

## 흰쌀액화물에서 리보핵산의 추출조건에 대한 연구

라승룡, 김명숙, 한연희, 김옥선

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《과학연구부문에서는 과학기술로 경제발전의 길을 열고 과학기술로 경제를 이끌어 나가야 한다는 관점과 입장을 가지고 우리 경제의 자립성과 주체성을 강화하며 인민생활을 향상시키기 위한 과학기술적방안과 실행대책을 명확히 세우고 집행해나가야 합니다.》

어린이영양식품인 애기젓가루에는 제품 100g당 20~60mg의 뉴클레오티드를 첨가하고 있는데 흰쌀에 들어있는 리보핵산을 뉴클레오티드로 전환시키면 현재 애기젓가루제품에 첨가되는 수입산뉴클레오티드를 충분히 대용할수 있다.

지금까지 알곡류와 그 리용부산물에서 핵산류물질을 추출하기 위한 연구는 진행된 것이 적다.

이로부터 우리는 흰쌀액화물에 있는 리보핵산을 효과적으로 추출하여 리용하기 위한 연구를 하였다.

### 재료와 방법

리보핵산을 추출하기 위한 재료로는 애기젓가루생산공정에서 액화공정을 거친 흰쌀액화물을 리용하였다.

흰쌀액화물에서 리보핵산추출조건(추출온도, 추출시간, 추출pH)을 각이하게 변화시키면서 리보핵산의 함량을 선행방법[1]에 따라 결정하였으며 품질공학적방법[2]으로 최적추출조건을 확정하였다.

리보핵산의 전기영동은 선행방법[2]에 준하여 진행하였으며 흰쌀리보핵산분해효소는 보리길금뿌리로부터 추출[3, 4]하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1) 흰쌀액화물에서 리보핵산의 추출에 미치는 몇가지 요인의 영향

추출온도의 영향 10% 탄산나트륨용액으로 흰쌀액화물의 pH를 7.0으로 맞추고 각이한 온도에서 60min동안 처리한 다음 리보핵산의 추출효과를 검토하였다.(그림 1)

그림 1에서 보는바와 같이 온도가 높아짐에 따라 리보핵산의 추출효과가 증가하여 90℃에서 최대로 되었으며 그 이상의 온도에서는 추출효과가 크게 증가하지 않았다. 이것은 90℃의 온도에서 흰쌀세포안의 리보핵산이 기본적으로 추출된다는것을 보여준다.

애기젓가루생산용흰쌀의 불쿠기공정(60℃)때에는 리보핵산이 추출되지 않았는데 이것은 60℃이하의 온도에서 세포내리보핵산이 잘 추출되지 않는다는것을 의미한다.

추출시간의 영향 흰쌀액화물(pH 7.0)을 90℃에서 각이한 시간 처리하면서 리보핵산의 추출효과를 검토하였다.(그림 2)

그림 2에서 보는바와 같이 추출시간이 늘어남에 따라 리보핵산의 추출량이 거의 선형

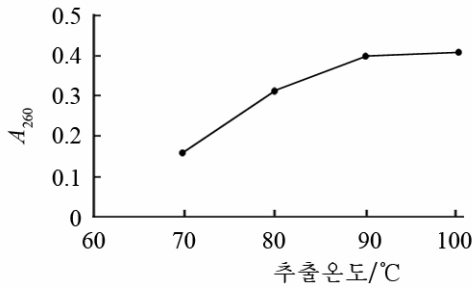


그림 1. 리보핵산의 추출에 미치는 온도의 영향  
추출시간 60min, pH 7.0

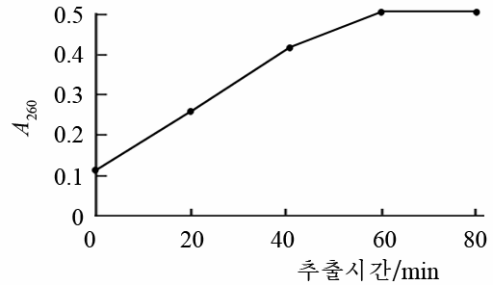


그림 2. 리보핵산의 추출에 미치는 추출시간의 영향  
추출온도 90°C, pH 7.0

적으로 증가하였으나 60min이상에서는 추출량이 더 증가하지 않았다. 그러므로 리보핵산의 추출에 합리적인 시간은 60min이라고 볼수 있다.

pH의 영향 액화물의 pH를 각이하게 변화시키면서 리보핵산의 추출효과를 검토하였다.(그림 3)

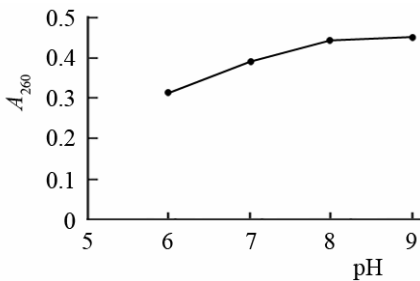


그림 3. 리보핵산의 추출에 미치는 pH의 영향  
추출온도 90°C, 추출시간 60min

그림 3에서 보는바와 같이 흰쌀액화물에서 리보핵산을 추출할 때 pH 8.0까지는 리보핵산의 추출률이 거의 선형적으로 증가하였으나 그 이상의 pH에서는 그리 높아지지 않았다. 그러므로 리보핵산의 추출에 효과적인 pH는 8.0이라고 볼수 있다. 그러나 애기젓가루 생산공정에서는 pH를 7.0이상으로 높이지 않기때문에 실지 생산공정에서는 pH를 7.0으로 보장하였다.

2) 실험계획법에 의한 리보핵산추출조건의 최량화 개별적인 인자들이 흰쌀액화물의 리보핵산추출에 미치는 영향을 검토한데 근거하여  $L_9(3^4)$ 직교표에 따르는 실험계획을 작성하고 최적조건을 찾기 위한 실험을

진행하였다.(표 1, 2)

표 1. 인자와 수준

수준	인자		
	A(추출온도)/°C	B(추출시간)/min	C(pH)
1	90	50	7
2	95	60	8
3	100	70	9

표 2.  $L_9(3^4)$ 직교표에 따르는 실험결과

구분	리보핵산추출률/%		SN비/dB	구분	리보핵산추출률/%		SN비/dB
	$Y_1$	$Y_2$			$Y_1$	$Y_2$	
1	57.6	55.4	28.2	6	60.8	62.9	28.8
2	56.4	57.6	28.3	7	59.4	60.8	28.6
3	62.1	58.5	28.7	8	55.4	56.9	28.2
4	61.2	58.4	28.5	9	59.3	61.5	28.7
5	61.8	64.2	29.0				

n=3

실험결과로부터 망대특성의 SN비를 계산하고 매 인자들의 SN비의 수준별합계를 구하여 보조표와 분산분석표를 작성하였다.(표 3, 4)

표 3. 보조표

번호	A	B	C	E(4렐)
1	85.2	85.5	85.2	85.8
2	86.5	85.4	86.5	85.7
3	85.4	86.1	85.2	85.5

표 4. 분산분석표

인자	f	S	V	S	$\rho/\%$
A	2	3.33	1.67	2.87	46.7
B	2	0.852	0.426	1.44	23.4
C	2	1.89	0.949	1.84	29.9
E(4렐)	2	0.067	0.033		
(e)	4	0.919	0.230		

표 4로부터 리보핵산추출에 큰 영향을 미치는 요인은 A와 C 즉 추출온도와 pH이며 보조표로부터 최적조건은  $A_2B_3C_2$  즉 추출온도 95°C, 추출시간 70min, pH 8.0이다. 여기서 추출시간은 기여률이 낮으므로 60min으로 정할수 있다. 기여률이 큰 인자들인 A와 C에 대한 통계적추정을 진행하고 초기조건과 최적조건에서 확인실험을 진행하여 재현성을 검토한 결과는 표 5와 같다.

표 5. 초기조건과 최적조건에 따르는 확인실험

지표	최적조건에서 추출률/%				초기조건에서 추출률/%			
	$Y_1$	$Y_2$	$Y_3$	평균	$Y_1$	$Y_1$	$Y_1$	평균
추출률	63.9	62.8	64.5	63.7	56.1	55.7	55.3	55.7
증가률				114.5				100

$F_{0.05; 2, 2}=19.00, p<0.05, n=3$

표 5에서 보는바와 같이 초기조건에 비하여 최적조건에서 추출률이 14.5% 더 높아졌다.

### 3) 전기영동에 의한 흰쌀액화물에서 리보핵산의 확인

흰쌀액화물에서 리보핵산을 검사하기 위하여 흰쌀액화물을 추출온도 95°C, pH 7.0에서 60min동안 처리하여 리보핵산을 추출하고 적당한 량의 액화물을 취하여 원심분리한 다음 각이한 량의 상청액을 취하여 0.8% 아가로스겔에서 전기영동하였다.(그림 4)



그림 4. 흰쌀액화물 리보핵산의 전기영동상

1-흰쌀액화물 100 $\mu$ L, 2-흰쌀액화물 핵산추출액 50 $\mu$ L(리보핵산 20 $\mu$ g), 3-흰쌀액화물 핵산추출액 100 $\mu$ L(리보핵산 40 $\mu$ g), 4-흰쌀액화물 핵산추출액

50 $\mu$ L+효소 1U; 효소반응조건: 온도 65°C,

반응시간 2h, 반응액pH 6.5

그림 4에서 보는바와 같이 2, 3번 주로에서 리보핵산이 나타났으며 4번 주로에서 20 $\mu$ g의 RNA가 효소 1U에 의해 완전히 분해되었다. 결국 기질 20 $\mu$ g을 분해시키는데는 효소 1U이면 충분하다. 이때 누클레오티드의 전환률은 70~80%이다.

이상의 전기영동결과를 통하여 흰쌀액화물에 리보핵산이 포함되어있으며 그것을 추출하고 핵산분해효소로 분해하면 누클레오티드로 전환시킬수 있다는것을 알수 있다.

## 맺 는 말

흰쌀액화물에서 리보핵산추출의 최적조건은 추출온도 95 $^{\circ}$ C, pH 8.0, 추출시간 60min이다.

흰쌀액화물에는 리보핵산이 포함되어있으며 그것을 추출하여 핵산분해효소로 분해시키면 누클레오티드로 전환시킬수 있다.(20 $\mu$ g 리보핵산/1U 효소)

## 참 고 문 헌

- [1] 김천을 등; 생물통계학, 김일성종합대학출판사, 184~194, 주체92(2003).
- [2] 라승룡; 유전자공학실험법(세균유전학), 김일성종합대학출판사, 4~11, 주체103(2014).
- [3] 박성일 등; 생물학, 2, 20, 주체104(2015).
- [4] 刘妍春; 酿酒, 1, 24, 2016.

주체109(2020)년 4월 5일 원고접수

## On the Extract Condition of Ribonucleic Acid from Polished Rice-Liquefaction

*Ra Sung Ryong, Kim Myong Suk, Han Yon Hui and Kim Ok Son*

The effective extract conditions of ribonucleic acid from polished rice-liquefaction are as follows: the extract temperature is 95 $^{\circ}$ C, the extract period is 60min and the extract pH is 7.0.

Keywords: polished rice-liquefaction, ribonucleic acid