

農業副産物の 利用性向上에 關한 研究

第 3 報 脫脂米糠부터 phytin 分離

申 載 斗
서울大學校 農科大學 生化學教室
(1968年 2月 3日 受理)

Studies on utilization of agricultural waste products.

Part3. Separation of phytin from defatted rice bran.

Jai Doo Shin

College of Agriculture Seoul National University

ABSTRACT

Defatted rice bran is mixed with diluted acid solution, the mixture is agitated some hrs. at constant temperature.

After the mixture is filtered, thus filtrate is obtained.

This filtrate is phytin extract solution. (Test-1)

The alkali is added to this filtrate and filtered out, then the precipitation of phytin is obtained. (Test-2)

At the test-1, the effect of kind of acid, conc. of acid, amount of extract sol'n., time of extraction, temp. of extraction, to the extract amount of phytin is tested.

Consequently, the following facts are known.

1. Amount of phytin extract is greater HCl extraction than H₂SO₄ extraction.
2. At 0.3% HCl, the amount of phytin extract is greatest of all HCl extraction.
3. The sufficient amount of acid solution is 8-10 times of amount of defatted rice bran.
4. The time of extraction at room temperature is sufficient 8-12 hrs.
5. When extract temperature is 20-30°C, the amount of phytin extraction is greater of all temp.
6. When defatted rice bran 20 g is shanken with

160 ml of 0.3% HCl for 10 hr. at room temp., in this case the amount of phytin extract is 11.34% of defatted rice bran, it is 93% of theoretical yield.

At the test-2 the effect of kind of precipitation agent, degree of neutralization to the amount of phytin precipitation is tested.

1. Degree of nut. is best at pH 6.8-7.0.
2. When use of Ca(OH)₂ the amount of phytin precipitation is more than use of KOH, NaOH, or NH₄OH.
3. At pH 6.0-7.2, the solubility of phytin is followed.

K-phytate > NH₄-phytate > Na-phytate > Ca-phytate

4. When phytin extract solution is neutralized with Ca(OH)₂ to pH 7.0, the amount of phytin precipitation is 94.78% of theoretical yield.

緒 言

우리나라는 年間 約 380 萬 ton¹⁾의 米穀이 生産 되고 있으며 이것에서 얻어지는 生米糠의 量은 25 萬 ton 以上이나 된다. 따라서 이 莫大한 量의 生米糠을 適切하게 利用한다는 것은 農村振興의 한 方策으로써 重要한 問題라고 보며 現在生米糠은 米糠油原料 또는 家畜飼料로써 一部 使用되고 있는 程度이다.

著者は 生米糠의 보다 高度한 利用策의 하나로써

生米糠으로부터 米糠油를 抽出하고 그 나머지 即 脫脂米糠으로부터는 phytin 과 Vitamin B 群을 分離하고 그 나머지 即 殘渣米糠은 飼料로 使用하거나 또는 이것으로부터 蛋白質과 炭水化物(主로 澱粉)을 分離하여 名其 用途에 充當하는 研究를 進行하고자 先 脫脂米糠부터 phytin 을 分離하는 研究를 하였다.

大體로 phytin 은 常溫에서 酸에 可溶性이고 中性에서 沈澱된다는 性質⁶⁾⁷⁾을 利用하여 植物中에 있는 phytin 을 浸出分離한다. 즉 phytin 含有 原料를 酸液으로 처리하여 phytin 을 浸出하고 浸出液에 適當한 沈澱劑를 넣어서 沈澱 分離한다. 酸의 種類, 沈澱劑의 種類, 浸出方法, 分離方法등은 phytin 製造에 있어서 特히 重要한 條件이 된다.

前報²⁾에 記載한 바와 같이 米糠은 phytin³⁾⁴⁾의 가장 좋은 原料인 것이다. 美國에서는 옥수수 栽培가 많으므로 Corn steep liquor(옥수수의 0.1~0.2% H₂SO₃ 浸出液)가 phytin 의 原料로써 쓰이고 있으나 이것은 phytin 의 含有量이 적으므로 米糠보다 좋지 못하다. 鈴木等⁸⁾은 ether 로 脫脂한 脫脂米糠에 0.2% HCl 을 넣어서 浸出하고 浸出液에 同量의 95% 酒精을 넣어서 phytin 을 沈澱시켰다. 이 方法은 高價의 藥品을 使用하며 收率도 좋지 못하다. H.H. Schopurever⁹⁾¹⁰⁾등은 corn steep liquor 에 NaOH, Ca(OH)₂ CaCl₂ 등을 넣어서 생긴 침전을 다시 稀酸에 녹이고 鐵鹽을 넣어서 Fe-phytate 를 沈澱시켰다. 또한 A. Contardi 등¹¹⁾ 米糠에 稀酸을 넣어서 浸出하고 浸出液에 MgO 를 넣어서 Mg-phytate 를 얻었다. 小幡等¹²⁾ 其他¹³⁾¹⁴⁾는 脫脂米糠을 稀酸으로 처리하고 Ca(OH)₂ 로 中和한 後에 CaCl₂ 를 넣어서 Ca-phytate 를 沈澱시켰다.

黑村¹⁵⁾등은 phytin 浸出液을 K₂CO₃ 로 中和하고 phytin 의 Colloid 狀 沈澱을 陰極에 모았다.

松本等¹⁶⁾은 phytin 浸出液을 KOH 로 中和한 後에 沈澱을 酒精, ether 등으로 洗滌하였다. 竹本等¹⁷⁾¹⁹⁾은 phytin 浸出液을 Amberlite-IR 120 같은 ion 交換樹脂層을 通過시켜서 KOH 로 中和하고 CaCl₂ 로 처리하여 Ca-phytate 를 만들었다. Don S. Bolley 등²⁰⁾²¹⁾은 Alkali 金屬으로써 phytin 을 分離하였다. McCalip J. Thomus²²⁾는 corn steep liquor 를 12° Bé 로 濃縮하고 濾過한 液을 約 27°C 에서 Ca(OH)₂ 溶液으로 처리하여 純度 높은 phytin 을 얻었다. Roger Bellon²³⁾은 해바라기 種子의 榨油粕을 HCl 와 alkali 溶液으로 처리하여서 phytin 을 分離하고 黃血鹽과 CuSO₄ 를 써서 精製하였다. Coimbatore R. Krishna Murti 등²⁴⁾²⁵⁾은 酒精과 石油 ether 를

써서 米糠으로부터 Tocopherol 가 많은 油分과 Vitamin B 群濃縮物을 一括하여 分離하였다. 稻葉等²⁶⁾은 米糠을 10% Na₂SO₄ 含有 11.2% HCl 로 處理하여 phytin 를 얻었다. 이 外로도 植物에서 phytin 를 分離하는 여러가지 方法이^{27)~34)~43)} 있다.

著者は 간단한 裝置와 操作法을 써서 純度 높은 phytin 을 높은 收率로 얻는 方法을 究明하고자 脫脂米糠으로부터 phytin 分離에 關한 여러가지 條件을 檢討 實驗하였다. 즉 脫脂米糠에 稀酸을 넣어서 phytin 를 浸出함에 있어서의 여러가지 條件을 檢討하고 다음에는 phytin 浸出液에 各 alkali 를 넣어서 中和하여 phytin 을 沈澱시키에 있어서의 여러가지 條件을 檢討하였다.

實驗 및 結果

I-1 酸의 種類, 濃度, 液量, 浸出時間 및 浸出溫度가 phytin 浸出量에 미치는 影響에 關한 實驗

A) 材料

phytin 의 原料 : 脫脂米糠

水原市 西屯洞에 있는 新湖油脂工場에서 生米糠을 n-hexane 으로 처리하여서 脫脂한 것이다.

이의 一般 分析値는 다음과 같다(風乾物에 對한 測定値)

水分	粗脂肪	粗蛋白	粗纖維
9.36%	0.86%	18.30%	10.92%
可溶性無窒素物	灰分	phytin	
47.56%	13.00%	12.19%	

B) 實驗方法

(1) phytin 의 浸出方法

脫脂米糠 20g 를 400 ml 容 beaker 에 넣고 一定濃度의 酸液 所定量을 이것에 加하여 所定溫度에서 一定時間 가끔 저어주며 靜置하여 phytin 을 浸出し킨다. 다음 이것을 Büchner 濾斗를 가지고 吸引濾過시키고 殘渣를 同一한 濃度의 酸液으로 洗滌하고 濾過液과 洗液의 合計가 200 ml 가 되도록 한다. 이렇게 해서 만든 phytin 浸出液 10 ml 적을 가지고 phytin 을 定量하였다.

(2) phytin 의 定量方法²⁾²⁵⁾

phytin 浸出液 10 ml 을 300 ml 容 三角 flask 에 넣고 증류水 90 ml 를 加한다. 이것에 0.2% KSCN 液 10 ml 와 3% H₂O₂ 水 1 ml 를 加하고 沸騰시키면서 0.5% FeCl₃-N-HCl 溶液으로 淡赤色이 나타나게 될때까지 滴定한다.

0.5% FeCl₃-N-HCl 溶液 16 ml 는 phytin 0.1 g 에 해당한다.²⁾

C) 實驗條件과 結果

(1) HCl 濃度와 phytin 浸出量과의 關係
 條件
 脫脂米糠 20 g.
 HCl 濃度 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%,
 0.6%
 HCl 液量 200 ml (脫脂米糠의 10 倍量)
 浸出溫度 11~13°C (室溫)
 浸出時間 12 時間

前記한 phytin 浸出 方法에 따라 脫脂米糠에 各各
 上記 實驗 條件의 酸濃度의 HCl 200 ml 적을 加하
 고 浸出하며 一定時間의 間격을 두고 浸出液의 pH
 變動을 測定하면서 12 時間 浸出하였다.

結果

上記 實驗條件에 따른 實驗結果를 보면 다음 表
 1 과 같다.

Table 1. The effect of concentration of HCl on phytin extraction.

conc. of HCl (%)	pH change of extraction sol'n.						0.5% FeCl ₃ -N-HCl (ml)	phytin ext. (%)
	immediately after mixing	0.5 hr. after	1hr. after	2hr. after	3hr. after	4hr. after		
0.1	2.8	4.6	5.0	5.2	5.4	5.4	*14.70	9.19
0.2	2.2	2.8	4.0	4.2	4.2	—	16.90	10.56
0.3	1.6	2.2	2.4	2.4	2.4	—	17.53	10.95
0.4	1.4	1.6	1.8	1.8	1.8	—	17.35	10.94
0.5	1.2	1.2	1.4	1.4	—	—	17.28	10.80
0.6	1.2	1.4	1.4	—	—	—	17.20	10.74

* 0.5% FeCl₃-N-HCl 溶液의 滴定値는 3 回 滴定의 平均値이다.

(2) H₂SO₄ 濃度와 phytin 浸出量과의 關係
 條件
 脫脂米糠 20 g
 H₂SO₄ 濃度 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%,
 0.5%, 0.6%
 H₂SO₄ 液量 200 ml

浸出溫度 11~13°C (室溫)

浸出時間 12 時間

操作은 (1) 때와 같다.

結果

上記 條件에 의한 實驗의 結果는 表 2 와 같다.

Table 2. The effect of concentration of H₂SO₄ on phytin extraction.

conc. of H ₂ SO ₄ (%)	pH change of extraction sol'n.						0.5% FeCl ₃ -N-HCl (ml)	phytin ext. (%)
	immediately after mixing	0.5 hr. after	1hr. after	2hr. after	3hr. after	4hr. after		
0.1	4.4	5.0	5.2	5.4	5.6	5.6	11.43	7.14
0.2	2.4	4.0	4.2	4.4	4.6	4.6	15.65	9.78
0.3	1.8	2.6	2.6	2.8	2.8	—	17.62	10.78
0.4	1.6	2.2	2.2	2.4	2.4	—	17.22	10.76
0.5	1.4	1.6	1.8	1.8	—	—	17.12	10.70
0.6	1.2	1.4	1.6	1.6	—	—	17.01	10.63

(3) HCl 液量과 phytin 浸出量과의 關係
 條件
 脫脂米糠 20 g
 HCl 濃度 0.3%
 HCl 液量 80 ml, 100 ml, 120 ml, 160 ml,
 200 ml, 240 ml,
 浸出溫度 11~13°C (室溫)
 浸出時間 12 時間

脫脂米糠에 上記 條件에 記載한 量의 HCl 를 各
 各 넣고 浸出하고 濾過한後에 殘渣는 0.3% HCl 로
 씻고 洗液은 濾過液에 合하였다. 그리하여 各各의
 濾過液과 洗液을 合한量 即 phytin 浸出液量을 各
 其使用한 HCl 의 液量과 同一하게 하였다. 이 때
 洗液은 各各 約 30 ml 가 所要되었다.

結果

上記 條件에 의한 實驗의 結果는 表 3 과 같다.

Table 3. The effect of amount of HCl on phytin extraction.

addition amount of HCl (ml) ④	defatted rice bran: ml of HCl	extraction sol'n. (pH)	0.5% FeCl ₃ -N-HCl (ml) ⑤	④ × ⑤	phytin ext. (%)
80	1 : 4	4.7	33.43	2674.4	8.36
100	1 : 5	4.3	30.23	3023.0	9.45
120	1 : 6	3.8	27.03	3243.6	10.14
160	1 : 8	3.2	22.67	3627.2	11.34
200	1 : 10	2.6	17.58	3516.0	10.99
240	1 : 12	2.4	14.58	3499.2	10.94

(4) H₂SO₄ 液量과 phytin 浸出量과의 關係

浸出溫度 11~13°C (室溫)

條件

浸出時間 12時間

脫脂米糠 20g

操作은 (3)때와 같다.

H₂SO₄ 濃度 0.3%

結果

H₂SO₄ 液量 80 ml, 100 ml, 120 ml, 160 ml,

上記 條件에 依한 實驗의 結果는 表 4 와 같다.

200 ml, 240 ml, 280 ml,

Table 4. The effect of amount of H₂SO₄ on phytin extraction.

addition amount of H ₂ SO ₄ (ml) ④	defatted rice bran: ml of H ₂ SO ₄	extraction sol'n. (pH)	0.5% FeCl ₃ -N-HCl (ml) ⑤	④ × ⑤	phytin ext. (%)
80	1 : 4	5.4	29.30	2344.0	7.36
100	1 : 5	5.0	27.03	2703.0	8.45
120	1 : 6	4.8	25.60	3072.0	9.60
160	1 : 8	3.6	19.43	3109.3	9.72
200	1 : 10	3.0	16.08	3216.6	10.05
240	1 : 12	2.8	13.70	3288.0	10.28
280	1 : 14	2.8	11.82	3309.0	10.34

(5) HCl 使用時 浸出 時間과 phytin 浸出量과의 關係

脫脂米糠을 3000 ml 容 beaker 에 넣고 0.3% HCl

2000 ml 를 加하고 上記 條件의 時間동안 浸出した 後

에 浸出液 40 ml 적을 取한다. 이 浸出液 10 ml 적

으로 phytin 을 定量한다. 한편 이 浸出液의 pH 도

測定한다.

條件

結果

脫脂米糠 200g.

上記 條件에 依한 實驗의 結果는 表 5 와 같다.

HCl 濃度 0.3%

HCl 液量 2000 ml

浸出溫度 11~13°C (室溫)

浸出時間 1, 2, 3, 4, 5, 8, 12, 18, 24 時間

Table 5. The effect of extraction time on phytin extraction with HCl

ext. time (hr)	1	2	3	4	5	8	12	18	24
ext. sol'n. (pH)	2.3	2.3	2.4	2.6	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8
0.5% FeCl ₃ -N-HCl (ml)	first time	12.50	13.15	14.05	15.00	16.00	16.80	16.90	16.95
	second time	12.20	13.20	14.20	15.45	15.90	16.95	17.00	17.15
	third time	12.55	13.25	14.25	15.20	16.30	16.95	17.20	17.05
	average value	12.42	13.20	14.17	15.22	16.07	16.90	17.03	17.10
phytin ext. (%)	7.76	8.25	8.86	9.51	10.04	10.56	10.64	10.68	10.55

(6) H₂SO₄ 使用時 浸出時間과 phytin 浸出量과의

脫脂米糠 200g

關係

H₂SO₄ 液量 0.3%

條件

H₂SO₄ 液量 2000 ml,

浸出溫度 11~13°C (室溫)

結果

浸出時間 1, 2, 3, 4, 5, 8, 12, 18, 24 時間

上記條件에 依한 實驗의 結果는 表 6 과 같다.

操作은 (5) 때와 같다.

Table 6. The effect of extraction time on phytin extraction with H₂SO₄

ext. time (hr)	1	2	3	4	5	8	12	18	24	
ext. sol'n. (pH)	2.4	2.6	2.8	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	
0.5% FeCl ₃ -N-HCl (ml)	first time	11.90	11.90	13.60	13.95	15.15	16.25	16.20	16.45	16.06
	second time	11.50	11.90	13.90	14.30	14.90	16.20	16.45	16.53	16.18
	third time	11.65	11.80	13.50	14.45	15.20	16.15	16.15	16.30	16.12
	average value	11.68	11.87	13.67	14.23	15.83	16.20	16.27	16.43	16.12
phytin ext. (%)	7.30	7.42	8.54	8.89	9.89	10.13	10.20	10.30	10.08	

(7) HCl 使用 때 浸出溫度와 phytin 浸出量과의 關係

條件

脫脂米糠 20 g

HCl 濃度 0.3%

HCl 液量 200 ml

浸出溫度 10, 20, 30, 40, 50, 60°C

浸出時間 8 時間

500 ml 容의 三角 flask 에 脫脂米糠 20 g 과 0.3%

HCl 200 ml 를 넣고 이 三角 flask 에 空冷式 逆流 冷却器를 달고 恒溫水槽에서 上記條件의 各各 溫度에서 8 時間씩 溫浸하였다. 溫浸 後에 吸引濾過하고 殘渣는 0.3% HCl 로 씻고 洗液은 濾過液에 合하였다. 그리하여 濾過液과 洗液의 合計를 各各 200 ml 이 되도록 하였다.

結果

上記條件에 依한 實驗의 結果는 表 7 과 같다.

Table 7. The effect of extraction temperature on phytin extraction with HCl.

ext. temperature(°C)	10	20	30	40	50	60	
0.5% FeCl ₃ -N-HCl (ml)	first time	16.80	17.72	17.82	17.52	17.68	17.14
	second time	17.00	17.77	17.67	17.52	17.25	17.30
	third time	17.35	17.77	17.67	17.62	17.48	17.22
	average value (%)	17.05	17.75	17.72	17.55	17.47	17.22
phytin ext. (%)	10.65	11.10	11.08	10.97	10.92	10.76	

(8) H₂SO₄ 使用에 浸出溫度와 phytin 浸出量과의 關係

條件

脫脂米糠 20 g

H₂SO₄ 濃度 0.3%

H₂SO₄ 液量 200 ml

浸出溫度 10, 20, 30, 40, 50, 60°C.

浸出時間 8 時間

操作은 (7) 때와 같다.

結果

上記條件에 依한 實驗의 結果는 表 8 과 같다.

Table 8. The effect of extraction temperature on phytin extraction with H₂SO₄

ext. temperature(°C)	10	20	30	40	50	60	
0.5% FeCl ₃ -N-HCl (ml)	first time	17.10	17.60	17.60	17.20	16.90	16.95
	second time	16.60	17.70	17.60	17.25	17.10	16.85
	third time	16.80	17.75	17.80	17.20	17.10	16.85
	average value	16.83	17.68	17.67	17.22	17.03	16.88
phytin ext. (%)	10.54	11.05	11.04	10.76	10.64	10.55	

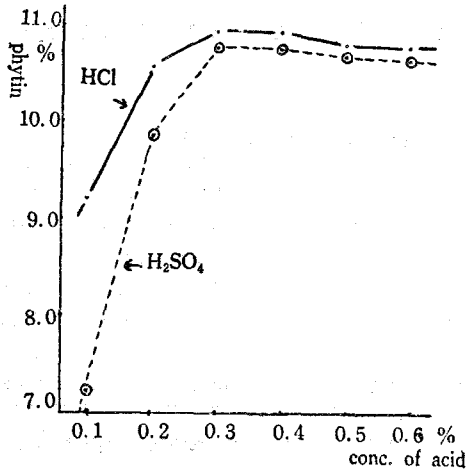


Fig. 1 The relation between conc. of acid and % of phytin.

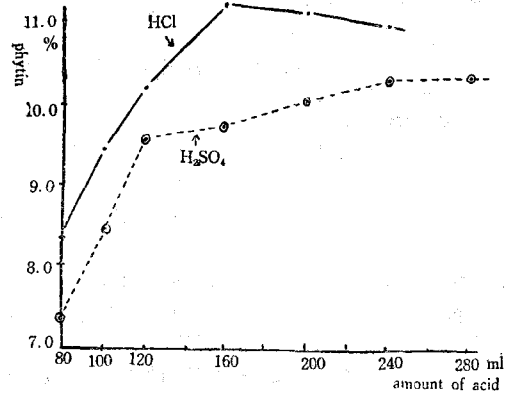


Fig. 2. The relation between amount of acid and % of phytin.

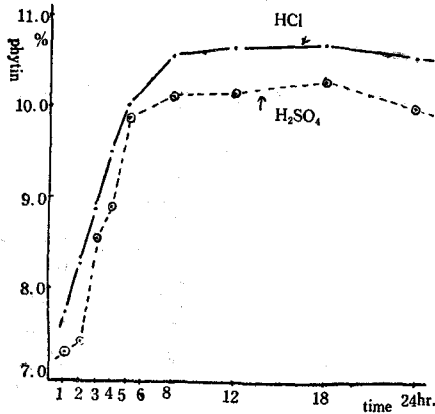


Fig. 3. The relation between ext. time and % of phytin.

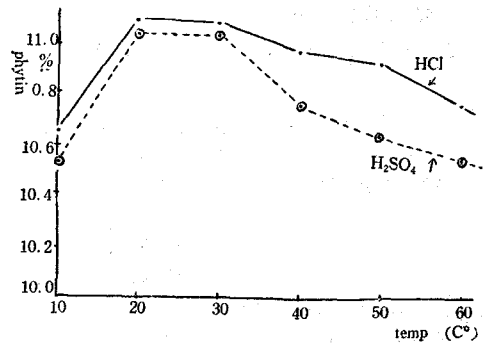


Fig. 4. The relation between ext. temp. and % of phytin.

II-3 考 察

以上の實驗結果를 考察하여 보면 다음과 같다.

1) 酸의 濃度에 따른 浸出液의 pH의 變化에 關하여

表 1과 表 2를 볼 때 phytin을 浸出하는 동안 時間이 經過됨에 따라서 浸出液의 pH가 높아진다. 이것은 脫脂米糠에 含有된 弱한 鹽基性物質이 浸出되는데 起因하는 것으로 生覺되며 酸의 濃度가 높을수록 浸出液의 pH는 짧은 時間內에 一定值에 到達하게 된다. 즉 酸의 濃度가 0.1%인 경우에는 約 3時間 後에 一定值의 pH에 達하나 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5% 및 0.6%에는 各各 2~3時間, 1~2時間, 1時間, 1~0.5時間 및 0.5時間 以後

에 pH가 各各 一定值를 나타냈다. 이것은 酸의 濃度가 높을수록 鹽基性物質이 速히 中和되는 때문 이라고 생각된다. 또한 表 3과 表 4에서 보는 바와같이 浸出液量이 많을 록 phytin 浸出液이 酸性을 보이는데 이것으로 미루어 볼 때 鹽基性物質의 浸出量은 液量에 關係없이 대략 一定한듯 하다. 또 한편 表 5와 表 6에서 보는 바와 같이 phytin 浸出液의 pH値는 浸出操作을 始作한後 3~4時間이 면 一定值에 到達하나 phytin 浸出量은 계속 增加하고 있다. 그러므로 脫脂米糠中の 鹽基性物質의 浸出 速度와 phytin 浸出 速度와는 差異가 있음을 알 수 있다.

2) 酸의 種類 및 濃度가 phytin 浸出量에 미치는 影響에 關하여

그림 1를 볼때 phytin 浸出量은 酸의 種類에 關係없이 酸의 濃도가 0.1%에서 0.2%로 높아짐에 따라서 急速度로 上昇되고 있으며 0.3%의 酸의 濃度에서 最大値에 이르러 그 以上으로 酸의 濃도가 增加되면 도리어 phytin 浸出量이 低下되는 傾向을 보인다. phytin 浸出用 酸液으로서 0.3% HCl 또는 0.3% H₂SO₄를 使用함이 좋으며 浸出液의 pH 値는 表 1과 表 2가 보여주는 바와같이 HCl 때가 낮으므로 H₂SO₄ 보다는 HCl이 더욱 좋다.

3) 浸出用 酸의 液量이 phytin 浸出量에 미치는 影響에 關하여

그림 2에서 보는 바와같이 phytin 浸出用 酸液이 H₂SO₄ 일때 보다는 HCl 일 때가 酸液量에 關係없이 언제나 phytin 浸出量이 많다.

또한 脫脂米糠에 對한 浸出用 酸液의 量이 增加함에 따라서 phytin 浸出量이 增加되는 傾向을 보이며 HCl 일 경우에는 8 倍量까지 浸出量이 急速度로 增加되다가 10 倍量 以上이 되면 多少 低下되고 H₂SO₄ 일 경우에는 6 倍量까지 急速度로 增加하다가 그 以上이 되면 서서히 增加된다. 그러나 浸出用 液量이 많아지면 浸出液의 phytin 濃도가 대단히 低下되는 故로 浸出用 酸의 液量은 脫脂米糠의 8~10 倍量(180 ml~200 ml)을 쓰는 것이 適當하다고 생각 한다. 表 3에서 보는 바와같이 8 倍量(180 ml)의 0.3% HCl을 使用한 경우 phytin 浸出率은 11.34%로써 理論値의 약 93.0%나 된다.

4) 浸出 時間이 phytin 浸出量에 미치는 影響에 關하여

그림 3을 보면 浸出用 酸液이 0.3% HCl 때는 浸出操作 直後부터 5 時間 後까지 (浸出液의 pH. 2.3~2.6)에서 그리고 0.3% H₂SO₄ 때는 2 時間 後부터 5 時間 後까지(浸出液의 pH 2.6~3.0)에서 各 phytin의 浸出量이 急速히 增大되었다가 8 時間 以後에는 HCl로 浸出할때 12 時間, 18 時間에서 各 各 10.64%及 10.68%이고 H₂SO₄로 浸出할때 12 時間, 18 時間에서 各 各 10.20%及 10.30%로써 顯著한 差異가 없다. 이것으로 미루어 볼 때 0.3% HCl 또는 0.3% H₂SO₄를 浸出用 酸液으로 쓸때 室溫에서의 浸出 時間은 8 時間 前後가 適當하다고 생각된다.

5) 浸出 溫度가 phytin 浸出量에 미치는 影響에 關하여

그림 4를 보면 浸出 溫度 10~60°C 사이에서 HCl를 使用하였을 때가 H₂SO₄를 使用하였을 때보다 恒常 phytin 浸出量이 많음을 알 수 있다. HCl 때나 H₂SO₄ 때나 다같이 20~30°C에서 phytin 浸

出量이 最大値에 이르렀고 浸出 溫度가 30°C 以上으로 되었을 때 浸出量의 減少를 나타내고 있다. 이것은 30°C 以上에서 phytin 分解 enzyme 인 phytase³⁶⁾⁻⁴²⁾의 作用이 심하여진 原因때문인 듯하다. James B. Sillmer 등은³⁸⁾ 37°C에서 phytase의 作用이 第一 活潑하다고 말하였고 J. Courlois³⁷⁾는 脫脂米糠中에 있는 phytase는 phytin 態磷의 80%까지도 分解할 수 있다고 하였다. 또한 R.A. McCance³⁹⁾는 phytase의 作用은 0.1% HCl 中에서 作用이 심하고 1.2% 以上の HCl 中에서 破壞된다고 말하였다. 그러므로 phytase의 作用을 고려할 때 될 수 있으면 低溫에서 浸出하는 것이 좋을 것이다.

I-2 浸出液으로부터 phytin을 沈澱 分離하는 條件에 關한 實驗

脫脂米糠에 稀鹽酸을 作用시켜서 얻은 phytin 浸出液으로부터 phytin을 分離하는 方法⁸⁾¹²⁾¹³⁾¹⁵⁾¹⁷⁾은 여러가지가 있다. 그 중에서도 phytin을 沈澱시켜서 分離하는 方法이 간편한 方法이다. 酸性에서는 Ca-phytate가 可溶性이기 때문에 酸性의 phytin 浸出液에 沈澱劑로써 CaCl₂ 溶液을 넣어 주어도 沈澱이 생기지 아니 한다. 그러나 浸出液을 中和하여 주면 phytin이 沈澱된다. 그러므로 phytin을 沈澱시켜서 分離하기 위하여서는 浸出液을 中和하여야 한다. 그리하여 中和劑의 種類와 中和의 程度(pH)에 따라서 phytin이 沈澱되는 程度를 알기 위하여 다음과 같은 實驗을 하였다.

A) 材料

phytin 浸出液

脫脂米糠 400g에 0.3% HCl 3200 ml를 넣고 室溫에서 8 時間동안 phytin을 浸出し킨 다음 이것을 Büchner 濾斗를 통하여 吸引濾過한 濾液을 試料로 하였다.

phytin 浸出液量 : 2950 ml

浸出液의 pH : 3.2

浸出液 10 ml에 對한 0.5% FeCl₃-N-HCl 溶液 滴定值 20.5 ml.(故로 浸出液 100 ml. 中에는 phytin 1.280 g 含有)

中和劑 : 使用한 中和劑는 다음과 같다.

① 飽和 Ca(OH)₂ 溶液 ② 5% NaOH 溶液

③ 5% KOH 溶液 ④ 5% NH₄OH 水

B) 實驗 方法

上記 方法으로 얻은 供試 phytin 浸出液을 100 ml 씩 取하여 所定의 中和劑로 一定한 pH까지 中和하고 生成된 沈澱을 濾別하고 濾過液을 10 ml 씩 取하여 phytin을 定量하여 濾過液 中에 남아있는 phytin의 量을 구하였다.

C) 實驗 結果

영향에 관한 試驗 結果는 各各 表 9, 10, 11 및 12

中和劑의 種類 및 中和度가 phytin 沈澱에 미치는 와 같다.

Table 9. The relation between amount of phytin and pH of filtrate neutralized with sat. Ca(OH)_2 solution.

pH of nut.	filtrate (ml)	0.5% $\text{FeCl}_3\text{-N-HCl}$ ml for 10 ml of filtrate.				filtrate \times average value/100	phytin in filtrate (g)	amount of precipitation phytin (g)	phytin (%)
		first time	second time	third time	average value				
6.0	256	1.45	1.40	1.45	1.43	3.66	0.229	1.051	82.10
6.2	268	0.80	0.75	0.75	0.76	2.04	0.127	1.153	90.08
6.4	273	0.50	0.55	0.60	0.55	1.50	0.094	1.186	92.66
6.6	275	0.40	0.54	0.45	0.43	1.18	0.074	1.206	94.22
6.8	278	0.40	0.45	0.40	0.42	1.17	0.073	1.207	94.30
7.0	279	0.40	0.35	0.40	0.38	1.07	0.067	1.213	94.77
7.2	280	0.40	0.35	0.40	0.38	1.07	0.067	1.213	94.77

Table 10. The relation between amount phytin and pH of filtrate neutralized with 5% NaOH solution

pH. of nut.	filtrate (ml)	0.5% $\text{FeCl}_3\text{-N-HCl}$ ml for 10 ml of filtrate				filtrate \times average value/100	phytin in filtrate (g)	amount of precipitation phytin (g)	phytin (%)
		first time	second time	third time	average value				
6.0	101	6.85	7.05	6.90	6.93	7.00	0.438	0.842	65.78
6.2	102	5.85	6.10	6.20	6.05	6.17	0.386	0.894	69.84
6.4	102	5.70	5.70	5.60	5.66	5.77	0.360	0.920	71.88
6.6	103	4.85	4.95	4.95	4.92	5.06	0.316	0.964	75.31
6.8	103	4.05	4.10	4.05	4.07	4.19	0.262	1.018	79.53
7.0	104	4.05	4.05	4.10	4.07	4.23	0.271	1.009	78.83
7.2	105	4.00	3.95	4.05	4.00	4.20	0.262	1.018	79.53

Table 11. The relation between amount of phytin and pH of filtrate neutralized with 5% KOH solution.

pH of nut.	filtrate (ml)	0.5% $\text{FeCl}_3\text{-N-HCl}$ ml for 10 ml of filtrate				filtrate \times average value/100	phytin in filtrate (g)	amount of precipitation phytin (g)	phytin (%)
		first time	second time	third time	average value				
6.0	101	9.50	9.40	9.50	9.47	9.56	0.598	0.688	53.75
6.2	102	8.60	8.60	8.40	8.53	8.70	0.544	0.736	57.50
6.4	102	8.00	7.80	8.10	7.97	8.13	0.508	0.772	60.31
6.6	103	7.10	7.00	7.10	7.07	7.28	0.455	0.825	64.45
6.8	104	6.60	6.50	6.50	6.53	6.79	0.424	0.856	66.88
7.0	105	6.80	6.90	7.00	6.90	7.24	0.453	0.827	64.61
7.2	105	7.10	7.20	7.10	7.13	7.49	0.468	0.812	63.44

Table 12. The relation between amount phytin and pH of filtrate neutralized with 5% NH_4OH .

pH of nut.	filtrate (ml)	0.5% $\text{FeCl}_3\text{-N-HCl}$ ml for 10 ml of filtrate				filtrate \times average value/100	phytin in filtrate (g)	amount of precipitation phytin (g)	phytin (%)
		first time	second time	third time	average value				
6.0	107	7.70	7.75	7.75	7.73	8.27	0.517	0.763	59.61
6.2	108	5.40	5.35	5.40	5.39	5.82	0.364	0.916	71.56

6.4	108	5.20	5.20	5.15	5.18	5.60	0.350	0.930	72.66
6.6	111	4.45	4.50	4.50	4.48	4.96	0.310	0.970	75.78
6.8	112	4.20	4.20	4.20	4.20	4.71	0.295	0.985	76.95
7.0	113	4.10	4.10	4.05	4.08	4.61	0.288	0.992	77.50
7.2	114	3.80	3.85	3.85	3.83	4.36	0.273	1.007	78.67

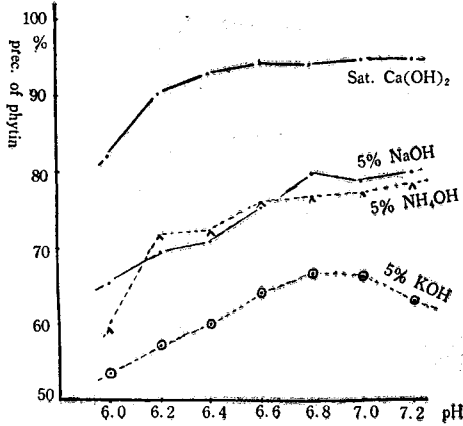


Fig. 5 Precipitation of phytin at various pH

II-3 考 察

1) 中和劑로 飽和 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 溶液을 使用했을 때의 phytin의 沈澱 狀態를 보면 中和에 所要된 中和劑의 液量이 60~90 ml 나 되고 또 生成된 沈澱이 Colloid 狀態를 이루어서 濾過가 잘 안되는 缺點이 있다. 그러나 一旦 끓이고서 뜨거운 狀態에서 濾過하면 比較的 잘 濾過되었다.

各 pH에 있어서의 phytin 沈澱 關係를 보면 表 9에서 보는 바와 같이 pH 6.0까지 中和하였을 때는 濾液에 殘存한 phytin의 量이 0.229 g (全體 phytin 量의 13.25%)나 되고 pH 7까지 中和하였을 때는 0.067 g (全體의 5.23%)로써 가장 적은 量이었다.

pH 7.0 以上으로 되어도 沈澱量은 그다지 增加되지 아니하므로 完全히 phytin을 沈澱 시킬려면 pH 7.0까지 中和하고 다음에 CaCl_2 溶液을 沈澱이 생기지 아니할 때까지 넣어주는 것이 좋다. pH 7.0에서는 浸出液 中の phytin의 94.78%가 沈澱되었고 5.23%는 母液(濾過液)에 殘存하였다.

2) 中和劑로 5% NaOH 溶液을 使用하였을 때는 中和하는데 2~5 ml의 극히 少量의 中和劑로 充足되었고 生成된 phytin의 沈澱 模樣은 飽和 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 溶液에서와 같이 Colloid 狀態로 沈澱되었다.

pH 6.8로 中和하였을 때가 가장 많은 phytin의 沈澱量을 보였으나 供試浸出液 中の 약 80% 程度의

는 phytin이 沈澱된데 不過하였다.

3) 中和劑가 5% KOH 溶液 또는 5% NaOH 溶液 때와 같이 2~6 ml라는 극히 少量의 中和劑로써 中和가 充足되었으며 이 때에도 phytin은 colloid 狀態로 沈澱되었다. pH 6.8에서 phytin 沈澱量이 가장 많았으나 어떠한 中和劑를 썼을 때보다도 殘存 phytin 量이 많았으며 pH 6.8에 있어서의 phytin의 沈澱量은 全體 phytin 量의 66.88%에 不過하였다. 그러므로 NaOH 나 KOH는 phytin 沈澱劑로써는 좋은 편이 못 된다.

4) 中和劑가 5% NH_4OH 또는 5% NaOH 溶液을 使用하였을 때보다도 多少 많은 量의 中和劑가 所要되었으며 이 때 中和한 후 잠시동안 靜置하면 沈澱이 沈降되게 되어 phytin의 濾取는 比較的 容易하게 되었다. 또 沈澱의 色이 어느 때 보다도 白色이었으며 가장 沈澱量이 많았던 pH 7.2에서도 母液에 0.273 g (全體量의 약 21.3%)나 殘存하였다.

5) 以上の 實驗 結果를 綜合해 보면 그림 5에서 보는 바와 같이 phytin을 濾取한 後의 母液 中の phytin의 含有量으로 미루어보아 가장 많은 phytin의 沈澱量을 얻기 위하여서는 中和는 pH 7 內外로 하고 中和劑로써는 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 를 使用함이 좋다. 또 pH 6.1~7.2에서 各 phytin 鹽의 溶解度는 大體的으로

$\text{K-phyta e} > \text{NH}_4\text{-phytate} > \text{Na-phytate} > \text{Ca-phytate}$ 의 順序임을 알 수 있다.

中和劑는 各各 目的에 따라서 選擇하여야 할 것이나 浸出液 中에서 높은 收率로 phytin을 沈澱 分離할 目的이라면 飽和 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 溶液을 使用함이 좋을 것이다.

V. 摘 要

1) 生米糖을 n-hexane으로 脫脂한 脫脂 米糖에 稀 HCl 또는 稀 H_2SO_4 를 混合하고 가끔 저어주면서 8~12時間동안 두어서 phytin을 浸出시키고 濾過하여서 浸出液을 얻었다. 다음에 浸出液을 鹽基로 中和하여서 phytin을 沈澱시키고 濾過하여서 phytin을 分離하였다. 이와 같이 하여서 脫脂米糖으로부터 phytin을 分離함에 있어서의 여러가지 條件에 關하여 基礎 實驗을 하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

2) 浸出用 酸液으로써는 0.3% HCl 이 좋았다. 脫脂米糠에 稀酸을 作用시키면 phytin 以外로 稀酸에 可溶性인 蛋白質 糖類, Vitamin B 群, 色素등도 相當量 즉 脫脂米糠의 18~19%가 浸出되어 나온다. 0.3% HCl 때 浸出固形物은 脫脂米糠의 30%이다. 脫脂米糠中の 鹽基性 物質의 浸出 速度는 phytin의 그것과 差異가 있다. phytin은 脫脂米糠과 稀酸液을 混合한 후 1~5 時間 사이에서 主로 浸出되어 나온다.

3) 浸出用 酸液量은 脫脂米糠의 8~10 倍量이 좋고 浸出 時間은 室溫에서 8~12 時間이면 充分하다.

浸出 溫度는 20~30°C 가 좋고 그 以上이 되면 phytase의 作用이 活潑하여지므로 浸出量이 低下된다.

4) 浸出用 酸으로써는 HCl 를 使用할 때가 H₂SO₄ 를 使用할 때보다도 phytin 浸出量이 많다. 0.3% HCl 를 脫脂米糠의 8 倍量 쓰고 室溫에서 12 時間 浸出시키었을 때 phytin 浸出率은 11.34%로써 理論 值의 93%였다.

5) phytin 를 沈澱시키기 위한 浸出液의 中和劑로써는 飽和 Ca(OH)₂ 溶液이 좋다. 浸出液을 飽和 Ca(OH)₂ 溶液으로 pH 7.0 까지 中和하였을 때에 phytin 沈澱率은 理論值의 94.77%였다.

中和劑로써 NaOH, KOH, NH₄OH 를 쓸 때는 中和度에 관계없이 沈澱이 대단히 不充分하였다.

中和度는 pH 6.8~7.0 이 좋다. 中和劑로써 NH₄OH 를 썼을 때가 phytin 沈澱이 제일 최고 濾過도 比較的 쉽게 잘 되었다.

6) pH 6.0~7.2에서 各 phytin 鹽의 溶解度는 다음과 같다.

K-phytate > NH₄-phytate > Na-phytate >

Ca-phytate.

參 考 文 獻

- 1) 농업협동조합중앙회; 농업연감 P. 43 (1966)
- 2) 申載희; 서울大學校論文集(生農系) 18, 49-57 (1967)
- 3) 森太郎; 日本醸酵工學誌 31, 421-423 (1953)
- 4) Jean Courtois; Bull. Soc. Chim. biol., 33, 1075-1112 (1951)
- 5) 木村, 稻葉; 日本油化學誌 12, No. 1, (1963)
- 6) Sante Mattson and Elisaueta Koutler-Andersson; Kgl. Lantbruks Högskol, Ann, 14, 290-300 (1947) (in English)
- 7) D.E.C. Crean and D.R. Haiswan; J. Sci. Food

- Agr., 14 No. 11, 824-833 (1963)
- 8) 鈴木, 吉村; 日本東大農科大學報告 7, 495 (1906-1918)
- 9) H.H. Schopurever et al; U.S. 2,313,276(1943)
- 10) S. Otolski; Arch. Chem. Farm., 2,61 (1934); 3, 231, 255, 258 (1937)
- 11) A. Contardi; Atti. Acad. Lincei., 18, I (1964)
- 12) 小幡, 坂村; 日本農化會誌 26, 205-207 (1952)
- 13) Jaroslav Kovác; Chem. zvesti 14, 631-645 (1960)
- 14) 日本化學工業全書, 12册, 405-414 (1927)
- 15) 黒村, 松下; 日本醸協 19, No. 12, 23-28, 日特 No, 65,681
- 16) 松本, 窪田; 日本醸造試報 95, 145 (1927)
- 17) Tsunematsu Takemoto and Toshio Shiraishi; Japan, 13, 485 (1962)
- 18) Corn Products Refining Co.; Brit. 737,279, Sept. 21, (1955)
- 19) McCalip J. Thomas; U.S. 2,691,035, Oct. 5, (1954)
- 20) Don S. Bolley, Talph H. McLormark, and Frank C. Nanghton; U.S 2,732,395 Jan. 24, (1956)
- 21) Neal E. Artz; U.S. 2,497,062; 2,497,063 Feb. 14, (1950)
- 22) McCalip J. Thomus, U.S. 2,701,257 Feb. 1, (1955)
- 23) Roger Bellon; Fr. 992,216 Oct. 16, (1951)
- 24) Coimbatore R. Krishna Murti and Lalgudi V. Kannan; Indian 60,210 Jan. 21, (1959)
- 25) H.B. Colman; U.S. 2,369,775
- 26) 稻葉, 木村; 日特 No, 254,069 (1959); 特許公告 No, 7327 號 (昭 37)
- 27) J.C. Cowan et al.; U.S. 2,750,400 (1956)
- 28) A.E. Staley M. f.g. 社 Chem. Eng., Jan. 27, 61 (1958)
- 29) A. Angladette; 10 th congr. intern inds. agr. yaliment; Madrid 2353 (1954)
- 30) Earl R. Koci and Edward C. Synder; U.S. 2,712,516 July 5, (1955)
- 31) 馬場日出男; 日特 171,046
- 32) Koji Asada and Zenzaburo Kasai; Mem. Reserch Inst. Food Sci., Kyoto Univ. 18, 32-40 (1959)
- 33) 奥村, 早川, 白石; 日本食糧研報 11, 63-64

- (1956)
- 34) E. Hoff-Jørgensen; C.A., 4809 (1946)
 - 35) R. J. Marrese, R.W. Duell; Crop Sci. 1, 80-81 (1961)
 - 36) James B. Sillmer and Karl Myrbäck; The Engymes, 1, Part 1, 483 (1950)
 - 37) J. Courlois & M. Masson; Bull. Soc. Chim. biol, 32, 314-325 (1950)
 - 38) 日特 No. 171,046
 - 39) R. A. McCance and E.M. Widdowson, Nature, 153, 650 (1944)
 - 40) Kyoko Saio and ShojiKubo; Nippon NogeikaKaKu Kaishi 36, 163-166 (1962)
 - 41) R. Hill and C. Tyler; J. Agr. Sci. 44, 306-310 (1954)
 - 42) James B. Simner and G. Fred Somers; Chemistry and Methodes of Engzymes, 74-95 (1953)
 - 43) 北川松之助: 日本農化會誌 1, 335-343
 - 44) W.W. Meinke et al.; J.Am. Oil Chemist's Soc., 26, 532-534 (1949)
 - 45) M.L. Sarma, J. Indian Chem. Soc., 19, 308 (1942)
 - 46) P.W. Arnold; Biochemi et Biophys. Acta 19, 552-554 (1956) (in English)
 - 47) R. L. Bielecki and Roy E. Young; Anal. Biochem., 6 No. 1, 54-68 (1963)
 - 48) David P. Langlois; Ibid, 83-86
 - 49) Boguslaw Samotus and Sigmond Sch wimmer; Biochem. Biophys. Acta 57, 389-391 (1962)
 - 50) Robert S. Harris & L. Malcolrn Mosher; Ind. Eng. Chem., Ed. 6, 320-321 (1934)
 - 51) N.E. Zeligson; Trans. Sci. Chem. Phorm. Inst., 23, 82-83 (1930)
 - 52) P.W. Waldroup, C.B. Ammerman, and R.H. Harms; Poultry Sci, 43, No. 2, 426-432(1964)
 - 53) Koil Asada and Zenzaburo Kasai; Plant Cell Physiol. (Tokyo) 3, No. 4, 397-406 (1962)