

研究报告 Original Papers

表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)对‘粉红女士’苹果果皮油腻化的影响

王聪, 刘翠华, 杨艳青, 周彬, 闫丹, 石金瑞, 任小林*

西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌712100

摘要: 采后苹果表皮蜡质的积累导致油腻化的发生, 影响果实品质。脂肪酸合酶是蜡质合成的关键酶, 而表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是脂肪酸合酶的抑制剂。为探究EGCG在苹果油腻化上的作用, 分别用0、1.5和3.0 g·L⁻¹ EGCG水溶液浸泡‘粉红女士’苹果果实, 于25°C下贮藏, 定期测定油腻化程度、蜡质组分含量和生理指标。结果表明经EGCG处理的果实表皮主要脂肪酸和酯类含量均低于对照组, 并降低了果皮油腻化的发生程度。这说明EGCG通过抑制脂肪酸合酶的活性, 降低了蜡质组分的积累, 从而减缓油腻化现象的发生。EGCG仅针对脂肪酸合酶, 对果实的品质性状没有显著性影响。

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯; 油腻化; ‘粉红女士’苹果; 酯类; 脂肪酸; 蜡质

同大多数高等植物一样, 苹果果实表皮最外侧覆盖一层易溶于有机溶剂的脂类混合物, 我们称其为蜡质。蜡质分为填充于角质层内的内部蜡质和位于角质层最外层并直接与外界环境接触的表皮蜡质, 其主要组分包括超长链脂肪酸及其衍生物, 例如: 烃、醛、醇、酮、酯等(Millar等1999; Jenks等2002), 以及一些三萜类化合物及其他小分子次生代谢产物(Bianchi等1990)。但是目前对蜡质合成的详细途径、调控因素、相互影响机制和运输机制等仍然不完全清楚(王东阳等2016; 陈伟等2016)。表皮蜡质在植物的生长发育、适应外界环境等方面起着重要的作用(宋超等2011)。就果品采后而言, 蜡质层可以有效防止非气孔性水分散失(Premachandra等1992)、调节气体交换(Baur等1996), 对抵御微生物侵害(Fan等1999; Yin等2011)及其他逆境条件具有至关重要的作用(李灵之等2011)。但是贮藏过程中蜡质组分的变化也会导致果实生理紊乱的发生, 如苹果表皮蜡质组分变化引起的油腻化降低了果实外观品质(Richardson-Harman等1998)和商品价值(Dadzie等1995; Vera-verbeke等2001; 高华等2005; Curry 2008), 从而造成了较大的经济损失。

目前, 采后领域中, 果皮油腻化的发生过程及致病机理的研究得到了更加广泛的关注, 在苹果、梨等果实上都开展了相关的工作(Christeller和Roughan 2016; 贾晓辉等2016), 已有的研究表明脂肪酸的积累与油腻化的发生有着重要联系。经过长期贮藏, 苹果果实中脂肪酸含量会持续积累并导致油腻化的加重(Dadzie等1995; Christeller和Roughan

2016), 而且作为酯类等的合成前体, 自由脂肪酸的增加也会导致酯类物质的积累, 如在发生油腻化的‘嘎啦’苹果表皮蜡质中鉴定到大量不饱和油酸和亚油酸的酯类(Christeller和Roughan 2016)。为了降低油腻化现象给苹果采后带来的损失, 前人通过1-MCP对苹果果实进行处理, 发现1-MCP可以保持果实硬度和可滴定酸含量等(Fan等1999), 并降低油腻化程度, 其作用主要是通过抑制乙烯的信号传导途径而实现的(王晓飞等2014)。另外, 1-MCP的使用对部分果实产生不利影响, 如着色不均、部分果实抗性下降, 病害增加、芳香物产生受到抑制, 从而影响产品的风味等(魏好程等2003)。因此, 寻找更加专一的抑制剂抑制油腻化, 同时不影响其他品质就显得及其必要。

苹果果实蜡质的合成起始于C16和C18脂肪酸的从头合成, 该反应是在表皮细胞的质体中完成的, 其中脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS)是脂肪酸合成途径中的关键酶。研究人员发现一种天然活性物质——表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)可以有效地抑制动物细胞中脂肪酸合酶的活性(Wang和Tian 2001; Wang等2003)。EGCG是一种儿茶素类化合物, 从茶叶中提取而来, 具有清除体内自由基、抗炎、抗突变、抗衰老及改善肝功能等生物活性, 在中美等国现已被列为潜在的抗癌药物得到研究(王霞等2005)。但是目前并没有EGCG在苹果油腻化方

收稿 2016-12-19 修定 2017-03-27

资助 国家现代苹果产业技术体系(Z225020701)。

* 通讯作者(E-mail: renxl@nwsuaf.edu.cn)。

面应用的相关报道。因此,针对苹果果实蜡质成分的主要组分脂肪酸及其酯类衍生物,本研究利用不同浓度EGCG处理‘粉红女士’苹果,旨在探讨脂肪酸合成酶抑制剂EGCG对油腻化现象的影响,从而进一步揭示果皮油腻化同脂肪酸代谢的关系,一方面为研究油腻化的调控及其发生机理提供理论依据,另一方面也为寻找一种在苹果上有效抑制油腻化发生的商用、无毒保鲜剂奠定基础。

材料与amp;方法

1 材料与试剂

‘粉红女士’苹果(*Malus domestica* Borkh. ‘Pink Lady’)于2015年12月购于陕西省富平县一商业冷库。选取未发生油腻化现象,着色均匀,大小一致,无机械损伤的果实为试材。

试剂:EGCG购自大连美仑生物技术有限公司,纯度为95%;氯仿、正己烷、甲醇(纯度>99.9%天津市科密欧化学试剂有限公司)均蒸馏后使用。

仪器:美国GC公司TRACE GC ULTRA型气相色谱仪;杭州奥盛MD-200氮吹仪;福立GC9790 II气相色谱仪;江苏亿通电子有限公司TELAIRE 7001系列二氧化碳分析仪;南非Guss Manufacturer公司GS-15型水果质地分析仪;韩国G-WON Hitech公司GMK-835F型苹果酸度计;日本ATAGO公司PAL-1型手持糖度计;河南兰帆贸易有限公司RE-2000旋转蒸发仪。

2 方法

2.1 果实处理

试验设3个处理:(1)对照(蒸馏水);(2)1.5 g·L⁻¹ EGCG;(3)3.0 g·L⁻¹ EGCG。3个处理均使用真空渗透法处理果实,即将果实置于真空干燥器内,密封,然后使用SHZ-3循环水多用真空泵抽至真空度为0.06 MPa,维持60 s,缓慢回升至常压。果实取出后置于室温下晾干,晾干后的果实置于25℃下贮藏。每个处理设3次重复,每次重复30个果实。

2.2 生理指标及果实品质测定

用TRACE GC ULTRA型气相色谱仪测定乙烯释放速率。方法如下:果实密闭1 h后抽取气体,GDX-502色谱柱,载气N₂,柱温70℃,进样口温度70℃,氢气流量0.7 kg·cm⁻²,空气流量0.7 kg·cm⁻²,氮气流量1.0 kg·cm⁻²,进样量1 mL,氢火焰离子化检测器检测,检测室温度150℃。

呼吸强度:用TELAIRE 7001型CO₂分析仪测定(董晓庆等2009)。

果实表面积的计算按照苑克俊等(1995)的方法实施。

使用GS-15型水果质地分析仪测定果实硬度。具体参数设定为:探头直径10 mm;触发阈值0.10 kg;探头下降速率10 mm·s⁻¹;探头返回速率10 mm·s⁻¹;测量速率5 mm·s⁻¹;测量距离10.0 mm。可滴定酸含量通过GMK-835F水果酸度测定仪测定。可溶性固形物含量使用PAL-1型手持糖度计测量。

3 油腻化程度评定

采用感官评定的方法判断果实油腻化的程度,方法参照刘春香等(2005)和Dadzie等(1995)。将油腻化程度划分为4个等级:0为不发生;1为轻微;2为中度;3为重度。感官评定小组由3个经过训练且有经验的学生组成,为减少误差,选定未发生油腻化的苹果(0级)以及油腻化最严重的果实(3级)作对照,轻微触摸果实表面评定油腻化程度,并且每次触摸果实表面时将手擦拭干净。油腻化程度是3个人感官评定结果的平均值,感官评定果为固定的15个果实。

前期预试验结果表明贮藏前期果实油腻化程度变化较快,因此每隔3 d进行一次相关指标的测定工作,9 d之后果实油腻化变化较缓慢,每隔4或5 d进行一次相关指标的测定。综上,生理指标及果实品质测定、油腻化程度评定分别在果实贮藏0、3、6、9、13、17、21和26 d时进行。

4 果实蜡质成分

4.1 果实总蜡质的提取

果皮蜡质的提取参照Dong等(2012)、王美芳等(2008)的方法,分别在果实贮藏0、6、13、21和26 d提取蜡质。常温下把整个果实浸入盛有400 mL的三氯甲烷的烧杯中浸泡45 s,每个果实提取3次,提取后将3次的浸出液混合、过滤,转移至3 000 mL圆底蒸馏烧瓶中使用RE-2000旋转蒸发仪在40℃条件下进行浓缩,将浓缩液转移到50 mL的血清瓶中。蜡质提取液用MD200-1氮吹仪在稳定的氮气流下吹干,然后用三氯甲烷和甲醇以10:1的比例定容至20 mL,再以50℃水浴进行加热,使蜡质完全溶解、混匀,最后加入1 mL的内标(十七烷)备用。

4.2 蜡质成分中酯类和脂肪酸的处理方法与amp;分析条件

在酯类分析之前先进行硅烷化衍生反应:吸

取500 μL 已定容备用的蜡质提取液至1.5 mL QSP离心管中,真空干燥浓缩4 h至完全干燥。加400 μL 双(三甲基硅基)三氟乙酰胺(BSTFA)后放入70 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱进行45 min的硅烷化衍生反应,样品经氮吹仪吹干后用正己烷定容至500 μL ,经0.45 μm 有机系滤膜过滤至1.5 mL进样瓶内,最后进行气相色谱分析(以十七烷作为内标)。

酯类物质分析采用气相色谱法。条件如下:DB-35MS弱极性毛细管色谱柱(美国Agilent J & W Scientific公司,30 m \times 0.32 mm,0.25 μm),柱温70 $^{\circ}\text{C}$,进样口温度230 $^{\circ}\text{C}$,检测器温度300 $^{\circ}\text{C}$,载气为高纯度 N_2 。升温程序:初始温度70 $^{\circ}\text{C}$,保持1 min,以10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的升温速率升至200 $^{\circ}\text{C}$,然后以5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的升温速率升至300 $^{\circ}\text{C}$,保持30 min。

在总脂肪酸分析之前先进行甲酯化,方法如下:吸取500 μL 已定容备用的蜡质提取液,加入50 μL 十七烷酸作为内标用氮吹仪吹干,再加入200 μL 氢氧化钾-甲醇溶液(0.4 mol $\cdot\text{mL}^{-1}$),70 $^{\circ}\text{C}$ 下水解15 min后摇匀,再加入300 μL 三氟化硼(BF_3)于70 $^{\circ}\text{C}$ 条件下酯化30 min,最后用正己烷定容至500 μL 。用移液枪吸取大约500 μL 上清液至1.5 mL进样瓶。

总脂肪酸分析采用气相色谱法。条件:KB-FFAP毛细管色谱柱(美国Agilent J & W Scientific公司,30 m \times 0.32 mm,0.25 μm),柱温70 $^{\circ}\text{C}$,进样口温度230 $^{\circ}\text{C}$,检测器温度300 $^{\circ}\text{C}$;载气为高纯度的 N_2 。升温程序:初始温度70 $^{\circ}\text{C}$,保持1 min,以10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温速率升至200 $^{\circ}\text{C}$,再以5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温速率升至230 $^{\circ}\text{C}$,保持20 min。

5 数据处理

试验数据分析使用Excel 2007, SAS 9.4进行统计分析,进行方差分析采用ANOVA法,多重比较采用DUNCAN法(显著性差异 $P<0.05$)。

实验结果

1 EGCG处理对‘粉红女士’果实油腻化程度的影响

随着贮藏期的延长,对照组和EGCG处理组果实均出现油腻化现象,并且不断加重。虽然三组处理油腻化程度在统计学上没有显著性差异,但是处理组发生油腻化的时间明显晚于对照组,对照组果实在6 d时开始发生油腻化增长趋势,处理组果实直到9 d才开始出现油腻化增长。13 d时,全部

果实都已发生油腻化现象,13~21 d对照组和1.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ EGCG处理组的油腻化程度一直显著高于3.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ EGCG处理组;26 d时,三组处理的油腻化程度无显著性差异。其中17 d时对照组及1.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ EGCG处理组油腻化程度达到最高水平(图1)。综上所述,EGCG处理可推迟油腻化的发生时间,3.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ EGCG处理对油腻化发生的抑制效果最佳,但是并不能完全抑制。

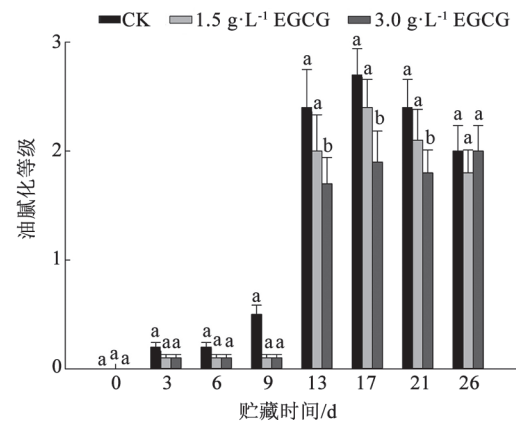


图1 EGCG处理对‘粉红女士’果实油腻化等级的影响

Fig.1 The effect of EGCG on greasiness level of ‘Pink Lady’ apple

同一时期数据柱上的不同小写字母表示在 $P=0.05$ 水平上差异显著,图2~4同此。

2 EGCG处理对‘粉红女士’果实蜡质含量及组分的影响

本研究中共检测出含量较高的6种脂肪酸,其中对照组果实中亚油酸含量最高,可达75.12 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$,油酸次之最高为12.61 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$,十二酸、十四酸和二十碳烯酸3种脂肪酸含量在0.20~0.45 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 之间,棕榈油酸含量最低。经EGCG处理后果实中亚油酸和油酸的含量均低于对照组,其中6和13 d时,3.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ EGCG处理组中亚油酸和油酸的含量显著低于对照组和1.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ EGCG组(图2-A和B)。棕榈油酸在整个贮藏期间除6 d时1.5和3.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ EGCG组中的含量显著低于对照组,其他时间三组之间无显著性差异(图2-C)。十二酸、十四酸、二十碳烯酸在整个贮藏期间三组间始终没有显著差异(图2-D~F)。综上所述,EGCG对不同种类脂肪酸的抑制效果不同,不同浓度的EGCG对同一种脂肪酸的抑制效果也不同。但是总体上

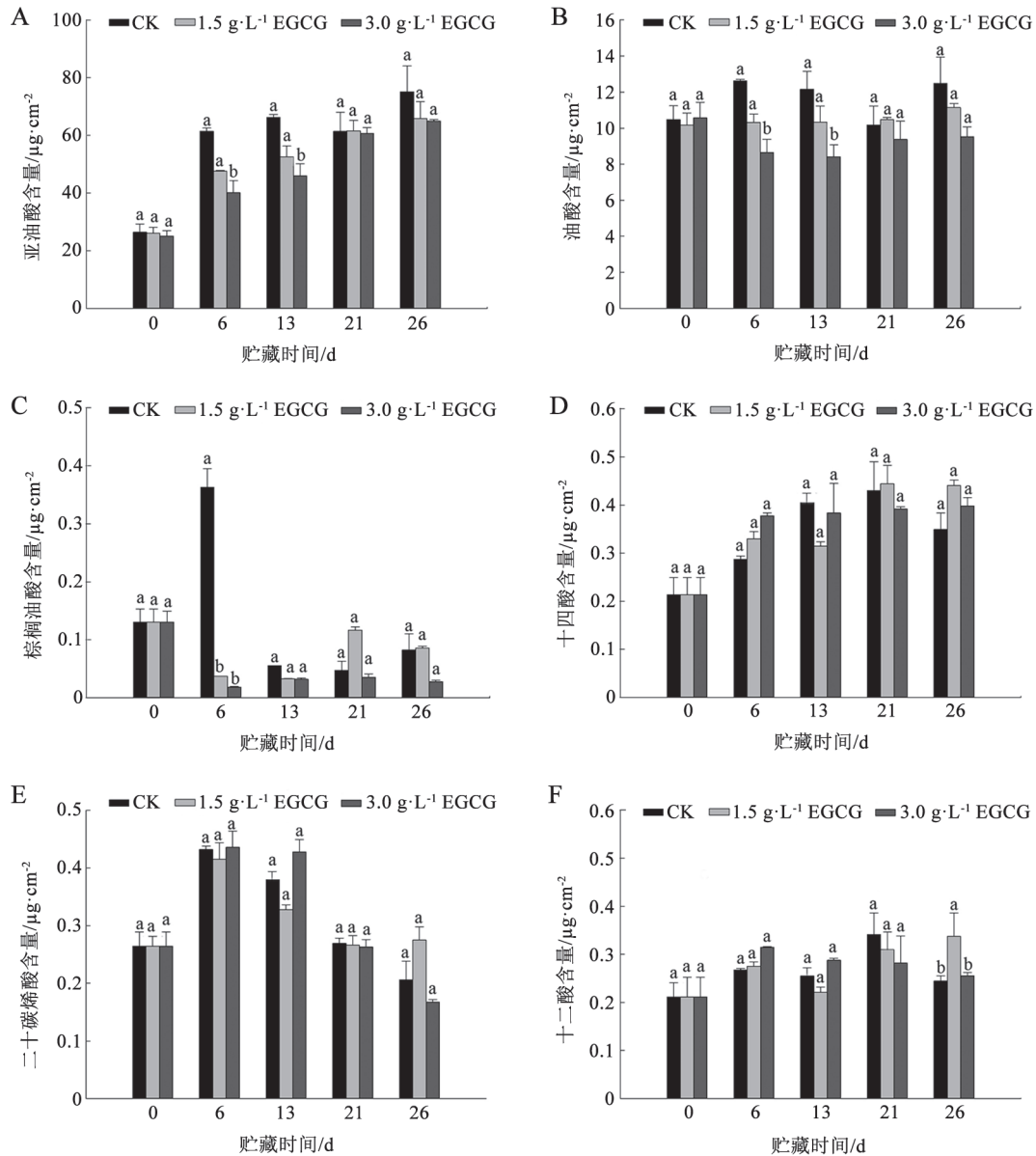


图2 EGCG处理对‘粉红女士’果实脂肪酸的影响

Fig.2 The effect of EGCG on fatty acids of ‘Pink Lady’ apple

EGCG能够抑制脂肪酸的积累,尤其是含量最多的亚油酸和油酸,且3.0 g·L⁻¹ EGCG的效果最佳,出现显著性差异的时间点在6 d和/或13 d。

本研究检测到的主要酯类有4种,包括亚油酸法尼醇酯、油酸法尼醇酯、亚油酸丁酯、亚油酸丙酯;对照组果实中亚油酸法尼醇酯含量最高,可达6.71 μg·cm⁻²,油酸法尼醇酯次之(3~4 μg·cm⁻²),亚油酸丁酯的含量最高可达0.92 μg·cm⁻²,油酸丙酯含量最低(少于0.4 μg·cm⁻²)。三组处理果实中的亚油酸法尼醇酯的含量在0~13 d间持续增长,对照

组与处理组间无显著性差异。13~26 d间亚油酸法尼醇酯的含量降低,在21 d时,对照组中的含量显著高于EGCG处理组,而且1.5 g·L⁻¹ EGCG处理组的含量显著高于3.0 g·L⁻¹ EGCG处理组(图3-A)。油酸法尼醇酯的含量也呈现先升后降的趋势,在13 d时含量最高,而且对照组中的含量显著高于EGCG处理组,1.5和3.0 g·L⁻¹ EGCG处理之间无显著性差异(图3-B)。亚油酸丁酯的含量在21 d时达到最大值,但三组处理间无显著性差异。在6 d时,1.5 g·L⁻¹ EGCG处理组的含量显著高于对照组和3.0 g·L⁻¹

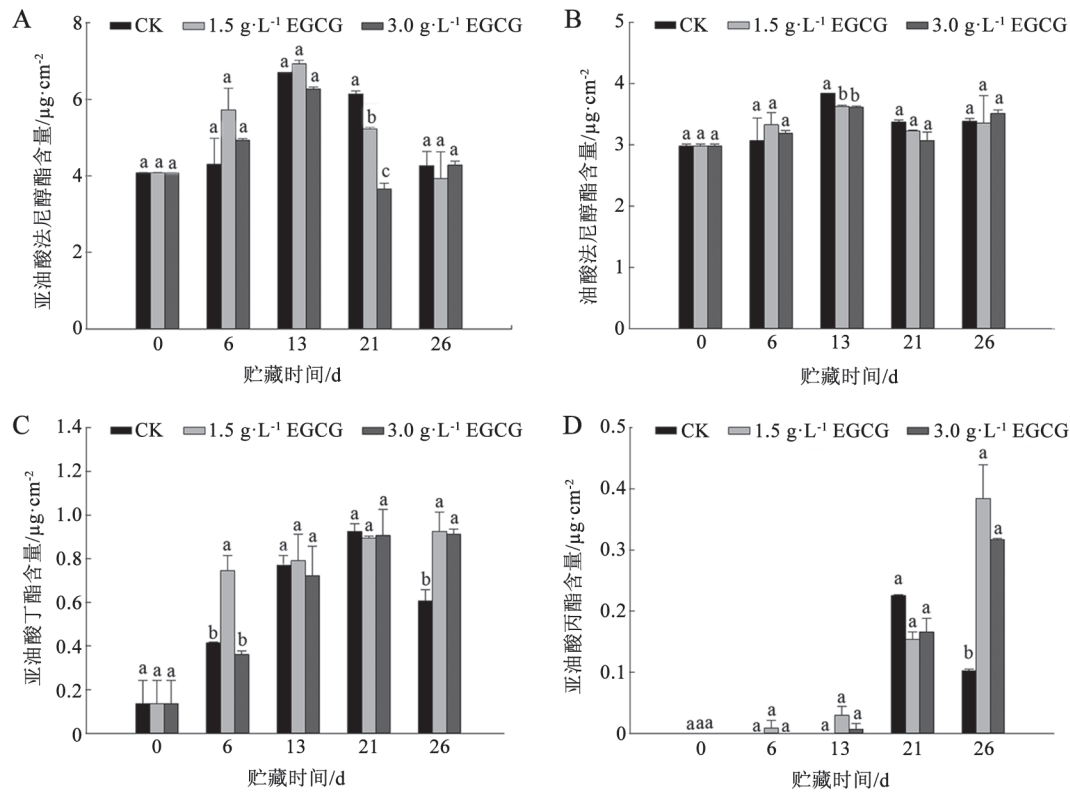


图3 EGCG处理对‘粉红女士’果实酯类的影响

Fig.3 The effect of EGCG on esters of ‘Pink Lady’ apple

EGCG处理组,在26 d时对照组的含量显著性低于EGCG处理组(图3-C)。亚油酸丙酯含量在0~21 d间含量在三组处理间无显著性差异,26 d时对照组的含量显著低于EGCG处理组($P<0.05$) (图3-D)。综上所述,随着贮藏时间的延长,含量最高的两种物质,即亚油酸法尼醇酯和油酸法尼醇酯的含量呈现先增加再降低的趋势,而亚油酸丁酯和亚油酸丙酯呈现持续升高增长或增长后稳定的趋势。虽然亚油酸法尼醇酯和油酸法尼醇酯的变化趋势不同于亚油酸丁酯和亚油酸丙酯,但是亚油酸法尼醇酯和油酸法尼醇酯的含量在4种酯类中所占比重较大。由此可见,EGCG处理对不同酯类物质的作用效果不同,但是主要是使其含量降低。

3 EGCG处理对‘粉红女士’果实乙烯释放速率、呼吸速率及果实品质的影响

对照组、1.5 g·L⁻¹ EGCG组、3.0 g·L⁻¹ EGCG组果实均在6 d时出现乙烯高峰,峰值分别为57.9、61.1、41.2 μL·kg⁻¹·h⁻¹,此时对照组比3.0 g·L⁻¹ EGCG组的乙烯释放量高28.8%,具有显著性差异,但是对照组与1.5 g·L⁻¹ EGCG处理组间无显著差异

(图4-A)。对照组的呼吸高峰出现于3 d时,而EGCG处理组果实均没有明显的呼吸高峰,且对照组与两个处理组之间在整个贮藏期间始终没有显著性差异(图4-B)。可溶性固形物和可滴定酸含量在整个贮藏期间呈现下降趋势,但是3组处理间始终无显著性差异,前者在对照组、1.5 g·L⁻¹ EGCG、3.0 g·L⁻¹ EGCG组果实分别下降了3.37%、6.61%、5.38% (图4-C); 后者分别下降了42.87%、47.94%、50.98% (图4-D)。果实硬度的变化趋势不明显,整体在7.8~9.2 kg·cm⁻²呈波动状态,而且三种处理间的差异不显著(图4-E)。综上所述,仅3.0 g·L⁻¹ EGCG处理组在6 d时降低了乙烯的释放速率,EGCG处理对果实的其他时间点的乙烯释放速率、整个贮藏期的呼吸速率、可溶性固形物、可滴定酸和果实硬度均没有显著影响。

讨论

本研究发现EGCG能够通过抑制苹果表皮主要蜡质组分——脂肪酸和酯类等物质的合成,从而减缓油腻化的发生,提高苹果的外在品质,进而

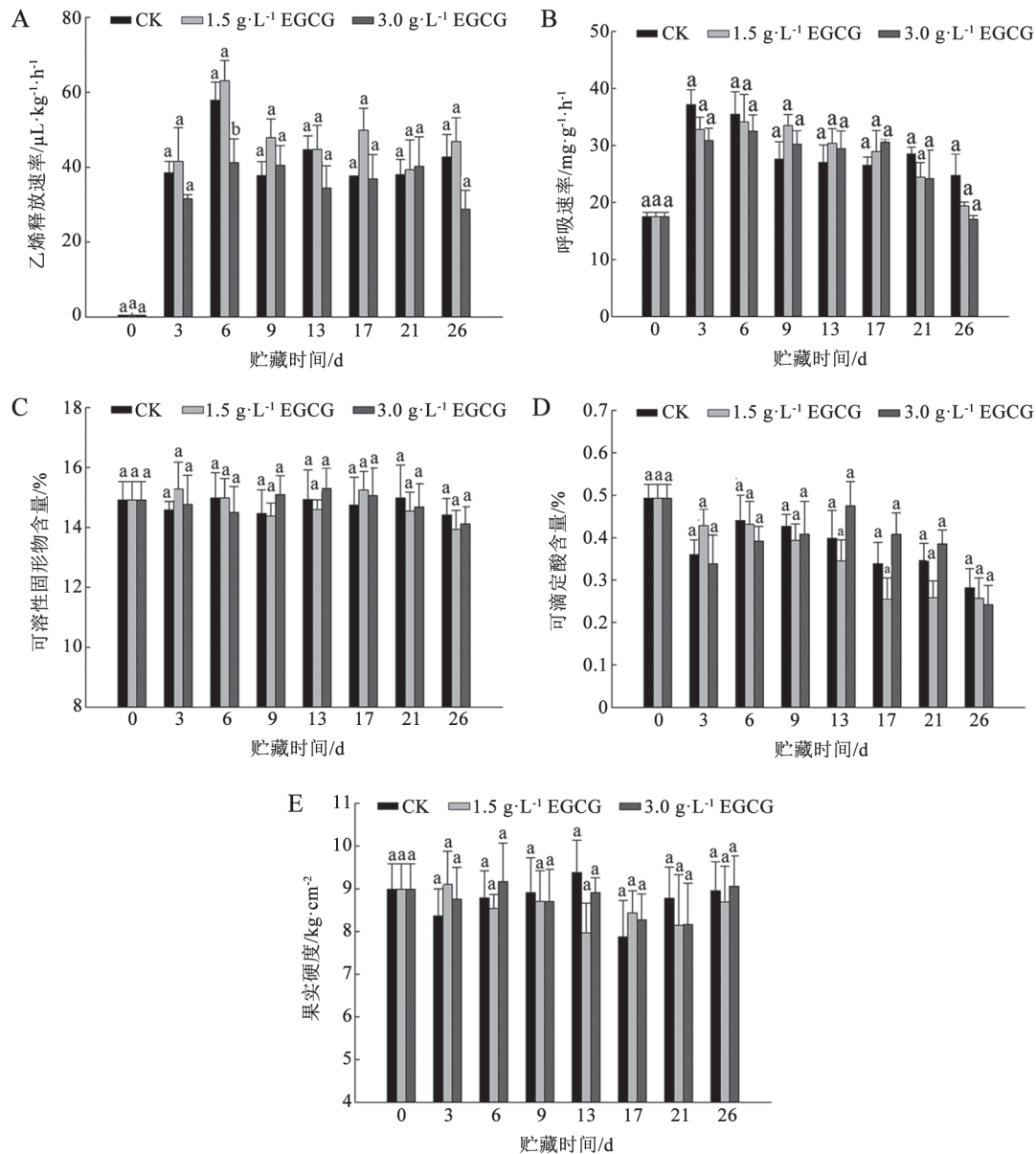


图4 EGCG处理对‘粉红女士’果实乙烯释放速率(A)、果实呼吸速率(B)和品质指标(C、D、E)的影响

Fig.4 The effect of EGCG on ethylene production rate (A), respiration rate (B) and fruit quality (C, D, E) of ‘Pink Lady’ apple

降低苹果采后损失。EGCG的作用位点是脂肪酸合酶,植物中的脂肪酸合酶属于II型(FASII),是由1个酰基携带蛋白(acyl carrier protein, ACP)和7个不同的酶构成的酶系,每一个酶催化脂肪酸合成过程中的一步反应,ACP在催化反应中携带中间产物。而动物中的脂肪酸合酶I型(FASI)是一个多酶复合体,单一肽链上包含6个不同的酶和1个ACP。此外,前人的研究表明EGCG是通过作用于FASI的 β -酮酰还原酶(β -ketoacyl reductase, KR)活性而抑制

FASI的活性(Wang和Tian 2001; 吴晓东等2005)。在功能上, FASI中的乙酰转酰酶和丙二酰转酰酶,同FASII中乙酰丙二酰转酰酶(M/AT)相对应,其余的酶和FASI中的另外5个酶一一对应,并且序列上有一定的同源性(Wang等2003; Rock和Cronan 1996); 因此, EGCG作为动物FASI的抑制剂在本研究中苹果的FASII上也发挥了作用。

‘粉红女士’苹果在贮藏过程蜡质主要组分亚油酸、油酸在对照组和EGCG处理组之间出现显

著性差异的时间为6 d和13 d (图2-A和B), 其下游主要衍生物亚油酸法尼醇酯和油酸法尼醇酯在对照组和EGCG处理组之间出现显著性差异的时间分别为21 d和13 d (图3-A和B), 而对照组和EGCG处理组开始出现油腻化增长的时间分别为6 d和9 d, 且在13、17、21 d都有显著性差异, 对照组油腻化程度高于EGCG处理组(图1)。这说明EGCG处理通过抑制脂肪酸和酯类物质等蜡质的积累, 延缓了油腻化出现的时间。前人的研究也发现蜡质组分增长的趋势与苹果果实油腻化发生的趋势类似(Ju和Bramlage 2001; Morice和Shorland 1973; Christeller和Roughan 2016)。

此外, 本研究发现对照组和EGCG处理组十四酸及十二酸的含量在整个贮藏过程中几乎没有显著性差异(图2-D和F)。这可能是由于质体中的脂肪酸合酶复合体有3种不同的形式, 而且具有一定的底物特异性, 即作用于2~4个碳链脂肪酸的KASIII (Clough等1992)、作用于4~16个碳链脂肪酸的KASI (C4~C16)、以及作用于16~18个碳链脂肪酸的KASII (C16~C18) (Shimakata和Stumpf 1986)。而十二酸和十四酸都是小于16碳的脂肪酸, EGCG对于KASI的抑制性不显著, 或者在采后油腻化发生期间对KASI的抑制性不显著, 从而造成了EGCG处理的果实中十二酸和十四酸的含量变化不明显。

苹果是典型的呼吸跃变型果实, 在成熟衰老的过程中伴随着呼吸及乙烯高峰的出现, 乙烯不仅能促进果实的成熟, 还可以促进果实油腻化的发生(Ju和Bramlage 2001)。而1-甲基环丙烯(1-MCP)通过与乙烯受体蛋白相结合, 抑制植物的成熟衰老, 并且推迟油腻化的发生(王晓飞等2014), 1-MCP的使用也引起部分果实着色不均等品质变化(魏好程等2003)。但EGCG处理组果实的可溶性固形物、可滴定酸和硬度都没有发生显著性变化(图4-C~E), 这说明EGCG处理没有影响果实的主要内在品质。这是因为EGCG是通过直接作用于蜡质的合成关键酶FAS来减缓果实油腻化的发生。同时EGCG主要是从绿茶中提取获得的, 而绿茶被世界卫生组织推荐为保健饮料, 因此EGCG也不存在毒性的危险(张睿等2004)。且目前EGCG在保健、抗癌、心脑血管保护等方面已有深入研究和应用(葛建等2011)。

综上所述, 在苹果果实贮藏过程中, EGCG仅影响蜡质的合成, 对果实品质没有显著影响, 且对人体不存在毒副作用。因此在生产实践中, EGCG或许可以作为一种果品保鲜剂使用, 通过抑制果皮油腻化, 改善果实外观品质, 却不会影响果实内在品质, 从而更好的保持果实的商品价值。

参考文献

- Baur P, Marzouk H, Schönherr J, Bauer H (1996). Mobilities of organic compounds in plant cuticles as affected by structure and molar volumes of chemicals and plant species. *Planta*, 199 (3): 404–412
- Bianchi G, Murelli C, Ottaviano E (1990). Maize pollen lipids. *Phytochemistry*, 29 (3): 739–744
- Chen W, Liu DC, Yang L, Liu SB, Liu Y (2016). Research progress of plant cuticular wax and related genes. *Plant Physiol J*, 52 (8): 1117–1127 (in Chinese with English abstract) [陈伟, 刘德春, 杨莉, 刘山蓓, 刘勇(2016). 植物表皮蜡质及相关基因研究进展. *植物生理学报*, 52 (8): 1117–1127]
- Christeller JT, Roughan PG (2016). The novel esters farnesyl oleate and farnesyl linoleate are prominent in the surface wax of greasy apple fruit. *New Zeal J Crop Hort*, 44 (2): 164–170
- Clough RC, Matthis AL, Barnum SR, Jaworski JG (1992). Purification and characterization of 3-ketoacyl-acyl carrier protein synthase III from spinach. A condensing enzyme utilizing acetyl-coenzyme A to initiate fatty acid synthesis. *J Biol Chem*, 267 (29): 20992–20998
- Curry E (2008). Effects of 1-MCP applied postharvest on epicuticular wax of apples (*Malus domestica* Borkh.) during storage. *J Sci Food Agric*, 88 (6): 996–1006
- Dadzie BK, Banks NH, Hewett EW, Cleland DJ (1995). Reduced greasiness of ‘Granny Smith’ apples washed in tween 20 solution. *New Zeal J Crop Hort*, 23 (2): 219–222
- Dong XQ, Rao JP, Huber DJ, Chang XX, Xin FC (2012). Wax composition of ‘Red Fuji’ apple fruit during development and during storage after 1-methylcyclopropene treatment. *Hortic Environ Biotechnol*, 53 (4): 288–297
- Dong XQ, Rao JP, Tian GN, Zhang JY, Liao XY (2009). Effects of oxalic acid compound cleaning agent on storage quality of fruits of apple ‘Red Fuji’. *Acta Hort Sin*, 36 (4): 577–582 (in Chinese with English abstract) [董晓庆, 饶景萍, 田改妮, 张举印, 廖小月(2009). 草酸复合清洗剂对红富士苹果贮藏品质的影响. *园艺学报*, 36 (4): 577–582]
- Fan XT, Blankenship SM, Mattheis JP (1999). 1-Methylcyclopropene inhibits apple ripening. *J Am Soc Hortic Sci*, 126 (6): 690–695
- Gao H, Zhao ZY, Lu YM, Yuan JJ (2005). A new late ripening apple variety ‘Pink Lady’. *Acta Hort Sin*, 32 (2): 56–57 (in Chinese with English abstract) [高华, 赵政阳, 鲁玉妙, 袁景军(2005). 晚熟苹果新品种‘粉红女士’. *园艺学报*, 32 (2): 56–57]
- Ge J, Lin F, Li MK, Han BY (2011). Research progress on biological activity of epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *J Anhui Agric Univ*, 38 (2): 156–163 (in Chinese with English abstract) [葛

- 建, 林芳, 李明揆, 韩宝瑜(2011). 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)生物活性研究进展. 安徽农业大学学报, 38 (2): 156–163]
- Jenks MA, Eigenbrode SD, Lemieux B (2002). Cuticular waxes of Arabidopsis. Arabidopsis Book, 1: e0016
- Jia XH, Wang WH, Jiang YB, Du YM, Wang ZH, Dong W (2016). Effects of storage temperature on green keeping and quality of ‘Yuluxiang’ pear. J Fruit Sci, 33 (S1): 166–174 (in Chinese with English abstract) [贾晓辉, 王文辉, 姜云斌, 杜艳民, 王志华, 佟伟(2016). 不同贮藏温度对‘玉露香’梨果实保绿效果和品质维持的影响. 果实学报, 33 (S1): 166–174]
- Ju ZG, Bramlage WJ (2001). Developmental changes of cuticular constituents and their association with ethylene during fruit ripening in ‘Delicious’ apples. Postharvest Biol Technol, 21 (3): 257–263
- Li LZ, Ma J, Xiang JH, Chen XB (2011). Composition differences of epicuticular and intracuticular wax layers and the relationship between cuticle and plant stress tolerance. Plant Physiol J, 47 (7): 680–684 (in Chinese with English abstract) [李灵之, 马杰, 向建华, 陈信波(2011). 植物角质层内外蜡质的差异及其与抗逆性的关系. 植物生理学报, 47 (7): 680–684]
- Liu CX, He QW, Meng JJ (2005). Correlationship between sensory analysis, major volatile compounds and sugar content in cucumber fruit. China Veget, (1): 8–10 (in Chinese with English abstract) [刘春香, 何启伟, 孟静静(2005). 黄瓜感官检验与主要芳香物质、可溶性糖的相关关系. 中国蔬菜, (1): 8–10]
- Millar AA, Clemens S, Zachgo S, Giblin EM, Taylor DC, Kunst L (1999). *CUT1*, an Arabidopsis gene required for cuticular wax biosynthesis and pollen fertility, encodes a very-long-chain fatty acid condensing enzyme. Plant Cell, 11 (5): 825–838
- Morice IM, Shorl and FB (1973). Composition of the surface waxes of apple fruits and changes during storage. J Sci Food Agric, 24 (11): 1331–1339
- Premachandra GS, Saneoka H, Fujita K, Ogata S (1992). Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in sorghum. J Exp Bot, 43 (257): 1569–1576
- Richardson-Harman N, Phelps T, Mcdermott S, Gunson A (1998). Use of tactile and visual cues in consumer judgments of apple ripeness. J Sens Stud, 13 (2): 121–132
- Rock CO, Cronan JE (1996). Escherichia coli as a model for the regulation of dissociable (type II) fatty acid biosynthesis. Biochim Biophys Acta, 1302 (1): 1–16
- Shimakata T, Stumpf PK (1986). Purification of plant acetyl-CoA_acyl carrier protein transacylase. Methods Enzymol, 122 (122): 53–59
- Song C, Wang J, Guo YJ, Ni Y (2011). Response of plant epicuticular wax to environmental factors. Plant Physiol J, 47 (10): 951–956 (in Chinese with English abstract) [宋超, 王婧, 郭彦军, 倪郁(2011). 植物表皮蜡质对环境胁迫的响应. 植物生理学报, 47 (10): 951–956]
- Veraverbeke EA, Lammertyn J, Saevels S, Nicolai BM (2001). Changes in chemical wax composition of three different apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars during storage. Postharvest Biol Technol, 23 (3): 197–208
- Wang DY, Shao SJ, Ji NN, Zhang XH, Li FJ (2016). Research advances on genes related to plant cuticular wax synthesis and secretion. Plant Physiol J, 52 (6): 789–798 (in Chinese with English abstract) [王东阳, 邵淑君, 季娜娜, 张新华, 李富军(2016). 植物表皮蜡质合成与分泌基因研究进展. 植物生理学报, 52 (6): 789–798]
- Wang MF, Chen JL, Cheng DF, Yuan GH (2008). Epicuticular wax on wheat leaves and its relationship with cultivars resistance to wheat aphids. Chin J Appl Environ Biol, 14 (3): 341–346 (in Chinese with English abstract) [王美芳, 陈巨莲, 程登发, 原国辉(2008). 小麦叶片表面蜡质及其与品种抗蚜性的关系. 应用与环境生物学报, 14 (3): 341–346]
- Wang X, Gao LJ, Lin BC (2005). Separation and preparation of epigallocatechin gallate (EGCG). Food Sci, 26 (9): 242–246 (in Chinese with English abstract) [王霞, 高丽娟, 林炳昌(2005). 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的分离与制备. 食品科学, 26 (9): 242–246]
- Wang X, Song KS, Guo QX, Tian WX (2003). The galloyl moiety of green tea catechins is the critical structural feature to inhibit fatty-acid synthase. Biochem Pharmacol, 66 (10): 2039–2047
- Wang X, Tian WX (2001). Green tea epigallocatechin gallate: a natural inhibitor of fatty-acid synthase. Biochem Biophys Res Commun, 288 (5): 1200–1206
- Wang XF, Ren XL, Yang YQ, Kang J, Fan L, Yu JN (2014). Study on epicuticular wax greasiness of ‘Pink Lady’ apple fruits. J Fruit Sci, 31 (2): 201–205 (in Chinese with English abstract) [王晓飞, 任小林, 杨艳青, 亢键, 樊丽, 于建娜(2014). ‘粉红女士’苹果果皮蜡质油腻化的研究. 果树学报, 31 (2): 201–205]
- Wang XF, Yang YQ, Ren XL, Sun HT (2014). Effects of 1-MCP on postharvest physiology and quality of ‘Pink Lady’ apple fruits. Food Sci, 35 (18): 219–223 (in Chinese with English abstract) [王晓飞, 杨艳青, 任小林, 孙海亭(2014). 1-MCP对‘粉红女士’苹果果实采后生理及其品质的影响. 食品科学, 35 (18): 219–223]
- Wei HC, Pan YG, Qiu HY (2003). Advances in effect of 1-MCP treatment on postharvest physiology and quality of postharvest fruits and vegetables. J Huazhong Agric Univ, 22 (3): 307–312 (in Chinese with English abstract) [魏好程, 潘永贵, 仇厚援(2003). 1-MCP对采后果蔬生理及品质影响的研究进展. 华中农业大学学报, 22 (3): 307–312]
- Wu XD, Cheng Q, Du YT, Tian WX (2005). Structure, function and drug development of ketoacetyl reductase of two kinds of fatty acid synthase. Sci Technol Rev, 23 (5): 18–21 (in Chinese with English abstract) [吴晓东, 程晴, 杜亚涛, 田维熙(2005). 两类脂肪酸合酶中酮酰还原酶的结构功能和药物开发前景. 科技导报, 23 (5): 18–21]
- Yin Y, Bi Y, Chen SJ, Li YC, Wang Y, Ge YH, Ding B, Li YC, Zhang Z (2011). Chemical composition and antifungal activity of cuticular wax isolated from Asian pear fruit (cv. *Pingguoli*). Sci Hortic, 129 (4): 577–582
- Yuan KJ, Sun RH, Yang HA (1995). A new method for measuring and calculating surface areas of apple fruits. J Bimath, 10 (4): 159–163 (in Chinese with English abstract) [苑克俊, 孙瑞红, 杨恒爱(1995). 苹果果实表面积的一种新测算方法. 生物数学学

报, 10 (4): 159–163]
Zhang R, Xiao WP, Tian WX (2004). Inhibitory effects of green tea extract on fatty acid synthase. *J Yunnan Univ*, 26 (6A): 42–47 (in

Chinese with English abstract) [张睿, 肖文平, 田维熙(2004). 绿茶提取物对脂肪酸合酶的抑制作用. *云南大学学报*, 26 (6A): 42–47]

Effect of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on greasiness of apple skin

WANG Cong, LIU Cui-Hua, YANG Yan-Qing, ZHOU Bin, YAN Dan, SHI Jin-Rui, REN Xiao-Lin*

College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

Abstract: The accumulation of wax was considered as the cause for the development of greasiness, affecting apple fruit quality during postharvest storage. Fatty acid synthase (FAS) was the key enzyme for wax synthesis, which could be inhibited by epigallocatechin-3-gallate (EGCG). In order to investigate the effect of EGCG on greasiness development during storage, ‘Pink Lady’ apples were treated with 0, 1.5, 3.0 g·L⁻¹ EGCG respectively, and then stored at 25°C. The degree of epicuticular greasiness, content of wax fraction per surface area and the ripening characters were measured on a regular basis. The results showed that the major fatty acids, esters and the degree of greasiness in fruit skin of EGCG-treated had been decreased during storage. These results demonstrated that EGCG decreased the content of wax by inhibiting the activity of FAS, then delaying the development of greasiness, but EGCG had no effect on quality of fruits.

Key words: epigallocatechin-3-gallate (EGCG); greasiness; ‘Pink Lady’ apple; ester; fatty acid; wax

Received 2016-12-19 Accepted 2017-03-27

This work was supported by Modern Agricultural Industry Technology System of China for Apple (Grant No. Z225020701).

*Corresponding author (E-mail: renxl@nwsuaf.edu.cn).