

## 칠틈 뿌리의 Polyphenol Oxidase의 정제 및 성질에 관한 연구

오만진 · 이원용 · 이가순  
충남대학교 식품가공학과

### Purification and Some Properties of Polyphenol Oxidase from Arrowroot

Man-Jin Oh, Won-Yong Lee and Ka-Soon Lee

Department of Food Science and Technology, College of Agriculture,  
Chungnam National University, Taejeon 302-764, Korea

#### Abstract

Acetone powder was prepared from raw arrowroots and the polyphenol oxidases of crude enzyme prepared from acetone powder were identified 5 isoenzymes by staining with catechol containing 0.05% phenylene diamine. The crude enzyme was passed through the columns of ion exchangers and gel permeation to fractionate the polyphenol oxidases. The main fraction of polyphenol oxidase appeared to be purified by 94-fold, with the activity yield of 45.4%, and its molecular weight was determined as 38,500 by poly acrylamide gel electrophoresis. The optimal pH and temperature for the enzyme activity were pH 7.5 and 50°C, respectively. The purified enzyme showed a high affinity for catechol and pyrogallol. The Michaelis constant for catechol was calculated to be 16.67mM according to the Lineweaver-Burk method. The enzyme activity was strongly inhibited by L-ascorbic acid, sodium bisulfite, EDTA and KCN, and totally inhibited, by Fe<sup>3+</sup> at a concentration of 1mM. However the enzyme was activated by Zn<sup>2+</sup> approximately 1.7 times at the same concentration.

#### 서 론

칠틈 뿌리는 오래전부터 전분 및 차제조원료와 약 용 등으로 사용되어진 구황작물로서 이용범위 또한 다양화 되어지고 있으나 저장 또는 가공처리과정중 심한 갈변현상이 일어나므로 양질의 전분을 얻는데 있어 문제점으로 대두되고 있다.

일반 식물체에서의 갈변은 주로 효소적 갈변으로 polyphenol oxidase가 관여하는 산화 반응으로 알려져 있다. polyphenol oxidase는 catechol oxi-

dase(EC 1, 10, 3, 1), laccase(EC 1, 10, 3, 2)와 tyrosinase(EC 1, 14, 8, 1)로 분류<sup>1)</sup>되어지며 식물체 조직에 널리 분포하는 효소는 laccase와 catechol oxidase로서 식물체의 polyphenol 계 화합물을 산화하여 quinone으로 변화시킨 후 이를 중합하여 갈색의 melanine을 생성 착색시키는 효소이다.

식물조직중의 polyphenol oxidase는 여러 종류의 isoenzyme이 존재하는 것으로 보고되고 있으며 Halim<sup>2)</sup> 등은 배에서 8개의 isoenzyme을 분리함과 아울러 각 isoenzyme의 기질 친화성 및 저해제의 영향을 보고하였고, 정<sup>3)</sup> 등은 사과에서 전기영동으로 4개의 isoenzyme을 분리하고 이들의 열 안정성을 보고하였다.

1988년 9월 1일 수리

Corresponding Author: M.J. Oh

또한, Montgomery<sup>4)</sup> 등은 바나나 과육 부위에 서 9개, 껍질부위에서 10개의 isoenzyme을 분리 하여 0-diphenol 류와 특이적으로 작용한다고 보고 하였다. polyphenol oxidase에 대한 정제 및 효소 학적 성질에 관한 연구로서는 사과 polyphenol oxidase의 효소학적 성질,<sup>5)</sup> borate 및 다른 저해 제의 영향,<sup>6)</sup> 바나나 polyphenol oxidase의 생화학 적 특성,<sup>7)</sup> 기질특이성 및 저해제의 영향,<sup>8)</sup> 2- mercaptobenzothiazole의 저해작용,<sup>9)</sup> 버섯 가공시 citric acid를 사용한 갈변의 조절<sup>10)</sup> 및 각종 저해 제의 영향<sup>11,12)</sup> 등에 대한 보고가 있다.

이 밖에 망고,<sup>13,14)</sup> 배,<sup>2,15-17)</sup> Avocado,<sup>18-21)</sup> 포 도,<sup>22,23)</sup> 차,<sup>24,25)</sup> Yam,<sup>26-29)</sup> 복숭아,<sup>30-32)</sup> Table beet의 polyphenol oxidase<sup>33)</sup> 정제 및 효소학적 특 성 등이 보고된 바 있으나 다른 식물체에 비하여 심한 갈변현상을 일으키는 퀴뿌리의 polyphenol oxidase에 대한 연구는 보고되어 있지 않다.

본 연구에서는 퀴뿌리로부터 polyphenol oxidase (EC 1, 10, 3, 1)를 추출 정제하고 정제효소의 효소 학적 성질을 검토하여 몇가지 결과를 얻었기에 보 고하는 바이다.

### 재료 및 방법

#### 1. 재 료

##### 1) 퀴 뿌리

본 실험에서 재료로 사용한 퀴뿌리는 1987년 4 월에 대전근교의 야산에서 채취한 것을 -20°C에 서 냉동하여 저장하면서 실험에 사용하였다.

##### 2) 시 약

기질로서 사용한 phenol 화합물은 Tokyo Kasei 사 제품, L-tyrosine은 Junsei사 제품, hydroqui none 및 gallic acid는 Yakuri사 제품, DEAE-Cellulose는 sigma사 제품, DEAE-Sephadex A-50 및 Sephadex G-100은 Pharmacia Fine Chemical 사 제품, 기타 일반 시약은 분석용 특급시약을 사 용하였다.

#### 2. 방 법

##### 1) 퀴 뿌리 acetone 분말의 조제

Flurkey<sup>34)</sup> 등의 방법을 변형하여 퀴뿌리 acetone 분말을 조제하였다. 즉, stainless steel 제 칼로 얇 게 자른 퀴뿌리 4g에 polyethylene glycol (PEG) 4,000 0.75g과 -20°C로 냉각한 아세톤 50ml를 가하고 10,000rpm에서 3분간 마쇄하여 여과한 후

잔사에 다시 냉아세톤 50ml 가하여 2회 반복 처리 하고 4°C에서 아세톤을 휘발시켜 백색의 퀴뿌리 acetone 분말을 제조하였다.

##### 2) 조효소액의 조제

Acetone 분말 50g에 polyvinyl polypyrrolidone (PVPP) 25g과 500ml의 0.05M Tris-HCl buffer (pH8.0)를 가하여 4°C에서 30분간 균질화시킨 후 면포로 여과시킨 여액을 4°C에서 20분간 10,000g 로 원심분리하여 그 상정액을 조효소액으로 하였다.

##### 3) 효소의 정제

조효소액을 0.1M KCl이 함유된 0.05M Tris-HCl buffer(pH8.0)로 평형시킨 DEAE-Cellulose 를 이용하여 효소활성이 있는 부분을 분리하여 농 축한 후 다시 DEAE-Cellulose에 의하여 0.5M KCl로 linear gradient 하였다. 그런 다음 활성부 분을 PEG 6,000으로 농축하고 DEAE-Sephadex A-50에 의하여 0.5M KCl로 linear gradient 하여 탈염, 농축한 다음 Sephadex G-100 column (1.4 × 80cm)상에 loading하고 0.05M-Tris-HCl buffer (pH8.0)에 의하여 elution 시켜 분획하였다.

##### 4) polyphenol oxidase의 활성측정

###### (1) 기질용액의 조제 및 활성측정

Park<sup>14)</sup> 등의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, 0.05M-Tris-HCl buffer(pH 7.5)에 10mM-catecaol의 농도가 되도록 용해하여 사용하였으며 이 기질용액 3ml에 조효소액 0.1ml를 가한 후 50°C로 조정된 cell(1cm<sup>2</sup>) 내에서 반응시켜 420nm 의 흡광도 변화를 측정하였으며, 효소의 활성은 50°C에서 1분간에 0.001의 흡광도를 증가시키는 효소량을 1단위(unit)로 하였으며 효소의 비활성은 단백질 1mg당 효소단위로 표시하였다.

###### (2) 단백질의 정량

조효소액 및 정제효소의 단백질함량은 Lowry<sup>35)</sup> 법에 따라 측정하였으며 이 때 표준 단백질로는 Bovine Serum Albumin을 사용하였다. 그리고, 효소정제 과정중의 단백질량은 280nm에서의 흡광 도를 측정하여 표시하였다.

##### 5) 효소학적 특성의 검토

###### (1) pH의 영향

효소의 반응 최적 pH는 pH 3~10 (pH3~5.5 : 0.05-McIvaine buffer, pH 6~10 : 0.05 M-Tris-HCl buffer)이 되도록 조제한 기질용액 3ml에 효 소액 0.1ml를 가하여 50°C에서 1분간 반응시켰 을 때의 효소활성을 측정, 비교하였고 pH에 대한 안정도는 상기와 동일조건에서의 반응액을 4°C의 저온

실에 24시간 방치한 후에 잔존활성을 측정, 비교하였다.

### (2) 온도의 영향

효소의 반응최적온도는 기질용액 3ml에 효소액 0.1ml를 가하여 temperature controller에 의해 spectrophotometer의 cell의 온도를 0°C~60°C가 되도록 조절하여 1분간 반응시켜 효소활성을 측정 비교하였고 온도에 대한 안정도는 효소액을 40°C~70°C에서 18분간 처리하면서 경시적으로 효소액 일정량을 취하여 잔존 활성을 측정, 비교하였다.

### (3) 기질특이성

기질특이성은 catechol을 비롯한 phenol 류를 기질로 하여 효소의 활성을 측정, 비교하였다.

### (4) 저해제의 영향

Catechol과 pyrogallol을 기질로 하여 L-ascorbic acid를 비롯한 산화효소 저해제를 0.1mM, 1mM이 되도록 첨가하여 효소활성을 측정, 비교하여 저해제의 영향을 검토하였다.

### (5) 금속이온의 영향

0.05M Tris-HCl buffer (pH 7.5)에 용해한 10 mM catechol 용액을 기질로 하여 이 기질용액에 금속이온의 농도가 0.1mM, 1mM이 되도록 첨가하여 50°C에서 1분간 반응시켜 효소활성을 측정, 비교하였다.

### (6) km 값

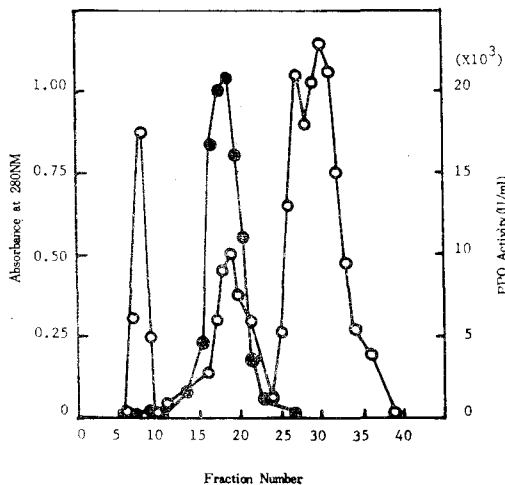


Fig. 1. Gel filtration of Arrowroot PPO on Sephadex G-100

The flow rate was 10ml/hr and fractions of 4ml were collected protein concentration and PPO activity are expressed as the absorbance at 280nm (O—O) and  $\mu$ /ml(●—●)

Catechol 농도를 2~25mM 까지 조정하여 50°C에서 1분간 효소활성을 측정한 후 Line weaver-Burk 방법으로 km 값을 구하였다.

### (7) 효소순도, Isoenzyme의 확인 및 분자량 측정

효소순도는 Davis의 방법<sup>36)</sup>에 준하여 7% PAGE를 행하였으며 Isoenzyme의 확인은 Halim<sup>37)</sup> 등의 방법에 따라 영동 gel을 0.05% phenylene diamine이 함유된 10mM catechol 기질용액에 담그어 50°C 3분간 반응시켰을 때 갈색의 활성 band를 확인하여 isoenzyme으로 하였다. 정제효소의 분자량은 표준단백질과 정제효소를 PAG 전기영동에 의하여 비교, 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 효소의 정제

DEAE-Cellulose와 DEAE-Sephadex A-50 column을 통하여 얻은 활성부분의 효소를 투석, 농축한 다음 Sephadex G-100 column chromatography 한 결과 그림 1과 같았다.

이들 활성부분을 모아 투석한 후 효소활성을 측정하였던 바 45.4%의 수율과 94배의 정제도를 나타내었으며 정제과정중 효소의 비활성과 수율은 표 1과 같다.

한편 Dizik<sup>20)</sup> 등은 Avocado PPO를 유안염석과 gel filtration에 의해 28배 정제하였다고 보고하였으며 Christopher<sup>26)</sup> 등은 Yam의 O-Diphenolase를 acetone 분말, 유안염석, ion exchange chromatography 및 gel filtration의 방법을 사용하여 122배 정제하였다고 보고하였다.

### 2. 효소학적 성질

#### 1) pH의 영향

쉼뿌리 PPO의 활성 및 안정성에 미치는 pH의 영향을 검토한 결과는 그림 2, 3과 같았으며 pH 7.5에서 가장 강한 활성을 나타내었고, 알칼리성 (pH 7.5~9)에서는 안정하였으나 중성 및 산성쪽에서는 산도가 강할수록 활성이 저하하였다.

사과,<sup>6)</sup> Cranberry,<sup>38)</sup> d'Anjou 품종의 배 PPO<sup>3)</sup>의 최적 pH는 pH 7, Bartlett 품종의 배<sup>17)</sup>에서는 pH 6.2, Guava<sup>37)</sup>에서는 pH 7.2, Mango<sup>14)</sup>에서는 pH 5.5~6.0, 점핵종 복숭아<sup>39)</sup>의 4개의 isoenzyme은 각각 pH 6.8, 6.5, 7.2 및 7.0이었다고 보고한 바 있어 PPO의 작용최적 pH는 중성 또는 약 산성부근임을 알 수 있었다. Royal Ann 품종의

Table 1. Purification steps of Arrowroot PPO

Step	Total Protein (mg)	Total Activity (Units)	Specific Activity (Units/mg : Protein)	Purity (fold)	Yield (%)
Crude enzyme solution	3157.2	650,000	205.9	1.0	100
1st DEAE-Cellulose	1933.8	616,707	318.9	1.6	94.9
2nd DEAE-Cellulose	603.5	478,564	793.0	3.9	73.6
DEAE Sephadex A-50	103.1	409,872	3,973.9	19.3	63.1
Sephadex G-100	15.2	295,065	19,361.2	94.0	45.4

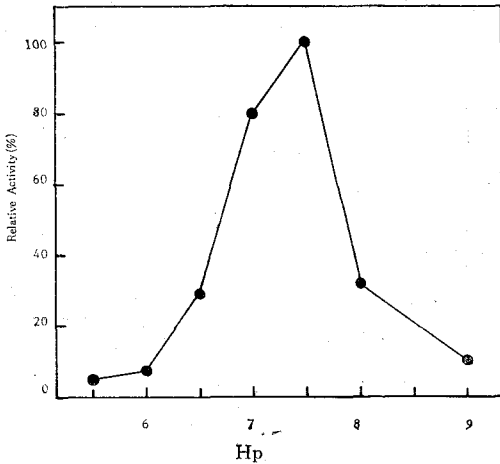


Fig. 2. Effect of pH on the activity of Arrowroot PPO

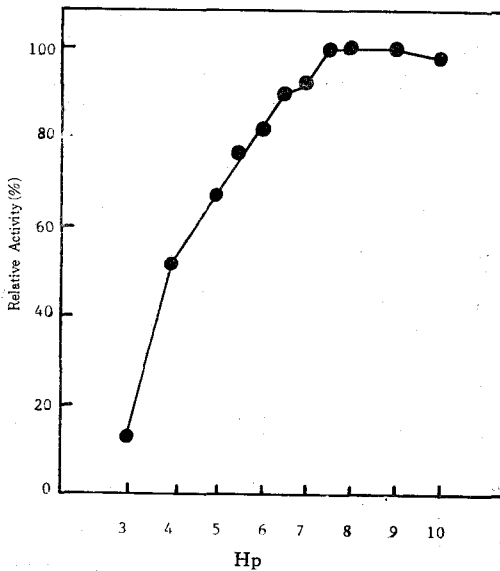


Fig. 3. Effect of pH on the stability of Arrowroot PPO

The enzyme solution was kept in various buffers with pH ranging from 3 to 10 for 24hrs at 4°C. Buffers used were McIlvaine (pH3~5.5), and Tris-HCl(pH 6~10)

양양두<sup>10)</sup>는 pH 4.5에서 최고의 안정성이 있었다고 보고한 바 있으나 본 효소는 알칼리성에서 안정하였다.

2) 온도의 영향

췌장리 PPO의 활성 및 안정성에 미치는 온도의 영향은 그림 4, 5와 같으며 최적작용온도는 50°C 이었고 40~60°C에서는 시간이 경과함에 따라 효소활성이 완만히 실행되었으나 65°C에서는 15분만에 90%가 실행되었고, 70°C에서는 12분만에 완전히 실행되었다.

d'Anjou 품종의 배 PPO는 70°C에서 11.7분, mushroom PPO<sup>10)</sup>는 70°C에서 10분만에 완전 실행되었다고 보고된 바 있고 췌장리 PPO는 이들과 거의 같은 경향을 보였으나 최적온도에 있어서는 일반식물 PPO의 작용최적온도가 25°C인데 반하여 본 효소는 50°C로서 높은 결과를 나타내었다. 췌장리 가공품 제조시 갈변을 방지하기 위하여는

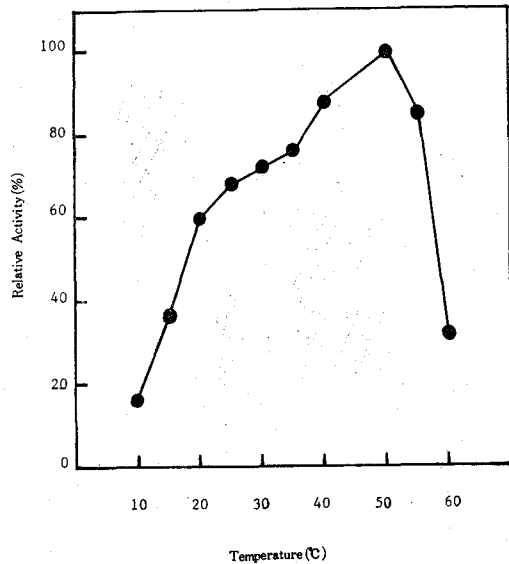


Fig. 4. Effect of temperature on the activity of Arrowroot PPO

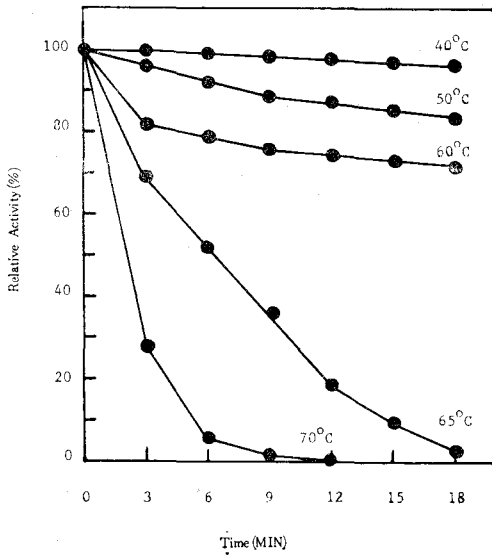


Fig. 5. Effect of temperature on the thermal stability of Arrowroot PPO

70°C에서 6분, 65°C에서는 30분 이상 처리하여야만 효과적인 것으로 생각된다.

3) 기질특이성

췌뿌리 PPO의 기질특이성을 측정된 결과는 표 2에 나타낸 바와 같았으며 o-diphenol인 catechol의 산화도를 100으로 환산하여 상대활성을 측정하였을 때 Triphenol류의 pyrogallol은 상대활성이 405.7로서 기질전환성이 가장 높았으나 Monophenol류, m-Diphenol류 및 p-Diphenol류는 거의 기질전환성이 없었으며 같은 o-Diphenol류인 Chlorogenic acid나 caffeic acid와의 친화력은 거의 인정되지 않아 기질특이성이 매우 높은 효소이

었다. pyrogallol의 기질특이성이 catechol에 비하여 4배정도 높은 것으로 나타났는데 이는 췌뿌리 중에 polyphenol은 pyrogallol이 많이 함유되었기 때문으로 생각된다.

Benjamin<sup>40)</sup> 등은 정제한 Royal Ann 품종의 양액두 PPO가 pyrogallol, 4-methylcatechol 및 catechol에 대해서 강한 기질전환성을 나타내었다고 보고하였다.

4) 저해제의 영향

저해제가 본 효소의 활성에 미치는 영향을 검토한 결과는 표 3에서의 같이 catechol을 기질로 사용하였을 때 0.1mM 농도에서 thiourea, sodium bisulfite와 KCN은 심한 저해작용을 나타내었으며 citric acid와 sodium diethyl dithiocarbamate는 저해현상을 나타내지 않았다.

한편, 1mM 농도 이상에서는 boric acid와 sodium diethyl dithio carbamate를 제외한 저해제를 첨가하였을 때 효소의 활성은 거의 실행되었다.

pyrogallol을 기질로 하였을 때 1mM의 농도에서는 catechol과 같은 경향이었으나 0.1mM 농도에서는 2-mercaptoethanol은 catechol을 기질로 하였을 때와는 달리 저해작용이 전혀 나타나지 않았다. 이는 Christopher<sup>26)</sup> 등이 발표한 White Yam tuber의 o-Diphenolase에 대한 저해제의 영향과 비교하였을 때, L-ascorbic acid, KCN, sodium bisulfite, 2-mercaptoethanol 등에 있어서는 같은 경향을 나타내었으나 EDTA는 정반대의 경향을 나타내었다. 또한 catechol과 pyrogallol을 기질로 하여 1mM EDTA와 효소를 반응시켰을 때 효소 반응의 완전저해를 나타내는 점으로 보아 polyphenol oxidase는 Cu<sup>2+</sup> 이온을 보결분자단으로 하는

Table 2. Substrate specificities of Arrowroot PPO

Substrate	Relative Activity(%)	Substrate	Relative Activity(%)
Monophenol		DL-DOPA	52.8
Phenol	0	Caffeic acid	0
p-Coumaric acid	2.8	m-Diphenol	
4-Hydroxybenzoic acid	0	Resorcinol	0
L-tyrosine	0	p-Diphenol	
Ferulic acid	0	Hydroquinone	0
o-Diphenol		Triphenol	
Catechol	100	Pyrogallol	405.7
Chlorogenic acid	1.9	Gallic acid	2.8

The substrate concentration was 10mM except L-tyrosine (2.5mM)

효소라는 점을 감안할 때 당연한 결과라 생각된다.

5) 금속이온의 영향

효소활성에 미치는 각종 금속이온의 영향을 검토한 결과는 표 4와 같이 Fe<sup>3+</sup> 이온을 1mM이 되

Table 3. Effect of Inhibitors on the activity of Arrowroot PPO Inhibition (%)

Inhibitor	Substrate	Inhibitor ConCn.	
		1mM	0.1 mM
L-Ascorbic acid	C*	100	8.9
	P**	100	21.5
Thiourea	C	94.4	61.7
	P	80.2	25.3
Sodium bisulfite	C	100	15.0
	P	100	19.3
EDTA	C	100	5.6
	P	100	28.6
Boric acid	C	26.1	3.1
	P	28.9	5.3
Citric acid	C	86.7	0
	P	99.5	11.3
2-Mercaptoethanol	C	100	10.6
	P	66.3	0
Sodium diethyl dithiocarbamate	C	17.8	0
	P	28.4	0
KCN	C	100	70
	P	97.6	77.8
Control (None)	C	0	0
	P	0	0

\* C : Catechol \*\* P : Pyrogallol

Table 4. Effect of metal ions on the activity of Arrowroot PPO Relative activity (%)

Metal ion	Metal ion ConCn.	
	1 mM	0.1 mM
K <sup>+</sup>	95.2	100
Li <sup>+</sup>	91.9	96.9
Na <sup>+</sup>	93.6	100
Fe <sup>2+</sup>	35.5	92.8
Zn <sup>2+</sup>	166.1	108.3
Hg <sup>2+</sup>	32.3	88.7
Mg <sup>2+</sup>	67.7	97.9
Ca <sup>2+</sup>	88.7	100
Cu <sup>2+</sup>	43.6	100
Fe <sup>3+</sup>	0	81.4
Al <sup>3+</sup>	19.4	85.6
Sn <sup>3+</sup>	17.7	68.0
Control (None)	100	100

도록 첨가하였을 때 완전 저해하였고, Al<sup>3+</sup> 이온, Sn<sup>3+</sup> 이온이 대체적으로 저해효과가 높았으나, 1 mM의 Zn<sup>2+</sup> 이온 존재시에는 약 1.7배의 활성이 증가되었다. 이는 강<sup>15)</sup> 등의 배 PPO에 10mM의 Zn<sup>2+</sup> 이온을 첨가하면 활성을 크게 증가시켰다는 보고와 일치하는 경향을 나타내었으며 본 실험결과를 통하여 킴뿌리 PPO는 다른 식물의 PPO에 비하여 미량의 금속이온에 의해서도 활성에 큰 영향을 받음을 알 수 있었다.

6) Km 값

효소활성도를 측정하여 기질농도와 반응속도의 관계를 Lineweaver-Burk의 방법으로 도시하면 그림 6과 같이 Km 값은 16.67mM이었다.

한편, 복숭아 PPO<sup>39)</sup>의 km 값은 15mM, Mango<sup>13)</sup>에서는 8.2mM, 배<sup>15)</sup>에서는 14.3mM이라고 보고한 결과와 비교할 때 킴뿌리 PPO의 km 값은 이들보다 높았으므로 낮은 기질친화성을 나타내었고 배 PPO<sup>17)</sup>의 km 값은 48mM, 품종이 다른 각각의 복숭아<sup>41,42)</sup>에서는 29 mM, 120 mM로서 킴뿌리 PPO의 km 값은 이들보다 낮았으므로 기질친화성이 높음을 알 수 있었다.

7) 효소순도, Isoenzyme의 확인 및 분자량 측정

조효소액을 전기영동한 후 catechol로 활성염색을 한 결과 그림 7 및 8에서와 같이 5개의 활성 band를 나타내었으며, 이들 활성단백질의 분자량은 각각 157,000, 101,000, 46,000, 38,500 및 30,000으로서 전기영동에 의하여 이동도가 다르고 같은 효소활성을 가지고 있어 isoenzyme으로 간주하였다. 단백질 band 중에서 catechol을 기질로 하여 PPO의 활성을 측정한 바 확인된 5개의 isoenzyme 중 대부분의 활성을 나타내고 있는 단백질

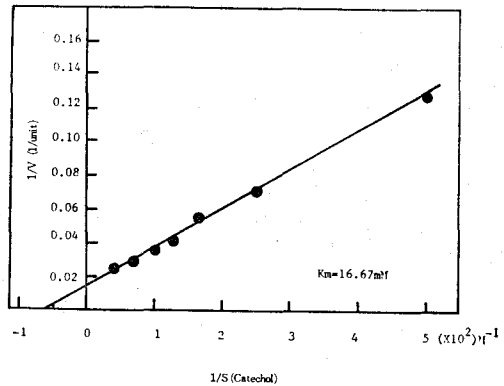


Fig. 6. Lineweaver-Burk plot for the determination of the Michaelis constant for Arrowroot PPO

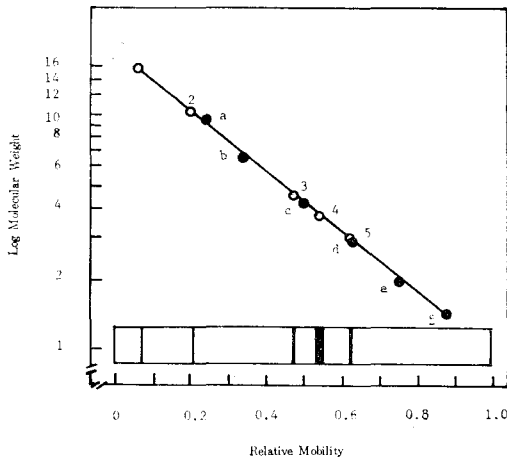


Fig. 7. Estimation of molecular weight of PPO active band at Arrowroot

- a : Phosphorylase
  - b : Bovine Serum Albumin
  - c : Ovalbumin
  - d : Carbonic Anhydrase
  - e : Soybean<sub>1</sub> Trypsin Inhibitor
  - f :  $\alpha$ -Lactalbumin
- 1 : 157,000    2 : 101,000    3 : 46,000  
 4 : 38,500    5 : 30,000

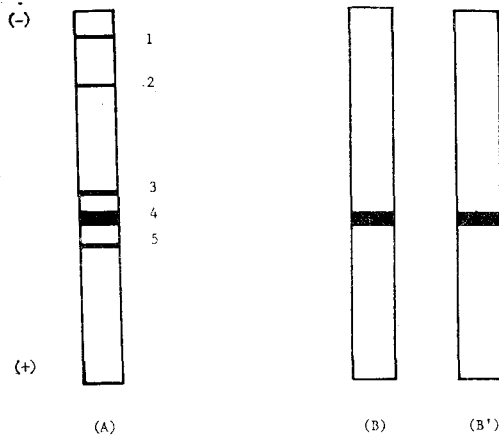


Fig. 8. Polyacrylamide gel electrophoresis of Arrowroot PPO

- A : PPO active band of crude enzyme
- B : Protein band of purified enzyme
- B' : PPO active band of purified enzyme

은 분자량 38,500의 것이었으므로 효소의 분리, 정제 및 성질은 분자량 38,500에 대하여 검토하였다. Montgomery<sup>4)</sup> 등은 banana의 PPO isoenzyme을 각 부위에 따라 확인한 바 과육에서는 8~9개, 과피에서는 10개 존재한다고 보고하였으며, Cons-

tantinides<sup>43)</sup> 등은 D,L-DOPA로 활성염색하였을 때 버섯에서는 9개, 고구마에서는 11개, 그리고 사과에서는 3개의 isoenzyme이 존재한다고 보고하였다.

초 록

썩뿌리로 부터 썩뿌리 acetone 분말을 제조하고 polyphenol oxidase를 추출, 정제하여 정제효소의 효소학적 특성을 검토하였다. 조효소는 DEAE-Cellulose, DEAE-Sephadex A-50, Sephadex G-100 column chromatography에 의하여 정제되었으며, 정제효소의 비활성은 94배, 정제수율은 45.4%이었다. 정제효소는 catechol 및 pyrogallol에 대하여 강한 친화성을 나타내었으며, km 값은 catechol을 기질로 하였을 때 16.67mM이었다. 작용 최적 pH는 7.5, 최적온도는 50°C에서 가장 잘 작용하였고 1mM L-ascorbic acid, sodium bisulfite, EDTA, KCN 및 Fe<sup>3+</sup> 이온에 의하여 심한 저해를 나타내었으며, Zn<sup>2+</sup> 이온을 약 1.7배 정도의 활성을 증가시켰다. 조효소액을 전기영동하여 catechol로 활성염색 하였을 때 5개 isoenzyme이 확인되었으며 그 중 분자량 35,000의 것이 가장 강한 활성을 나타내었다.

참 고 문 헌

1. Alfred M. Mayer: Phytochemistry, 26 : 11 (1987)
2. Halim, D.H. and Montgomery, M.W.: J. Food Sci., 43 : 605(1978)
3. Chung, K.T., Seo, S.K. and Song, H.T.: J. Korean Soc. Food Nutr., 13(4) : 397(1984)
4. Montgomery, M.W. and Sgarbieri, V.C.: Phytochemistry, 14 : 1245(1975)
5. Chung, K.T., Seo, S.K. and Song, H.T.: Korean J. Food and Nutrition 12(4) : (1983)
6. Bedrosian, K., Steomberg, M.P. and Nelson, A.I.: Food Technol., 14 : 480(1960)
7. Galeazzi, M.A.M., Sgarbieri, V.C. and Constantindies, S.M.: J. Food Sci., 46 : 150(1981)
8. Galeazzi, M.A.M. and Sgarbieri, V.C.: J. Food Sci., 46 : 1404(1981)
9. Palmer, J.K. and Roberts, J.B.: Science,

- 157 : 200(1967)
10. McCord, J.D. and Kilara, A.: *J. Food Sci.*, 48 : 1479(1983)
  11. Embs, R.J. and Markakis, P.: *J. Food Sci.*, 30 : 753(1965)
  12. Avi Golan-Goldhirsh and John R. Whitaker: *J. Agric. Food Chem.*, 32 : 1003(1984)
  13. Katwa, L.C., Ramakrishna, M. and Raghavendra Rao, M.R.: *J. Food Biochem.*, 6 : 217 (1982)
  14. Park, Y.K., Sato, H.H., Almeida, T.D. and Moretti, R.H.: *J. Food Sci.*, 45 : 1619(1980)
  15. Kang, Y.H., Sohn, T.H.: *Agric. Res. Bull. Kyungpook Natl. Univ.*, 4 : 55(1986)
  16. Wissemann, K.W. and Montgomery, M.W.: *Plant Physiol.*, 78 : 256(1985)
  17. Tate, J.N., Luh B.S. and York, G.K.: *J. Food Sci.*, 29 : 829(1964)
  18. Kahn, V.: *Phytochemistry*, 15 : 267(1976)
  19. Kahn V.: *J. Food Sci.*, 42 : 38(1977)
  20. Dizik, N.S. and Knapp, F.W.: *J. Food Sci.*, 35 : 282(1970)
  21. Knapp, F.W.: *J. Food Sci.*, 20 : 930(1965)
  22. Lee, C.Y., Smith, N.L. and Pennesi, A.P.: *J. Sci. Food Agric.*, 34 : 987(1983)
  23. Wissemann, K.W. and Lee, C.Y.: *J. Food Sci.*, 46 : 506(1981)
  24. Gregory, R.P.F. and Bendall, D.S.: *Biochem. J.*, 101 : 569(1966)
  25. Coggon, P. Moss, G.A. and Sanderson, G.W.: *Phytochemistry*, 12 : 1947(1973)
  26. Christopher, O.P. and Helen, N.O.: *Phytochemistry*, 21 : 2815(1982)
  27. Emmanuel, O.A. and Augustine, O.A.: *Phytochemistry*, 20 : 2625(1981)
  28. Luisita-Dela Dela Rosa and Lateer Emiola: *J. Appl. Biochem.*, 2 : 100(1980)
  29. Ozo, Ozo. N. and John C. Caygill: *J. Sci. Food Agric.*, 37 : 283(1986)
  30. Luh, B.S. and Bulan Phithakpo: *J. Food Sci.*, 37 : 264(1972)
  31. William H. Flurkey: *J. Food Biochem.*, 4 : 29(1980)
  32. Paulson, A.T. Vanderstoep, J. and Porritt, S.W.: *J. Food Sci.*, 45 : 341(1980)
  33. Lee, C.Y. and Smith, N.L.: *J. Food Sci.*, 44 : 82(1979)
  34. William H. Flurkey and Joseph J. Jen: *J. Food Sci.*, 43 : 1826(1978)
  35. Lowry, O.H.: Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193 : 265(1951)
  36. Davis, B.J.: Disc electrophoresis II. Methods and application to human serum proteins, *Annals New York Acad. Sci.*, 121 : 404(1964)
  37. Augustin, M.A., Ghazali, H.M. and Hasimah Hashim: *J. Sci. Food Agric.*, 36 : 1259(1985)
  38. Chan, H.T. Jr.: *J. Food Sci.*, 35 : 169(1971)
  39. Wong, T.C.: *Plant Physiol.*, 48 : 19(1971)
  40. Benjamin, N.D. and Montgomery, M.W.: *J. Food Sci.*, 38 : 799(1973)
  41. Jen, J.J.: Characterization of PPO in peaches grown in the southeast, *Hort Sci.*, 9 (6) : 590(1974)
  42. Reyes, P. and Luh, B.S.: *Food Tech.*, 14 : 570(1960)
  43. Constantinides, S.N. and Bedford, C.L.: *J. Food Sci.*, 32 : 446(1967)