

## Tyrosinase 활성을 저해하는 식물체의 탐색

정승원 · 이남경 · 김석중 · 한대석  
한국식품개발연구원

### Screening of Tyrosinase Inhibitor from Plants

Sung-Won Jung, Nam-Kyung Lee, Seok Joong Kim and Daeseok Han  
Korea Food Research Institute

#### Abstract

In order to screen natural inhibitor of tyrosinase which catalyzes an enzymatic browning of some foods and *in vivo* synthesis of melanin, inhibitory effect of 129 edible plants and 15 chemical compounds on the *in vitro* melanin synthesis by mushroom tyrosinase was analyzed. Among leafy vegetables tested, radish bud, red chicory, Shepherd's purse and small green onion were found to have more than 50% tyrosinase inhibition effect in the descending order. Chinese radish and garlic in root vegetables, and nameko, shiitake and oyster mushroom in mushrooms, and teas showed also more than 50% inhibition effect. Among fruit vegetables tested, red pepper, Chinese quince and avocado were found to have more than 50% tyrosinase inhibition effect, while fruits generally showed low inhibitory effect. Medicinal plants which inhibit tyrosinase more than 50% were mume fructus>cinamomi ramulus>rubi fructus>mori cortex>biotae orientalis folium>puerariae radix, and herbs with more than 50% inhibitory effect were allspice>clove>mustard. In some chemical compounds tested, 4-hexylresorcinol, L-cysteine, glutathione, sodium bisulfite and kojic acid showed powerful inhibition effect on mushroom tyrosinase.

Key words: tyrosinase, enzymatic browning, enzyme inhibitor, melanin

## 서 론

Melanin은 동·식물과 미생물계에 널리 존재하는 고분자의 천연 색소로 생물체에 따라 다양한 종류가 알려져 있으며, 페놀류의 효소적, 비효소적 산화 및 중합반응 등의 다단계 과정을 거쳐 생성된다. 포유동물의 경우 효소적 산화에 의해 생합성되는 melanin을 알카리 용해도 및 발색특성에 따라 eumelanin과 pheomelanin으로 구분하거나, 또는 물리화학적 특성이 유사한 trichochrome을 포함하여 크게 3가지로<sup>(1)</sup> 분류하고 있으나 생합성 경로는 모두 tyrosinase에 의해 tyrosine으로 부터 생성되는 dopaquinone을 거쳐 합성이 이루어지며 다른 생물체에 있어서도 tyrosinase의 작용에 의한 quinone의 생성이 선행된 후에 아미노산 혹은 단백질과의 중합반응에 의해 melanin이 합성된다<sup>(2,3)</sup>. 이에 따라 생물체를 원료로 사용하는 식품산업을 비롯하여 생물의 갈변화 현상에 관련된 화장품 제조업, 제약업에서는 갈변화 현상의 초기 단계인 효소적 산화반응에 대한 제어가 관심의 대상이 되고 있다<sup>(2-6)</sup>.

Melanin 생합성 과정의 유일한 key enzyme인 tyrosinase(monophenol, dihydroxy-L-phenylalanine: oxygen oxidoreductase, EC 1.14.18.1)는 넓은 범위의 페놀화합물을 기질로 이용하는 구리함유 효소로 polyphenol oxidase(PPO), polyphenolase, cresolase 등의 명칭으로 혼용되고 있는 바, 이는 기질 특이성에 따른 관용적 명칭이며 작용기작은 hydroxylation과 oxidation(dehydrogenation)으로 구분할 수 있다. 즉, 생체내에서의 melanin 합성과정은 먼저 tyrosine을 기질로하여 L-3,4-dihydroxyphenylalanine을 생성시키고 이를 다시 L-dopaquinone으로 전이시키는 연속된 효소적 산화(hydroxylation and oxidation)가 진행된 후 각 생성물의 중합반응 등에 의해 이루어진다(Mason-Raper pathway)<sup>(1)</sup>.

Tyrosinase 저해제로는 인체의 hyper-pigmentation 치료에 사용되는 4-hydroxyanisole, hydroquinone을<sup>(7)</sup> 비롯하여, 4-hexylresorcinol, tropolone, cinnamic acid, benzoic acid, kojic acid 등이<sup>(2,3,8,14-16,20)</sup> 보고되고 있으나 안전성과 경제성 등의 문제점을 안고 있는 경우가 많아 기존 저해제의 병용 효과에 의한 실용이 많은 실정이다. 본 연구에서는 melanin 생합성 과정에 관여하는 유일한 효소인 tyrosinase의 저해제를 천연물로부터 탐색하기 위하여 mushroom tyrosinase를 모델 효소로 사용하여 식용식물체 129종 및 수용성 화합물 15종을 대상으로

Corresponding author: Daeseok Han, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-ku, Seongnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea

tyrosinase 효소활성 저해능을 측정하였기에 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

실험에 사용한 채소류, 과일류, 버섯류, 다류 및 약용식물류는 예로부터 식품으로 이용되어 그 안정성이 확인된 것으로 채소류, 과일류, 버섯류는 생물인 상태로, 다류 및 약용식물류는 건조물 상태의 재료를 시중에서 구입하여 사용하였다. 생물인 상태의 재료는  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동저장하면서 사용하였고, 다류 및 약용식물류는 건조물을 상온에 저장하면서 사용하였다.

### 시약

Mushroom tyrosinase(EC 1.14.18.1; 4,400 units/mg solid) 및 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA), 4-hexylresorcinol, L-cysteine, glutathione, sodium bisulfite, kojic acid, benzoic acid 등의 시약은 Sigma사 제품을 사용하였다.

### 시료추출

채소류 또는 과일류 등의 생물 20g에 증류수 100 ml를 넣고 mixer로 수분간 마쇄한 다음 1 N NaOH 또는 1 N HCl을 사용하여 pH를 6.8로 조정된 것을 12,000×g에서 20분간 원심분리한 후 상정액을 취하여 추출시료로 사용하였고, 약용식물 등과 같은 건조물의 경우 건조물을 분쇄하여 18 mesh의 표준체를 통과하는 분획 2g에 증류수 100 ml를 넣고  $35^{\circ}\text{C}$ 의 진탕수조에서 2시간 진탕한 다음 과채류와 동일한 방법으로 pH 조절 및 원심분리한 후 상정액을 추출시료로 사용하였다.

### Tyrosinase 활성 저해능 측정

효소 활성저해능 측정은  $35^{\circ}\text{C}$  수조에서 온도를 미리 조정한 0.175 M phosphate buffer(pH 6.8) 0.2 ml, 5 mM L-DOPA solution 0.2 ml 및 추출시료 용액 0.5 ml의 혼합액에 mushroom tyrosinase(110 units/ml) 0.1 ml를 첨가하여  $35^{\circ}\text{C}$ 에서 2분간 반응시킨 다음 475 nm에서 흡광도를 측정한다.  $S_{\text{Abs}}$ 과 효소액 대신에 증류수 0.1 ml를 첨가하여 흡광도를 측정한다.  $B_{\text{Abs}}$ , 추출시료 용액 대신에 증류수 0.5 ml를 첨가하여 흡광도를 측정한다.  $C_{\text{Abs}}$

Table 1. Inhibition effect of leafy vegetables on the *in vitro* melanin synthesis by tyrosinase

Scientific name	Korean name	English name	Inhibition effect (%)
<i>Raphanus sativus</i>	무순	Radish bud	96
<i>Cichorium intybus</i>	레드치커리	Red chicory	65
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	냉이	Shepherd's purse	59
<i>Allium fistulosum</i>	쪽파	Small green onion	51
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	브로콜리	Broccoli	49
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	꽃양배추	Cauliflower	49
<i>Petroselinum sativum</i>	파슬리	Parsley	47
<i>Chrysanthemum coronarium</i>	쑥갓	Crown daisy	46
<i>Spinacia oleracea</i>	시금치	Spinach	44
<i>Lactuca sativa</i>	상치	Oriental lettuce	42
<i>Raphanus sativus</i>	열무	Young radish	40
<i>Allium fistulosum</i>	대파	Large green onion	37
<i>Perilla frutescens</i>	갯잎	Perilla leaf	35
<i>Beta vulgaris</i> var. <i>cicla</i>	근대	Chard	32
<i>Malva verticillate</i>	아욱	Mallow	31
<i>Brassica campestris</i>	배추	Chinese cabbage	31
<i>Allium tuberosum</i>	부추	Leek	30
<i>Medicago sativa</i>	알팔파	Alfalfa	28
<i>Apium graveolens</i>	셀러리	Celery	28
<i>Alaria elate</i>	두릅순	Aralia bud	25
<i>Lactuca sativa</i>	양상치	Western lettuce	20
<i>Brassica campestris</i>	청경채		17
<i>Allium monanthum</i>	달래	Wild garlic	17
<i>Oenanthe javanica</i>	미나리	Dropwort	14
<i>Brassica oleracea capitata</i>	양배추	Cabbage	12
<i>Glycine max</i>	콩나물	Soybean sprout	9
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i>	케일	Kale	6
<i>Aster scaber</i>	취나물		5
<i>Roripa nasturtium</i>	크레송	Watercress	4

The following plants showed negative value in the order of fern brake(*Pteridium aquilium*)<stalk of sweet potato(*Ipomoea batatas*)<chicory(*Cichorium intybus*)<*Sedum sarmentosum*<royal fern(*Osmunda japonica*).

**Table 2. Inhibition effect of root vegetables, mushrooms, and teas on the *in vitro* melanin synthesis by tyrosinase**

Scientific name	Korean name	English name	Inhibition effect (%)
<i>Raphanus sativu</i>	무	Chinese radish	100
<i>Allium sativum</i>	마늘	Garlic	59
<i>Allium cepa</i>	양파	Onion	30
<i>Beta vulgaris</i>	비트	Red beet	24
<i>Nelumbo nucifera</i>	연근	Lotus	17
<i>Zingiber officinate</i>	생강	Ginger	14
<i>Raphanus sativus</i>	레디쉬	Radish	6
<i>Flamm velutipes</i>	팽이버섯	Nameko	83
<i>Lentinus edodes</i>	표고버섯	Shiitake	68
<i>Pleurotus ostreatus</i>	느타리버섯	Oyster mushroom	61
<i>Auricularia polytricha</i>	목이버섯	Black mushroom	9
<i>Camellia sinensis</i>	녹차	Green tea	89
<i>Camellia sinensis</i>	홍차	Black tea	80

The following plants showed negative value in the order of carrot(*Daucus carota*)<yam (*Dioscorea batatas*)<potato(*Solanum tuberosum*)<burdock(*Arctium lappa*)<sowthistle (*Lxeris dentata*)<sweet potato(*Ipomoea batatas*)<broad bellflower (*Platycodon grandiflorum*)<wild plant(*Codonopsis lanceolata*).

**Table 3. Inhibition effect of fruit vegetables and fruits on the *in vitro* melanin synthesis by tyrosinase**

Scientific name	Korean name	English name	Inhibition effect (%)
<i>Capsicum annum</i>	홍고추	Red pepper	100
<i>Chaenomeles sinensis</i>	모과	Chinese quince	66
<i>Persea americana</i>	아보카도	Avocado	50
<i>Capsicum annum</i> var.	피망	Green pimento	35
<i>Fragaria</i> spp.	딸기	Strawberry	10
<i>Cucumis melo</i>	머스크멜론	Muskmelon	7
<i>Cucurbita maxima cerasiforme</i>	패지호박	Pumpkin	6
<i>Citrus junos</i>	유자	Citron	38
<i>Prunus mume</i>	매실	Plum	20
<i>Ficus carica</i>	무화과	Fig	12
<i>Citrus limon</i>	레몬	Lemon	29
<i>Fortunella japonica</i>	금감	Kumquat	16
<i>Actinidia chinensis</i>	키위	Kiwi	0.7

The following plants showed negative value in the order of watermelon(*Citrullus vulgaris*)<cucumber(*Cucumis sativus*)<pumpkin, overgrown(*Cucurbita maxima*)<oriental melon (*Cucumis melo*)<green red pepper(*Capsicum longum*)<tomato (*Solanum lycopersicum*)<eggplant(*Solanum melongena*)<cherry tomato(*Lycopersicon esculentum cerasiforme*) in fruit vegetables, and persimmon(*Diospyros kaki*)<orange(*Citrus aurantium*)<pear(*Pyrus* spp.)<grape(*Vitis vinifera*)<banana(*Musa sapientum*)<citron(*Citrus junos*)<pineapple (*Ananas comosus*)<apple(*Malus pumila*) in fruits.

을 측정하여 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibition effect(\%)} = \left\{ 1 - \left( \frac{S_{\text{Abs}} - B_{\text{Abs}}}{C_{\text{Abs}}} \right) \right\} \times 100$$

### 결과 및 고찰

채소류, 과실류, 버섯류 및 다류의 tyrosinase 활성 저해능 탐색

채소류, 과실류, 버섯류 및 다류의 tyrosinase 활성 저해능을 Table 1, 2, 3에 요약하였다. 엽경채류의 경우 무순>레드치커리>냉이>쪽파>브로콜리>꽃양배추의 순으로 약 50% 이상의 높은 저해능을 보인 반면에 콩

나물, 케일, 취나물 등은 10% 이하의 낮은 저해능을 보였다. 그리고 고사리, 고구마줄기, 꽃상추, 돌나물, 고비의 경우에는 대조구 보다 오히려 갈변도가 높게 나타났는데 이러한 경향은 식물체 자체의 tyrosinase 효소활성이 높거나 mushroom tyrosinase의 기질이 될 수 있는 물질의 함유량이 높을 경우 또는 tyrosinase activator가 존재하기 때문으로 추정할 수 있으나 현재의 연구 수준에서는 그 이유를 알 수 없었다(Table 1).

근채류, 버섯류 및 다류에 있어서는 무, 마늘, 팽이버섯, 표고버섯, 느타리버섯, 녹차, 홍차가 50% 이상의 높은 저해능을 보였고, 특히 무는 100% 저해능을 나타내 효소활성이 완전히 저해되었으며 melanin이 전혀 생성되지

않았다. 한편, 당근, 마, 감자, 우엉, 썬바키, 고구마, 도라지, 더덕의 경우에는 대조구 보다 갈변도가 높게 나타났다(Table 2). 또한, 녹차 및 홍차의 경우 각각 89%, 80%의 비교적 높은 효소활성 저해능을 보였는데 이러한 결과는 Pruidze 등<sup>(3,9)</sup>이 보고한 바와 같이 차(茶)의 잎에서 추출된 페놀화합물 성분이 PPO 효소활성을 저해한다는 결과와 관련이 있는 것으로 추정된다.

과채류 및 과실류의 경우에는 홍고추>모과>아보카도의 순으로 저해효과를 보였는데 이들은 50% 이상의 높은 저해능을 가진 것으로 나타났으며, 과채류 중에서는 피망이 그리고 과실류 중에서는 유자, 레몬 등의 저해능이 높은 편이었다. 무화과의 향기성분인 resorcinol은 tyrosinase의 저해제로 잘 알려져 있으나<sup>(16,17)</sup>, 본 연구에서는 저해능이 12%로 낮은 편이었는데 이는 서양과 우리나라 무화과의 향기성분 차이 또는 향기성분 이외의 다른 물질이 존재하거나 물질 추출방법의 상이함 등에

기인하는 것으로 생각되었다(Table 3). 그러나, 과채류 및 과실류에서의 효소적 갈변방지가 많은 연구자들의 관심 분야인 것에서 볼 수 있듯이 본 실험에서도 수박, 오이, 늬은호박, 참외, 청고추, 토마토 등의 과채류와 감, 오렌지, 배, 포도, 바나나, 사과 등의 과실류는 오히려 갈변도가 높게 나타나 기존의 문헌에서 보고된 바와 같이 이들 원료 자체의 tyrosinase 활성이 높거나<sup>(10-13)</sup> 또는 효소활성을 촉진시키는 물질이 존재할 것으로 추정되었다. 우리나라에서는 전통적인 민간요법으로 오이가 미백효과를 나타낸다고 하여 주로 여성들이 오이를 얇은 조각으로 절편하여 맛사지를 해왔으나 적어도 melanin을 생합성 하는 효소적 관점에서 본다면 이는 과학적 근거가 매우 희박한 것으로 판단된다. 한편, Lozano-de-Gonzalez 등<sup>(14)</sup>은 파인애플 주스가 사과의 효소적 갈변을 효과적으로 저해하는 것으로 보고하였으나 본 연구에서 사용한 파인애플은 오히려 갈변도를 증대시키는 것으로 나타나

Table 4. Inhibition effect of medicinal plants and herbs on the *in vitro* melanin synthesis by tyrosinase

Scientific name	Korean name	English name	Inhibition effect (%)
<i>Prunus mume</i>	오매(烏梅)	Mume Fructus	81
<i>Cinnamomum cassia</i>	계피(桂皮)	Cinnamomi Ramulus	81
<i>Rubus coreanus</i>	복분자(覆盆子)	Rubi Fructus	63
<i>Morus alba</i>	상백피(桑白皮)	Mori Cortex	63
<i>Biota orientalis</i>	측백엽(側柏葉)	Biotae orientalis Folium	63
<i>Pueraria thunbergiana</i>	갈근(葛根)	Puerariae Radix	59
<i>Paeonia ceae</i>	작약(芍藥)	Peony Root	44
<i>Crataegus pinnatifida</i>	산사자(山查子)	Crataegii Fructus	43
<i>Angelica gigas</i>	당귀(當歸)	Angelicae gigantis Radix	39
<i>Cuscuta japonica</i>	토사자(兔絲子)	Cuscutae Semen	37
<i>Rehmannia glutinosa</i>	숙지황(熟地黃)	Rehmanniae Radix Preparat	29
<i>Atractylodes japonica</i>	출(朮)	Atractylodis Rhizoma	24
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	오가피(五加皮)	Acanthopanax Cortex	22
<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i>	박하(薄荷)	Menthae Herba	22
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	감초(甘草)	Glycyrrhizae Radix	21
<i>Schizandra chinensis</i>	오미자(五味子)	Schizandrae Fructus	21
<i>Polygala tenuifolia</i>	원지(遠志)	Polygalae Fructus	18
<i>Eucommia ulmoides</i>	두충(杜仲)	Eucommiae Cortex	17
<i>Dioscorea batatas</i>	산약(山藥)	Dioscoreae Rhizoma	11
<i>Alisma plantago</i> var. <i>parviflorum</i>	택사(澤瀉)	Alismatis Rhizoma	5
<i>Acorus gramineus</i>	석창포(石菖蒲)	Acori graminei Rhizoma	5
<i>Bupleurum falcatum</i>	시호(柴胡)	Bupleuri Radix	4
<i>Poria cocos</i>	복령(茯苓)	Poria	0.4
<i>Pimenta officinalis</i>	올스파이스	Allspice	86
<i>Eugenia caryophyllate</i> thunb.	정향	Clove	83
<i>Brassica juncea</i>	겨자	Mustard	62
<i>Rosmarinus officinalis</i>	로즈마리	Rosemary	20
<i>Origanum vulgare</i>	오레가노	Oregano	17
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	감초	Licorice	13
<i>Thymus vulgaris</i>	타임	Thyme	13
<i>Myristica fragrans</i>	육두구	Nutmeg	3

The following plants showed negative value in the order of cnidii rhizoma(*Cnidium officinale*)<polygona multiflora radix(*Polygonum multiflorum*)<amomi fructus(*Amomum villosum*)<saururi herba seu rhizoma(*Saururus chinensis*)<coisis semen(*Coix lachryma-jobi* var.)<ganoderma(*Ganoderma lucidum*)<cnidii fructus(*Cnidium monnier*)<cassiae semen(*Cassia tora*) in medicinal plants, and Eucalyptus<coriander(*Coriandrum sativum*)<turmeric (*Curcuma domestica valet*)<marjoram (*Origanum majorana*)<sage(*Salvia officinalis*) in herbs.

상이한 결과를 보였다. 이러한 결과는 본 연구에 사용된 시료가 비가공된 생물체인 반면에 파인애플 주스의 경우 가공처리된 것이므로 양자간의 성분차이에 따른 결과로 볼 수 있거나 혹은 사과 tyrosinase 및 버섯 tyrosinase의 특성 차이에 기인한 것으로 사료된다.

#### 약용식물류 및 초본류의 tyrosinase 활성 저해능 탐색

약용식물류 및 초본류의 tyrosinase 활성 저해능은 Table 4에서 보는 바와 같다. 약용식물류의 경우 오매>계피>복분자>상백피>측백엽>갈근>작약>산사자 등의 순서로 높은 효소활성 저해능을 보이며 오매와 계피는 80% 이상의 높은 저해능을 나타냈다. 이들 저해활성이 높은 약용식물은 작약을 제외하고는 모두 식품위생법상 자기기준·규격을 정하여 제조 및 가공식품의 원료로 사용할 수 있는 동·식물의 범위에 포함되어 있으므로 사용하고자 하는 식품 또는 개발하고자 하는 식품과 향미만 어울린다면 식품성분으로 사용하는 데는 전혀 문제가 없다.

초본류에 있어서는 울스파이스와 정향이 80% 이상의 높은 저해능을 보였고, 겨자, 로즈마리, 오레가노, 감초, 타임이 10~20%의 저해 효과를 보였다. 한편, 약용식물 중에서는 천궁, 하수오, 사인, 삼백초, 울무, 영지, 사상자, 절명자가, 초본류에서는 유칼리, 향채, 티메릭, 마조람, 세이지가 475 nm에서의 흡광도를 증가시키는 것으로 나타났다.

#### 수용성 화합물의 tyrosinase 활성 저해능 탐색

수용성 화합물의 tyrosinase 활성 저해능은 Table 5에서 보는 바와 같다. 비교적 높은 안정성과 강력한 tyrosinase 저해활성을 가진 것으로 최근에 확인된<sup>(15-17)</sup> 4-hexylresorcinol은  $10^{-4}$  mM의 농도에서 97%의 높은 저해능을 보였는데 이는 무화과의 향기성분으로 알려져 있다. 효소반응 생성물에 반응하여 무색의 안정한 중합체(quinone coupler)를 형성하여 갈변방지 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있는 L-cysteine과 glutathione의<sup>(3,18,19)</sup> 경우  $10^{-4}$  mM의 농도에서 각각 79%와 44%의 저해효과를 보였으며, sodium bisulfite는  $10^{-3}$  mM의 농도에서 98%의 비교적 높은 tyrosinase 저해능을 볼 수 있었다. 그러나, 일반적으로 식품산업의 갈변방지에 널리 사용되고 있는 L-cysteine, glutathione 등의 함유량 아미노산과 기타 sulfiting agents는 효소반응 기질 또는 반응 생성물에 대해 환원제로서 작용하여 이들 자체가 불가역적 산화를 일으킨다. 따라서 환원제의 사용량이 일정할 경우에는 갈변 대상물의 페놀화합물 농도와 종류(monophenol과 diphenol)에 따라 효과가 일시적일 수 있고 용도에 따른 사용량 증대의 우려가 있다<sup>(2,3)</sup>.

Tyrosinase 효소반응의 필수적 요소인  $O_2$ 에 관련된 방해작용 및 효소반응 생성물에 대한 작용 기작을 지닌 것으로 알려진 kojic acid(5-hydroxy-2-hydroxymethyl-pyrone)는<sup>(2,20)</sup>  $10^{-3}$  mM의 농도에서 95%의 높은 저해능

**Table 5. Inhibition effect of some chemical compounds on the *in vitro* melanin synthesis by tyrosinase**

Chemical compounds	Concentration (mM)	Inhibition effect (%)
4-Hexylresorcinol	$1.0 \times 10^{-4}$	97
L-Cysteine	$1.0 \times 10^{-4}$	79
Glutathione(reduced)	$1.0 \times 10^{-4}$	44
Sodium bisulfite	$1.0 \times 10^{-3}$	98
Kojic acid	$1.0 \times 10^{-3}$	95
Benzoic acid	$1.0 \times 10^{-3}$	47
Sorbic acid	$1.0 \times 10^{-3}$	43
Potassium ferricyanide	$1.0 \times 10^{-3}$	36
2-Thiobarbituric acid	$1.0 \times 10^{-3}$	28
Citric acid	$1.0 \times 10^{-3}$	23
Thymol	$1.0 \times 10^{-3}$	19
Borax	$1.0 \times 10^{-3}$	9
Cacodylic acid	$1.0 \times 10^{-3}$	6
L-(-)-Malic acid	$1.0 \times 10^{-3}$	6
$\alpha$ -Keto- $\gamma$ -methiolbutyric acid	$1.0 \times 10^{-3}$	3

을 보였으나 아직은 안전성 때문에 식품성분으로 이용할 수는 없다. 효소적 갈변반응에서 기질의 구조적 유사체로 경쟁적 저해작용을 한다고 알려진 benzoic acid는<sup>(2,3)</sup>  $10^{-3}$  mM의 농도에서 약 47%의 저해능을 보였다. 버섯 tyrosinase 활성에 있어서 cyanide 화합물은  $O_2$ 의 경쟁적 저해제로 작용하는 것으로 알려져 있으며<sup>(3,21)</sup>, 과일류의 tyrosinase에 대한 potassium cyanide의 저해작용이 보고되고 있는 바<sup>(3)</sup>, 본 실험에서 사용한 potassium ferricyanide는  $10^{-3}$  mM 농도에서 36%의 tyrosinase 저해능을 보였으나 이 역시 식품으로 이용할 수는 없는 물질이다.

이상에서 살펴본 바와 같이 식물체 유래의 tyrosinase 저해제는 식품 가공 도중 또는 열처리를 할 수 없는 식품의 효소적 갈변을 억제하는데 안전성에 별 문제가 없이 사용될 수 있으며, 여성의 기미 또는 노인성 홍반을 일으키는 melanin 생성이 체내에서 tyrosinase 한가지 효소에 의해 촉매되므로 melanin 생합성을 억제할 수 있는 식품의 개발에도 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 요 약

식품의 효소적 갈변을 일으키며 생체 내에서는 melanin 생합성을 촉매하는 효소인 tyrosinase의 저해제를 천연물로부터 탐색하기 위하여 mushroom tyrosinase와 L-3,4-dihydroxyphenylalanine을 이용한 효소반응 시스템을 도입하여 채소류, 과일류 및 약용식물류 등의 식용식물체 129종 및 수용성 화합물 15종의 tyrosinase 활성 저해능을 측정하였다. 엽경채류의 경우 무순>레드치커리>냉이>쪽파>브로콜리>꽃양배추의 순으로 약 50% 이상의 높은 저해능을 보였으며 근채류, 버섯류 및 다류에서는 무, 마늘, 팽이버섯, 표고버섯, 느타리버섯,

녹차, 홍차가 50% 이상의 저해능을 보였다. 과채류의 경우 홍고추>모과>아보카도의 순으로 높은 효소저해 효과를 보여 50% 이상의 저해능을 나타내었으나 과실류는 전반적으로 저해능이 낮은 편이었다. 약용식물류에서는 오매>계피>복분자>상백피>측백엽>갈근>작약>산사자의 순서로 50% 이상의 효소활성 저해능을 보였으며, 초본류의 경우 올스페이스, 정향, 계피, 겨자가 50% 이상의 저해능을 보였다. 한편, 분석한 몇가지 수용성 화합물에 있어서는 4-hexylresorcinol, L-cysteine, glutathione, sodium bisulfite, kojic acid가 강력한 tyrosinase 활성 저해효과를 나타냈다.

### 감사의 말

본 연구는 과학기술처에서 시행하는 1994년 특정연구개발사업과제로 수행된 연구내용의 일부임을 알려드리며, 이에 깊은 사의를 표합니다.

### 문헌

1. Pawelek, J.M. and Körner, A.M.: The biosynthesis of mammalian melanin. *Am. Sci.*, **70**, 136 (1982)
2. Iyengar, R. and McEvily A.J.: Anti-browning agents: alternatives to the use of sulfites in foods. *Trends Food Sci. Technol.*, **3**(3), 60 (1992)
3. Vamons-Vigyazo, L.: Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **15**, 49 (1981)
4. Sapers, G.M., Miller, R.L., Cooke, P.H. and San won, C.: Enzymatic browning control in minimally processed mushrooms. *J. Food Sci.*, **59**, 1042 (1994)
5. Walker, J.R.L.: Enzymic browning in food. *Enzyme Technol. Dig.*, **4**(3), 89 (1975)
6. Haisman, D.R.: The effect of sulphur dioxide on oxidizing enzyme systems in plant tissues. *J. Sci. Food Agric.*, **25**, 803 (1974)
7. Tomita, K., Oda, N., Ohbayashi, M. and Kamei H.: A new screening method for melanin biosynthesis inhibitors using *Streptomyces bikiniensis*. *J. Antibiotics*, **43**, 1601 (1990)
8. Kahn, V. and Andrawis, A.: Inhibition of mushroom tyrosinase by tropolone. *Phytochemistry*, **24**, 905 (1985)
9. Pruidze, G.N. and Grigorashvili, G. Z.: Extraction and some properties of the *o*-diphenoloxidase and peroxidase inhibitor from the leaves of the tea plant. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, **13**, 104 (1977)
10. Satjawatcharaphong, C., Rymal, K.S., Dozierjr, W.A. and Smith, R.C.: Polyphenol oxidase system in Red Delicious apples. *J. Food Sci.*, **48**, 1879 (1983)
11. Jen, J.J. and Kahler, K.R.: Characterization of polyphenoloxidase in Peaches grown in the Southeast. *HortScience*, **9**, 590 (1974)
12. Cash, J.N., Sistrunk, W.A. and Stutte, C.A.: Characteristics of Concord grape polyphenoloxidase involved in juice color loss. *J. Food Sci.*, **41**, 1398 (1976)
13. Galeazzi, M.A.M., Sgarbieri, V.C. and Constantinides, S.M.: Isolation, purification and physicochemical characterization of polyphenoloxidase(PPO) from a dwarf variety of banana. *J. Food Sci.*, **46**, 150 (1981)
14. Lozano-de-Gonzalez, P.G., Barrett, D.M., Wrolstad, R. E. and Durst, R.W.: Enzymatic browning inhibited in fresh and dried apple rings by pineapple juice. *J. Food Sci.*, **58**, 399 (1993)
15. Otwell, W.S., Iyengar, R. and McEvily, A.J.: Inhibition of shrimp melanosis by 4-hexylresorcinol. *J. Aquatic Food Prod. Technol.*, **1**, 53 (1992)
16. McEvily, A.J., Iyengar, R. and Gross, A.T.: Compositions and methods for inhibiting browning in foods and beverages. *U.S. Patent* 5,202,141 (1993)
17. McEvily, A.J., Iyengar, R. and Gross, A.T.: Compositions and methods for inhibiting browning in foods using resorcinol derivatives. *U.S. Patent* 5,059,438 (1991)
18. Richard Forget, F.C., Goupy, P.M. and Nicolas, J.J.: Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning. II. Kinetic studies. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 2108 (1992)
19. Dudley, E.D. and Hotchkiss, J.H.: Cysteine as an inhibitor of polyphenol oxidase. *J. Food Biochem.*, **13**, 65 (1989)
20. Chen, J. S., Wei, C-I and Marshall, M. R.: Inhibition mechanism of kojic acid on polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 1897 (1991)
21. Duckworth, H. W. and Coleman J. E.: Physicochemical and kinetic properties of mushroom tyrosinase. *J. Biol. Chem.*, **245**, 1613 (1970)

(1995년 7월 15일 접수)