KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 23, No. 1, pp. 76~80(1991)

미강유 정제 부산물로부터 오리자놀 분리

김인환 · 김철진
한국식품개발연구원

Separatipon of Oryzanol from the Refining By-Product of Rice Bran Oil

In-Hwan Kim and Chul-Jin Kim
Korea Food Research Institute

Abstract

To isolate oryzanol from the by-product of rice bran oil refinning, experiment of solvent fractional crystallization was carried out at various conditions with the dark oil obtained by acidifying the soap stock of micella refinning process and the pitch obtained from vacuum distillation of the dark oil. The impurity interfering the crystallization process such as waxes can be removed as precipitates by cooling the 1:1 mixtrue of acetone and dark oil to 0℃. From the dewaxed dark oil, oryzanol concentrate with 51.3% purity was obtained by fractional crystallization at 0℃ with the mixture of 8 part volume of hexane and 1 part of the dewaxed dark oil. The concentrate was recrystallized at room temperature with 20 part volume of methanol to yield oryzanol crystal of 98.3% purity. The optimum condition of vacuum distillation was temperature of 180℃ at 0.2~0.4 torr with 2% steam sparging. At this condition, the free fatty acid in the dark oil was removed as distillate without thermal deomposition to yield 82.3% of oryzanol as the pitch of 27.3% purity. After concentration from the pitch with 20 part volume of hexane to yield yellow powder of 75.4% purity, the yellow powder was recrystallized in methanol at room temperature to obtain the crystal containing 99.0% oryzanol. The overall oryzanol yield from the dark oil and the pitch was 9.5 and 28.5%, respectively. The change of the composition of sterols and triterpenoid alcohols in the compounds isolated during fractionation was analyzed by GC-MS.

Key words : dark oil, oryzanol, vacuum distillation, solvent fractionation

서 론

미강은 쌀을 주식으로 하는 우리나라에서 풍부하게 얻을 수 있는 유지자원의 하나로서, 유지원료의 대부분이 수입되고 있는 현실에 비추어 볼 때 미강유산업의 육성은 매우 중요한 과제이다.

조미강유를 정제하는 과정에서 얻어지는 정제부산물에는 오리자놀 토코페롤, 레시틴, 스테롤 등의 여러 가지 지용성 생리활성 물질이 다량함유되어 있고, 이 중에 오리자놀은 미강에만 존재하는 물질로서 유지 및 유지식품의 산화방지제로서 뿐만 아니라, 화장품 및 의약품의 원료로서 널리 사용되고 있다[1,2].

오리자놀은 스테롤과 트리터페노이드 알콜이 페룰산과 에스터결합을 하고 있는 혼합물질로서 n-heptane에 녹여 UV-spectrum을 조사하면, 230 nm, 290 nm, 315 nm에서 각각 최대 흡광도를 나타내는 무색, 무취의 결정화합물이다[3].

Corresponding author : In-Hwan Kim, Korea Food Research Institute, 39-1, Haweolgokdong, Seougbukgu, Seoul 130-605, Korea

오리자놀의 대부분은 조미강유를 탈산하는 과정에서 비누분과 함께 제거되는데, 이 때 비누분은 지방산회수를 위해 산처리를 거쳐 dark oil로 전환되며, 전환된 dark oil은 분자증류를 거쳐 지방산과 증류잔유물인 pitch로 분리되고 대부분의 오리자놀은 pitch에 남게된다.

Seetharamaiash 등[4]은 알칼리 정제로부터 얻은 비누분에서 diethyl-ether와 alumina column을 이용하여 융점이 133~139℃이고 순도가 98%인 오리자놀을 분리하였으며, Watanabe 등[5]은 dark oil을 methyl ester로 전환시킨 후 분자증류를 통해 얻어진 pitch에서 H_2O-saturated furfural과 methanol을 이용하여 순도가 98%인 오리자놀을 분리하였고 이외에도 많은 분리방법들이 보고되어 있다[6,7].

따라서 본 연구에서는 미강유 정제과정중 얻어지는 정제부산물의 효과적인 이용을 위해서 보다 간단한 추출방법을 이용하여 dark oil로부터 분자증류와 용매분리법으로부터 오리자놀을 효과적으로 분리정제하기 위한 최적조건을 확립하고자 하였으며, 오리자놀분리 농축과정중 스테롤 및 트리터페노이드 알코올의 조성변화에 대하여서도 검토하였다.

Table 1. Conditions of gas chromatography for analysis of sterol and triterpenoid alcohol

Instrument	: Hewlett Packard 5890 A
Column	: 3% OV-17 on Chromosorb W-HP 100/120, 6 ft×1/8″SS
Carrier gas	: Helium(30 ml/min)
Injector Temp.	: 310℃
Detector Temp.	: 330℃
Oven Temp.	: 270℃
Detector	: FID

재료 및 방법

재 료

오리자놀농축을 위한 시료로서 micella refining(신양유지)으로부터 얻어진 dark oil을 사용하였고, pitch는 dark oil로부터 김 등[8]과 같은 방법으로 분자증류하여 제조하였다.

오리자놀과 스테롤 및 트리터페노이드 알콜분석

시료의 오리자놀함량을 측정하기위해 일정량의 시료를 n-heptane에 녹인 후 315 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 이 때 오리자놀의 농도는 흡광계수($E^{1\%}_{1cm}$) 358로 계산하였다.

스테롤 및 트리터페노이드 알콜의 조성은 AOCS 방법[9]에 따라 50% 수용액 KOH와 ethanol을 시료에 가하여 비누화 시킨 뒤, diethyl-ether로 불검화물을 추출하여 Gas chromatography로 분석하였으며, 이 때 분석조건은 Table 1과 같았다.

Dark oil 또는 pitch로부터 오리자놀의 분리과정

Dark oil과 증류잔유물인 pitch에서 왁스분을 제거하기 위해 acetone을 첨가한 후, 불용성 침전물인 왁스를 제거하였다. 왁스분이 제거된 dark oil과 pitch로부터 Fig. 1에서와 같이 n-hexane과 methanol을 이용하여 오리자놀을 분리하였으며, 보다 자세한 실험조건은 결과 및 고찰에서 표시하였다.

결과 및 고찰

Dark oil로부터 오리자놀의 분리

미강유 정제 부산물인 dark oil를 시료로하여 오리자놀을 분리하기위해 아래와 같은 용매분리법을 사용하였으며, 초기 dark oil의 오리자놀함량은 4.0%이었다. Dark oil에는 정제과정 중 원유로부터 많은 양의 왁스분이 유입되어 있으며, 이들 왁스분은 오리자놀을 농축하는데 방해물질로 알려져있다. Yamamoto 등[10]은 왁스분 제거를 위해 methyl alcohol과 acetone을 이용하여 왁스분을 효과적으로 제거하였다고 보고하였다.

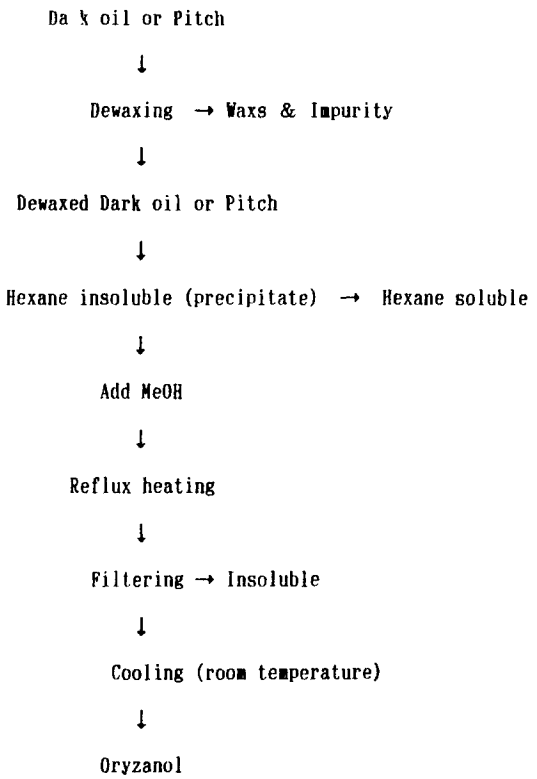

Fig. 1. Separation process of oryzanol from dark oil and pitch

본 실험에서는 dark oil에 acetone을 1 : 1(w/v)로 혼합한 후 0℃에서 2시간 동안 교반한 후 여과하여 왁스분을 제거하였으며, 이 때 왁스분이 제거된 dewaxed dark oil의 오리자놀함량은 4.0%에서 5.3%로 약간 증가하였다. 또한 오리자놀농축에 적합한 용매를 선택하기 위해 6종류의 극성이 다른 용매를 이용하여 dark oil과 용매의 비를 1 : 2(w/v)로 혼합한 후 0℃에서 12시간 방치하여 침전실험을 한 결과 Fig. 2와 같은 결과를 얻었다. Chloroform의 경우에는 침전물이 생성되지 않았으며, n-hexane과 n-pentane의 경우에는 순도와 회수율이 12%와 46%로 가장 효과적이었다. 그러나 용매의 사용빈도수나 가격면을 고려하여 본 연구에서는 n-hexane을 적정용매로서 선택하였다. Fig. 3은 dark oil과 n-hexane의 비율에 따른 오리자놀의 순도 및 회수율에 대한 결과로서 그 비율이 1 : 8일 때 순도와 회수율이 51.3%와 29.5%로 가장 높았다. 이와 같이 얻어진 n-hexane 침전물에 methanol(20 part)을 가하고 10분간 reflux heating한 후 여과하여 여액을 실온에서 교반하여 오리자놀순도가 98%인 백색 결정화합물을 얻었다. Dark oil로부터 오리자놀분리 과정 중 각 단계에서 얻어진 결정물의 순도와 회수율은 Table 2와 같다. 이 결과에서 볼 때 dark oil로부터 98%의 고순도 오리자놀을 회수할

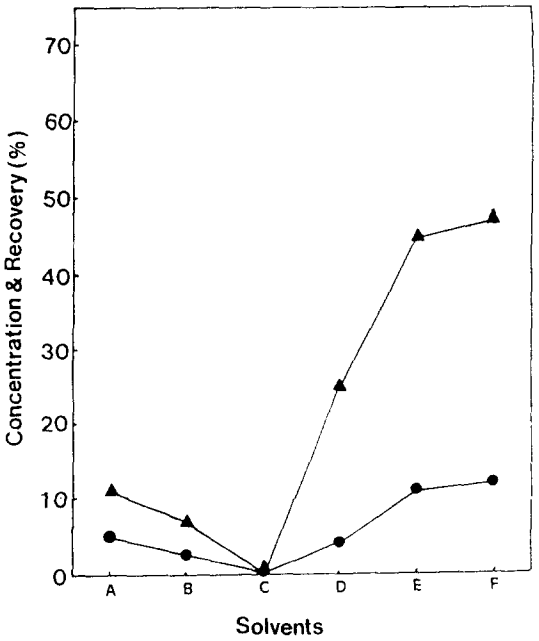

Fig. 2. Changes of concentration (●) and recovery (▲) yields of oryzanol in the precipitate for various solvents

A : Methanol, B : Acetone, C : Chloroform, D : Ethyl ether, E : Hexane, F : Pentane.

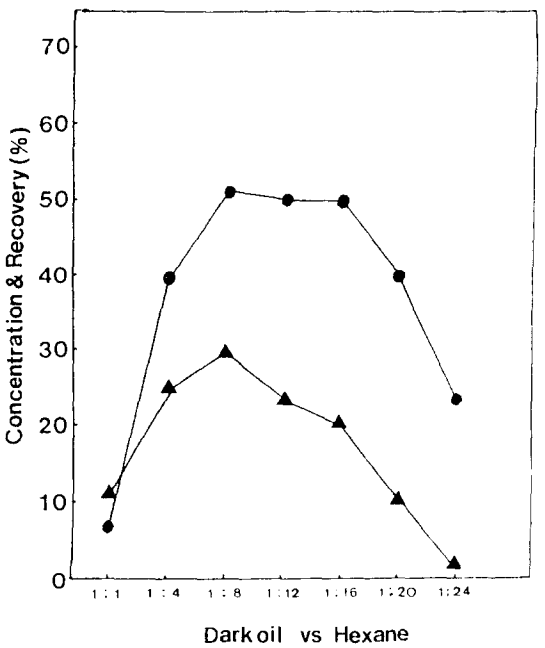

Fig. 3. Changes of concentration (●) and recovery (▲) yields of oryzanol from dark oil as a function of dark oil/hexane

Table 2. Changes of concentration and recovery yields of oryzanol in the products obtained during isolation processes for dark oil

Items / Products	Concentration (%)	Recovery (%)
Dark Oil	4.0	100.0
Dewaxed dark Oil	5.3	96.4
Hexane insoluble	51.3	29.5
Purified oryzanol	98.0	9.5

Table 3. Changes of concentration and recovery yields of oryzanol in the pitchs prepared at various distillation conditions

Items	with steam		without steam	
Temp. (℃)	Concentration (%)	Recovery (%)	Concentration (%)	Recovery (%)
160	10.1	89.4	–	–
180	27.3	83.2	22.4	75.2
200	26.4	80.3	24.3	70.4
220	25.3	78.9	19.4	67.8

수 있었으나, 초기 시료로부터 단지 9.5%의 오리자놀만을 회수하는데 그쳤으며, 특히 methanol로부터 결정화합물을 얻은 마지막 단계에서 가장 큰 손실이 발생하였다.

Pitch로부터 오리자놀의 분리

Dark oil로부터 pitch를 제조하기위해 0.2~0.4 torr의 진공을 유지하면서 2%(w/w)의 steam과 온도변화에 따른 실험을 행하여 Table 3과 같은 결과를 얻었다. 160℃에서 steam을 주입하지 않았을 때는 증류가 되지않았으며, steam을 주입했을 경우에도 완전한 증류가 되지 않아서 농축이 효과적이지 못하였다. 또한 200℃ 이상인 조건에서는 높은 온도로 인한 오리자놀의 파괴가 발생되어 순도와 회수율이 비교적 낮았으며 180℃에서 steam을 주입하면서 증류하여 얻은 pitch를 이용하여 오리자놀을 분리하기위해, 먼저 acetone을 이용하여 왁스를 제거하였다. 그러나 pitch는 증류과정 중에 형성된 고분자물질로 인하여 점도가 높아져 왁스분 제거에 방해요인으로 작용하였다. 따라서 pitch와 acetone비에 따른 실험을 행한 결과 Fig. 4와 같은 결과를 얻었다. 이 결과에 의하면 acetone 첨가량에 따른 순도 변화는 거의 없었으나, 회수율에 있어서는 pitch의 acetone의 비율이 1 : 8 이하일 때는 회수율이 매우 낮았으며, 1 : 8 이상에서는 회수율이 거의 90% 정도로 변화가 없었다. 따라서 pitch에서 왁스를 제거하기 위한 acetone 첨가량은 최적비로 나타났다. 이와 같은 방법으로 왁스분이 제거된 pitch에 n-hexane을 여러비율로 첨가하여 오리자놀의 순도와 회수율을 검토해 본 결과 Fig. 5와 같은 결과를

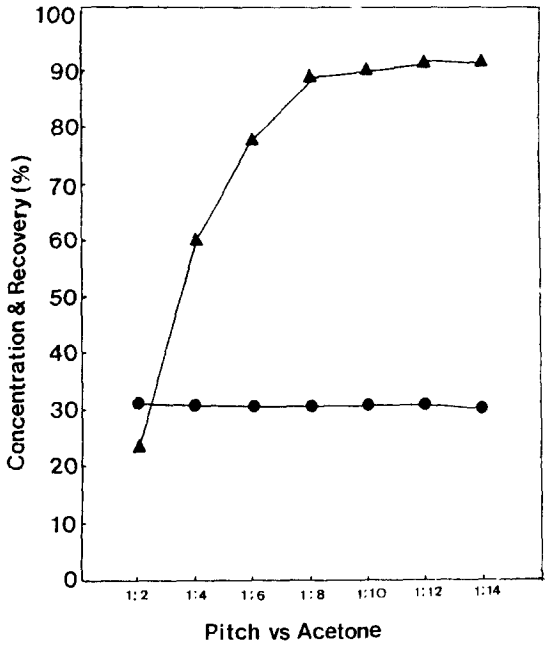

Fig. 4. Changes of concentration (●) and recovery (▲) yields of oryzanol from pitch as a function of pitch/acetone ratio

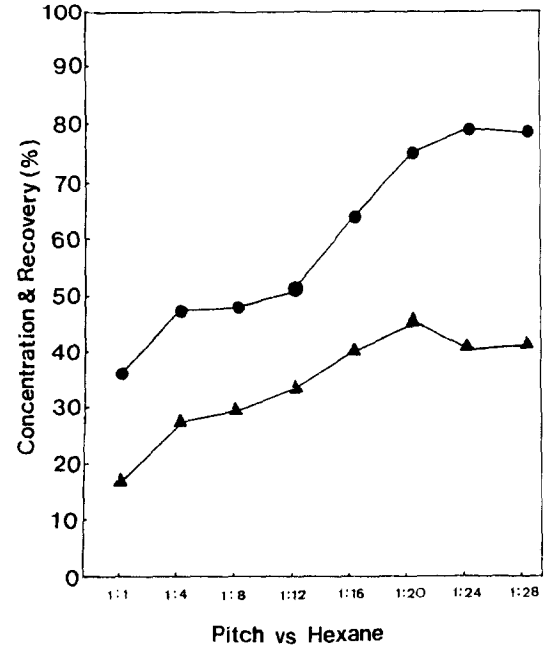

Fig. 5. Changes of concentration (●) **and recovery (▲) yields of oryzanol from pitch as a function of pitch/hexane ratio**

Table 4. Changes of concentration and recovery yields yields of oryzanol in the products obtained during isolation processes for pitch

Items / Products	Concentration (%)	Recovery (%)
Pitch	27.2	100.0
Dewaxed pitch	30.5	88.3
Hexane insoluble	75.4	45.5
Purified oryzanol	99.0	28.5

Table 5. Changes of sterols and triterpenoid alcohols composition in the products obtained during isolation process for dark oil (unit : Area %)

Products / Items	Dark oil	Dewaxed dark oil	Hexane insoluble	Purified oryzanol
Campesterol	22.06	21.08	6.33	7.12
Stigmasterol	6.65	6.61	trace	trace
β-sitosterol	23.99	23.85	5.69	4.26
Cycloatenol	20.82	20.97	28.54	26.12
24-methyl-cycloartanol	26.48	27.49	57.44	62.50

얻었다. 각각의 조건에서 얻어진 오리자놀의 순도와 회수율은 비율이 증가함에 따라, 즉 용매 첨가량이 증가함에 따라 증가하였으나, pitch와 n-hexane의 비가 1 : 20 (w/v) 이상에서는 순도에 있어서는 큰 변화를 나타내지 않았지만, 회수율은 약간 감소하는 경향을 나타냈다. 따라서 pitch와 n-hexane의 최적비는 1 : 20(w/v)로 나타났으며, 이 때 순도와 회수율은 75.4%와 45.5%로 dark oil의 경우보다 오리자놀분리가 보다 효과적이었음을 알 수 있었다. 위와 같은 조건에서 얻어진 n-hexane 침전물에 methanol(20 part)을 가하고 reflux heating과 여과 냉각을 거쳐 여액으로부터 백색의 침전물을 얻었으며, 이 때 백색결정 화합물의 오리자놀함량은 99%이었다. Table 4에는 pitch로부터 오리자놀을 농축하는 과정 중 단계별 오리자놀의 순도와 회수율을 나타내고 있는데 dark oil로부터 오리자놀을 농축하는 것보다 회수율이나 순도에 있어서 월등히 효과적이었음을 알 수 있었다.

오리자놀 분리 과정 중 스테롤 및 트리터페노이드 알콜의 변화

앞에서 언급한 바와 같이 오리자놀은 페룰산과 스테롤, 페룰산과 트리터페노이드 알콜이 에스터결합을 하고 있는 복합물질이다. 따라서 본 연구에서는 dark oil과 pitch로부터 오리자놀을 분리하는 과정에서, 스테롤과 트리터페노이드 알콜의 조성이 어떻게 변화하는지를 살펴 보았으며, 그 결과는 Table 5와 6에 나타냈다. 또한 스테롤류의 확인을 위해서 표준품을 이용하여 각각 확인하였으나, 트리터페노이드 알콜류는 GC-mass를 이용하여 확인하였다. Fig. 6은 pitch로부터 분리된 99%의

Table 6. Changes of sterols and triterpenoid alcohols composition in the products obtained during isolation process for pitch

Items \ Products	Pitch	Dewaxed pitch	Hexane insoluble	Purified oryzanol
Campesterol	25.19	26.98	13.64	14.08
Stigmasterol	7.71	6.01	1.14	trace
β-sitosterol	29.45	27.99	11.06	8.11
Cycloatenol	18.94	18.86	32.04	35.15
24-methyl-cycloartanol	18.62	20.16	41.66	42.66

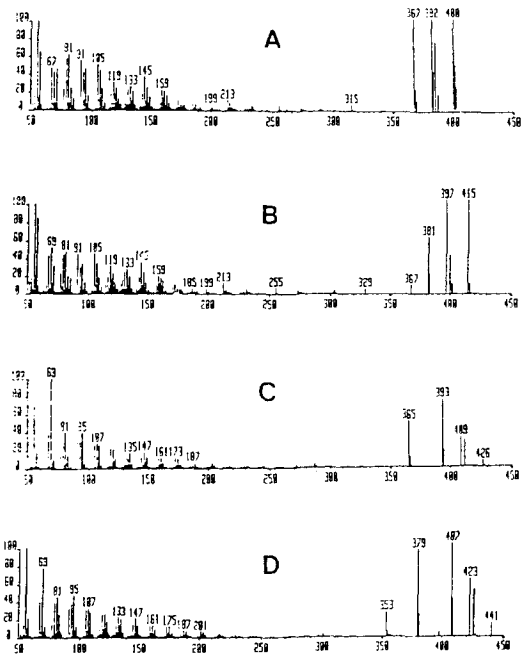

Fig. 6. G.C-mass spectrum of obtained unsaponifiable matter from purified oryzanol
A : Campesterol, B : β-Sitosterol, C : Cycloartenol, D : 24-Methylcycloartanol

오리자놀에서 얻어진 불검화물의 GC-mass spectrum이다. Dark oil로부터 오리자놀을 분리하는 과정에서는 n-hexane을 이용하여 침전물을 형성하는 과정에서 사이클로아르테롤 24-메칠사이클로아르타놀과 같은 트리터페노이드 알콜이 선택적으로 농축되는 경향을 나타냈으며, 이와 같은 트리터페노이드 알콜이 스테롤보다 열에 다소 불안정하다는 것을 나타내고있다. 또한 농축과정에서는 dark oil의 경우와 비슷하게 트리터페노이드 알콜이 보다 선택적으로 농축되는 경향을 나타냈으나, 함량에 있어서는 최종정제 오리자놀의 사이클로아르테놀과 24-메칠사이클로아르타놀이 41.66%와 42.66%로 dark oil의 경우보다 훨씬 낮은 함량을 나타내었다.

요 약

미강유 정제 부산물로부터 오리자놀을 분리하기위해, dark oil과 dark oil의 증류잔류물인 pitch로부터 용매분리법을 이용하여 오리자놀을 분리하였다. 분리과정 중 방해물질인 왁스분은 dark oil과 acetone을 1 : 1(w/v)로 혼합하여, 0℃에서 침전시켜 제거하였고, 여기에서 얻어진 dewaxed dark oil에 8 part의 hexane을 섞어 저온분리하여 오리자놀함량이 51.3%인 농축물을 얻었다. 이 농축물에 methanol 20 part를 가하고 재결정하여 98.3%의 오리자놀결정물을 얻었다. Dark oil로부터 pitch를 제조하는 적정조건은 180℃와 0.2~0.4 torr의 진공상태에서 2%(w/w)의 steam을 가하는 증류조건이 오리자놀의 파괴를 최소화 하였다. 이로부터 얻어진 pitch의 오리자놀순도와 회수율은 27.3%와 82.3%였다. Pitch에 hexane을 가하고 저온분리하여 오리자놀순도가 75.4%인 오리자놀결정물을 얻었으며 이 농축물에 methanol을 가한 후 재결정하여 순도가 99%인 결정물을 얻었다. 이상과 같은 저온분리법을 이용하였을 때 오리자놀의 회수율은 dark oil 9.5%, pitch 28.5%로 나타났다.

문 헌

1. Okada, T. and Yamaguchi, N. : Antioxidant effect and pharmacology of oryzanol. *Yukagaku*, 32, 305(1983)
2. Ishitani, A. : Oryzanol antioxidant for food. *JPN Kokai Tokkyo Kobo*, 8050, 094(1980)
3. Tomataro, T., Osamu, O. and Takuji, E. : Recovery of oryzanol. *JPN Patent* 6395(1957)
4. Seetharamaiah, G.S. and Prabhakar, J.V. : Oryzanol content of Indian rice bran oil its extraction from soapstock. *J. Food Sci. Tech.*, 23(5), 270(Eng)(1986)
5. Watanabe, Y., Arawaka, T. and Iwasaki, T. : Oryzanol. *JPN Patent* 6812, 731(1968)
6. Azuma, M. : Oryzanol from alkali washings of rice bran oil. *JPN Kokai*, 7304, 617(1971)
7. Nishihara, M. and Shibuya, Y. : Oryzanol from alkaline oil cake of rice oil. *Japan Patent* 6812, 725(1968)
8. Kim, S.K., Kim, C.J., Cheigh, H.S. and Yoon, S.H. : Effect of caustic refinning, solvent refinning and steam refinning on the deacidification and color of rice bran oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 62(10), 1492(1985)
9. A.O.C.S. : *Official and Tentative Methods.* Unsaponifiable Ca 6b-53., The Association : Washington., D.C. (1970)
10. Yamamoto, T. : γ-Oryzanol. *German Patent.* 1, 1301, 002(1963)

(1990년 10월 13일 접수)