

도토리 澱粉의 Tannin 成分과 物理的 特性에 關한 研究

— Gallic Acid 含量과 粘度特性 —

경희대학교 식품영양학과

朴 在 英 · 具 成 子

A Study on the Tannin Components and Physical Properties of Acorn Starch

— Gallic Acid Contents and Viscosity —

Jae-Young, Park · Sung-Ja, Koo

Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University

= ABSTRACT =

Tannin from acorn was identified by TLC and gallic acid in the tannin was determined by HPLC. The tannin extracted with methanol-butanol was not dissolved in ethanol, methanol for HPLC and water, while the tannin extracted with acetone-ethylacetate was so pure that it could be used for HPLC-running. The gallic acid showed a Rf-value of 0.39, the digallic acid of 0.21, the trigallic acid of 0.09, and the gallotannin of 0.00 respectively. The content of gallic acid in the tannin from acorn powder was 3.04%, from acorn starch, 0.90%, and from acorn starch gels, 0.64-0.86% respectively.

The effect of tannin contents on the viscosity of acorn starch was also studied. The maximum and cooling viscosity of the starch were decreased as the contents of tannin increased.

서 론

도토리는 우리나라 전국의 산야에서 생산되는 참나무과 (Fagaceae) 喬木¹⁾²⁾의 열매이며 그 종류는 28종이나 되고 생산량도 1,699,256ℓ³⁾(1980년)에 달한다. 조선 세종때는 도토리가 救荒食品으로 지정된 기록이 있으며⁴⁾ 오늘날에도 목의 재료로 사용되고 있다.

접수일자 : 1983. 12. 27.

도토리에는 전분이 72 ~ 78%, tannin이 6.7 ~ 9.3% 함유되어 있는데⁵⁾⁶⁾⁷⁾ 도토리의 짧은 맛과 갈변화 현상은 주로 tannin 성분에 기인하므로 도토리를 식용하려면 우선 tannin이 제거되어야 하며 이를 위해 일반적으로 수세침전법⁷⁾이 많이 사용되고 있다.

Tannin의 정량법으로는 침전법, 비탁법, 산화적정법, 비색법등이 있으며⁸⁾ 최근 널리 사용되는 방법으로는 Thin Layer Chromatography (TLC), Gas Chromatography (GC), High Performance Liquid

Chromatography(HPLC) 등이 있다. Tannin 정량에 관한 연구는 9)²¹ 많이 이루어져 있지만 도토리 tannin 정량에 관한 연구로는 채 5) 등, 정 6) 등의 AOAC 법 이외에는 거의 연구된 바 없으며, 김 22) 은 도토리에서 tannin 을 추출하여 tannin A,B 두가지 물질을 얻어 동정보고한 바 있고, 함 23)24) 등과 김 25) 등은 도토리전분의 이화학적 및 생화학적 성질에 관해 연구 보고한 바 있을 뿐이므로 본 연구에서는 도토리 중의 tannin 을 추출한 다음 HPLC 를 이용하여 tannin 중의 gallic acid 를 정량하였다. 또한 가내 공장에서 제조한 도토리전분 및 시판되고 있는 도토리 목중의 gallic acid 함량도 함께 조사하였으며, tannin 성분이 도토리전분의 점도에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위하여 tannin 이 제거된 도토리전분을 제조한 다음 tannin 을 임의로 첨가한 후 그 점도 변화를 비교검토하였다.

집한 것을 풍건시켜 탈피, 분쇄하여 100mesh 체를 통과시켜 사용하였으며 도토리전분은 경기도 이천읍 가내공장에서 제조한 것을 구입하였고 도토리목은 시판되는 것을 구입하여 사용하였다.

2) Tannin 의 추출 22)

도토리분말 100g, 도토리전분 100g 및 도토리목 건조분말 23g(목 약 200g) 중의 tannin 을 다음 Fig. 1 과 같은 방법에 의해서 추출하였다.

3) 도토리중의 Tannin 의 확인

Franiou 13) 의 방법에 따라 chloroform : ethyl formate : formic acid (50 : 40 : 10) 로 전개시키고 2N-NaOH, Diazotized paranitroaniline(paranitroaniline (0.5% in HCl, 2 N) 5ml + sodium nitrite (5% w/v) 0.5 ml + sodium acetate (20% w/v) 15ml) 으로 분무하여 발색시켰다.

4) 도토리중의 Gallic acid 의 정량

도토리분말, 전분 및 목중의 tannin 을 acetone-ethylacetate 추출법 (Fig. 1, b 법) 으로 추출하여 도토리분말 및 도토리전분으로 부터 추출된 tannin 은 HPLC

실험재료 및 방법

1) 실험재료

본 실험에 사용한 도토리는 경기도 이천 야산에서 채

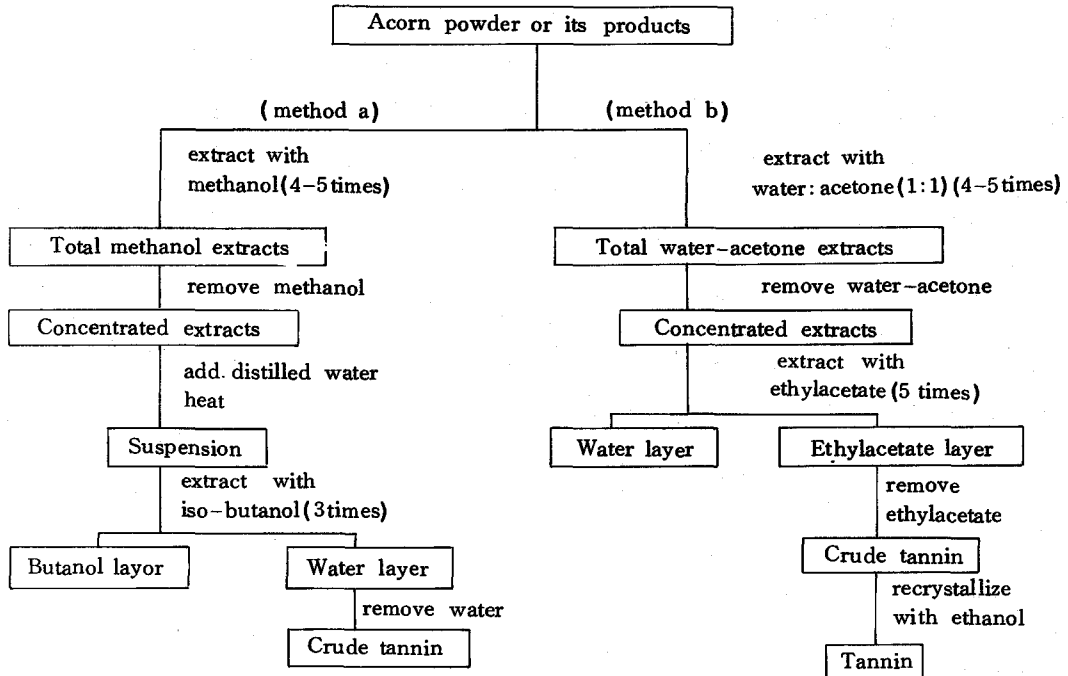


Fig. 1. Schematic diagram for the extraction of tannin in acorn powder, acorn starch and acorn starch gels.

용 methanol에 녹여 1mg/ml의 농도로 하였고 도토리묵으로 부터 추출된 tannin은 HPLC용 methanol에 녹여 전량을 50ml로 하여 HPLC에 주입하여 측정하였다. 이때의 분석조건은 Table 1과 같고 표준품인 gallic acid (日本藥局方)는 100 µg./ml의 농도로 조제하였으며 측정치는 3회 측정된 것을 평균하였다 (Table 1).

Table 1. Operational conditions of HPLC for the determination of gallic acid

System: Waters Model 204 consisting of M6K Injector M6000A Solvent delivery system(2 set) M440 Absorbance detector M730 Data module M720 System controller
Column: µ-Bondapak C ₁₈
Detector: UV 280nm 0.1AUFS
Solvent: A-0.5% H ₃ PO ₄ B-0.5% H ₃ PO ₄ in HPLC methanol
Flow rate: 1.5ml/min
Pressure: 4500 P.S.I.
Gradient elution: A pump:100%→0% B pump:0%→100%
Injection volume: 20 µl
Run time: 30 min

5) Tannin 함량에 따른 도토리전분의 점도 측정

(1) 도토리 전분의 제조

100mesh 체를 통과시킨 도토리분말 500g에 증류수 2.5ℓ를 가하여 1일 방치후 상등액은 따라버리고 다시 증류수를 가하여 tannin 반응이 나타나지 않을 때까지 매일 증류수로 세척했다. Tannin 반응은 5% FeCl₃로 확인하는 일반적인 방법과 Lun²⁶⁾의 방법에 따라 확인했다.

Tannin 반응이 나타나지 않으면 상등액은 따라버리고 밑에 가라앉은 전분은 저온에서 1~2일간 건조시킨 다음 다시 100mesh 체를 통과시켰다.

(2) Amylograph에 의한 도토리 전분의 점도 측정

시료 전분에 임의로 tannin을 2.0%, 4.0%, 6.0%씩 첨가시킨후, 6% 현탁액을 만들어 Brabender-Amylograph (Brabender Ohg Duisburg)를 이용하여 각 시료전분의 점도를 측정하였다. 즉 tannin이 함유된 이 현탁액을 amylograph cup에 옮기고,

1.5°C/min의 가열속도로 25°C에서 91°C까지 44분간 가열하고, 91°C에서 15분간 유지하였다가 1.5°C/min의 속도로 50°C까지 냉각하였다.

이렇게 하는 동안 각 시료별 전분 수용액의 점도변화를 자동기록한 amylogram으로 부터 그 특성을 구하였고, pasting temperature는 amylogram에서 10 B.U. 일때의 온도로 표시하였다. 각 특성치들은 3회 측정된 평균치이다.

결과 및 고찰

1) Tannin의 추출

도토리분말 100g을 alcohol 추출법 (Fig. 1, a법)에 따라 tannin을 추출한 결과 14.21g을 얻었고, acetone-ethylacetate 추출법 (Fig. 1, b법)으로는 2.74g의 tannin을 얻었다. alcohol 추출법으로 추출한 tannin은 수득률은 좋으나 매우 crude 했으며 ethanol, HPLC용 methanol 및 증류수등의 용매에 용해되지 않았으므로 HPLC용 시료로는 부적당하였고, acetone-ethylacetate 추출법으로 추출한 tannin은 수득률은 낮으나 순수하여 거의 tannin의 직접정정을 얻을 수 있었으므로 HPLC용 시료로 사용하였다. 한편 도토리전분 100g을 alcohol 추출법으로 tannin을 추출한 결과 0.88g을 얻었고, acetone-ethylacetate 추출법으로는 0.55g의 tannin을 얻었다. 또한 도토리묵 건조분말 23g에서 alcohol 추출법으로 tannin을 추출한 결과 제품에 따라 0.15g, 0.20g, 0.29g, 0.21g, 0.36g을 얻었고, acetone-ethylacetate 추출법으로는 0.10g, 0.14g, 0.20g, 0.15g, 0.22g의 tannin을 얻었다.

이로서 도토리묵의 tannin 함량은 묵 제조과정에 따라 차이가 있음을 알수 있었는데 이는 도토리묵이 가내 제조되고 있기 때문으로 생각된다.

한편 추출된 tannin 량은 도토리분말의 경우, 추출 용매간의 차이가 많은데 비하여, 도토리전분이나 묵은 적었다. 이는 전분 제조과정에서 alcohol 용매에 녹는 tannin을 포함한 여러 성분이 대부분 용출되었기 때문으로 생각된다.

2) TLC에 의한 Tannin의 확인

standard tannic acid, standard gallic acid 및 sample solution을 TLC로 분리확인한 결과는 Fig. 2와 같고, 그 Rf value는 Table 2와 같다.

Gallic acid의 Rf value는 0.39 (Table 2)로 확

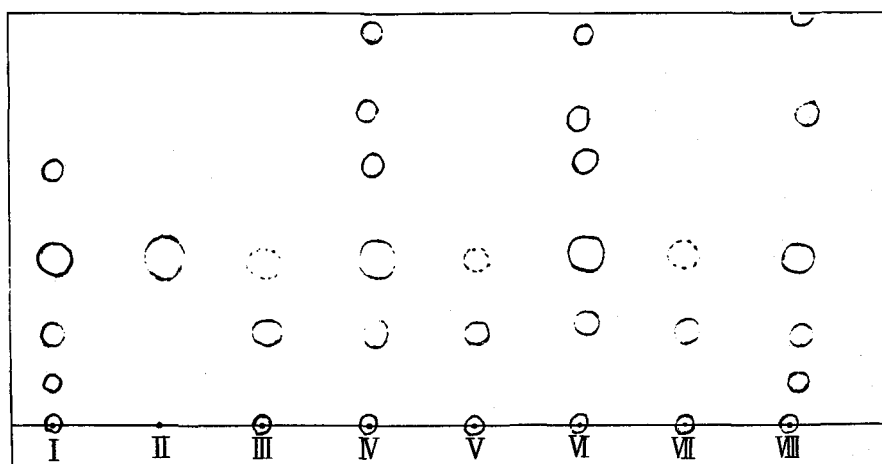


Fig. 2. Thin layer chromatogram of tannins in acorn powder and its products.

- I : standard tannic acid
- II : standard gallic acid
- III : Acorn powder tannin extracted with methanol-butanol
- IV : Acorn powder tannin extracted with acetone-ethylacetate
- V : Acorn starch tannin extracted with methanol-butanol
- VI : Acorn starch tannin extracted with acetone-ethylacetate
- VII : Acorn starch gel tannin extracted with methanol-butanol
- VIII : Acorn starch gel tannin extracted with acetone-ethylacetate

Solvent system : chloroform : ethyl formate : formic acid = 50 : 40 : 10

Color reagent : 2 N - NaOH

Diazotized paranitroaniline

인했으며 digallic acid, trigallic acid, gallotannin은 Fr-
aniau¹³⁾ 등의 연구결과를 참고로 추정했다. 그는 본
연구와 동일한 solvent를 사용했을때 gallic acid :

Table 2. TLC Rf values of tannin components

Sample*	Rf Value					
I	0.00	0.09	0.20	0.39	0.62	
II	0.00			0.39		
III	0.00		0.21	0.37		
IV	0.00		0.22	0.39	0.63	0.77 0.96
V	0.00		0.21	0.37		
VI	0.00		0.23	0.39	0.63	0.75 0.93
VII	0.00		0.20	0.38		
VIII	0.00	0.09	0.20	0.37		0.76 0.98
	gallo- tannin	trigallic acid	digallic acid	gallic acid	?	? ?

* Samples are the same as in Fig. 2.

0.40, m-digallic acid : 0.26, m-trigallic acid :
0.15, gallotannin : 0.00의 Rf value를 나타냈다고
했다.

Acetone-ethylacetate 용매로 추출한 tannin은
TLC 상에서 alcohol 용매로 추출한 tannin보다 훨씬 분
리가 잘 됐고 spot가 분명했다. 이는 alcohol 용매로 ta-
nnin을 추출하는 경우 여러가지 유사물질이 포함된
crude한 tannin을 얻는 반면 acetone-ethylacetate
용매로 추출하는 경우 훨씬 순수한 tannin을 얻을수
있기 때문으로 생각된다.

3) HPLC에 의한 Gallic acid의 정량

standard gallic acid 및 도토리분말, 도토리전분
및 도토리묵중의 tannin의 HPLC chromatogram은
Fig. 3~6과 같다.

Gallic acid는 그 peak의 Retention time(Rt)
이 8.70으로 확인됐으며 (Fig. 3), standard gallic
acid의 peak area를 100%로 잡았을때 (Fig. 3)도
토리분말(Sample A)중의 gallic acid의 peak area

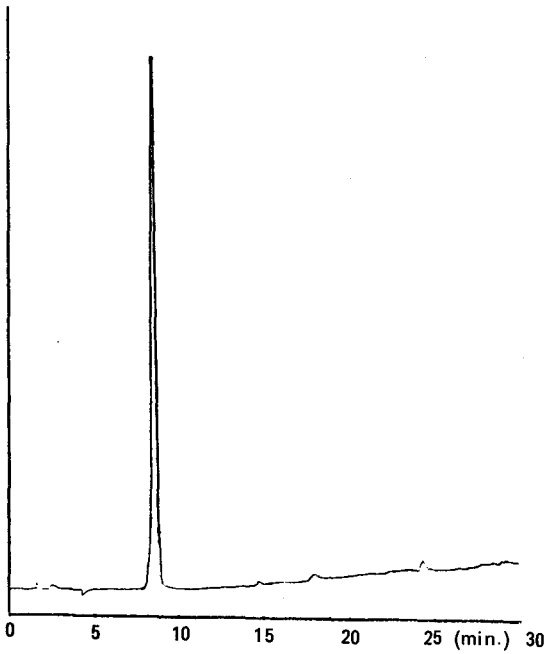


Fig. 3. HPLC chromatogram of standard gallic acid.

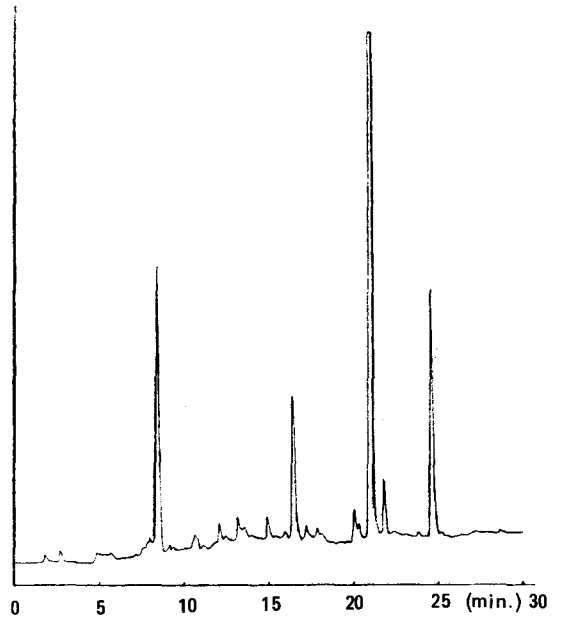


Fig. 4. HPLC chromatogram of tannin extracted from acorn powder.

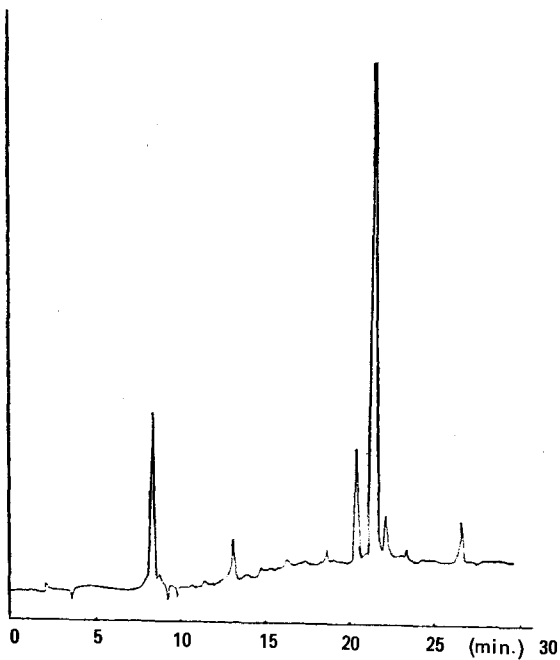


Fig. 5. HPLC chromatogram of tannin extracted from acorn starch.

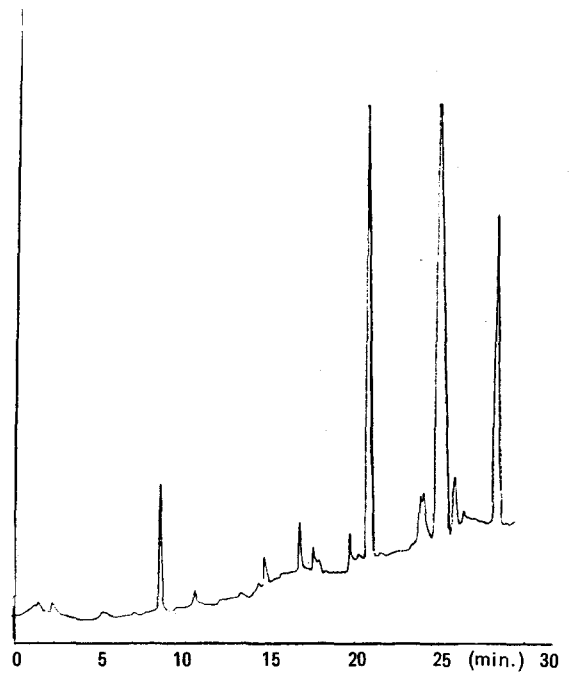


Fig. 6. HPLC chromatogram of tannin extracted from acorn starch gel.

Table 3. Contents of gallic acid in samples

Sample	Gallic acid (mg/100g sample)	Tannin (g/100g sample)	Gallic acid (g/100g tannin)
I	83.38	2.74	3.04
II	4.97	0.55	0.90
III	3.70	0.43	0.86
IV	4.09	0.61	0.67
V	5.61	0.87	0.64
VI	5.09	0.65	0.78
VII	6.78	0.96	0.71

I : acorn powder II: acorn starch
III-VII: acorn starch gel

는 $30.43 \pm 0.06\%$ (Fig. 4)이었으며, 도토리전분(Sample B)은 $9.04 \pm 0.01\%$ (Fig. 5)이었다. 도토리묵(Sample C~G)은 각각 $16.99 \pm 0.04\%$ (C, Fig. 6), $19.82 \pm 0.01\%$ (D), $25.88 \pm 0.05\%$ (E), $23.42 \pm 0.01\%$ (F), 31.

$23 \pm 0.03\%$ (G)이었다.

각 sample에서 추출된 tannin 중의 gallic acid 함량은 Table 3과 같다.

Table 3에 의하면 도토리분말, 도토리전분, 도토리묵 중의 gallic acid 함량은 시료 100g에 대하여 도토리분말의 경우는 83.38mg 도토리전분의 경우는 4.97mg, 도토리묵 건조분말의 경우는 제품에 따라 3.70~6.78mg 함유되어 있었으며 추출된 tannin 중의 gallic acid 함량은 도토리분말은 3.04%, 도토리전분은 0.90%, 도토리묵은 0.64~0.86%이었다. 시판되고 있는 도토리묵은 도토리분말에 비해 tannin이 70~85%까지 제거되어 있었다.

4) Tannin 함량에 따른 도토리전분의 점도변화

Tannin이 제거된 도토리전분에 임의로 tannin을 2.0%, 4.0%, 6.0% 첨가시킨 시료 전분을 Brabender Amylograph를 이용하여 그의 점도를 측정한 amylogram은 Fig. 7과 같고, 이 amylogram 특성치는 Table 4와 같다. 또한 tannin 첨가량에 따른 최고점도와 냉각점도의 변화는 Fig. 8과 같다.

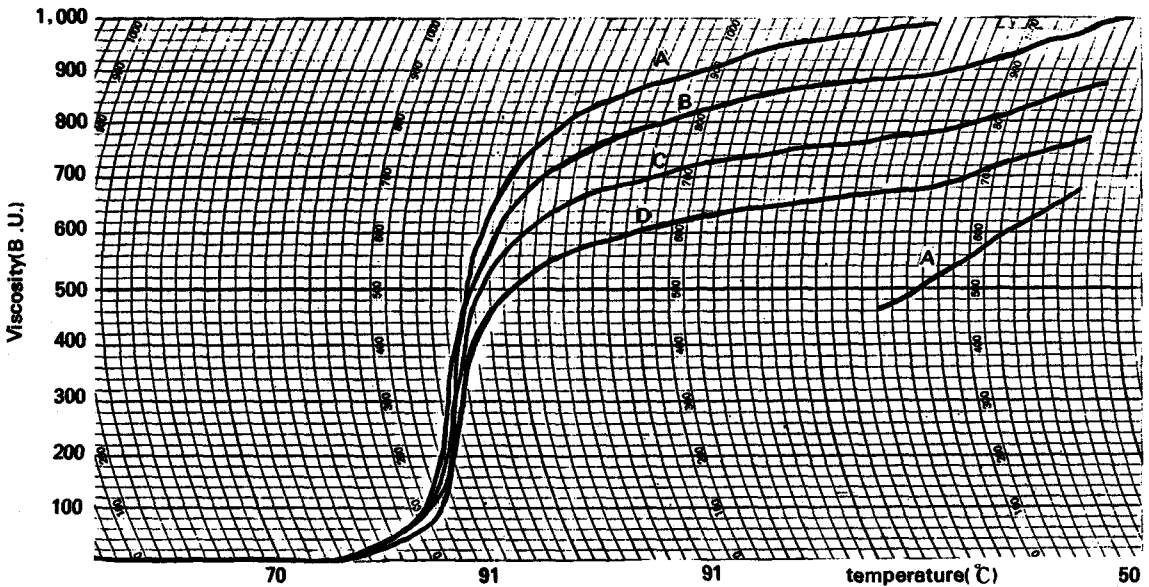


Fig. 7. Amylograms of various acorn starch.

A : Tannin 0 % C : Tannin 4.0 %
B : Tannin 2.0 % D : Tannin 6.0 %

Table 4에서 호화개시온도는 tannin이 제거된 도토리전분이 78℃ 이고 tannin을 임의로 2.0%, 4.0%, 6.0% 첨가시킨 전분은 모두가 77℃ 로 tannin 첨가량에 관계없이 일정했다. 도토리전분의 호화개시온도는

문²⁷⁾의 보고에 의하면 71.5℃, 정⁶⁾의 경우는 62~64℃ 로 본 연구에서는 이보다 약간 높았다. 최고점도는 tannin이 제거된 도토리전분이 895 B.U. 이었고, 2.0%, 4.0%, 6.0% tannin이 첨가된 전분은 각각 807

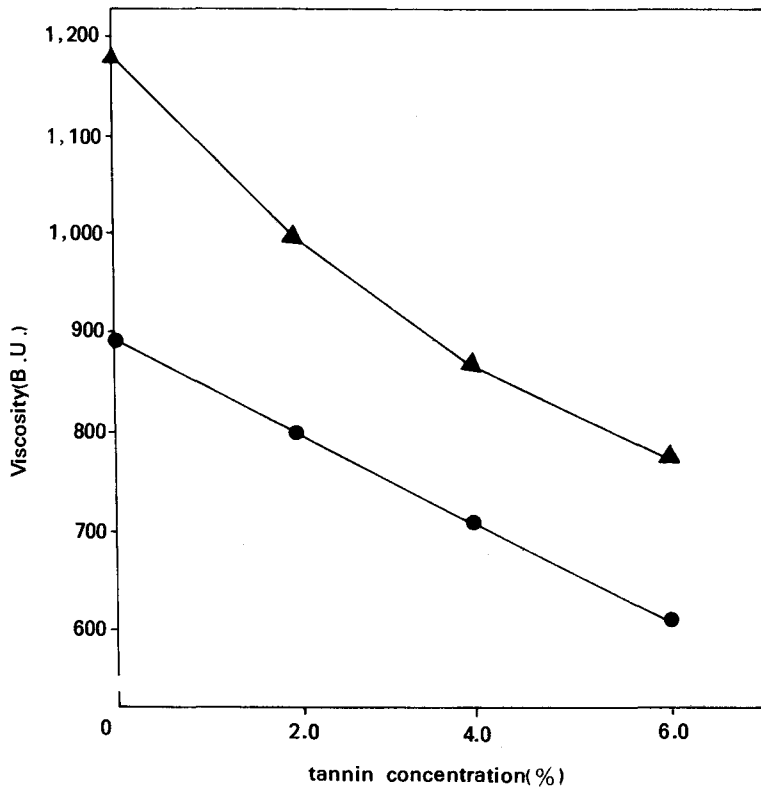


Fig. 8. Variation of maximum and cooling viscosity by tannin concentration.

▲—▲ Peak height at 50 °C
●—● Peak height

Table 4. Characteristic value of various acorn starch (6% solid basis)

Sample	Pasting temp.(°C)	Peak height (B.U.)	Temp. at peak height (°C)	Peak height at 91 °C (B.U.)	Peak height at 91 °C after 15min. hold(B.U.)	Peak height at 50 °C (B.U.)
I	78	895	91	198	895	1180
II	77	807	91	260	807	1000
III	77	708	91	220	708	875
IV	77	612	91	198	612	770

* Samples are the same as in Fig. 7.

B.U., 612 B.U. 로 tannin 량을 증가시키에 따라 최고점도는 약 90 B.U. 정도씩 낮아졌으며, 50℃ 로 냉각시켰을때의 냉각점도는 tannin 이 제거된 도토리전분이 1,180 B.U. 이었고 tannin 을 첨가시키에 따라 각각 1,000B.U., 875B.U., 770B.U. 로 냉각점도가 계속 상승하는 경향은 鈔²⁸⁾, 정⁶⁾ 등은 보고와 일치하며 tannin 량을 증가시키에 따라 tannin 이 제거된 도토리전분보다 95~180 B.U. 낮아졌다. 이상의 결과에서 tannin 성분이 도토리 전분의 호화개시온도에는 영향을 미치지 않았으나 최고점도와 냉각점도에는 큰 영향이 미치는 것으로 나타났다.

이는 도토리 성분중 tannin 함량에 따른 목의 texture 에도 영향이 미친다는 것을 제시해 주며 tannin 성분이 도토리전분 특성에 어떤 영향을 주는지는 더연구 되어져야만 한다.

결 론

도토리분말, 도토리전분, 도토리묵중의 tannin 을 추출한 후 HPLC 를 이용하며 tannin 중의 gallic acid 를 정량하였다. 또한 tannin 성분이 도토리전분의 점도변화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 tannin 이 제거된 도토리전분을 제조한 후 임의로 tannin 을 첨가하여 그 점도변화를 비교해 보았다. 이상의 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 도토리의 tannin 을 alcohol 추출법과 acetone-ethylacetate 추출법으로 추출한 결과 전자는 tannin 수득률은 좋으나 crude 했으며, 후자는 수득률은 낮으나 거의 순수한 tannin 의 결정을 얻을 수 있었다.

2) Tannin 을 TLC 상에서 분리확인한 결과 gallic acid 의 Rf value 는 0.39 로 확인했으며 digallic acid 0.21, trigallic acid 는 0.09, gallotannin 은 0.00 으로 각각 추정했다.

3) 도토리분말, 도토리전분, 도토리묵중의 gallic acid 함량은 시료 100g 에 대하여 도토리분말의 경우는 83.38mg, 도토리전분은 4.97mg, 도토리묵 건조분말의 경우는 제품에 따라 3.70~6.78mg 함유되어 있었으며 추출된 tannin 중의 gallic acid 함량은 도토리분말은 3.04%, 전분은 0.90%, 묵은 0.64~0.86% 이었다.

4) Tannin 성분이 도토리전분의 호화개시온도에는 영향을 미치지 않았으나 최고 점도와 냉각점도에 영향을 미쳐 tannin 량을 증가시키에 따라 거의 일정하게 낮아졌다.

5) 시판되는 도토리묵은 그 제조과정에 따라 tannin 함량에 차이가 있었으며 제품에 따라 tannin 이 약 70~85% 제거되어 있었다.

REFERENCES

- 1) 임업시험장편 : 한국수목도감. 131, 1966.
- 2) 이창복 : 대한식물도감. 향문사, 1979.
- 3) 산림청 : 임산액 통계. 1981.
- 4) 윤서석 : 한국식품사 연구. 191, 신광출판사, 1974.
- 5) 채수규·유태중 : 미생물 tannase 에 의한 식품의 tannin 성분 분해에 관한 연구. 한국식품과학회지 5(4) : 258~267, 1973.
- 6) 정동호·유태중·최병규 : 도토리묵말의 이용에 관한 연구. 한국농화학회지 18(2) : 102~108, 1975.
- 7) 김창제·신용태 : 한국산 도토리의 利用에 관한 연구. 산업미생물학회지 3(1) : 17~22, 1975.
- 8) 日本食品工業學會編 : 食品分析法, 813~816 光琳, 1978.
- 9) Mitjavila, S., Schiavon, M. & Derache, R.: Tannin content of beverages. Ann. Technol. Agr 20(4) : 335~346, 1971.
- 10) Inskip, E.B., King, P. & Ziegler, H.W.: Spectrophotometric determination of gallotannins in beer. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 56(6) : 1362~1364, 1973.
- 11) Puisais, J. & Guiller, A.: Dosage spectrophotométrique des tannins. Congrès national des sociétés savantes. Reims Science, 95(1) : 157~169, 1970.
- 12) Lawrence, J.: Semiquantitative determination of fulvic acid, tannin and lignin in natural waters. Waters Res. 14(4) : 373~377, 1980.
- 13) Franiau, R. & Mussche, R.: Quantitative determination of gallic acid in tannic acid by thin layer chromatography. J. Inst. Brew. 78 : 450~453 1972
- 14) Dadić, M., Van, G., Joris, E.A. & Weaver, R.L.: Thin layer densitometric determination of gallic acid, gallotannins in wine and cider. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63(1) : 1~4, 1989.
- 15) Trachman, H. & Saletan, L.T.: Determination of gallotannins in beer by gas chromatography. Wallerstein Lab. Commun. 34(115) : 187~197,

- 1971.
- 16) Zaprometov, N.M. & Stankova, N.N.: *Gas-phase chromatographic separation of tea catechins. Bull. Liaison-Groupe Polyphenols.* 9:306 ~ 307, 1980.
- 17) Beasley, T.H., Ziegler, H.W. & Bell, A.D.: *Determination and characterization of gallotannin by high performance liquid chromatography. Anal. Chem.* 49(2):238 ~ 243, 1977.
- 18) Israelian, C., Puech, J.L. & Roson, J.P.: *Possibilities d'application de la chromatographie en phase liquide sous haute pression a l'étude et au controle des vins et eaux-de-vie. Bull. Liaison-Groupe Polyphenols* 8:374~378, 1978.
- 19) Okuda, T., Mori, K., Seno, K. & Hatano, T.: *Constituents of geranium thunbergii sieb et zucc. VII High-performance reversed-phase liquid chromatography of hydrolysable tannins and related polyphenols. J. Chromatog.* 171:313~320, 1979.
- 20) Delahaye, P. & Verzele, M.: *Analysis of gallic, digallic and trigallic acids in tannic acids by high performance liquid chromatography. J. Chromatog.*, 265:363 ~ 367, 1983.
- 21) Belleau, G. & Dadlic, M.: *Determination of tannic acid in beer by high performance liquid chromatography. J. Am. Soc. Brew. Chem.* 37(4): 175 ~ 179, 1979.
- 22) 金琪憲 : 도토리의 tannin성분에 관한 화학적 연구. 약학연구지 16(1): 1~3, 1982.
- 23) 함승시, 이상영 : 도토리전분의 이화학적 연구. 강원대학연구논문집 8:81 ~ 87, 1974.
- 24) 이상영, 함승시 : 도토리전분에 관한 생화학적연구. 강원대학연구논문집 8:75 ~ 79, 1974.
- 25) 김정옥, 이만정 : 도토리전분의 이화학적 성질에 관한 연구. 한국식품과학회지 8(4): 230~235, 1976.
- 26) Lun, C.C.: *A method for the identification of tannins. Chung Ts'ao Yao*, 11(11):496 ~ 500, 1980
- 27) 문수재, 손경희, 박혜원 : 목의 식품과학적 연구. 대 한가정학회지. 15(4):31 ~ 43, 1977.
- 28) 鈴木繁男, 荒井克裕 : 澱粉 工業學會誌.(日本),10(2) : 10~15, 1963.