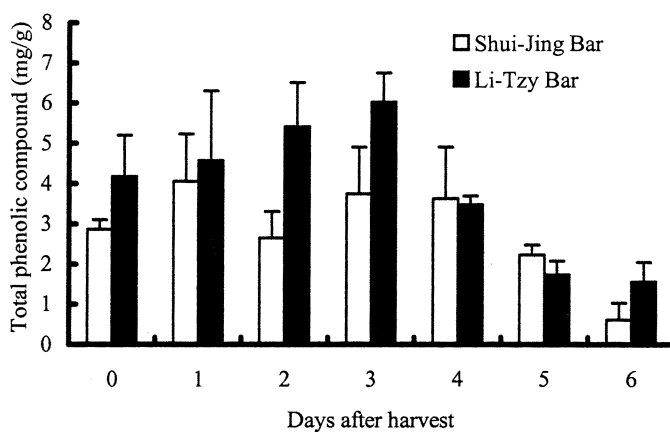


圖 1. '水晶拔'及'梨仔拔'幼果採收後總酚類化合物之變化

Fig. 1. Changes in total phenolic compound of fruitlet of 'Shui-Jing Bar' and 'Li-Tzy Bar' guava. The vertical bars represent \pm SD of the means (n=5).

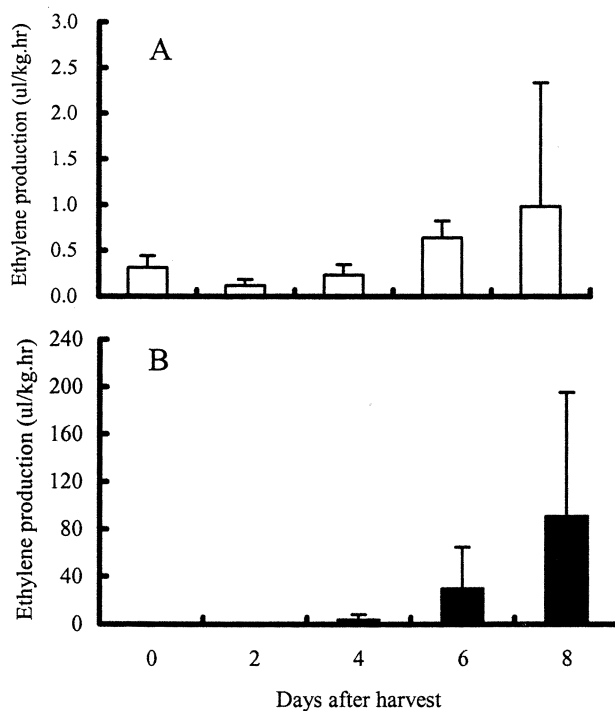


圖 2. '水晶拔'及'梨仔拔'幼果採收後乙烯釋放率之變化 A: 水晶拔, B: 梨仔拔

Fig. 2. Changes in ethylene production of fruitlet of 'Shui-Jing Bar' and 'Li-Tzy Bar' guava. The vertical bars represent \pm SD of the means (n=5). A: Shui-Jing Bar, B: Li-Tzy Bar.

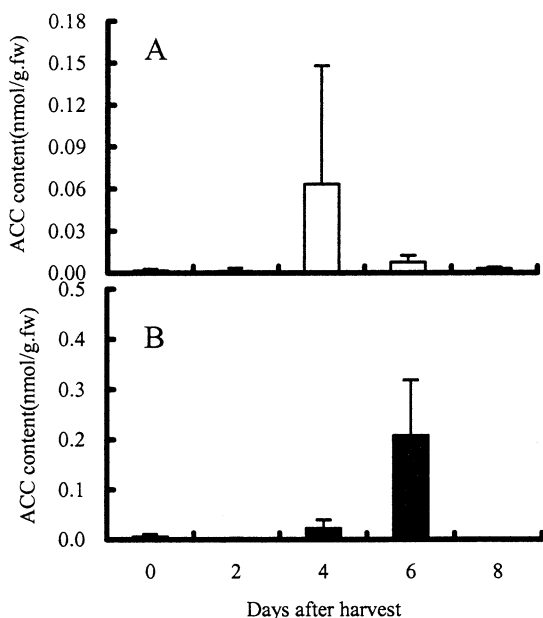


圖 3. '水晶拔'及'梨仔拔'幼果採收後 ACC 含量之變化 A: 水晶拔，B: 梨仔拔

Fig. 3. Changes in 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content of fruitlet of 'Shui-Jing Bar' and 'Li-Tzy Bar' guava. The vertical bars represent \pm SD of the means (n=5). A: Shui-Jing Bar, B: Li-Tzy Bar.

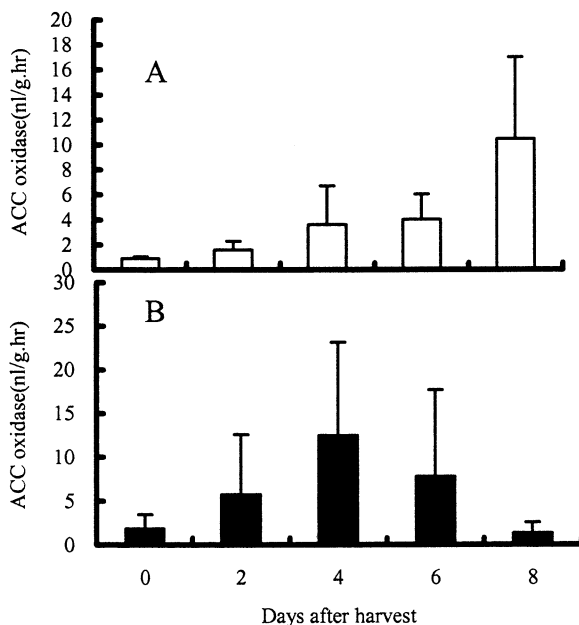


圖 4. '水晶拔'及'梨仔拔'幼果採收後 ACC 氧化酵素活性之變化 A: 水晶拔，B: 梨仔拔

Fig. 4. Changes in ACC oxidase activity of fruitlet of 'Shui-Jing Bar' and 'Li-Tzy Bar' guava. The vertical bars represent \pm SD of the means(n=5). A: Shui-Jing Bar, B: Li-Tzy Bar.

表 1. '水晶拔'及'梨仔拔'幼果採收後果皮顏色之變化

Table 1. Changes in peel color of fruitlet of 'Shui-Jing Bar' and 'Li-Tzy Bar' guava.

Days after harvest	L*		a*		b*	
	S ^z	L	S	L	S	L
0	44.9 ^y	40.1	-12.0	-8.5	17.4	14.9
1	43.2	39.7	-9.4	-7.1	17.7	14.8
2	44.0	43.7	-9.6	-8.1	17.3	14.9
3	40.4	40.7	-7.8	-7.2	15.5	15.6
4	36.5	40.8	-5.1	-8.0	11.5	15.2
5	30.9	38.7	1.8	-1.1	7.3	10.3
6	27.0	28.7	0.8	1.7	3.5	7.0
LSD.05	4.0	3.0	5.8	3.6	2.9	2.6

z S: Shui-Jing Bar, L: Li-Tzy Bar.

y Values are means of 15 fruits per plot.

為了進一步釐清褐化與乙烯之關係，以 AVG、1-MCP 和 CHI 處理，調查褐化反應與乙烯釋放率之變化。乙烯的生合成路徑為 methionine→SAM(S-adenosyl-methionine)→ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid)→ethylene(Adams and Yang, 1979)，ACC 合成酵素催化 SAM 轉變為 ACC，是合成乙烯的關鍵酵素，而 AVG(aminoethoxyvinylglycine)是 ACC 合成酵素的抑制劑，乙烯需與受體(receptor)結合，引發一連串訊息傳導，才能進行乙烯反應，而 1-MCP(1-methylcyclopropane)會與乙烯競爭結合位置(binding site)，進而抑制乙烯作用(Sisler *et al.*, 1996)。Lieberman 和 Kunishi(1975)認為 auxin 促進乙烯的形成需要某種核酸與蛋白質，以蛋白質抑制劑 CHI(cycloheximide)處理後，抑制 IAA 所誘導的乙烯形成及 ACC synthase 活性表現(Yoshii and Imaseki, 1981)，因此，本試驗利用上述抑制劑，期能得知幼果褐化與乙烯生合成之間是否具有相關性。

由表 2 結果顯示，AVG、1-MCP 處理'梨仔拔'幼果後 2 日之 a* 值並無顯著變化，亦即能有效抑制果實褐化，但至第 4 日與對照組差異不顯著。CHI 處理者第 2 日 a* 值即已增加，外觀可見有轉褐的現象，較對照組提早出現褐化反應，處理後 4 日褐化愈明顯。至 8 日後調查結束，所有供調查之果實均呈褐化(表 2)。「水晶拔」AVG 和 1-MCP 處理均能延緩果實之褐化。由表 3 顯示，乙烯釋放率及高峰出現之時間均較對照組低，因此，「水晶拔」褐化及乙烯生成，可經由 AVG 及 1-MCP 處理而受抑制。

'梨仔拔'幼果藥劑處理當日，除 CHI 處理之外，其餘乙烯釋放率和 ACC 含量均很低，處理間並無顯著性的差異(表 4、5)，而 CHI 處理後即有明顯乙烯上升，在 0 至 4 日的調查

表 2. AVG、1-MCP 及 CHI 處理對'梨仔拔'幼果果皮 a* 值之影響

Table 2. Effects of AVG, 1-MCP and CHI on the a* value of peel of 'Li-Tzy Bar' fruitlet.

Treatments	a* value				
	0 ^y	2	4	6	8
CK	-5.90	-5.94	-7.15	-2.56	1.50
AVG(150 ppm)		-8.69	-6.54	-1.18	3.08
1-MCP(20 ppm)		-6.96	-6.77	-4.05	-1.09
CHI(0.2 mM)		-4.08	-0.64	0.71	- ^z
LSD.05		2.13	2.07	3.91	3.43

z: Fruits were decay, no data recorded.

y: Days from fruit harvested.

表 3. AVG 及 1-MCP 處理對'水晶拔'幼果乙烯釋放率之影響

Table 3. Effects of AVG and 1-MCP on the ethylene production of 'Shui-Jing Bar' fruitlet.

Treatments	Ethylene production (μl/kg.hr)						
	0 ^y	1	2	3	4	5	6
CK	0.64b ^x	0.20ab	0.28ab	0.75c	3.28bc	10.39a	6.27a
AVG(150 ppm)	0.45b	0.18b	0.23b	0.18d	0.24c	1.17c	0.30c
1-MCP(20 ppm)	0.21b	0.21a	0.51a	1.51a	7.02a	8.12ab	3.18abc

z, y as described in table 2.

x: Means with the same letter in column are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% level.

期間乙烯釋放率最高，在處理後 4 日 ACC 含量明顯高於其他藥劑處理(包括對照組)。對照組第 4 日乙烯開始累積，ACC 含量亦逐漸增加(表 5)，第 6 日乙烯釋放率和 ACC 含量達最高峰，AVG 和 1-MCP 處理並不能抑制'梨仔拔'乙烯釋放率，其生成速率和累積量與對

表 4. AVG、1-MCP 及 CHI 處理對'梨仔拔'幼果乙烯釋放率之影響

Table 4. Effects of AVG, 1-MCP and CHI on the ethylene production of 'Li-Tzy Bar' fruitlet.

Treatments	Ethylene production ($\mu\text{l}/\text{kg}\cdot\text{hr}$)				
	0 ^y	2	4	6	8
CK	0.47b ^x	0.53b	5.64b	40.69ab	29.12a
AVG(150 ppm)	0.48b	0.25b	3.81b	43.00ab	11.09a
1-MCP(20 ppm)	0.41b	0.84b	7.15b	48.92ab	35.80a
CHI(0.2 mM)	2.35a	5.83a	32.24a	6.97c	- ^z

z, y, x as described in table 3.

表 5. AVG、1-MCP 及 CHI 處理對'梨仔拔'幼果 ACC 含量之影響

Table 5. Effects of AVG, 1-MCP and CHI on the ACC content of 'Li-Tzy Bar' fruitlet.

Treatments	ACC content (nmole/g)				
	0 ^y	2	4	6	8
CK	0.006a ^x	0.003a	0.023b	0.208a	- ^z
AVG(150 ppm)	0.014a	0.025a	0.010b	1.061a	0.600a
1-MCP(20 ppm)	0.070a	0.009a	0.024b	0.952a	0.866a
CHI(0.2 mM)	0.025a	0.270a	0.332a	0.284a	-

z, y, x as described in table 3.

照組相似，乙烯之生成與 ACC 含量有關，可能處理濃度不適當，而無法有效抑制 ACC 合成及乙烯生成量，對幼果褐化之抑制亦不顯著。

梨果實貯藏期間由於摩擦而導致果皮褐化，catechin 和 chlorogenic acid 是主要影響褐化反應的酚類化合物，epicatechin 和 p-coumaroyl 二種酚類化合物與乙烯的生成有關 (Blankenship and Richardson, 1985)。果實內抗壞血酸(ascorbic acid)含量和鄰-雙酚種類也是影響褐化的因子(Jiang, 2000)。以'梨仔拔'幼果為例，1-MCP 處理能減緩 a^{*}值的變化(表 1、

2)，似乎能延緩'梨仔拔'褐化的發生，但並不能改變乙烯釋放率(表 4)，其餘藥劑並不能有效降低褐化反應，CHI 可能因處理濃度過高，而造成傷害，加速乙烯合成及褐化反應之表現，在'水晶拔'AVG 及 1-MCP 處理亦可減緩褐化發生(表 3)及乙烯之生成。因此，有關於褐化與乙烯之關係還需進一步試驗釐清。

參考文獻

- 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。農委會。台灣農業年報。2001。
- Adams, D. O. and S. F. Yang. 1979. Ethylene biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76: 170-174.
- Blankenship, S. M. and D. G. Richardson. 1985. Changes in phenolic acids and internal ethylene during long-term cold storage of pears. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110: 336-339.
- Jiang, Y. 2000. Role of anthocyanins, polyphenol oxidase and phenols in lychee pericarp browning. *J. Sci. Food Agric.* 80: 305-310.
- Keith, R. W., D. L. Tourneau, and D. Mahlum. 1958. Quantitative paper-chromatographic determination of phenols. *J. Chromatography* 1: 534-536.
- Leja, M., A. Mareczek, and J. Ben. 2003. Antioxidant properties of two cultivars during long-term storages. *Food Chem.* 80: 303-307.
- Lieberman, M. and A. T. Kunishi. 1975. Ethylene-forming systems in etiolated pea seedling and apple tissue. *Plant Physiol.* 55: 1074-1078.
- Lim, T. K. and K. C. Khoo. 1990. *Guava in Malaysia Production, Pests and Diseases* pp. 2-3. Tropical Press Sdn. BHD. Malaysia.
- Lizada, M. C. and S. F. Yang. 1979. A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Anal. Biochem.* 100: 140-145.
- Martinez-Tellez, M. A. and M. T. Lafuente. 1997. Effect of high temperature condition on ethylene, phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo of chilled (Fortune) mandarin. *J. Plant Physiol.* 150: 674-678.
- Moya-leon, M. A. and P. John. 1994. Activity of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase in the pulp and peel of ripening banana. *J. Hort. Sci.* 69: 243-250.
- Peiser, G., G. Lopez-Galvez, M. Cantwell, and M. E. Saltveit. 1998. Phenylalanine ammonia-lyase inhibitors control browning of cut lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 14: 171-177.

- Sisler, E. C., E. Serek, and E. Dupille. 1996. Comparison of cyclopropene, 1-methylcyclopropene and 3,3-dimethylcyclopropene as ethylene antagonists plant. *Plant Growth Regul.* 18: 168-174.
- Yoshii, H. and H. Imaseki. 1981. Biosynthesis of auxin-induced ethylene. Effects of indole-3-acetic acid, benzyladenine and abscisic acid on endogenous levels of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) and ACC synthase. *Plant Cell Physiol.* 22: 369-379.

Relationship Between Ethylene Biosynthesis and Browning Reactions of Guava (*Psidium guaiava* L.) Fruitlets

Ray-Hwa Hang¹⁾ Huey-Ling Lin²⁾

Key word : Guava, Fruitlet, Browning, Ethylene

Summary

The objectives of this experiment were to investigate the ethylene biosynthesis and browning reactions of harvested guava fruitlets. 'Shui-Jing Bar' and 'Li-Tzy Bar' fruitlets after harvest possessed pseudo-climacteric phenomenon with apparent peak ethylene release and accompanied peel browning. Since AVG (inhibitor of ethylene biosynthesis) and 1-MCP (inhibitor of ethylene action) treatments had no alleviation effect indicating the browning of harvested fruitlets had nothing to do with ethylene per se. In addition, phenolic compound was accumulated of fruitlets after harvest. The results suggest that owing to high catabolism and senescence induced membrane breakdown and browning reactions of fruit let after harvested.

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

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

Corresponding author.

