▶ 특별강연-VI

안전성 검증에 의한 친환경 농산물의 고부가가치화

이 상 한

경북대학교 식품공학과

서 론

최근에 식품 및 생물산업에서 '안전성'이란 용어는 '생물안전성(biosafety)'이란 의미로 많이 사용되고 있는데, 이에 대한 관심과 우려가 교차하고 있다. 주지의 사실이지만, 20세기에 접어들어 절대 농지의 황폐화, 지구 온난화, 사막화로 인하여 환경 보존의 필요성이 증대되고, 화학비료, 화학 합성 농약의 사용이 제약을 받기에 이르러 식량생산은 크게 둔화되었고, 상대적으로 인구는 폭발적으로 증가하였다. 또한 기후협약에 의하여 석유와 같은 연료 사용의 규제는 대체에너지의 개발과 식량 자원의 해결이란 숙제를 남기게 되었다. 한편 작물육종에 의한 우수 농작물의 선별은 많은 시간과 노동력을 요하고 성과가 미흡하였으나, 1990년대 중반부터 recombinant DNA technology가 급속히 발전하면서 유전자 변형 농작물의 재배가 활성화되기 시작하였다. 지금까지 제초제 저항성 콩, 해충 저항성 옥수수 등이 상업화 되었으며 비타민A가 강화된 golden rice가 개발되어 상품화 단계에 있는 등 매년 품목수가 증대될 것으로 예상하고 있다. 유전자변형생물체(Living Modified Organisms; LMO)는 restriction enzymes, DNA ligase, polymerases, vectors를 이용하여 같은 종 또는 다른 종간에 유전자의 이동을 인위적으로 조절하는 것이기 때문에 이러한 생물체를 인간에게 적용할 때에는 (1)윤리적인 문제, (2)allergy, atopy 및 viral vector 사용으로 인한 병원성 유발 가능성, (3)장기간 섭취에 따른 독성 또는 위해성의 가능성, (4)생태계의 비가역적 파괴 가능성을 반드시 염두에 두어야 한다. 현재까지 예상되고

있는 LMO가 인간 및 환경에 미칠 수 있는 영향을 살펴보면 다음과 같다.

(1) 진화과정의 급변

생물종간의 유전형질을 삽입시킴으로서 기존의 진화과정과는 비교될 수 없을 정도로 획기적으로 단축시켜 진화과정을 파괴시킬 수 있다.

(2) microflora의 변화

식물뿌리 주변에 자주 발견되는 *Klebsiella planticola*를 이용하여 먼저 농산폐기물을 분해하여 에탄올을 생성하게 유전자 조작하고 이 균주를 환경에 방출시켰을 때, nematodes의 개체수를 급격히 증가시켜 주변 토양 속의 전체적인 microflora의 수를 변화시킴으로서 곡식의 생장에 영향을 미치는 것을 발견하였다.

(3) 식물의 잡초화 촉진

여러 가지 유전자변형 농작물이 자주 농경지에서 재배될 때 새로이 개발되기 이전의 품종은 새로운 잡초로 등장할 할 가능성이 있다. 대다수의 농작물은 야생잡초와 근연관계에 있어서 이종교배가 일어 날 수 있기 때문에 농작물에 인위적으로 삽입시켜 놓은 제초제나 병해충 내성 유전자가 야생의 잡초로 gene transfer되어 super weed가 발생할 가능성이 있다.

(4) 새로운 병해충 등장

식물의 병을 유발하는 바이러스에 내성을 지닌 LMO 식물체는 새로이 cloning된 유전자와 바이러스 유전자가 recombination되어 새로운 식물병 바이러스를 생성시키고 이는 새로운 병해충을 유발하는 요인이 된다.

(5) 인체 보건위생에의 위협

유전자 재조합을 확인하기 위하여 사용한 antibiotic resistance marker가 내성을 오히려 강화시킨다. 따라서 식용으로 섭취한 LMO의 유전자가 동물의 위장이나 장관에서 분해되지 않고 integration되거나 혈액에서 발견될 가능성도 배제할 수 없으므로, 이럴 경우에는 인간의 보건위생에 큰 피해를 야기할 수 있다.

유전자변형 작물과 안전성 검증

이런 위해 가능성에도 불구하고 전 세계적으로 LMO의 재배 면적은 점진적으로 증가하여 1996년부터 경작한 이래, 2001년 14개국에서 약 5,300만 ha에 달하였으며 이 작물의 세계시장은 약 30억 달러 이상으로 추정되고 있다. 전 세계적으로 재배되고 있는 주요 LMO작물은 soybean, canola, cotton, corn이 대부분인데 미국, 아르헨티나, 캐나다, 중국 등에서 거의 80%가 재배되고 있다.

한편, 지난 10여 년간 급속히 발전된 recombinant DNA technology는 많은 LMO를 탄생시킬 것으로 예상되고, 농축수산물의 생산량의 증대 및 생산물의 질적 향상을 도모하고 있다. 비록 LMO가 식량 증산은 물론 질병의 치료나 예방에도 응용되어 풍요로운 미래의 기술로 정착하기 위해서는 과학적인 data를 바탕으로 LMO의 생물안전성의 확보가 매우 시급하다고 할 수 있다. 이러한 시점에 2000년 1월 29일 캐나다 Montreal에서 개최된 UN 환경계획 생물다양성 협약하의 바이오안전성에 대한 Caragena 의정서(The Caragena Protocol on Biosafety)가 채택되어 국제적인 체제가 정립되고 2001년 3월 28일 우리나라에서도 '유전자 변형생물체의 국가 간 이동 등에 관한 법률'이 공포된 바 있다. 국가 간 LMO가 이동함으로 인하여 인체나 환경에 위해성이 나타난다면 이는 국내 식품산업을 보호하고 뿐만 아니라 환경의 파괴를 방지한다는 측면에서도 LMO의 인체위해성 및 환경 위해성 평가 시스템의 구축과 기술개발은 반드시 그리고 조속히 이루어져야 하겠다.

고부가 가치화를 위한 안전성 검증

생물안전성 중에서도 특히 인체 위해성은 우리의 건강과 밀접한 관계가 있으므로 아무리 사소한 것이라도 소홀히 할 수가 없다. 인체 및 환경위해성에 대한 평가시스템에 대하여 간단히 몇 가지의 방법을 소개하고자 한다.

(1) 영양성분의 변화 시험

Transgenic potato와 soybean을 non-transgenic과의 영양성분의 차이를 분석하였다. 각각의 시료를 적당량 취하여 homogenizer로 분쇄하고 원심분리하여 상등액을 얻었다. 이를 탄수화물에 대해서는 총당정량법, 조지방은 속시렛법, 조단백은 킬달법, 회분은 건식회화법으로 정량하였다. 탄수화물은 식품공전의 시험법에 의거하여 100-(수분(%)+회분(%)+조단백(%)+조지방(%))으로 환산하였다. 그 결과 표1에서 보듯이 LMO soybean에서는 transgenic의 경우 탄수화물, 조지방,

조단백, 회분이 각각 36.8, 16.9, 32.8, 4.98%이었고, non-transgenic의 경우는 각각 35.7, 17.3, 34.7, 5.64%이어서 이들 간의 유의성 차이는 없는 것으로 판단되었다. Potato의 경우에 있어서도, trangic과 non-transgenic의 경우에 탄수화물은 각각 19.1, 17.8%, 조지방은 0.29, 0.14%, 조단백은 1.36, 1.84%, 회분은 1.16, 1.22%로 이들 간의 유의성 차이는 없는 것으로 판단되었다.

Table 1. 영양성분의 영양학적 시험 결과

시 험 항 목	단 위	결 과 치	
		Transgenic soybean	Non-Transgenic soybean
탄 수 화 물	%	36.8	35.7
조 지 방	%	16.9	17.3
조 단 백	%	32.8	34.7
회 분	%	4.98	5.64

시 험 항 목	단 위	결 과 치	
		Transgenic potato	Non-Transgenic potato
탄 수 화 물	%	19.1	17.8
조 지 방	%	0.29	0.14
조 단 백	%	1.36	1.84
회 분	%	1.16	1.22

*각 시험치는 3번 측정의 평균치임.

(2) PCR 및 nested PCR 시험

PCR 및 nested PCR에 사용된 reaction mixture는 dNTP (1mM), primer (sense, 0.2pM; anti-sense, 0.2pM), $MgCl_2$ (1.5mM), DNA polymerase (1.25U), sample (200ng)을 넣어서 94℃에서 2 분간 반응하고 denature를 94℃에서 1 분, annealing을 55℃에서 2 분, extention을 72℃에서 3 분간 총 35 cycle 반복하고 72℃에서 7 분간 반응시킨 후 반응을 종결시켰다. 그 후 반응산물을 3%의 agarose gel(NuSieve 3:1 agarose)에 sample과 loading buffer(0.5% BPB, 50%Glycerol)를 loading한 후, 100V에서 30-40분간 전기영동하여 band를 확인하였다. 그림 1에서 보듯이, 시판중인 콩과 GM(genetically modified) 완두콩에 대하여 각각의 sample을 물에 soaking하여 발아시킨 다음 DNA를 추출하였다. PCR한 뒤, 전기영동 한 결과, 그림 1과 같이 positive control에서는 2개의

band (200bp 와 450bp)가 검출되었다. 강낭콩과 GM 완두콩에서 200bp의 PCR product가 검출되었으나, 콩나물콩에서는 어느 band도 검출되지 않았다. 한편, 옥수수샘플의 PCR에서는 BT(B. thringiensis) 옥수수만 215bp의 band가 관찰되었다.

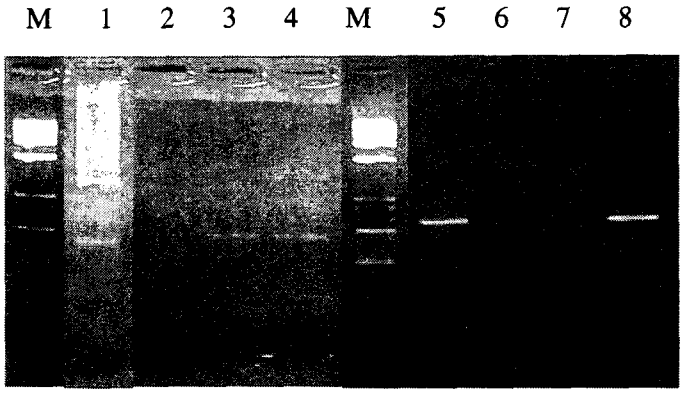

그림 1. LMO콩의 PCR 검증.

1. Positive control(콩), 2. 콩나물콩, 3. 강낭콩, 4. GM 완두콩, 5. Positive control(옥수수), 6. 흰옥수수, 7. 찰옥수수, 8. BT 옥수수.

PCR의 측정 범위가 어느 정도인지를 알아보기 위하여 validation test를 수행하였다. LMO 옥수수의 혼입정도를 각각 0.001~100%로 다양하게 sample을 조제하여 PCR을 수행한 결과 그림2와 같은 결과를 얻을 수 있었다. 그림2의 band에서 보듯이 1.0% 정도의 GM 옥수수의 DNA가 혼입되더라도 본 PCR 의 조건으로 검출이 가능하였다.

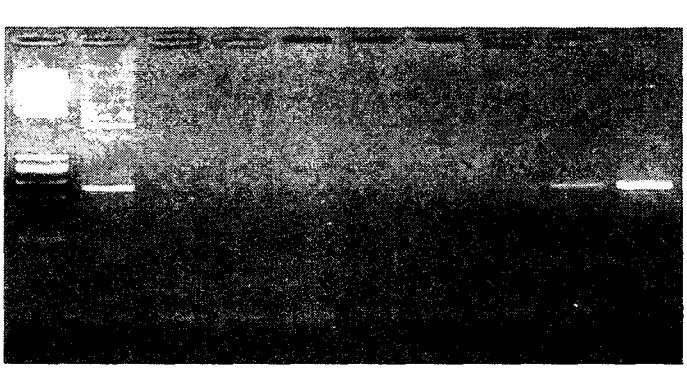

그림 2. LMO 옥수수의 validation test에 의한 PCR 검증.

1.Positive control(BT 옥수수), 2. 0.001% BT 옥수수, 3. 0.01% BT 옥수수 4. 0.05% BT 옥수수, 5. 0.1% BT 옥수수, 6. 0.5% BT 옥수수, 7. 1.0% BT 옥수수, 8. 5.0% BT 옥수수, 9. 100.0% BT 옥수수

한편 그림 2에서 몇 %까지 BT 유전자가 혼입되어 있는지의 여부를 nested PCR로 확인해 본 결과 그림 3의 3번열과 같이 0.01%까지 혼입된 BT gene을 확인할 수 있었다.

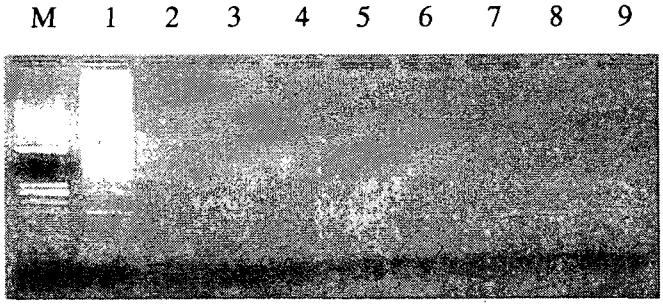

그림 3. LMO 옥수수의 nested PCR 검증.

1.Positive control(BT 옥수수), 2. 0.00% BT 옥수수, 3. 0.01% BT 옥수수 4. 0.05% BT 옥수수, 5. 0.1% BT 옥수수, 6. 0.5% BT 옥수수, 7. 1.0% BT 옥수수, 8. 5.0% BT 옥수수, 9. 100.0% BT 옥수수.

(3) 장기로의 전이 이동 확인

다음에는, mouse 사료에 냉동건조시킨 non-LMO 토마토와 LMO 토마토를 섞어 2주간 먹인 후, 각 group의 mouse 장기가 LMO gene을 흡수했는지를 장기 DNA의 PCR을 통해 확인하였다. 총 group 수는 일반 식이, non-LMO 토마토 식이, LMO 토마토 식이의 세 group이고, 장기는 위, 소장, 대장, 및 비장을 적출하여 marker gene인 resveratrol이 삽입되어 있는지의 여부를 확인하였다. 실험 결과, 각 group mouse의 위, 소장, 대장, 비장 모두에서 resveratrol이 삽입된 gene이 발견되지 않았고, 이로부터 각 장기에 전이되지 않았음을 확인하였다(그림 4).

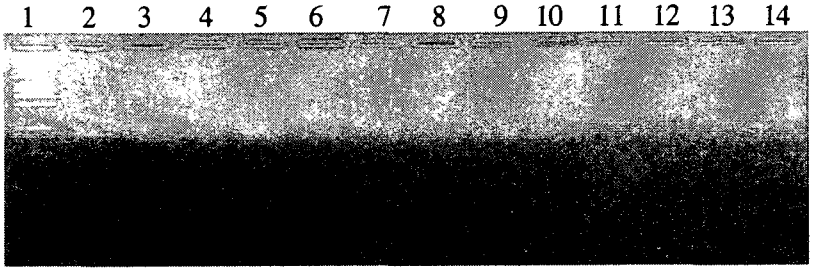

그림 4. Tomato 식이에 의한 mouse 장기로의 전이 확인.

Lane 1: Marker, lane 2: positive control, lane 3: 일반식이의 위 조직, lane 4: 일반식이의 소장조직, lane 5: 일반식이의 대장조직, lane 6: 일반식이의 비장조직, lane 7:non-LMO 식이의 위 조직, lane 8: non-LMO 식이의 소장 조직, lane 9: non-LMO 식이의 대장 조직, lane 10: non-LMO 식이의 비장 조직, lane 11: LMO (resveratrol trangenic tamato) 식이의 위 조직, lane 12: LMO (resveratrol trangenic tamato) 식이의 소장 조직, lane 13: LMO (resveratrol trangenic tamato) 식이의 대장 조직, lane 14: LMO (resveratrol trangenic tamato) 식이의 비장 조직.

(4) 인공위액 및 인공장액에 의한 LMO 산물의 안전성 시험

LMO와 non-LMO 식품의 알러젠 유발 여부를 검토하기 위하여 먼저 인공위액 및 인공장액에 의한 LMO 및 non-LMO tomato 내의 단백질 또는 특이 알러젠의 digestion 여부를 in vitro에서 실험하였다. 5 ㎎/㎖의 식품알러젠(bovine serum albumin, casein, beta-lactoglobulin, ovalbumin 등)을 10 ㎕ 넣고, 1× 인공위액 200㎕와 160 mM의 Na2CO3 75㎕를 mix하여 각각 일정시간동안 반응시킨다. 그 후, 각각을 eppendorf tube에 sample 16 ㎕ 에 5×sample Buffer(SB) 4 ㎕에 넣고 boiling한 다음, PAGE-gel에 loading하였다. Sample은 20㎕ 씩 넣고, running 하였으며 전기영동 후, Coomassie Brilliant Blue로 염색을 하고 destining을 한 뒤 건조시켜 band를 확인하였다. 그 결과 사용된 식품알러젠이 인공위액이나 장액에 의하여 신속하게 분해되고 다른 장기로의 전이가 거의 일어나지 않을 것으로 추정되나 지속적인 monitering이 필요할 것으로 판단된다.

결 언

따라서 친환경 농산물의 고부가 가치화를 위하여 비록 아직까지 명확하게 확인되어 학계로부터 인정되지는 않았다 하더라도, 유전자변형 농작물로부터 발생할 수 있는 인체 및 환경위해성에 대한 경각심을 고취시킬 필요성은 충분하며, 신토불이의 친환경 농산물(이 경우에는 광범위한 의미에서의)에 대한 안전성 검증을 통하여 차별화를 하며 기존의 농산물에서 새로운 기능을 발견하며 새로운 용도를 개발하여 기존의 단순 섭취나 단순가공에서 탈피하여 고부가 가치화시키지 않는다면 미래의 한국농업에서의 식품생물산업은 더욱 힘든 여정을 겪게 될지도 모른다.

참고문헌

1. 김성욱 외. 유전자변형생물체의 위해성 평가를 위한 기초기반 기술 구축. 환경부, p1-474, 2003.
2. Losey, J.E., Rayor, L.S., Carter, M.E. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 399, 214, 1999.
3. Falk, B.W., Bruening, G. Will transgenic crops generate new viruses and new diseases? *Science*, 263(5152),1395-1396, 1994.
4. Kim, Y.T., Park, B.K., Hwang, E.I., Yim, N.H., Kim, N.R., Kang, T.H., Lee, S.-H., Kim, S.U. Investigation of possible gene transfer to soil microorganisms for environmental risk assessment of genetically modified organisms. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 14, 498-502, 2004.
5. Kim, Y.T., Park, B.K., Hwang, E.I., Yim, N.H., Lee, S.-H., Kim, S.U. Detection of recombinant marker DNA in genetically modified glyphosate-tolerant soybean and use in environmental risk assessment. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 14, 390-394, 2004.
6. 문제선, 김형진, 한상배, 이상한, 박성규, 김환묵. Polymerase chain reaction을 이용한 유전자변형식품의 GMO 검사기법. 2002년 한국식품위생안전성학회 춘계학술발표대회초록집. p.43-53, 2002년 5월 31일, 서울대 삼성컨벤션센타, 서울.
7. Kim, Y.T., Park, B.K., Hwang, I.K., Lee, S.-H., Kim, H.M., and Kim, S.U. Monitering of genetically modified *Pseudomonas* strain released into the envirnment. 2001年 한국산업미생물학회, 천안상록리조트, p.34, 2001年6月 20일-22일.
8. 이상한, 육은수, 홍동호, 김형진, 김환묵. The fate of marker gene of LMO products after administration to animals. 2000년 추계 한국생화학회, 인바이오넷, 대전, p.100, 2000년 10월 6일.