

蓮霧果實著色與苯丙胺酸裂解酶活性之關係

李宜穎¹⁾ 謝慶昌²⁾

關鍵字：蓮霧、花青素、苯丙胺酸裂解酶

摘要：蓮霧果皮顏色為影響消費者購買之重要因子，'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧適合著色溫度不同，'粉紅種'蓮霧果實於低溫下果色紅，'大圓葉種'蓮霧在高溫仍有良好的果色，本試驗目的在探討兩品種著色溫度不同之原因，並針對溫度和不同顏色蓮霧品種對花青素含量與PAL活性之間的相關性作探討。'粉紅種'蓮霧PAL活性與花青素含量呈正相關($r=0.461^*$)，'大圓葉種'蓮霧PAL活性與花青素含量無相關性($r=-0.132$)。夏天高溫'粉紅種'蓮霧果色較冬果淡，但不影響'大圓葉種'蓮霧之果色，而高溫下兩品種之PAL活性皆降低。不同顏色的蓮霧品種間，PAL活性與花青素含量無相關性。由以上結果得知，'粉紅種'蓮霧著色與PAL活性呈正相關，高溫下PAL活性降低為著色不良的其中原因，'大圓葉種'蓮霧著色與PAL活性無相關，故高溫下PAL活性降低不影響著色。

前 言

蓮霧(*Syzygium samaragense* Merr. et Perry)屬桃金娘科(Myrtaceae)之熱帶果樹，原產於馬來西亞及印度安曼群島，17世紀由荷蘭人從熱帶爪哇地區引入台灣栽培(王和黃,2005)。蓮霧果皮顏色為影響消費者購買之重要因子，'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧適合著色溫度不同，'粉紅種'蓮霧果實於低溫下果色紅，'大圓葉種'蓮霧在高溫仍有良好的果色，故想探討兩品種著色溫度不同之原因。Lister等(1996)指出'Splendour'蘋果成熟期間，花青素累積與苯丙胺酸裂解酶(phenylalanine ammonialyase, PAL)、苯基苯乙烯酮異構酶(chalcone isomerase, CHI)和UDP半乳糖:類黃酮半乳糖轉移酶(UDP galactose: flavonoid 3-O-galactosyltransferase, UFGaIT)的活性有關，故本試驗針對不同顏色蓮霧品種和溫度對花青素含量與PAL活性之間的相關性作探討。

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。

材料與方法

一、'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧於不同花階段的品質和苯丙胺酸裂解酶活性

(一) 試驗材料

本試驗材料為'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧，採自屏東縣九如後庄地區范氏蓮霧果園，'粉紅種'樹齡約 25 年，而'大圓葉種'約 5 年，'粉紅種'果實採收後先剃光頭，於催花前進行遮黑網、環狀剝皮和斷根的逆境處理；而'大圓葉種'無經過催花，兩品種土壤皆施大豆粕複合肥和台肥 43 號，葉面噴施磷鉀肥。

(二) 試驗方法

採收花後(day after full bloom, DAFB)34、41、48、55 和 62 天之'粉紅種'和花後 44、51、58、65 和 72 天'大圓葉種'蓮霧果實，'粉紅種'果實於 2011 年 10 和 11 月採收，而'大圓葉種'於 2012 年 2 和 3 月採收，每個花後階段果實取 10 顆，測花青素含量和苯丙胺酸裂解酶活性(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)。

(三) 調查項目及方法

1. 花青素之測定

果實切一半取萼端部分，用直徑 1.0 cm 打孔器各別取 3 片果皮圓片，放入 5 ml 含 60% 甲醇(methanol)和 1% HCl 的萃取液中，置於 4°C 黑暗中 24 小時後，以分光光度計測 530 nm、620 nm 和 650 nm 的吸收值(Downs et al., 1965)。以 Zapsalis 及 Francis(1965)的方法計算花青素含量。 $Abs. = \epsilon bc$ (以 $b=1\text{ cm}$ ， $\epsilon=46200$ 計算出 c 為花青素含量，再除以果皮圓片面積，單位為 mol cm^{-2})。

花青素的吸收值 (Abs) = $(A_{530} - A_{620}) - 0.1(A_{650} - A_{620})$ 。單位以 $\mu\text{mol cm}^{-2}$ 表示。

2. 苯丙胺酸裂解酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)活性之測定

每個花後階段 10 個果實中，2 果混為一個樣品，計 5 重複，將果實切一半，取果實萼端果肉切丁，稱取 2 g 果肉置於 2 號夾鏈袋中，以液態氮固定，之後置於 -20°C 凍箱保存，做為 PAL 活性分析用。

修改自 Cheng 及 Breen(1991)之分析方法，稱取 2 g 果肉置於研鉢中，加入 5 ml 0.1N 硼酸緩衝液(pH 8.8, 含 2 mM EDTA、5 mM 2-mercaptoethanol、1% PVP)和少許海砂於冰浴中研磨，磨碎後倒入離心管，之後置於 4°C 恆溫箱、轉速 100 rpm 振盪 1 小時後，將樣品在 4°C 下以高速離心(20000×g)20 分鐘，再用 Miracloth(Merk)過濾後，取上清液備用。取 0.1 ml 上清液加 2.9 ml 60 mM L-苯丙胺酸(L-phenylalanine)，混合均勻後置於 40°C 反應 1 小時，之後迅速加 0.1 ml 6 N HCl 停止反應，再以分光光度計(spectrophotometer, Hitachi U-2000)測定 290 nm 吸收值之變化。以 0-10 ppm cinnamic acid 製作標準曲線，再換算為 $\mu\text{g t-cinnamic acid g}^{-1} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{FW}^{-1}$ 。

(四) 統計分析

將試驗結果使用 Costat 軟體(Cohort software, Minneapolis, Mn)計算平均值，並利用

ANOVA 進行變方分析(Analysis of variance), 及鄧肯式多變域檢定(Duncan's Multiple Range Test)比較各處理之間差異顯著性。

二、'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧夏季果實與九種不同蓮霧品種品質之分析

(一) 試驗材料和方法

同前試驗一、(一)所述, '粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧皆未催花, 為夏季正期果, 於 2011 年 07 月 20 日採收成熟果實, 各品種分別 10 顆果實, 測花青素含量和苯丙胺酸裂解酶活性(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)。

採收以下品種成熟階段之果實, 分別為'粉紅種'、'大果種'、'新市仔'、'大圓葉種'、'泰國種'、'泰國白'、'印尼大果種'、'越南白肉'和'大深紅種'蓮霧, 各品種分別 10 顆果實, 測花青素含量和苯丙胺酸裂解酶活性(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)。

(二) 調查項目及方法

方法同一、(三)。

(三) 統計分析

方法同一、(四)。

結 果

一、'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧於不同花階段的品質和苯丙胺酸裂解酶活性

'粉紅種'蓮霧花青素含量於花後 34 天上升, 之後趨於平緩, 花後 55 天又上升; '大圓葉種'蓮霧花青素含量同'粉紅種'蓮霧於幼果期和接近成熟上升(圖 1)。「粉紅種」蓮霧苯丙胺酸裂解酶活性於花後 34 天(幼果期)為 $96.67 \mu\text{g t-cinnamic acid g}^{-1} \text{hr}^{-1} \text{FW}^{-1}$, 隨發育過程逐漸下降, 而在花後 62 天比 48 天上升 54%; '大圓葉種'蓮霧幼果期(花後 44 天)苯丙胺酸裂解酶活性較高達 $81.44 \mu\text{g t-cinnamic acid g}^{-1} \text{hr}^{-1} \text{FW}^{-1}$, 隨果實成熟而下降, 於花後 58 天又快速上升, 不論在花後那個階段, '粉紅種'PAL 活性皆高於'大圓葉種'蓮霧(圖 2)。「粉紅種」蓮霧的花青素和苯丙胺酸裂解酶有顯著正相關, 表示花青素含量隨苯丙胺酸裂解酶活性上升而增加, 而'大圓葉種'蓮霧花青素和 PAL 無相關, PAL 活性不隨著花青素含量增加而上升(圖 3)。

二、'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧夏季果實與九種不同蓮霧品種品質之分析

'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧不論是夏果和冬果, '粉紅種'PAL 活性皆高於'大圓葉種'蓮霧, 且於夏天高溫下, 兩品種之 PAL 活性皆顯著降低(表 1)。「粉紅種」和'大圓葉種'蓮霧於夏天高溫下, 苯丙胺酸裂解酶和花青素之間皆無相關性(圖 4), 因此兩品種高溫下花青素含量的高低與苯丙胺酸裂解酶活性無關。九種不同蓮霧品種間, 梗端和萼端的花青素含量和苯丙胺酸裂解酶相關係數分別為 0.047 和-0.07, 相關性低(圖 5)。

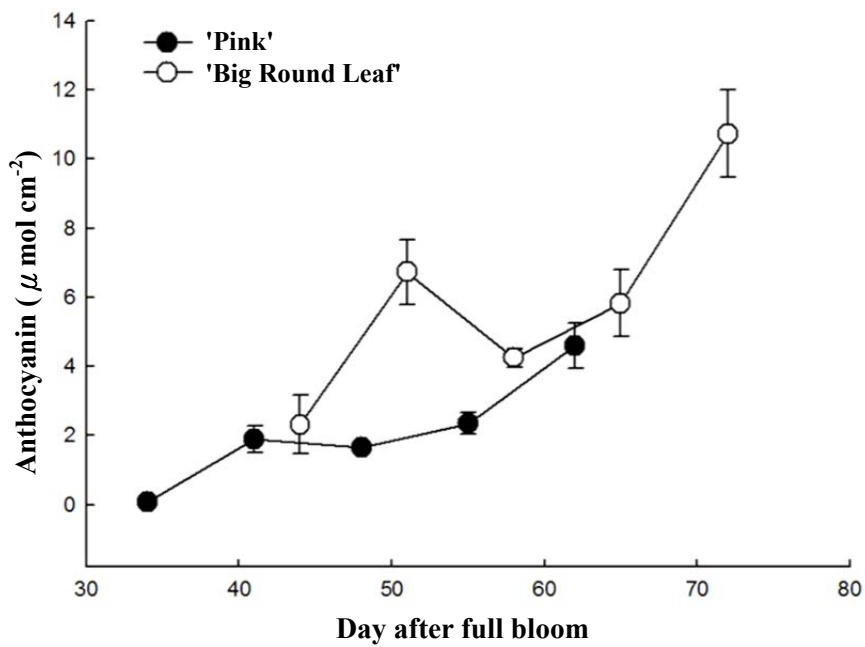


圖 1. '粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧萼端於花後 34~72 天採收花青素之含量。

Fig. 1. The anthocyanin of 'Pink' and 'Big Round Leaf' wax apple harvested at 34 to 72 days after full bloom.

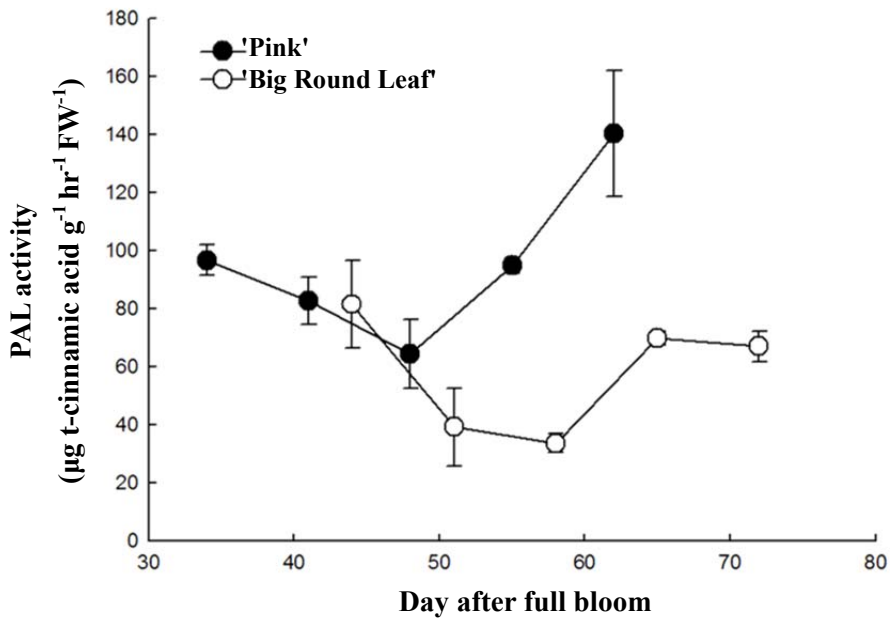


圖 2. '粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧萼端於花後 34~72 天採收苯丙胺酸裂解酶之活性。

Fig. 2. The activity of phenylalanine ammonia-lyase of 'Pink' and 'Big Round Leaf' wax apple harvested at 34 to 72 days after full bloom.

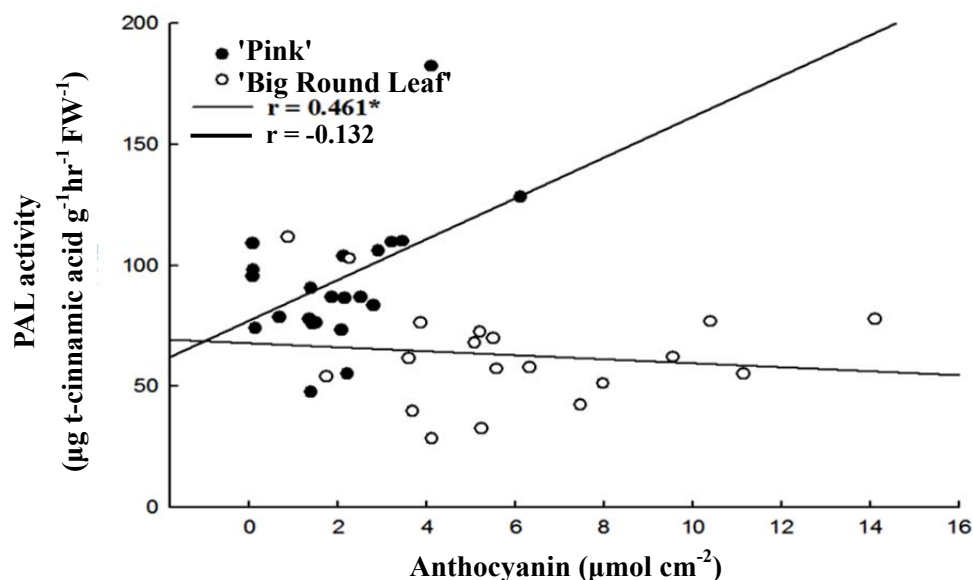


圖 3. '粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧果實花青素和苯丙胺酸裂解酶活性之關係。

Fig. 3. The relationship between anthocyanin and phenylalanine ammonia-lyase activity of 'Pink' and 'Big Round Leaf' wax apple fruits.

表 1. '粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧冬果和夏果之苯丙胺酸裂解酶活性。

Table 1. The activity of phenylalanine ammonia-lyase of 'Pink' and 'Big Round Leaf' wax apple fruits in winter and summer.

Cultivars	PAL ^z (µg t-cinnamic acid g ⁻¹ hr ⁻¹ FW ⁻¹)		significance ^y
	Winter	Summer	
'Pink'	140.19a	40.76a	**
'Big Round Leaf'	66.92b	23.73b	**

^z PAL: phenylalanine ammonia lyase.

^y ns, *, **, *** effect non-significant or significant at $P \leq 0.05$ or 0.01 or 0.001, respectively between winter and summer.

^x Mean separation within column by Duncan's multiple range test at 5% level.

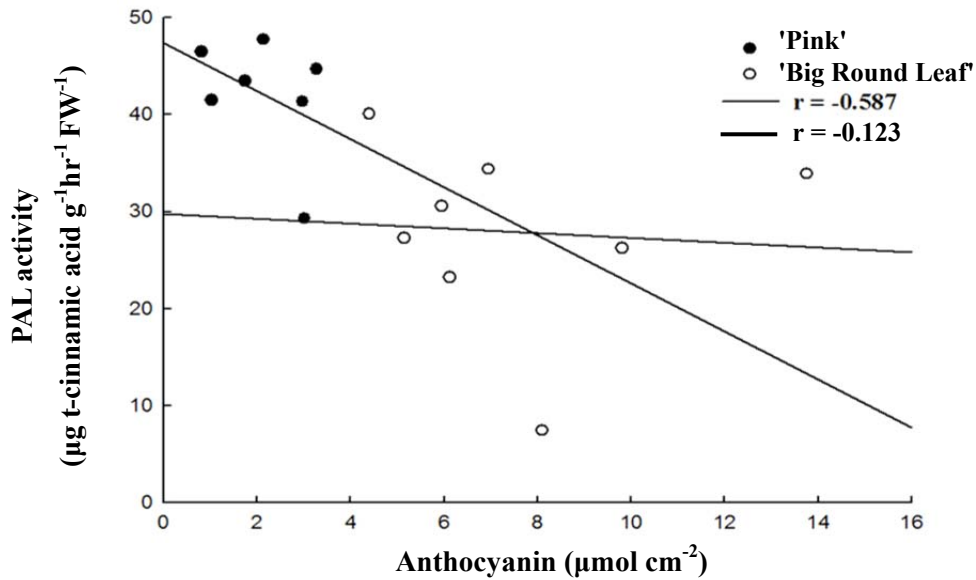


圖 4. '粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧果實於7月花青素和苯丙胺酸裂解酶活性之關係。

Fig. 4. The relationship between anthocyanin and phenylalanine ammonia-lyase activity of 'Pink' and 'Big Round Leaf' wax apple fruit in summer.

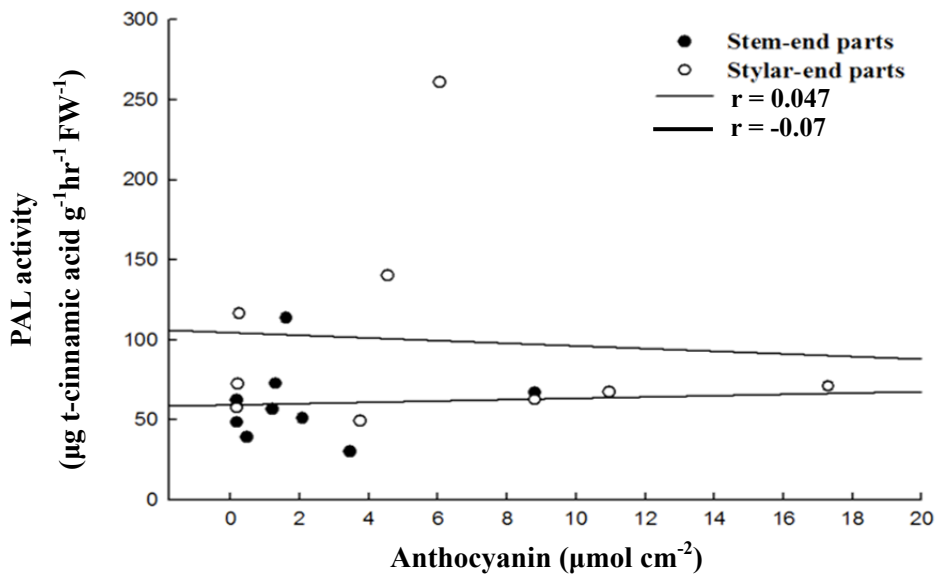


圖 5. 九種不同蓮霧品種果實的花青素和苯丙胺酸裂解酶活性之關係。

Fig. 5. The relationship between anthocyanin and phenylalanine ammonia-lyase activity of nine cultivars of wax apple fruits.

討 論

一、'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧於不同花階段的品質和苯丙胺酸裂解酶活性

Ju 等(1995b)指出，蘋果於幼果期(花後 60 天)花青素和簡單酚類合成需要 PAL 的參與，之後花青素含量於接近成熟快速上升，便不依賴 PAL 活性。'粉紅種'蓮霧花青素與 PAL 呈正相關($r=0.461^*$)，而'大圓葉種'蓮霧無相關性(圖 3)，可能與兩蓮霧品種著色的時期不同有關，'大圓葉種'蓮霧幼果期 PAL 活性高，但花青素含量低(圖 1、2)，可能用來形成其它酚類物質，兩品種皆於接近成熟有一段 PAL 活性上升時期，對照到圖 1，此時期花青素累積，故此時期 PAL 活性上升可能用來合成花青素。'粉紅種'PAL 活性在花後 48 天之後皆高於'大圓葉種'，推測是'粉紅種'於果實接近成熟轉色，而'大圓葉種'於幼果期即轉色，故'粉紅種' PAL 活性高於'大圓葉種'。

二、'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧夏季果實與九種不同蓮霧品種品質之分析

'粉紅種'和'大圓葉種'蓮霧於夏季高溫 PAL 活性皆顯著下降，與 Shaked-Sachraya 等(2002)的試驗相似，菊花於 23 和 29°C 的高溫下，530 nm 的吸收值下降，PAL 和 CHI 也隨著溫度升高而下降，可能是'粉紅種'蓮霧著色與 PAL 活性較有相關。不論於冬果或夏果'粉紅種' PAL 活性皆高於'大圓葉種'蓮霧(表 1)。由圖 4 得知，高溫下兩品種 PAL 和花青素皆無相關性，'大圓葉種'蓮霧不論冬果或夏果 PAL 活性的高低皆不影響花青素含量，故高溫下著色良好，而'粉紅種'蓮霧花青素生成需 PAL 的參與，高溫下 PAL 活性降低，且花青素合成及累積減少，故著色不良。九種不同蓮霧品種花青素和 PAL 皆無相關性，表示大部分蓮霧品種花青素含量的高低不受 PAL 活性影響(圖 17)，較關鍵的酵素應為花青素合成途徑後半段的酵素，如 CHS、CHI、DFR 和 UFGaT 等(Dela *et al.*, 2003; Feng *et al.*, 2008; Ju *et al.*, 1995a)。

參考文獻

- 王德男、黃基偉。2005。蓮霧。台灣農家要覽(農作篇二)。財團法人豐年社。台北。p. 109-120。
- 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.
- Dela, G., E. Or, R. Ovadia, A. N. Levi, D. Weiss, and M. O. Shamir. 2003. Changes in anthocyanin concentration and composition in 'Jaguar' rose flowers due to transient high-temperature conditions. *Plant Sci.* 164: 333-340.
- Downs, R. J., H. M. Siegelman, W. L. Butler, and S. B. Hendricks. 1965. Photoreceptive pigments for anthocyanin synthesis in apple skin. *Nature* 205: 909-910.
- Feng, S. Q., X. S. Chen, C. Y. Zhang, X. J. Liu, Z. C. Liu, H. B. Wang, Y. L. Wang, and C. H.

- Zhou. 2008. Relationship between anthocyanin biosynthesis and related enzymes activity in *Pyrus pyrifolia* 'Mantianhong' and its bud sports 'Aoguan'. *Agr. Sci. in China*. 7: 1318-1323.
- Ju, Z., C. Liu, and Y. Yuan. 1995. Activities of chalcone synthase and UDPGal:flavonoid-3-O-glycosyltransferase in relation to anthocyanin synthesis in apple. *Sci. Hort.* 63: 175-185.
- Ju, Z. G., Y. Yuan, C. Liu, and S. Kin. 1995. Relationships among phenylalanine ammonia lyase activity, simple phenol concentration and anthocyanin accumulation in apple. *Sci. Hort.* 61: 215-226.
- Lister, C. E., J. E. Walker, and J. R. L. Lancaster. 1996. Developmental changes in enzymes of flavonoid biosynthesis in the skins of red and green apple cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 71: 313-320.
- Shaked-Sachraya, L., D. Weissb, M. Reuvenia, A. Nissim-Levia, and M. Oren-Shamira. 2002. Increased anthocyanin accumulation in aster flowers at elevated temperatures due to magnesium treatment. *Physiol. Plant.* 114: 559-565.
- Zapsalis, C. and F. J. Francis. 1965. Cranberry anthocyanins. *J. Food Sci.* 30: 396-399.

The Relationship between Fruit Coloring of Wax Apple (*Syzygium samaragense* Merr. et Perry.) and Phenylalanine Ammonia-lyase (PAL) Activity

Yi-Ying Li¹⁾ Ching-Chang Shiesh²⁾

Key words: Wax apple, Anthocyanin, Phenylalanine Ammonia-lyase

Summery

The temperature which is good to fruit coloring is different to 'Pink' and 'Big Round Leaf' wax apple. The peel color of 'Pink' wax apple is red at lower temperatures, but the peel color of 'Big Round Leaf' wax apple is red at higher temperatures. So we want to know why the two cultivars is different in fruit coloring temperature. Then, we analyse temperature and different cultivars to the effect of the relationship between anthocyanin and PAL activity. There is positive relation($r=0.461^*$) between the activity of PAL and the content of anthocyanin in 'Pink' fruit and there was no correlation ($r=-0.132$) in 'Big Round Leaf' fruit. In summer, the peel color of 'Pink' fruit is lighter than in winter, but the peel color of 'Big Round Leaf' fruit show no significant difference during February-July. There are low PAL activity of the two cultivars in the summer season. There is no relationship between anthocyanin and PAL activity of different cultivars. In conclusion, the results show that in 'Pink' wax apple fruit, the relationship between PAL activity and anthocyanin is positive and high temperature will inhibit the activity of PAL. It maybe is the reason why the fruit color is poor in summer. In 'Big Round Leaf' wax apple fruit, PAL activity and anthocyanin have no relationship, so when PAL activity decrease in high temperature, the fruit color is still red.

-
- 1) Graduated student in MS. program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.
 - 2) Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University, Corresponding author.

