KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 23, No. 4, pp. 414~419(1991)

돼지감자 Polyphenol Oxidase의 분리와 특성

박은배 · 이준식* · 최언호
서울여자대학교 식품과학과, *한국과학원 생물공학과

Isolation and Characteristic of Polyphenol Oxidase from Jerusalem Artichoke Tuber

Eun-Bae Park, Jun-Sik Lee and Eon-Ho Choi
Department of Food Science, Seoul Woman's University
**Department of Bioengineering, KAIST*

Abstract

Polyphenol oxidase from Jerusalem artichoke(*Helianthus tuberosus L.*) tubers was partially purified by precipitation with ammonium sulfate, followed by gel filtration on Sephadex G-100. The enzyme showed maximal activity at pH 6.5 and 4℃. Kinetic studies indicated K_m value of 3 mM for catechol and activation energy of 72.6 kcal/mole. As for substrate specificity of polyphenol oxidase the enzyme showed high affinity towards diphenol compounds, but not towards monophenols. The enzamatic browning was completely inhibited at 1 mM concentration of L-ascorbic acid, sodium hydrosulfite and L-cystein(HCl). The activity of polyphenol oxidase in 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.5) was fairly stable for a week at 4℃, while it decreased remarkably at 25℃.

Key words: polyphenol oxidase, Jerusalem artichoke, inhibitor, enzyme inactivation

서 론

돼지감자는 비소화성 당류인 이눌린이 주성분으로 fructose와 저칼로리 식품의 공급원으로서 그리고 알코올 발효에 의한 대체에너지의 생산원료로서 깊은 연구대상이 되고 있다. 돼지감자는 감자나 고구마처럼 쉽게 갈변되기 때문에 돼지감자가 식품이나 알코올 발효의 원료로서 이용되려면 갈변을 억제시켜야 될 것이다. 식물에 있어서 갈변현상은 Maillard reaction, polyphenol oxidase, peroxidase, caramelization, ascorbic acid oxidation 등의 비효소적 갈변과 lipoxygenase, chlorophyllase 등에 의한 효소적 갈변으로 구분되지만[1], 이 중 효소적 갈변은 주로 polyphenol oxidase와 peroxidase가 관여하는 것으로 알려져 있다. 이들 효소들은 품종, 성장시기[2]와 성장조건[1]에 따라서 그 활성에 현저한 차이가 있으며, 식물체 내의 기질 함량[3]에 따라 갈변의 정도가 크게 다르다.

Zawistoski 등[4]은 돼지감자로부터 polyphenol oxidase (EC. 1.14.18.1)을 추출하여 특성을 조사한 바 최적 pH가 6.0, 활성화에너지가 54 kJ/mole이고, soluble polyphenol oxidase의 84% 이상이 껍질에 존재한다고 보고하였으며, L-cystein, sodium bisulfite, potassium ethylxanthate 등의 저해효과도 보고되고 있다[5]. 국외에서는 돼지감자의 polyphenol oxidase에 관한 연구결과가 단편적으로 보고되고 있으나 국내에서도 이에 관한 보고가 없다.

본 연구에서는 국내 생산된 돼지감자의 효소적 갈변을 억제하는데 필요한 자료를 얻기 위하여 먼저 돼지감자의 효소적 갈변에 가장 많이 관여하는 polyphenol oxidase를 분리하고 이 효소의 최적온도와 pH, 기질의 종류 및 농도의 영향, 저장 중의 활성변화, 열불활성화 및 저해제의 처리효과 등을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

경기도 문산에서 생산된 돼지감자를 −20℃에서 보관하여 실험재료로 사용하였다.

조효소의 분리

외피를 깍은 돼지감자 300g을 5 mm 두께로 썰고 여기에 L-ascorbic acid 2g, 0.1 M potassium phosphate 완충용액(pH 6.5, 4℃) 300 ml를 가하여 homogenizer로 1분 30초간 균질화시킨 후 모직천을 사용하여 여과하고 여액을 4℃에서 40분간 원심분리(7,500×g)한 상징액을 조효소액으로 사용하였다[4].

Ultrafiltration과 gel filtration에 의한 효소의 정제

조효소액 350 ml에 ammonium sulfate 분말을 소량씩

Corresponding author: Eon-Ho Choi, Department of Food Science, Seoul Woman's University, #126 Kongneung-dong, Nowon-gu, Seoul 139-744, Korea

용해하여 단백질을 석출시킨 후 원심분리(7,500×g, 30분)하여 ammonium sulfate 30∼70% 포화에 해당하는 단백질 침전을 0.1 M potassium phosphate 완충액(pH 6.5) 180 ml에 용해하였다. 이 효소액 180 ml에 0.01 M potassium phosphate 완충액(pH 6.5) 600 ml와 L-ascorbic acid 0.5g을 가한 후 이것을 cut off 분자량이 8,000∼10,000인 박막의 여과장치(ultrafilter, Amicon)를 사용하여 초미세 여과하였다. 이 때 압력은 30 psi로서 질소가스를 이용하였다.

0.01 M potassium phosphate 완충액(pH 6.5)으로 평형시킨 Sephadex G-100(Sigma)의 column(2.5×85 cm)에 초미세 여과시킨 효소액을 주입시키고, 같은 완충액으로 용출(5 ml/hr)시켜 140개의 시험관에 3 ml씩 분취하였다. 이 중 효소활성이 높은 20개의 분획으로부터 모은 60 ml를 4 l의 0.01 M potassium phosphate 완충액(pH 6.5)에서 6시간 투석시켜 ascorbic acid를 충분히 제거시킨 후 동결건조하였다.

단백질 정량

조효소액과 gel filtration한 정제 효소액의 단백질 함량을 Lowry법[6]에 의하여 정량하였으며 이 때 표준물질로서는 bovine serum albumin(Sigma)을 사용하였다. Gel filtration에 의하여 수집된 각 분취액의 단백질 함량은 Lowry 법으로 정량하기 전에 280 nm에서 흡광도로써 비교하였다.

효소의 활성측정

기질로서 효소의 정제 중에는 0.01 M catechol을, 효소의 활성 측정시에는 0.1 M catechol 0.3 ml를 3 ml cuvette에 넣고 0.1 M potassium phosphate 완충액(pH 6.5) 2.0 ml와 조효소액 또는 정제효소액 0.1 ml를 가하여 2분간 반응시키는 동안 400 nm(Beckman DU-6 spectrophotometer)에서 흡광도를 측정하였다[6]. 대조용은 효소액 대신에 0.1 M potassium phosphate를 첨가하였다. 효소단위는 실온(20∼25℃)에서 30초간에 0.01의 흡광도를 증가시키는데 소요된 효소량을 1 unit로 표시하였다.

pH 영향 실험에서는 pH를 조절하기 위하여 pH 3.0∼5.5에서는 0.1 M acetate 완충액을, pH 5.5∼7.5에서는 0.1 M potassium phosphate 완충액을, pH 7.5∼9.0에서는 0.1 M Tris-HCl 완충액을 사용하여 상대활성으로 비교하였다.

저해제의 처리

저해제로서 sodium diethyldithiocarbamate(DIECA), L-ascorbic acid, L-cysteine(HCl), sodium chloride, sodium hydrosulfite를 반응혼합액에 대하여 0.01, 0.1, 1.0 10 mM로 조정하고 각각 1.0 ml씩을 취하여 0.1 M potassium phosphate 완충액(pH 6.5) 1.0 ml와 0.1 M catechol 0.3 ml이 들어 있는 cuvette에 넣고 효소액 0.1 ml를 첨가하여 효소의 활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

효소의 정제

Polyphenol oxidase를 부분적으로 정제한 결과는 Table 1, Fig. 1에 나타난 바와 같다. 효소적 갈변반응은 산소 존재하에서 매우 급격히 일어나는 것으로서 실험과정 중 생성된 갈색의 중합체들은 280 nm에서의 단백질 측정, ultrafiltration, DEAE-sephadex에 의한 효소의 분리 등에 영향을 주었다. 그리하여 정제과정 중의 갈변의 방지가 불가피하다고 보고 polyphenol oxidase에 대해 경쟁적으로 저해제이며 항산화제인 L-ascorbic acid를 첨가하였다. 갈변으로 형성된 중합체들은 ion exchange인 DEAE-cellulose나 DEAE-sephadex에 고농도의 염구배법(salt gradient)에 의해서도 유출되지 않으므로, column material과 단단히 결합되는 것으로 사료되었다. 예비실험의 결과는 ammonium sulfate 30∼70% 포화용액에 조효소(polyphenol oxidase)가 석출되었다.

Ammonium sulfate와 Sephadex G-100에 의해 정제된 효소는 11% SUD로 전기영동하였을 때 7개의 band가 나타났으며 비활성도도 크게 증가하여 이 과정을 거치지 않은, 즉 최초의 완충액으로 추출된 조효소의 결과와 비교하여 정제효과가 매우 큰 48배로 나타났다. 실험범위내에서 isozyme은 나타나지 않았다. Royal Ann cherry[7]에서는 Sephadex G-100에 의한 정제배수가 isozyme에 따라 다르기는 하지만 37∼63배이고 green olive[8]에서는 7배였다는 보고가 있으며 토마토[9]의 경우 DEAE-cellulose를 이용한 정제배수는 48.5배라고 보고되었다.

Table 1. Purification of polyphenol oxidase from Jerusalem artichoke tubers

Purification step	Volume (ml)	Activity* (U/ml)	Protein conc. (mg/ml)	Specific activity (U/mg protein)	Yield (%)	Purification (fold)
Buffer extract	350	213	3.08	69	100	1.0
30∼70% $(NH_4)_2SO_4$	182	359	3.45	104	88	1.5
Sephadex G-100	61	208	0.06	3339	17	48.0

*One unit = An Increase in absorbance of 0.01 at 400 nm per 30 second. The enzyme acticity was measured by using 0.3 ml of 0.01 M catechol, 2.0 ml of 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.5), and 0.1 ml of enzyme solution at 25℃

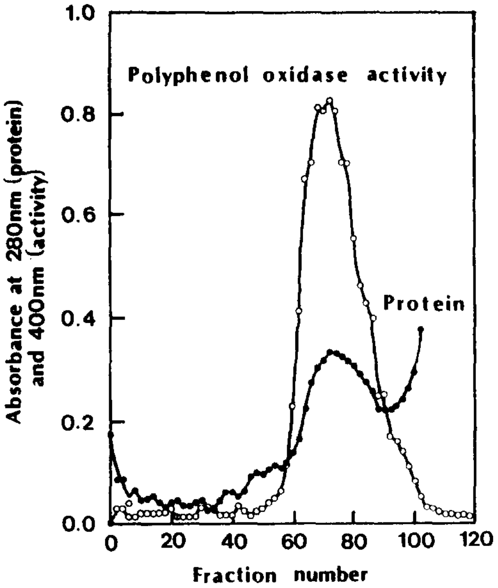

Fig. 1. Elution profile of polyphenol oxidase from Jerusalem artichoke tubers on Sephadex G-100. The column was equilibrated and eluted with 0.01 M phosphate buffer (pH 6.5, 4°C, flow rate 5 ml/hr, 3 ml/tube and column size 2.5×85 cm)

Polyphenol oxidase의 기질특이성

기질특이성을 조사한 결과 Table 2와 같이 2.5~10 mM의 기질농도에서 *o*-diphenol인 catechol과 chlorogenic acid, caffeic acid에서는 활성을 나타내나 trihydroxyphenol인 pyrogallol과 monophenol인 L-tyrosine과 hydroquinone에는 거의 또는 전혀 활성을 나타내지 않았다. Zawistowski 등[10]은 Canada에서 재배된 돼지감자로 분리된 polyphenol oxidase의 기질특이성은 본 연구결과와는 다르게 monophenol에서도 효소의 활성이 나타났다고 보고하고 있으며 실제로 그 효소를 EC 1.14.18.1로 명명하고 있다. 본 연구결과 *o*-diphenol 중에서도 chlorogenic acid에서 가장 높은 활성을 나타내 돼지감자 polyphenol oxidase의 갈변반응의 주요 기질이 chlorogenic acid라고 한 견해와 일치하였다[4,10]. 대부분의 식물에 있는 polyphenol oxidase의 주요 기질은 일반적으로 *o*-diphenol로서 포도[11], 배[12,13], 복숭아[6,14], 망고[15], 아보카도[16], 바나나[17-19], 고구마[3], kiwifruit[20], 사과[21], 감자[22], sugar cane의 잎사귀[23], solanum melongena[24], 체리[7] 등의 연구에서 보고되었다.

Polyphenol oxidase의 활성에 미치는 기질농도의 영향

Chlorogenic acid는 급격한 자동산화를 일으키기 때문에 0.01~0.2 M catechol을 기질로 선택하여 pH 6.5, 실온에서 catechol 농도에 따른 polyphenol oxidase의 반응속도를 조사한 바 Linewwaver-Burk식에 의하여 구한 Machelis 상수(K_m값)는 3 mM로 나타났으며, 이 값은 Lerman avocado[16]의 2.4 mM, 돼지감자[10]의 3.9 mM, 포플러 잎사귀[25]의 5 mM 등과 비슷하며, Cling 복숭아[26]의 15 mM, Bartlett 배[13]의 48 mM 등에 비해 기질에 대한 친화력이 높은 경향을 보인다.

Table 2. Substrate specificity of partially purified polyphenol oxidase from Jerusalem artichoke tubers

Substrate	Concentration (mM)	Activity (unit)	Relative activity (%)
o-Diphenols			
Catechol	10	290	100
Chlorogenic Acid	10	1046	361
Caffeic acid	10	215	74
Pyrogallol	10	5	2
Mono-phenols			
L-Tyrosine	2.5	0	0
Hydroquinone	10	0	0

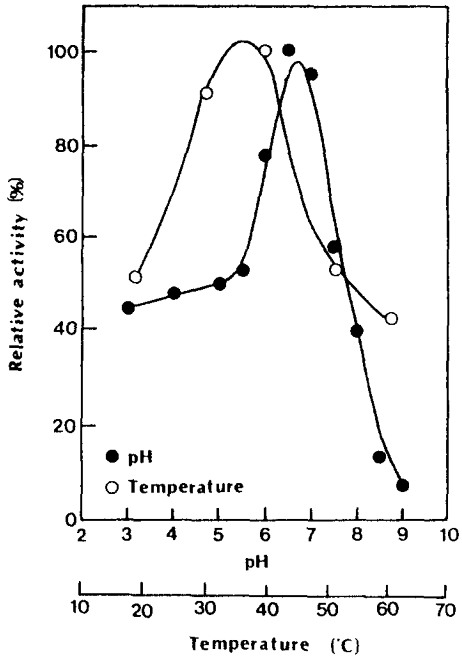

Fig. 2. Effect of pH and temperature on the activity of partially purified polyphenol oxidase from Jerusalem artichoke tubers

Polyphenol oxidase의 활성에 미치는 pH의 영향

0.1 M catechol을 기질로 하여 polyphenol oxidase의 활성에 미치는 pH의 영향을 조사한 결과 Fig. 2와 같이 최적 pH를 6.5로 하여 이보다 pH 1.0이 높거나 낮으면, 활성이 약 50%로 감소되었고, 알카리쪽 pH에서는 활성이 급격히 감소되는 경향을 보였다. 이 결과는 Niagara grape[11]의 경우와 비슷하였으며, 효소 단독에 기인된 것은 아니라 생각된다. 실제로 사과의 phenol성 물질인

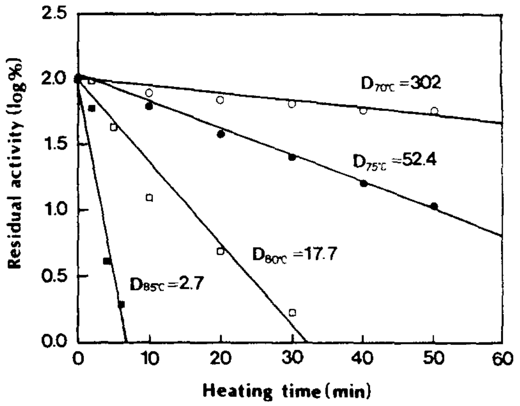

Fig. 3. Thermal Inactivation of partially purified polyphenol oxidase from Jerusalem artichoke tubers

catechol이 pH 6.0 이상에서는 4℃에서도 자동산화가 일어났다는 보고가 있다[13]. Polyphenol oxidase의 최적 pH는 과일과 채소의 종류에 따라 달라서 돼지감자[4,10]의 경우 최적 pH가 0.1 M phosphate 완충액에서 6.0이라 하였으며, 감자[27]는 pH 5.0, Niagra grape[11]는 pH 5.5, Bartlett 배[13]는 pH 6.2, 버섯[28]은 pH 6.5, 토마토는 pH 6.6, d'Anjou 배[12]는 pH 7.0이었으며, Royale ann cherries는 pH 7.3~7.8인 것으로 보고되었다. 또한 사용한 기질과 완충용액의 종류에 따라서도 달라 Reyes[29] 등은 Fay Elberta freestone 복숭아의 경우 citrate phsophate 완충액에서는 최적 pH가 5.9~6.3, oxalate phosphate 완충액에서는 최적 pH가 6.3~6.8이라 하였고, Kann[16]은 Lerman avocado와 Fuerto avocado에서 기질을 4-methyl catechol과 DL-dopa로 하였을 때 똑같이 최적 pH가 5.5~6.5라고 보고하였다.

Polyphenol oxidase의 활성에 미치는 온도의 영향

Polyphenol oxidase의 활성은 Fig. 2와 같이 온도가 상승함에 따라 증가하여 40℃에서 가장 높은 값을 보였고 그후 급격히 하강하여 50℃에서는 40℃에 비교하여 약 60%의 잔존활성을 나타냈다. 버섯[28]의 경우 25~40℃에서는 효소의 활성이 거의 동일하고 40℃ 이상에서는 활성이 급격히 저하하며, 70℃가 되면 불활성화 되었다고 보고하였다. 한편, Wisseman 등[11]은 Niegar grape의 경우 최적온도가 25℃이며, 25℃ 이하의 온도에선 활성이 완만히 감소하여 10℃에서도 85%의 활성이 남아 있으나, 25℃ 이상에서는 급격히 감소하여 70℃에선 4%도 안되는 활성을 나타냈다고 보고하였다. Polyphenol oxidase의 최대활성을 나타내는 온도가 25℃라는 것은 또한 table beet[30]에서도 보고된 바 있다. 이는 과일과 채소의 종류에 따라 효소의 활성에 미치는 온도가 상당히 차이가 있음을 지적하고 있다 하겠다.

효소의 열불활성화

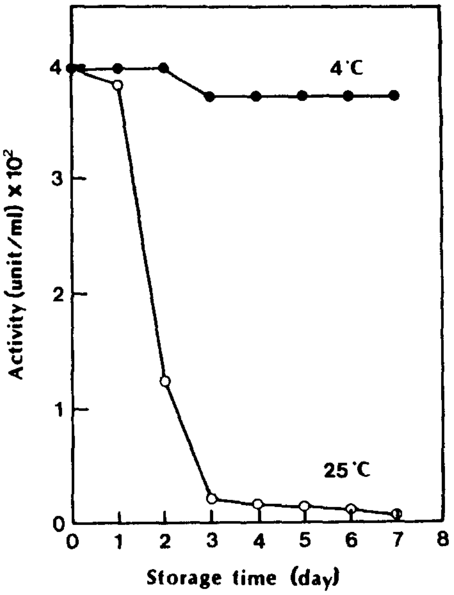

Fig. 4. Storage stability of partially purified polyphenol oxidase from Jerusalem artichoke tubers in 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.5)

70~85℃에서 5℃ 간격으로 polyphenol oxidase의 열불활성화를 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 불활성화 곡선은 일차반응을 나타내었으며, 각 온도별 효소활성을 90% 감소시키는데 필요한 가열시간 D값은 Fig. 5에 나타난 바와 같이 70℃에서 302분, 75℃에서 52.4분, 80℃에서 17.7분, 85℃에서 2.7분이었고 이 곡선으로부터 구한 Z값과 활성화에너지(E_a)는 각각 7.6℃, 72.6 kcal/mole이었다.

Zawistowski 등[4]은 60℃에서 5간격으로 90℃까지에서의 돼지감자의 polyphenol oxidase의 열불활성화를 조사해 본 결과 1차 반응곡선을 나타내며 활성화에너지는 75℃에서 상당히 안정하며, 80℃에서도 2.5시간까지 안정하다고 보고하였다. 1차 반응속도를 나타내었다는 d'Anjou 배[12]의 경우 활성이 50% 감소되는 데는 70℃에서 11.7분, 75℃에서 6.25분, 80℃에서 2.25분, 85℃에서 2.1분이라 하였다. 또한 clingstone 복숭아[6]의 경우는 4개의 isozyme이 있는데 열안정성이 각기 달라 55℃에서 50% 활성을 감소시키는데 필요한 시간이 각각 5.4분, 14.6분, 14.1분이고 나머지 isozyme의 경우는 55℃에서 50분이 지나도록 활성이 안정되고, 76℃에선 2.2분이라고 하였다. Mcfarlin cranberry[31]의 경우는 활성을 50% 감소시키는데 필요한 시간이 50℃에서 17분, 60℃에서 1.8분, 70℃에서 0.6분이라 하였고, 90% 감소시키는데 필요한 시간은 50℃에서 15.85분, 60℃에서 7.05분, 70℃에서 1.37분이라 하였으며, 활성화에너지는 27.7 kcal/mole이라 하였고, kiwifruit[20]에서는 isoenzyme이 있어 기질 catechin에 대해 각각 4.0 kcal/mole이라 하였다.

Table 3. Effect of various inhibitors on the activity of partially purified polyphenol oxidase from Jerusalem artichoke tubers

Inhibitor	Concentration(mM)	Inhibition(%)
Sodium diethyl-dithiocarbamate	0.01	5.2
	0.10	22.3
	1.00	81.5
	10.00	100.0
L-Ascorbic acid	0.01	9.3
	0.10	29.6
	1.00	100.0
	10.00	100.0
L-Cysteine(HCl)	0.01	11.6
	0.10	44.9
	1.00	100.0
	10.00	100.0
Sodium chloride	0.01	8.6
	0.10	10.2
	1.00	9.2
	10.00	9.7
Sodium hydrosulfite	0.01	3.8
	0.10	31.9
	1.00	100.0
	10.00	100.0
Salicylic acid	0.01	7.0
	0.10	7.0
	1.00	10.5
	10.00	45.0

본 연구의 결과와는 달리 열불활성화가 일차반응을 따르지 않고 유사일차반응을 따른다는 보고도 많이 있다. 아보카도[16]의 경우 58℃에서는 16분간 안정하였으나 70℃에서는 14분간만 일차반응을 따랐고 이때 활성율 50% 감소시키는데 필요한 시간은 8분이었으며, 74℃, 79℃에서는 1차반응을 나타내지 않았다. 버섯[28]에서도 70℃에서 유사일차반응을 나타냈으며, 활성화에너지가 pH 6.5에선 41.1, pH 3.5에선 5분까지는 8.7 kcal/mole, 5분 후에는 21.8 kcal/mole이라 보고하였다. 포도[11]에서도 두가지 isozyme이 유사일차반응을 보였으며, 75℃에서 활성율 50% 감소시키는데 필요한 시간이 Niagra grape에서는 36.65 kcal/mole, 60.92 kcal/mole이라고 보고하였다.

온도별 저장기간에 따른 효소의 안정성

효소의 최적 pH가 6.5인 0.1 M potassium phosphate 완충액에 정제효소를 사용하고 4℃와 25℃에서 1주일 저장하면서 효소의 활성을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 4℃에서는 저장 3일에 효소활성이 약간 저하되다가 그 후 그 안정성이 계속 유지되었으나, 25℃에서는 2일 후부터 효소활성이 급격히 떨어지고 3일 후에는 활성이 거의 없어졌다. 본 연구의 결과는 Halim 등[12]의 d'Anjou 배의 연구에서와 비교가 되는데, 이들은 4℃에서는 2일 후 활성이 감소를 보였으며, 21℃에서는 활성이 현저히 저하되어 본 연구와 비슷한 결과를 내었다. 또한 Benjamin 등[7]은 Royal ann cherry의 경우 4℃에서 pH를 달리하여 48시간 동안 활성을 측정한 바 매우 안정하였다고 보고하였다.

효소의 활성억제에 미치는 저해제의 효과

각 저해제의 종류와 농도별 저해효과는 Table 3에 나타난 바와 같다. L-cystein HCl은 사용한 화합물 중 가장 저해력이 커서 0.1 mM에서도 효소의 활성을 45%나 저해하였으며, L-ascorbic acid, sodium hydrosulfite는 약 30%를, DIECA는 22%를 저해하였다. 그리고 100% 저해시키기 위한 각 화합물의 농도는 L-ascorbic acid, L-cystein HCl, sodium hydrosulfite가 1.0 mM이었고, sodium diethyldithiocarbamate(DIECA)는 10 mM이었다. 반면 salicylic acid는 10 mM에서 45%의 저해효과를 나타내었고, sodium chloride는 10 mM에 약 10% 밖에 저해효과를 나타내지 않았다.

Zawistowski 등[10]은 돼지감자의 polyphenol oxidase의 연구에서 chelator인 DIECA와 potassium ethylxanthate는 2~5 mM에서도 효소활성을 50% 저해하였으며, competitive inhibitor인 2.3-naphtalenediol은 10 mM에서 50% 저해를, salicilic acid는 이보다 덜 저해한다고 보고하였다. 환원제인 2-mercaptobenzothiazole은 25 mM이 되어야 효소활성을 95% 저해한 반면, sodium hydrosulfite는 5 mM에서 98~99% 저해하였다고 한다. 그리고 quinone coupler로서 L-cystein은 10 mM이 99% 저해하여 가장 효과적인 저해제라 보고하여 본 연구의 결과와 비슷하였다. 또한 이들은 sorbic acid와 ascorbic acid는 25 mM이 50% 저해했다는 보고도 하였다. d'Anjou 배[12]에서도 비슷한 결과로서 L-cystein과 DIECA가 1 mM 농도에서 40~60%의 저해효과를 보여 가장 효과적이라 하였고, ascorbic acid는 1 mM이 25% 저해, 10 mM이 100% 저해하였으며 sodium chloride는 10 mM에서도 12%만 저해하였다고 보고되었다. Niagara grape[11]에서도 비슷하게 DIECA, L-cystein이 0.1 mM에선 40~50% 저해, 0.5 mM에서는 100%를 저해하여 가장 효과적인 저해제라고 보고하였다. Fay Elberta Freestone 복숭아[32]의 경우에도 항산화제의 역할을 하는 L-ascorbic acid와 D-isoascorbic acid의 저해효과가 연구되어 매우 비슷한 저해효과가 보고되었으며, Banana isoenzyme[19]의 경우는 DIECA와 cysteine이 모두 비슷한 저해효과를 나타내나 sodium metabisulfite에서는 몇개의 isoenzyme만 저해효과를 나타냈다고 보고하였다. Bartlett 배[13]에서는 L-ascorbic acid와 D-isoascorbic acid이 효과적인 저해제이며, DIECA는 0.5m에서 60% 저해하고, 0.5 mM에서 100% 저해하였다고 보고하였다.

요 약

돼지감자의 가공과정 중 갈변에 관여하는 polyphenol oxidase를 부분 정제하고 이의 특성을 조사하였다. 인산완충액으로 추출된 조효소가 ammonium sulfate에 의한 침전과 Sephadex G-100에 의한 gel filtration으로 48배 정제되었다. 이 효소는 catechol을 기질로 하였을 때 최적 활성 pH가 6.5이었으며 K_m값은 3 mM, 열불활성

화는 1차반응을 보였고, 이때 Z값은 7.6℃, 활성화에너지(E_a)는 72.6 kcal/mole이었다. 이 효소를 인산완충액에 저장하였을 때 4℃에서는 일주일 이상 안정하였으나 25℃에서는 활성이 급격히 소실되었다. 이 효소는 monophenol에는 반응하지 않고 diphenol의 기질에만 친화력을 나타내었으며, 그 중 chlorogenic acid와 가장 잘 반응하였다. 그리고 1 mM의 L-cystein(HCl)와 L-hydrosulfite, L-ascorbic acid에 의해서 완전히 저해되었다.

감사의 말

본 연구는 동력자원부 대체에너지 기술개발 사업(1989), "이눌린을 이용한 알코올 발효"의 지원 연구비에 의하여 이룩된 연구결과의 일부로 동력자원부와 에너지 관리공단에 깊은 감사를 드리는 바입니다.

문 헌

1. Mater, L.H.: *Food chemistry*. Science Press, Inc., New York, p.254(1968)
2. Harel, E., Mayer A.M. and Shain, Y.: Catechol oxidases, endogenous substrates and browning in developing apples. *J. Sci. Food Agric.*, 17, 389(1966)
3. Walter, W.M., Jr. and Purcell, A.E.: Effect of substrate levels and PPO activity on darkening in sweet potato cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 28, 941(1980)
4. Zawistowski, J., Blank, G. and Murray, E.D.: Polyphenol oxidase activity in Jerusalem artichokes(*Helianthus tuberosus* L.). *Can Inst. Food Sci. Technol. J.*, 19, 210(1986)
5. Zawistowski, J., Blank, G. and Murray, E.D.: Inhibition of enzymatic browning in extracts of Jerusalem artichoke(*Helianthus tuberosus* L.). *Can Inst. Food Sci. Technol. J.*, 20, 162(1987)
6. Wong, T.C., Luh, B.S. and Whitaker, J.R.: Isolation and characterization of PPO isozymes of cling stone peach. *Plant Physiol.*, 48, 19(1971)
7. Benjamin, N.D. and Montgomery, M.W.: Polyphenol oxidase of royal ann cherries: Purification and characterization. *J. Food Sci.*, 38, 799(1973)
8. Ben-Shalom, N., Kahn, V., Harel, E. and Mayer, M.: Catechol oxidase from green olives; Properties and partial purification. *Phytochemistry*, 16, 1153(1977)
9. Slgnoret, A. and Crouzet, J.: Activites polyphenol oxydasicue et peroxydasicue du fruit de la tomate(*Lycopersicum esculentum*); Purification et quetques proprietes. *Agric. Biol. Chem.*, 42, 1871(1978)
10. Zawistowski, J., Biliaderis, C.G. and Murrqy, E.D.: Purification and characterization of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) polyphenol oxidase. *J. Food Biochem.*, 12, 1(1988)
11. Wissemann, K.W. and Lee, C.Y.: Characterization of PPO from Ravat 51 and Niagara grapes. *J. Food Sci.*, 46, 506(1981)
12. Halim, D.H. and Montgomery, M.W.: Polyphenol oxidase of d'Anjou pears(*Pyrus comunis* L.). *J. Food Sci.*, 43, 603(1978)
13. Tate, J.N., Luh, B.S. and York, G.K.: PPO in bartlett pears. *J. Food Sci.*, 29, 829(1964)
14. Paulson, A.T., Vanderstoep, J. and Porritt, S.W.: Enzymatic browning of peaches: Effect of gibberellic acid and ethephon on phenolic compounds and PPO activity. *J. Food Sci.*, 45, 341(1980)
15. Park, Y.K., Sato, H.A., Almeida, T.D. and Moretti, R. H.: Polyphenol oxidase of mango(*Mangifera indica* var. Haden). *J. Food Sci.*, 45, 1619(1980)
16. Khan, V.: Some biochemical properties of PPO from two avocado varieties differing in their browning rates. *J. Food Sci.*, 42, 38(1977)
17. Galeazzi, M.A. and Sgarbieri, V.C.: Substrate specificity and inhibition of PPO from a dwarf variety of banana(*Musa Cavendishii* L.) *J. Food Sci.*, 46, 1404 (1981)
18. Momtgomery, M.W. and Sgsrbieri, V.C.: Isoenzymes of banana PPO. *Phytochemistry*, 14, 1245(1975)
19. Palmer, J.K. and Roberts, J.B.: Inhibition of banana PPO by 2-Mercaptobenzothiazole. *Science*, 157, 200 (1967)
20. Park, E.Y. and Luh, B.S.: Polyphenol oxidase of kiwifruit. *J. Food. Sci.*, 50, 678(1985)
21. Shannon, C.T. and Pratt, D.E.: Apple polyphenol oxidse activity in relation to various phenolic comounds. *J. Food. Sci.*, 32, 479(1967)
22. Patil, S.S. and Zucker, M.J.: Potato phenolases. *J. Biol. Chem.*, 240, 3938(1965)
23. Coombs, J., Baldry, C. and Long, S.P.: *o*-Diphenol: Oxygen oxidoreductase from leaves of sugar cane. *Phytochemistry*, 13, 2703(1974)
24. Sharma, R.C. and Ali, R.: Isolation and charactrization of catechol oxidase from solanum melonzena. *Phytochemistry*, 19, 1597(1980)
25. Tremolieres, M. and Bieth, J.G.: Isolation and characterization of the polyphenoloxidase from senescent leaves of black poplar. *Phytochemistry*, 23, 501(1984)
26. Luh, B.S. and Phithakpol, B.: Characteristics of PPO related to browning in cling peaches. *J. Food Sci.*, 37, 264(1972)
27. Balasingam, K. and Ferdinand, W.: The purification and properties of a ribonucleo enzyme, *o*-diphenol oxidase, from potatoes. *Biochem. J.*, 118, 15(1970)
28. McCord, J.D. and Kilara, A.: Control of enzymatic browning in processed mushrooms(*Agaricus bisporus*). *J. Food Sci.*, 48, 1479(1983)
29. Chung, K.T., Seo, and Song, H.I.: Changes of polyphenols and polyphenol oxidase active bands during apple wine fermentation. *Korean J. Food Sci Technol.*, 16, 413(1984)
30. Lee, C.Y. and Smith N.L.: Blanching effect on PPO activity in table beets. *J. Food Sci.*, 44, 82(1979)
31. Chan, H.T., Jr. and Yang, H.Y.: Identification and characterization of some oxidizing enzymes of the McFarlin cranberry. *J. Food Sci.*, 35, 169(1971)
32. Reyes, P. and Luh, B.S.: Characteristics of browning enzymes in fag elberta freestone peaches. *Food Technol.*, 14, 570(1960)

(1991년 2월 21일 접수)