

Research Note

## 탈지미강으로부터 Phytic Acid의 추출과 정제의 최적화

최문실<sup>1</sup> · 한복경<sup>1</sup> · 최혁준<sup>1</sup> · 박영서\*

<sup>1</sup>(주)비케이바이오, \*경원대학교 식품생물공학과

### Optimization of Extraction and Purification of Phytic Acid from Defatted Rice Bran

Moon Sil Choi<sup>1</sup>, Hyuk Joon Choi<sup>1</sup>, Bok Kyung Han<sup>1</sup>, and Young-Seo Park\*

<sup>1</sup>Research & Development Department, BKbio Co., LTD.

Department of Food Science & Biotechnology, Kyungwon University

#### Abstract

The optimum condition for the extraction and purification processes of phytic acid from defatted rice bran was examined. The phytic acid was efficiently extracted when the defatted rice bran was treated with 10 volumes of 0.5% HCl for 1 hr. For the neutralization of acid-treated extract, 0.5% NaOH was the most acceptable. To purify phytic acid, Diaion HP20 resin was used to remove impurities from the extract. The flow-through was then loaded onto ion exchange columns packed with various resins and among them, Amberlite IRA-416 resin showed highest recovery yield. When the phytic acid was absorbed onto Amberlite IRA-416 resin and then eluted with 0.5% NaOH, 89% of applied phytic acid was eluted. Most proteins were removed from the purified phytic acid and total protein content of the phytic acid was 0.14% (w/w).

**Key words:** phytic acid, defatted rice bran, extraction, ion exchange column chromatography

## 서 론

피틴산(phytic acid, inositol hexaphosphate)은 자연 식물성 항산화제로서 곡류나 씨앗 등에 1-5%(w/w) 정도 함유되어 있는데(Graf & Eaton, 1990), 이는 곡류 내 총 인산의 60-90%에 해당하는 양이다(Johnson & Tate, 1969; Reddy & Salunkhe, 1981). 피틴산은 일반적으로 밀이나 쌀의 호분층과 같은 씨앗의 특정 부위에 calcium, magnesium, 또는 potassium 염의 형태로 존재하는데 이를 피틴(phytin)이라고 한다. 피틴산은 고에너지 인산그룹이나 양이온의 저장, 세포벽 전구체 등과 같은 씨앗의 발아에 중요한 생리적 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다(Hall & Hodges, 1966; Biswas et al., 1978; Williams, 1970; Loewus & Loewus, 1980). 피틴산은 그 구조적 특성으로 인해 높은 chelation 활성을 지니고 있는데 체내에서 필수 미네랄( $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ , K 등)을 흡착하여 체내 이용성을 저하시키고 단백질

을 침전시켜 단백질 흡수 저하와 같은 비영양적 작용을 한다. 한편, 피틴산은 항산화능이 우수하여 ascorbic acid의 산화를 저해하고, 지방 또는 오일의 과산화나 가수분해를 억제시키는 것으로 보고되고 있어 식품첨가제로 광범위하게 사용되고 있다. 또한 양이온을 띠는 유해 중금속과 결합하여 중금속의 체내 흡수를 방지하는 기능도 지니고 있다. 최근에는 대장암 억제, 항산화 및 항암작용, 신장 담석증 치료제로서의 이용성이 보고되고 있다(Vucenik & Shamsuddin, 2003).

피틴산을 식품첨가제로 사용하기 위해서는 저가의 원료로부터 효율적인 분리 정제공정을 이용하는 것이 필수적이다. 피틴산은 여러 종류의 식물체로부터 분리 정제할 수 있는데 산업적으로는 5% 이상의 피틴산이 존재하는 미강으로부터 묽은 염산으로 추출한 후 KOH 등과 같은 염기나 알코올에 의한 침전법에 의해 분리 정제하고 있다(Kolchev, 1978). 그러나 이와 같은 기존의 공정을 이용하여 피틴을 제조할 경우 단백질 등 불순물이 다량 포함되어 순도가 낮아지기 때문에 제품화에 어려움이 있어 왔다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 이온교환수지 등을 이용한 흡착법 등이 시도되었지만 효율면에서 산업화에 적용하기 어려운 실정이다.

따라서 본 연구에서는 탈지미강으로부터 피틴산을 효율

\*Corresponding author: Young-Seo Park, Department of Food Science and Biotechnology, Kyungwon University, San 65 Bokjeong-dong, Sujeong-gu, Seongnam, 461-701, Korea

Tel: +82-31-750-5378; Fax: +82-31-750-5273

E-mail: ypark@kyungwon.ac.kr

Received August 6, 2011; revised August 16, 2011; accepted August 17, 2011

적으로 분리 정제하는 공정을 최적화함으로써 산업적으로 적용할 수 있는 기초 자료를 제공하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 피틴산의 정량법

시료 중의 피틴산의 정량은 비색법(Mohamed et al., 1986)을 이용하였다. 즉, 시료 800 µL에 Wade reagent(0.03% FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.3% sulfosalicylic acid) 200 µL를 가한 후 vortex mixer를 이용하여 5 초 동안 혼합하였다. 이 혼합액을 3,000×g에서 10 분 동안 원심분리한 후 상등액을 취하여 500 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 검량선 작성을 위한 표준용액은 100 mg/mL 농도의 피틴산 용액을 제조한 후 증류수로 희석하여 각각 0, 5, 10, 20, 50, 100 mg/mL의 농도로 제조하였다.

#### 피틴산 추출액 제조

탈지 미강(BKbio Co., Ltd., Seoul, Korea) 200 g을 일정 농도의 HCl 또는 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액 2 L를 이용하여 혼합기에서 상온에서 일정시간 동안 피틴산을 추출하였다. 피틴산의 추출 효율은 시료로부터 추출된 피틴산 함량을 추출 전 피틴산 함량으로 나눈 후 100을 곱한 백분율로 계산하여 표시하였다.

#### 피틴산 정제용 수지 선정

피틴산 추출액의 정제를 위하여 흡착수지로서 Diaion HP20(Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA)과 이온교환수지로서 Amberlite IRA-416(Sigma-Aldrich Corp.), Dowex HCR-W2(Sigma-Aldrich Corp.), Diaion PK208H(Sigma-Aldrich Corp.), Diaion WK100(Sigma-Aldrich Corp.), Diaion CR10(Sigma-Aldrich Corp.) 수지를 사용하였다. 각 수지는 내경 15 mm, 높이 400 mm 크기의 column에 300 mm 높이로 충전하여 사용하였다. Column에 미강 추출액을 통과시킨 후 증류수로 세척한 다음 5% NaOH 용액으로 용출시킨 후 잔존하는 피틴산을 증류수로 세척하였다. 각 용매

는 peristaltic pump를 이용하여 bed volume의 3 배량을 10 mL/min의 속도로 투입하였다.

#### 수용성 단백질, 총 질소, 총 단백질 함량 측정

정제된 피틴산에 존재하는 수용성 단백질은 Lowry 등 (1951)의 방법에 의해 정량하였으며, 총 질소와 총 단백질 함량은 AOAC법(2005)에 따라 측정하였다.

#### 통계처리

모든 실험값의 통계는 3 번의 결과값을 평균한 수치를 이용하여 SAS(statistical analysis system) 통계 package로 분산분석 및 Duncan의 다중위 검증법(Duncan's multiple range test)을 사용하였다.

### 결과 및 고찰

#### 탈지 미강으로부터 피틴산 추출의 최적조건

탈지미강에서 피틴산을 추출하는 방법은 산을 이용한 용매추출법이 가장 널리 알려져 있으며 산업적으로 적용이 용이하다. 산 추출 후 피틴산을 정제하는 과정에서는 이온교환공정을 거치게 되는데 이온교환공정 상의 이온교환능이 피틴산의 정제 효율에 많은 영향을 미치게 되므로 산의 종류에 따른 피틴의 추출수율을 조사하였다. 산은 일반적으로 염산이 가장 용이하나 황산도 사용이 가능하므로 염산과 황산을 사용한 추출 효율을 비교하였다. 탈지미강을 0.1-0.6%의 HCl 용액을 6 시간까지 처리하여 피틴산의 추출을 수행한 결과 HCl의 농도가 증가함에 따라 피틴산의 추출효율도 증가하였고, 1 시간 처리 시 0.4%의 HCl에서는 90.7%, 0.5%의 HCl에서는 100.4%로 나타나 0.5% HCl을 이용하여 1 시간 추출하는 것이 가장 추출효율이 높은 것을 알 수 있었다(Table 1). 추출시간을 증가하였을 경우에는 피틴산이 추출되는 양에 비하여 색소 물질 등 다른 불순물의 추출이 더 많이 진행되는 것으로 확인되었다(결과 미제시). 따라서 미강으로부터 피틴산을 효율적으로 추출하기 위해서는 추출시간을 1 시간으로 하는 것이 가장 좋은 것으로 확

**Table 1. Effect of HCl concentration on the extraction yield of phytic acid from defatted rice bran.**

HCl concentration (%)	Extraction yield (%)					
	1 hr <sup>1)</sup>	2 hr	3 hr	4 hr	5 hr	6 hr
0.1	69.8±4.4 <sup>2)Aa3)</sup>	72.1±3.2 <sup>Aab</sup>	74.2±3.3 <sup>Ab</sup>	77.8±5.1 <sup>Ac</sup>	80.5±2.3 <sup>Ac</sup>	82.9±2.1 <sup>Ac</sup>
0.2	85.1±3.7 <sup>Ba</sup>	90.2±4.3 <sup>Bb</sup>	93.4±2.9 <sup>Bbc</sup>	94.1±3.2 <sup>Bc</sup>	95.0±3.4 <sup>Bc</sup>	95.5±2.9 <sup>Bc</sup>
0.3	91.9±2.6 <sup>Ca</sup>	90.0±3.7 <sup>Ba</sup>	91.1±1.7 <sup>Ba</sup>	96.2±2.1 <sup>Bb</sup>	97.1±2.6 <sup>Bb</sup>	98.6±2.2 <sup>Cb</sup>
0.4	90.7±2.6 <sup>Ca</sup>	92.3±1.6 <sup>BCab</sup>	93.9±1.6 <sup>Bb</sup>	95.5±2.0 <sup>Bbc</sup>	97.1±1.1 <sup>Bc</sup>	99.1±0.5 <sup>Cd</sup>
0.5	100.4±1.1 <sup>Da</sup>	98.9±1.8 <sup>Da</sup>	99.1±1.5 <sup>Ca</sup>	99.2±1.0 <sup>Ca</sup>	100.2±2.0 <sup>Ca</sup>	99.2±1.4 <sup>Ca</sup>
0.6	99.0±1.2 <sup>Da</sup>	98.3±2.6 <sup>Da</sup>	100.8±1.8 <sup>Ca</sup>	99.9±1.3 <sup>Ca</sup>	98.8±0.6 <sup>Ca</sup>	99.3±1.5 <sup>Ca</sup>

<sup>1)</sup>Extraction time at room temperature.

<sup>2)</sup>Values are mean±SD.

<sup>3)</sup> Means in a column sharing a common superscript capital letter(s) are not significantly different ( $p < 0.05$ ). Means in a row sharing a common superscript small letter(s) are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 2. Effect of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentration on the extraction yield of phytic acid from defatted rice bran.**

H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentration (%)	Extraction yield (%)					
	1 hr <sup>1)</sup>	2 hr	3 hr	4 hr	5 hr	6 hr
0.1	54.1±5.1 <sup>2)Aa3)</sup>	59.8±2.5 <sup>Ab</sup>	63.0±0.9 <sup>Ac</sup>	63.6±1.8 <sup>Ac</sup>	64.7±2.8 <sup>Ac</sup>	64.3±3.2 <sup>Ac</sup>
0.2	82.4±1.1 <sup>Ba</sup>	85.3±2.7 <sup>Bb</sup>	85.2±0.6 <sup>Bb</sup>	87.9±1.5 <sup>Bc</sup>	88.5±2.7 <sup>Bc</sup>	88.1±0.7 <sup>Bc</sup>
0.3	87.1±2.8 <sup>Ca</sup>	87.9±1.3 <sup>Ba</sup>	90.6±1.1 <sup>Cab</sup>	92.1±2.1 <sup>Cb</sup>	95.5±1.6 <sup>Cc</sup>	96.1±1.7 <sup>Cc</sup>
0.4	81.4±4.1 <sup>Ba</sup>	82.4±1.6 <sup>Ca</sup>	88.3±2.4 <sup>Cb</sup>	90.6±1.8 <sup>Cb</sup>	95.1±1.1 <sup>Cc</sup>	96.9±2.5 <sup>Cc</sup>
0.5	100.1±3.0 <sup>Da</sup>	98.6±1.1 <sup>Da</sup>	90.7±6.6 <sup>Cb</sup>	94.5±4.3 <sup>CDc</sup>	95.8±1.6 <sup>Cc</sup>	96.4±0.8 <sup>Cc</sup>
0.6	93.1±4.3 <sup>Ea</sup>	94.5±2.7 <sup>Ea</sup>	101.3±2.4 <sup>Db</sup>	95.8±0.7 <sup>Da</sup>	96.9±1.1 <sup>Da</sup>	95.9±1.0 <sup>Ca</sup>

<sup>1)</sup>Extraction time at room temperature.

<sup>2)</sup>Values are mean±SD.

<sup>3)</sup>Means in a column sharing a common superscript capital letter(s) are not significantly different ( $p < 0.05$ ). Means in a row sharing a common superscript small letter(s) are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

인되었다.

0.1-0.6%의 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액을 사용하여 6 시간까지 추출을 수행한 경우에도 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 농도가 증가함에 따라 추출효율이 증가하였으며, 0.4%의 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에서는 81.4%, 0.5%의 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에서는 100.1%로 나타나 0.5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 이용하여 1 시간 추출하는 것이 가장 추출효율이 높은 것을 알 수 있었다 (Table 2). HCl 용액과 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액을 비교하였을 때 전체적으로 HCl 용액의 추출 효율이 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액보다 다소 높기 때문에 탈지미강으로부터 피틴산의 추출에는 0.5% HCl 용액을 사용하는 것이 적합한 것으로 확인되었다.

추출용매를 0.5% HCl 용액으로 하였을 경우 용매의 부피에 따른 추출 효율을 조사하기 위하여 용매의 부피를 탈지미강 무게의 4-20 배수까지 다르게 하면서 추출한 후 추출효율을 계산하였다. 그 결과 Table 3에 나타난 바와 같이 0.5% HCl 용액의 양을 탈지미강 무게의 4 배로 사용하였을 경우 추출효율은 52.6%로 계산되었으며, 10 배 사용하였을 때에는 97.2%, 20 배 사용하였을 경우에는 98.9%로 계산되었다. 추출 용매의 양을 탈지미강 무게의 10 배 이상 사용할 경우에는 추출효율에 유의적인 차이를 나타내지 않아 최적 용매 사용량은 탈지미강의 10 배수로 확정하였다. 미강은 분쇄된 분말상이므로 이로부터 피틴산을 추출하기 위해서는 무엇보다 충분한 양의 용매가 필요하므로 10 배수보다 적을 경우 미강 분말이 완전히 잠기지 않는 경우가 발생하

**Table 3. Effect of HCl volume on the extraction yield of phytic acid.**

Volume of 0.5% HCl (multiples of weight of defatted rice bran)	Extraction yield (%)
4	52.6±3.5 <sup>A1)</sup>
7	88.7±6.2 <sup>B</sup>
10	97.2±2.7 <sup>C</sup>
15	98.5±2.9 <sup>C</sup>
20	98.9±3.1 <sup>C</sup>

<sup>1)</sup> Means in a column sharing a common superscript letter(s) are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

여 추출 수율이 저하되고 효율이 떨어지는 결과가 발생한다고 판단된다. 곡류로부터 피틴산을 추출할 때 일반적으로 0.01-2.4 M의 HCl 용액을 사용하고 있으며(Han, 1988; Park et al., 2006), acetic acid나 sulfuric acid, perchloric acid 등도 일부에서 사용하고 있다(Han, 1988; Makower, 1970). Han(1988)의 보고에 의하면 대두와 면화씨로부터 피틴산을 추출할 경우 약산을 사용한 추출효율과 강산을 사용한 추출효율은 차이를 나타내지 않아 산의 종류가 추출효율에 영향을 미치지 않는다고 하였다. 본 연구에서도 염산과 황산의 추출효율은 큰 차이를 나타내지 않아 기존의 연구결과와 유사하였다. 또한 여러 연구결과에 의하면 추출온도도 8-50°C 범위에서는 추출효율에 영향을 미치지 않는다고 보고되고 있는데(Han, 1988; Fuh & Chiang, 2001; Bohn et al., 2007) 본 연구에서는 기존의 연구결과를 바탕으로 상온에서 추출공정을 수행함으로써 산업적으로 경제성을 확보하도록 하였다.

추출용매의 양에 관한 연구로는 Kolchev(1978)가 미강 무게의 5 배수의 0.1 M HCl을 사용하여 2 시간 추출하였을 때 가장 높은 추출효율을 얻었다고 보고하여 본 연구결과와는 다소 상이하였다.

#### 중화에 사용되는 알칼리의 종류에 따른 회수율

추출 후 얻어진 여액에는 피틴산이 이온의 형태로 존재하며 여기에는 단백질 역시 다수 존재하여 피틴산을 얻기 위해서는 이를 정제하는 과정이 필요하다. 일반적으로 피틴산을 산 추출한 후에는 중화제를 처리하여 피틴의 형태로 얻고 이를 재용해한 후 이온교환수지를 거쳐 이온을 제거함으로써 피틴산의 형태로 정제하고 있다. 산 추출한 피틴산의 중화 과정에서 사용되는 이온 특히, 1, 2가의 금속 이온의 종류에 따른 피틴의 회수율을 조사하여 비교하였는데, 사용한 중화용 알칼리로는 식품공정에서 사용 가능한 NaOH와 Ca(OH)<sub>2</sub>로 하였다. 그 외에 암모늄이온 등도 고려할 수 있으나, 식품공정을 감안하여 적용 가능한 것만 대상으로 하였다. 그 결과 5% NaOH를 사용하였을 때의

회수율은 96.7%, 5% Ca(OH)<sub>2</sub>를 사용하였을 때의 회수율은 99.1%로 사용되는 알칼리의 종류에 따라 큰 차이는 없었으나, 2가 이온의 경우가 수율이 다소 높은 것으로 나타났다(결과 미제시). 그러나 중화 시 최종적인 적정 pH에 따른 영향도 고려해야 하므로 최종 pH를 8.5이상으로 할 경우 회수율에는 차이가 없었다. 따라서 사용하는 중화제로는 식품용으로 가정 널리 사용되며 물에 대한 용해도가 높아 중화에 소요되는 시간이 짧은 NaOH를 선정하였다. Canan 등(2011)은 미강의 HCl 추출액을 중화하기 위해서는 1.5 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>가 적합하다고 보고하였으며, Ha(2009)는 깻묵으로부터 피틴산을 추출할 때 중화제로서 10% NaHCO<sub>3</sub>를 사용하였다고 보고하여 본 연구결과와는 상이한 공정을 이용하였음을 알 수 있었다.

**미강으로부터 피틴산 분리 및 정제의 최적조건 확립**

피틴산 분리를 위한 일반적인 공정은 산 추출 후 여과 분리과정을 거치고 중화하여 침전물을 회수한 다음 재용해하여 이온교환수지를 이용하여 정제를 하는 과정이 일반적인 방법이지만 산 추출물을 여과 후 중화 침전된 침전물을 대량의 원심분리과정에 의해 회수하는 방법은 산업적으로 매우 비효율적이다. 피틴산 정제에 이온교환수지를 이용하는 경우도 일부 있으나 현재까지 이온교환수지를 이용한

정제공정이 최적화되어 있지 않아 비효율적인 면이 있다. 이에 본 연구에서는 산 추출 후 여과한 시료를 일차적으로 흡착 수지를 이용하여 불순물을 제거한 다음 용출된 용액을 다양한 이온교환수지에 적용함으로써 피틴산 정제에 가장 적합한 수지를 선정함으로써 산업적으로 보다 효율적으로 피틴산을 생산하는 공정을 확립하고자 하였다.

0.5% HCl 용액으로 미강에서 추출한 피틴산 추출액을 여과한 후 흡착수지인 Diaion HP20 수지와 이온교환 수지인 Amberlite IRA-416, Dowex HCR-W2, Diaion PK208H, Diaion WK100, Diaion CR10을 이용하여 통과시키고, 5% NaOH로 용출시킨 후 각각의 분획을 정량하여 최적 정제용 수지를 선정하였다(Table 4).

Diaion HP20 흡착수지의 경우 0.5% HCl 추출액을 수지에 통과시킨 후 증류수로 세척한 다음 에탄올로 흡착된 피틴산을 용출시키고 잔존하는 피틴산을 증류수로 용출시켰다. 이온교환수지는 피틴산 교환 능력을 상호 비교하기 위하여 컬럼의 크기와 피틴산 추출액, 용출을 위한 용매 및 세척용액의 양을 동일하게 사용하였다.

그 결과 Table 4에서와 같이 0.5% HCl 추출에 의하여 제조된 피틴산 추출액(400 µg phytic acid/mL)을 Diaion HP20 흡착 수지에 통과시켰을 경우 피틴산은 Diaion HP20에 흡착되지 않고 수지를 통과하였고(181.0 µg/mL)

**Table 4. Purification of phytic acid using various resins.**

Resin	Purification step	Concentration of phytic acid ( µg/mL)
Diaion HP20	Extraction with 0.5% HCl	181.0
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	173.8
	Elution with EtOH	25.4
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	13.9
Amberlite IRA-416	Extraction with 0.5% HCl	27.4
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	12.6
	Elution with 5% NaOH	175.0
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	163.2
Dowex HCR-W2	Extraction with 0.5% HCl	98.5
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	95.1
	Elution with 5% NaOH	92.4
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	92.4
Diaion PK208H	Extraction with 0.5% HCl	119.4
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	117.0
	Elution with 5% NaOH	80.6
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	69.1
Diaion WK100	Extraction with 0.5% HCl	123.6
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	107.9
	Elution with 5% NaOH	94.8
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	55.0
Diaion CR10	Extraction with 0.5% HCl	111.5
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	104.4
	Elution with 5% NaOH	89.4
	Washing with d-H <sub>2</sub> O	98.9

**Table 5. Content of total nitrogen, soluble and total proteins in rice bran phytic acid purified with Amberlite IRA-416 resin.**

Impurity	Phytic acid extract	Purified phytic acid
Total nitrogen (% w/w)	0.19±0.03	0.02±0.00
Soluble proteins (% w/w)	0.81±0.03	0.02±0.01
Total proteins (% w/w)	1.18±0.05	0.14±0.02

증류수로 세척할 경우 수지 내에 흡착되지 않고 잔존하였던 피틴산이 세척되어 column을 통과하였다(173.8 µg/mL). Column에 투입한 피틴산의 10%(39.3 µg/mL)는 수지에 흡착된 후 ethanol에 의해 용출되어 Diaion HP20에 의한 피틴산의 흡착도는 낮음을 알 수 있었다. HP20 흡착 수지를 통과한 추출액을 여러 가지 이온교환수지를 이용하여 정제한 결과 Amberlite IRA-416 이온교환 수지를 이용하였을 때 가장 우수하게 이온교환되는 것으로 확인되었으며 5% NaOH 용액으로 용출되는 것으로 확인되었다. IRA-416 이온교환 수지의 경우 0.5% HCl 용액으로 추출한 피틴산 추출액을 수지에 통과시킨 후 증류수로 세척하였을 때 수지의 이온교환능력을 초과하여 수지에 결합하지 못하고 컬럼을 통과한 피틴산이 일부 검출되었다(40.0 µg/mL). 이온교환 후 5% NaOH로 수지에 결합되어 있는 피틴산을 용출시키고 증류수로 세척한 결과 수지에 결합되어 있던 피틴산이 용출됨을 확인하여(338.2 µg/mL) 89%의 회수율을 지니고 있음을 알 수 있었다. Amberlite IRA-416 이외의 이온교환수지들은 피틴산에 대한 이온교환능이 우수하지 않아 피틴산의 정제에 적합하지 않은 것으로 판단되었다.

Amberlite IRA-416 이온교환수지에서 용출된 피틴산의 정제도를 확인하기 위하여 피틴산 분리 과정에서 주요 불순물로 존재하는 단백질의 혼입 여부를 조사한 결과 Table 5에 나타낸 바와 같이 0.5% HCl 용액으로 추출한 추출액 내에는 총 질소 함량이 0.19%(w/w)로 측정되어 총 단백질이 1.18%(w/w) 함유되어 있는 것으로 확인되었으며, 수용성 단백질은 0.81%(w/w) 존재하였다. 이 추출액을 Amberlite IRA-416 이온교환수지로 정제하였을 경우 총 질소함량은 0.02%(w/w) 존재하여 총 단백질 함량이 0.14%(w/w)로 계산되었으며 수용성 단백질은 0.02%(w/w) 존재하는 것으로 확인되어 Amberlite IRA-416 이온교환수지에 의해 대부분의 단백질이 제거되는 것을 알 수 있었다. 일반적으로 미강에는 단백질 함량이 12-15%(w/w) 존재하는데(1990) 본 연구에서 0.5% HCl 추출액의 총 단백질 함량이 1.18%(w/w)로 상당히 낮은 수준으로 존재하였는데 이는 추출과정에서 대부분의 단백질이 제거되기 때문으로 판단되었다. Canan 등(2011)은 미강을 1 M HCl로 추출한 후 1.5 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 중화시키는 공정을 2 회 반복하여 피틴산을 정제한 후 단백질 함량을 측정된 결과 수용성 단백질이 0.60%(w/w), 총 단백질이 0.94%(w/w) 존재하는 것으로 보고하여 본 연구에서 도입한 이온교환수지 공정이 단백질 제거에 매우 효과적임을 확인할 수 있었다.

본 연구 결과에 따라 미강으로부터 피틴산 추출을 위한 최적 조건은 0.5% HCl 용액을 미강 무게의 10 배수가 되도록 하여 미강으로부터 피틴산을 추출한 후 여과기로 고형 불순물을 제거하고 Diaion HP20 컬럼을 통과시킨 다음 Amberlite IRA-416 이온교환 수지를 이용하여 피틴산을 흡착시키고 0.5% NaOH 용액으로 용출되는 피틴산을 회수하는 공정으로 확립하였다. 본 연구에서 확립한 분리 및 정제공정을 통해서 제조한 피틴산은 식육 등과 같은 가공식품의 보존제로서 사용이 가능하며 향후 식육 등에 첨가할 경우 최적 첨가농도 설정 등과 같은 적용실험을 수행할 예정이다.

## 요 약

탈지미강으로부터 피틴산을 추출 및 정제하기 위한 최적조건을 설정하였다. 탈지미강을 10 배수의 0.5% HCl 용액으로 1 시간 처리하였을 때 피틴산의 추출효율이 가장 좋았으며 중화제로는 0.5% NaOH 용액이 적합하였다. 피틴산의 정제를 위하여 Diaion HP20 흡착 컬럼을 이용하여 불순물을 제거한 후 여러 가지 이온교환수지를 이용하여 피틴산을 정제하였을 때 Amberlite IRA-416 이온교환수지의 회수율이 가장 높았다. Amberlite IRA-416 이온교환수지를 이용하여 피틴산을 수지에 흡착시킨 다음 0.5% NaOH 용액으로 용출시켰을 경우 89%의 회수율을 나타내었다. 정제된 피틴산의 총단백질 함량은 0.14%(w/w)로 대부분의 단백질이 제거됨을 확인하였다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산물부 농림수산물 연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, 18th ed. Arlington, VA, USA.
- Biswas S, Maly IB, Chakrabarti S. Biswas BB. 1978. Purification and characterization of myo-inositol hexaphosphate-adenosine diphosphate phosphotransferase from *Phaseolus aureus*. Arch. Biochem. Biophys. 185: 557-566.
- Bohn L, Josefsen L, Meyer AS, Rasmussen S. 2007. Quantitative analysis of phytate globoids isolated from wheat bran and char-

- acterization of their sequential dephosphorylation by wheat phytase. *J. Agric. Food Chem.* 55: 7547-7552.
- Canan C, Cruz FTL, Delarosa F, Casagrande R, Sarmento CPM, Shimokomaki M, Ida EI. 2011. Studies on the extraction and purification of phytic acid from rice bran. *J. Food Comp. Anal.* (In press).
- Fuh WS, Chiang BH. 2001. Dephytinisation of rice bran and manufacturing a new food ingredient. *J. Sci. Food Agric.* 81: 1419-1425.
- Graf E, Eaton JW. 1990. Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radic. Biol. Med.* 8: 61-69.
- Ha BJ. 2009. Studies on extraction of crude phytic acid from oil cake and its application for cosmetics. *J. Beauty Trichol.* 5: 121-124.
- Hall JR, Hodges TK. 1966. Phosphorus metabolism of germinating oat seeds. *Plant Physiol.* 41: 1459-1464.
- Han YW. 1988. Removal of phytic acid from soybean and cottonseed meals. *J. Agric. Food Chem.* 36: 1181-1183.
- Johnson LF, Tate ME. 1969. Structure of phytic acids. *Can. J. Chem.* 47: 63-73.
- Kolchev LA. 1978. Method for producing phytin. U.S. patent 4070422.
- Loewus FA, Loewus, MW. 1980. Myo-inositol: biochemistry and metabolism. In: *The Biochemistry of Plants*. Stumpf PK and Conn EE (eds). Academic Press, New York, NY, USA, pp. 43-76.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Makower RU. 1970. Extraction and determination of phytic acid in beans (*Phaseolus vulgaris*). *Cereal Chem.* 47: 288-295.
- Mohamed AI, Perera AJ, Hafez YS. 1986. New chromophore for phytic acid determination. *Cereal Chem.* 63: 475-478.
- Mohamed AI, Perera AJ, Hafez YS. 1986. New chromophore for phytic acid determination. *Cereal Chem.* 63: 475-478.
- Park HR, Ahn HJ, Kim SH, Lee CH, Byun MW, Lee GW. 2006. Determination of the phytic acid levels in infant foods using different analytical methods. *Food Control* 17: 727-732.
- Reddy NR, Salunkhe DK. 1981. Interactions between protein and minerals in whey fractions of black gram. *J. Food Sci.* 46: 564-568.
- Saunders RM. 1990. The properties of rice bran as a food stuff. *Cereal Foods World* 35: 632-662.
- Vucenik I, Shamsuddin AM. 2003. Cancer inhibition by inositol hexaphosphate (IP6) and inositol: from laboratory to clinic. *J. Nutr.* 133: 3778S-3784S.
- Williams SG. 1970. The role of phytic acid in the wheat grain. *Plant Physiol.* 45: 376-381.