

## 떫은감에서 분리한 탄닌성분의 패턴 변화

서지형 · 정용진 · 신승렬\* · 김주남\*\* · 김광수\*\*\*  
경북과학대학 전통발효식품과, \*경산대학교 생명자원공학부,  
\*\*영남이공대학 식품영양과, \*\*\*영남대학교 식품영양학과

## Changes in Pattern of Tannin Isolated from Astringent Persimmon Fruits

Ji-Hyung Seo, Yong-Jin Jeong, Seung-Ryeul Shin\*,  
Ju-Nam Kim\*\* and Kwang-Soo Kim\*\*\*

*Department of Traditional Fermented Food, Kyongbuk College of Science*

*\*Faculty of Life Resources and Engineering, Kyungsan University*

*\*\*Department of Food and Nutrition, Yeungnam College of Science and Technology*

*\*\*\*Department of Food and Nutrition, Yeungnam University*

### Abstract

This study was investigated pattern changes of tannin isolated from astringent persimmon fruits. The contents of total phenolics and soluble tannins decreased as the maturing and softening of persimmon fruits proceeded. Green and mature persimmon tannins reacted with acetaldehyde. The more contents of tannin increased, the more reactions became. And the reaction of green persimmon tannin was more active than mature persimmon tannins. But tannin from soft persimmon fruits did not react with acetaldehyde. Tannins were more polymerized during maturing and softening of fruits. So there was a little difference in chromatograms of persimmon tannins. Also green and mature persimmon tannins obtained 4 bands respectively after thin layer chromatography analysis. But there was only 2 bands in soft persimmon tannin. As softening of persimmon fruits proceeded, most of tannins reacted with acetaldehyde, so coagulated. Also the component of soluble tannins was changed during softening of persimmon fruits.

**Key words** : persimmon, tannin, fruit

### 서론

감과실은 포도당과 과당이 풍부하고 비타민 A와 C가 다량 함유된 알칼리성 식품으로서 다른 과실과 달리 신맛이 없고 탄닌의 수렴작용에 의해 설사를 멎게 하거나 지혈 등의 약리작용을 나타내어 예로부터 많이 식용되어 왔다(1). 감과실의 탄닌은 품종에

관계없이 미숙과에서는 수용성 탄닌으로 존재하여 삼미(澁味)를 나타낸다. 과실의 성숙으로 탄닌함량은 점차 감소하며 생육중 樹上에서 완전히 탈삼되는 단감과, 삼미가 잔존하는 떫은감으로 분류된다. 단감은 기호도가 높아서 대부분 생과로 애용되고 있는 반면, 떫은감은 탄닌물질로 인한 삼미를 나타내기 때문에 탈삼후 생과로 일부 이용되거나 연시 혹은 꽃감으로 소비된다. 최근에는 감분말, 감절편, 감식초 등의 다양한 감가공품이 개발되고 있으나, 떫은감은 가공후 제품에 떫은 맛이 잔존하거나 쉽게 갈변하는 등 문제점이 제기되고 있다(2).

Corresponding author : Ji-Hyung Seo, Department of Traditional Fermented Food, Kyongbuk College of Science, Chilkok, Kyungpook 718-850, Korea

'Kaki tannin' 혹은 'shibuol'이라고 불리는 감의 탄닌은 catechin류로 구성된 축합형 탄닌으로 분류되며 과거에는 양조과정에서 deproteinizing agent로 이용되었다(3). 감과실의 탈삼은 과실내에 생성된 acetaldehyde와 수용성 탄닌이 중합되어 고분자 물질로 전환되기 때문이다(4). 녹숙기 감과실의 탄닌세포는 세포벽에 pore가 존재하며 이를 통해 주변 탄닌세포나 다른 유세포와 물질교환을 하게되며 과실의 성숙 및 탈삼에 따라 pore가 폐색(閉塞)됨으로써 뽕은맛이 감소, 상실된다(5). 이러한 pore 폐색(閉塞)은 뽕은감보다 단감에서 빠르시기에 나타나며, 뽕은감의 경우 수확기까지 완전한 pore 폐색이 되지 않아 뽕은맛이 잔존하게 되고, 이밖에 단감과 뽕은감의 탄닌은 구성성분에도 차이(6)가 있는 것으로 보고되었다.

감과실의 탄닌성분과 관련된 연구는 탈삼방법이나 과실품종간 성분비교에 관한 것(8,9)으로, 감과실의 탄닌성분을 분리하여 행해진 연구는 성 (4,10)의 보고에 불과하다. 또한 연시의 경우 뽕은맛이 감소되어 녹숙감이나 완숙감에 비해 가공시 과육의 색상이 크게 변하지 않음으로 뽕은감의 속도에 따라 탄닌에 부가적인 변화가 있을 것으로 추정된다. 현재 뽕은감을 이용한 가공제품에서 품질변화 원인으로 탄닌성분이 추측되고 있으나(7) 원료과실의 속도에 따라 품질변화 유형이 다르므로 과실의 속도를 감안한 탄닌의 변화 패턴 및 이들의 특성에 대한 체계적인 연구가 요구되고 있다. 따라서 본 연구는 뽕은감의 속도에 따라 탄닌성분을 분리하여 이들의 acetaldehyde 반응성, gel permeation chromatography, thin layer chromatography 분석 등을 행하여 탄닌성분의 패턴 변화를 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

본 실험에 이용된 감과실은 경북 청도군에서 재배한 반시(*Diospyros kaki*, T.) 품종으로 개화 105 ~ 110일의 녹숙감과, 개화 155 ~ 160일의 완숙감 및 완숙감을 알콜농도 50% 이상, 25℃에서 1주일간 탈삼한 연시로 구분하여 실험하였다.

#### 총페놀성 물질 및 가용성 탄닌의 정량

총페놀성 물질은 Folin-Denis법(11)에 따라, 가용성 탄닌은 vanillin법(12)으로 정량하였다.

#### 가용성 탄닌의 추출 및 분리

Matsuo의 방법(13)에 따라 일정량의 과육에 3배의 70% methanol-용액(-20℃)을 가하여 2분간 마쇄한 후 여과하고, 잔사는 다시 2회 반복 추출하였다. 추출한 여액을 모두 합하여 2 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 용액을 소량 가한 다음 3000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 잔사는 methanol로 세척해서 1.2 N HCl용액에 녹인 후 탄산나트륨 포화용액을 가하여 pH 4.0으로 중화시킨 다음 36시간 투석하였다. 투석액은 동일량의 caffeine 포화용액을 가하여 3000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 분리된 잔사는 1% HCl-dimethylformamide용액에 녹여 Sephadex LH-20 column에 주입하여 70% DMFA 용액으로 전개시킨 다음 증류수로 다시 투석후 동결건조하여 시료로 사용하였다.

#### 탄닌의 acetaldehyde 반응성 측정

Taira 등(14)의 방법에 따라 탄닌을 petri dish에 취해 5 ml의 증류수에 녹인 후 0.5% acetaldehyde 용액 50 ml가 들어있는 데시케이터에 넣은 다음 밀폐시켜 30℃에서 탄닌용액이 응고할 때까지 소요되는 시간을 측정하였다.

#### Gel permeation chromatography(GPC)에 의한 탄닌의 분획

Matsuo 등(3)의 방법에 따라 동결건조한 탄닌 50 mg을 dimethyl sulfoxide용액 10 ml에 녹인 다음 상온에서 3시간 반응시킨 다음 원심분리(2000 rpm, 10 min.) 하였다. 분리한 잔사는 methyl iodide용액 2 ml를 가한 후 2시간 반응시켜 농축하였다. 농축액은 소량의 tetrahydrofuran용액 1 ml를 넣어 녹인 후 20 μl를 취해 GPC용 column에 주입하고 Table 1의 조건에 따라 분석하였다.

Table 1. Operating conditions of GPC for persimmon tannins

GPC instrument	SCL-10A (Shimadzu Co.)
Column	Styragel 10 <sup>3</sup> Å gel permeation column
Detector	UV
Solvent	THF
Flow rate	1.0 ml/min.
Column Temp.	40℃
Injection volume	20 μl
Standard material	1.5 × 10 <sup>4</sup> Polystyrene

#### Thin layer chromatography(TLC)에 의한 탄닌의 분획

Mastuo 등(15)의 방법에 따라 탄닌 50mg을 ethanol 20ml

에 용해하여 acetic acid 4ml와 toluene- $\alpha$ -thiol 용액 7.5ml를 첨가한 후  $N_2$ 하에서 12시간 반응시켜 농축하였다. 농축액은 sephadex LH-20 column을 이용해서 toluene- $\alpha$ -thiol을 제거한 다음 다시 농축하여 TLC 분석용 시료로 하였다. 각 시료는 silica gel TLC용 plate(GF<sub>254</sub>, Merck co.)에 5회씩 spotting하고 benzene-acetic acid-water(10:10:1)의 용매로 상온에서 전개한 다음 HCl-vanillin시약으로 발색시켰다.

### 결과 및 고찰

#### 총페놀성 물질 및 가용성 탄닌의 함량 변화

Table 2는 감과실의 성숙·연화에 따른 총페놀성 물질과 가용성 탄닌의 함량 변화를 분석한 결과이다. 총페놀성 물질의 함량은 녹색감에서 3.09%로 가장 높았고, 완숙감에서는 1.51%, 연시는 0.48%로 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 가용성 탄닌의 함량도 녹색감 1.44%, 완숙감 0.64%, 연시 0.04%로, 총페놀성 물질과 함께 현저하게 감소하는 경향이였다. 이는 Sugiura와 Tomana(9)가 감과실의 성숙으로 탈삼 요인인 ethanol과 acetaldehyde 함량이 증가하며 이에 따라 가용성 탄닌이 감소한다는 보고와 유사하였다.

Table 2. Changes in total phenolic material and soluble tannin of persimmon fruits according to the maturity (%)

Group <sup>1)</sup>	Total phenolic material <sup>2)</sup>	Soluble tannin <sup>3)</sup>
G	3.09 ± 0.02	1.44 ± 0.20
M	1.51 ± 0.16	0.64 ± 0.04
S	0.48 ± 0.06	0.04 ± 0.01

<sup>1)</sup> Abbreviations: G; Green mature persimmon fruits. M; Mature persimmon fruits. S; Soft persimmon fruits

<sup>2)</sup> Percents of Tannic acid equivalent by Folin-Denis method.

<sup>3)</sup> Percents of Catechin equivalent by vanillin method. Values are mean ± S.D.

#### 탄닌의 acetaldehyde 반응성

Fig. 1은 탄닌성분과 acetaldehyde간 반응성을 분석한 결과이다. Acetaldehyde 반응성은 녹색감에서 추출한 가용성 탄닌이 완숙감의 탄닌보다 다소 높았고, 연시에서 추출한 탄닌은 acetaldehyde와 반응하지 않았다. 앞서 과실의 숙도에 따라 총페놀성 물질과 가용성 탄닌함량이 크게 감소한 것에 비해서, acetaldehyde 반응성은 녹색감의 탄닌과 완숙감의 탄닌에서 큰 차이가 없었다. 또한 탄닌의 함량이 높을 수록 acetaldehyde 반응성은 증가하였다.

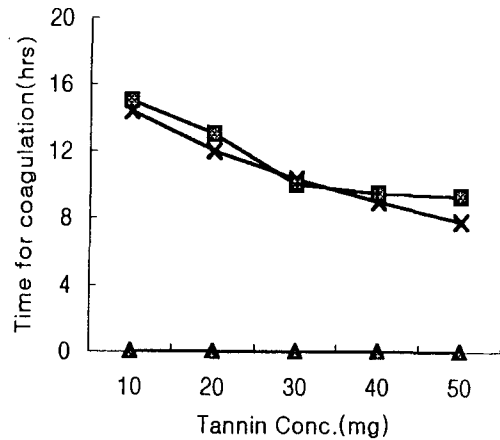


Fig. 1. Coagulation of acetaldehyde with tannins extracted from persimmon fruits.

× ; Tannins extracted from green persimmon fruits.

■ ; Tannins extracted from mature persimmon fruits.

▲ ; Tannins extracted from soft persimmon fruits.

과실이 성숙·연화됨에 따라 과실내에 생성·축적된 acetaldehyde는 탄닌성분과 반응하여 감과실의 탈삼에 관여한다(14). 연시에서 분리한 탄닌의 경우 과실에 존재하는 대부분의 떫은 맛이 상실된 점을 감안할 때 acetaldehyde 반응성이 높을 것으로 예상되었으나, 본 연구에서는 과실이 성숙·연화됨에 따라서 탄닌의 acetaldehyde 반응성은 감소하였다. 이와 같은 결과는 연시의 탄닌과 녹색감 및 완숙감의 탄닌 구성성분간 차이에 의한 것으로 추측되며, Yonemori와 Matsushima(6)도 단감에서 추출한 탄닌성분이 떫은감의 탄닌보다 acetaldehyde 반응성이 약한 것은 감과실 품종간 탄닌성분 자체의 차이에서 비롯된다고 보고하였다.

#### Gel permeation chromatography를 이용한 탄닌의 pattern 변화

Fig. 2는 감과실의 숙도에 따라 추출한 탄닌성분을 Styragel 10<sup>3</sup> Å GPC column으로 분획한 결과이다. 감과실의 탄닌은 분자량이 1.5 × 10<sup>4</sup> 이하인 성분으로 구성되어 있으며, 과실이 성숙·연화됨에 따라 탄닌 성분은 점차 고분자화 되는 경향을 보였다. 녹색감과 연시의 탄닌성분은 3개의 peak를 나타냈으며 완숙감의 탄닌은 녹색감에 비해서 고분자화 진행과정의 중간물질로 추측되는 peak가 하나 추가되어 4개의 peak를 나타내었다. Peak의 형태도 고분자성분의 peak가 완숙감이나 연시에서 커졌다.

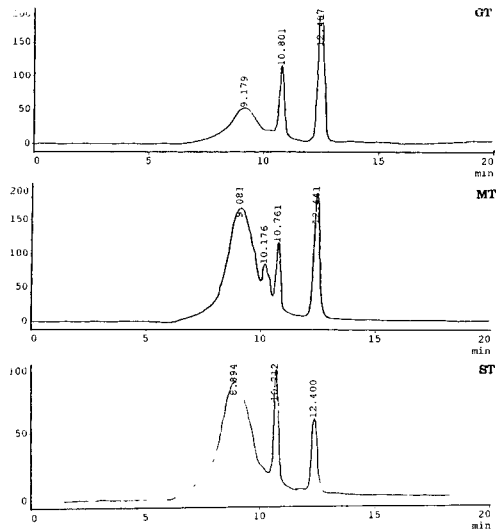


Fig. 2. Chromatogram of tannins extracted from persimmon fruits by GPC analysis.

\* Abbreviations are the same as in Fig. 2.

감의 탄닌성분은 녹숙기에는 저분자 성분으로 존재하지만 과실의 성숙·연화가 진행됨에 따라 탄닌 성분들간의 중합으로 고분자화된다(16). Yonemori와 Matsushima(6)는 단감인 fuyu와 뽕은감인 hiratanenashi를 대상으로 녹숙기부터 완숙기까지 단계적으로 추출한 탄닌성분을 CPG-10 column을 이용해서 gel 여과하였을 때 과실이 성숙됨에 따라 뽕은감의 탄닌이 급속도로 고분자화 된다고 보고하였다. 성(4)도 녹숙감에는 상당량의 저분자 탄닌성분이 존재한다고 하였다. 식품의 기호성과 관련하여 proanthocyanidin을 비롯한 탄닌성분은 분자중합도가 증가함에 따라 뽕은 맛이 증가함으로, 단감에 비해서 뽕은감의 뽕은 맛이 강하게 느껴진다(17)고 보고되었다.

본 연구결과를 이상의 보고와 관련시켜 보면, 감과실의 가용성 탄닌성분은 분자량이  $1.5 \times 10^4$  이하인 성분으로 구성되어 있으며 과실의 성숙으로 점차 고분자화 되는 것으로 사료된다. 또한 연시 탄닌의 경우 가용성 탄닌 대부분은 고분자성분이지만, 과실에 함유된 탄닌함량이 매우 낮아서 뽕은 맛을 야기시키지 않는 것으로 생각된다.

Thin layer chromatography를 이용한 탄닌의 pattern 변화

Fig. 3은 감과실의 탄닌성분을 TLC를 이용해서 전개시킨 결과이다. 녹숙감과 완숙감의 탄닌성분은 각각 4개의 band를 나타내었으나 연시 탄닌은 위쪽 2

개의 band만 나타내어 탄닌 구성성분의 차이를 보였다. Matsuo 등(3)은 녹숙기 뽕은감(*Diospyros kaki* L., cv. 'Hiratanenashi')에서 분리한 탄닌성분은 catechin, gallo catechin, catechin-3-gallate, gallo catechin-3-gallate로 구성되어 있다고 보고하였다. 본 연구에서 이들 표준 물질과 각각의 탄닌성분을 함께 전개시킨 결과 녹숙감과 완숙감의 탄닌성분은 이들 4가지 성분의 Rf값과 유사하였으며, 연시 탄닌은 catechin, gallo catechin의 Rf값과 유사하였다. 또한 녹숙기와 완숙기의 단감에서 분리한 탄닌성분을 전개시킨 결과 연시 탄닌의 구성성분과 유사한 2개의 band를 나타내었다.

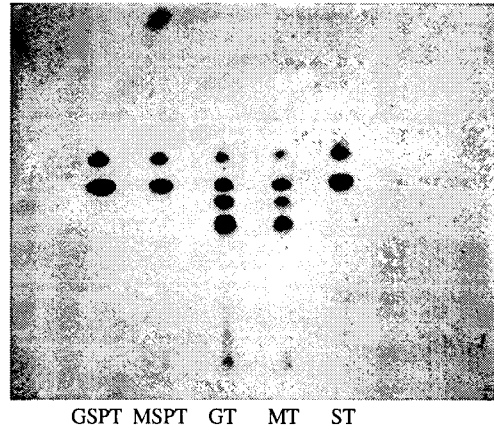


Fig. 3. Chromatogram of tannins extracted from persimmon fruits by TLC analysis.

\* Abbreviations are the same as in Fig. 2.

GSPT: Tannins extracted from green sweet persimmon fruits.

MSPT: Tannins extracted from mature sweet persimmon fruits.

이상의 결과로 뽕은감의 연화에 따라 탄닌 대부분은 과실내에서 불용화됨과 동시에 가용성 탄닌의 구성성분에 변화가 동반되는 것으로 생각된다. 또한 이러한 탄닌성분의 변화는 뽕은감의 성숙후 탈삼·연화과정에서 현저한 것으로 추측되며, 본 연구에서 연시 탄닌성분은 탄닌 구성성분의 변화로 인해 acetaldehyde 반응성을 나타내지 않은 것으로 사료된다. 따라서 차후 탄닌 구성성분에 관한 정제 및 동정에 관한 체계적 연구가 요망된다.

요 약

뽕은감의 총페놀성 물질은 녹숙감에서 3.09%로 가장 높았고, 완숙감에서는 1.51%, 연시는 0.48%로 점차 감

소하는 경향을 나타내었으며 가용성 탄닌도 연시에서 현저하게 감소하였다. Acetaldehyde 반응성은 녹숙감에서 추출한 가용성 탄닌이 완숙감의 탄닌보다 다소 높았고, 연시에서 추출한 탄닌은 acetaldehyde와 반응하지 않았다. 탄닌의 함량이 높을수록 acetaldehyde 반응성은 증가하였으며, 각 탄닌성분을 Styragel 10<sup>3</sup> Å GPC column으로 분획한 결과 과실이 성숙·연화됨에 따라 탄닌성분은 점차 고분자화 되는 경향을 보였다. 또한 TLC상의 녹숙감과 완숙감의 탄닌성분은 각각 4개의 band를 나타내었으나 연시 탄닌은 2개의 band만 나타내어 탄닌 구성성분의 차이를 보였다.

### 감사의 글

본 연구는 1997 학술진흥재단 신진연구인력과제에 의해 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. 한국식품년감. 농림수산부, p.730 (1992)
2. 오상룡, 김성수, 문광덕 (1994) 감 건조 가공품 개발 및 산업화 연구(감분말, 감slice, 감잎차). 농촌진흥청, 연구보고서
3. Matsuo, T. and Ito, I. (1978) The chemical structure of kaki-tannin from immature fruit of the persimmon(*Diospyros kaki L.*). *Agric. Biol. Chem.*, **42**(9), 1637-1643
4. 성종환 (1986) 감시의 자연탈삼현상 및 탄닌물질의 분포. 경북대학교, 박사학위논문
5. Yonemori, K. and Matsushima, J. (1987) Morphological characteristics of tannin cells in Japanese persimmon fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **112**(5), 812-817
6. Yonemori, K. and Matsushima, J. (1983) Differences in tannins of non astringent and astringent type fruits of japanese persimmon (*Diospyros kaki T.*). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **52**(2), 135-144
7. 최신양, 구영조, 이명기 (1995) 감식초 음료개발에 관한 연구. 한국식품개발원, 감식초 음료개발 연구사업 연구보고서
8. Sugiura, A., Harada, H. and Tomana, T. (1975) Studies on the removability of astringency in Japanese persimmon fruits. I. 'on-tree removal' of astringency by ethanol treatment. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **44**(3), 265-272
9. Sugiura, A. and Tomana, T. (1983) Relationships of ethanol production by seeds of different types of japanese persimmons and their tannin content. *Hortscience*, **18**(3), 319-321
10. 성종환 (1994) 저장처리조건에 따른 떫은감의 단감화. *농산물저장유통학회지*, **1**(1), 15-20
11. A.O.A.C. (1980) Official methods of analysis, 13th ed., Association of official analytical chemist, Washington D.C.
12. Bulter, L.G., Price, M.L. and Brotherton, J.E. (1982) Vanillin assay for proanthocyanidins (condensed tannins) ; Modification of the solvent for estimation of the degree of polymerization. *J. Agric. Food Chem.*, **30**, 1087-1089
13. Matsuo, T. and Ito, S. (1981) A simple and rapid purification method of condensed tannins from several young fruits. *Agric. Biol. Chem.*, **45**(8), 1885-1887
14. Taira, S., Itomura, H., Abe, K. and Watanabe, S. (1989) Comparison of the characteristics of removal of astringency in two japanese persimmon cultivars. 'Denkuro' and 'Hiratanenashi'. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **58**(2), 319-325
15. Matsuo, T. and Saburo I. (1981) Comparative studies of condensed tannins from several young fruits. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **50**(2), 262-269
16. Nakabayashi, T. (1971) Studies on tannins of fruits and vegetables. part VII. Difference of the components of tannin between the astringent and non-astringent persimmon fruits. *J. Food Technol.*, **18**(1), 33-37
17. Lea, A.G.H. and Arnold, G.M. (1978) The phenolics of cider; bitterness and astringency. *J. Sci. Food Agric.*, **29**, 478-482

(1999년 6월 20일 접수)