

가공조건에 따른 GM corn *Bt11*의 유전자 변화와 모니터링

이철수 · 김영찬 · 황순옥 · 강상모^{1,*}
한국보건산업진흥원, ¹건국대학교

Changes in DNA Fragments in *Bt11* Corn Caused by Processing Conditions and Their Monitoring

Cheol-Su Lee, Young-Chan Kim, Soon-Wook Hwang, and Sang-Mo Kang^{1,*}
Korea Health Industry Development Institute
¹Department of Microbiological Engineering, KonKuk University

Genetically Modified (GM) corn '*Bt11*' was developed to promote insect resistance using cryIA (b) gene derived from *Bacillus thuringiensis*. Effects of heat, pressure, and α -amylase on DNA fragment degradation in *Bt11* corn were examined through PCR. Whereas DNA fragment degraded completely within 4 min at 150°C and by autoclave, most remained after oil-frying, boiling, and drying-autoclave. Treatment of α -amylase enzyme did not affect DNA fragment degradation. Among 65 corn-processed foods analyzed, 9 were detected as GM corn-containing foods (13.6%).

Key words: *Bt11*, GM corn, PCR, DNA fragment, monitoring

서 론

제2의 녹색혁명으로 불리는 유전자재조합농산물(Genetically Modified Organism, GMO)은 면화, 토마토, 감자, 옥수수, 대두 등 70여종이 개발되었으며 2000년 현재 전세계적으로 4,200ha에서 재배되고 있다(1). 옥수수는 식량공급원으로 중요한 곡물로서 우리 나라의 경우 국내 자급량이 매우 적어 연간 8백여 만톤을 수입하며 그 중 가공용 2백여 만톤, 사료용 6백여 만톤으로 대부분 사료용으로 수입되고 있다. 수입 옥수수는 미국산이 전체의 31%를 차지하고 있으며 가공용은 가공업체에서 직접 수입하여 가공에 이용하고 있고, 사료용은 사료업체에서 직접 수입하여 판매하고 있다. 주요 곡물 수출국인 미국은 총 옥수수의 재배면적 중 유전자재조합 옥수수의 30%가 해충저항성 유전자재조합 옥수수이다. 옥수수는 *Bacillus thuringiensis*의 cryIA(b) 유전자와 *Streptomyces viridochromogenes*의 phosphinothricin acetyl transferase 등의 제초제 저항성유전자를 삽입한 제초제저항성 옥수수로 개발되어 왔다(2,3). 유전자재조합농작물의 이용 확대와 소비자들의 건강에 대한 관심이 높아지면서 유럽, 일본 등의 곡물 수입국가는 대부분 각국의 규정에 의한 표시제를 시행하고 있으며, 우리 나라는 2001년 7월부터 유전자

재조합 콩 및 옥수수를 원료로 사용한 가공식품에 대해 유전자재조합 작물의 혼입 여부를 표시하도록 하고 있다(4).

현재 GM 옥수수 *Event176*, *Bt11*, *T25*, *GA21*, *MON810*, *NK603* 등의 품종에 대한 정성 PCR 분석방법이 알려져 있으며, 이들은 caluiflower mosaic virus 유래의 35S(CaMV)가 삽입 유전자로 조합되어 있으므로 유전자 함량을 지표로 해서 이들 품종의 혼합물에 대해서는 함량을 추정할 수 있다(5-7). 이와 더불어 GM 옥수수는 많은 품종이 존재하므로 광범위한 품종을 분석하기 위해 옥수수에 보편적으로 존재하는 Zein 혹은 starch synthase IIb(SSIIb)를 내재유전자로 하여(8,9) 35S promoter와 NOS terminator유전자를 탐지하여 판별하는 PCR 분석방법이 보고되고 있다(10-19). 옥수수의 경우 대부분 가공원료로 수입되고 있으며, 이를 원료로 하여 사료와 스낵류, 유지류, 당류 등의 제조·가공 시 여러 단계의 가공공정을 거치므로 내부에 존재하는 유전자가 파괴되기 쉽다. 특히 옥수수가공식품의 경우 옥수수를 이용한 전분당이나 옥배유의 경우와 같이 고도의 정제과정을 거치는 가공식품은 핵산이 대부분 소실되어 재조합 유전자의 검출이 불가능한 품목으로 알려져 있어 표시예외의 대상품목으로 지정되어 있다(4).

본 연구에서는 국내 수입되는 GM 옥수수 중 수입량이 많은 GM 옥수수이며 삽입유전자 35S promoter, NOS terminator를 모두 가진 *Bt11*을 이용하여 제조공정 중 유전자변화를 일으킬 수 있는 주요 요인인 열, 압력 및 효소 등에 대한 내재유전자 및 35S promoter, NOS terminator유전자의 변화와 손실시점 등을 비교 분석하였다. 또한 실제 옥수수 전분당 생산공정 단계별로 유전자의 손실을 분석하여 가공공정 중 유전자 변화와 변성시점 및 분석이 불가능한 원인에 대하여 연구를 하였다. 이러한

*Corresponding author : Sang-Mo Kang, Department Microbiological Engineering, KonKuk University, Hwa-Yang dong 1, Kwang-Jin gu, Seoul 143-701, Korea
Tel: 82-2-450-3524
Fax: 82-2-3437-8360
E-mail: kangsm@konkuk.ac.kr

결과를 토대로 시중 옥수수 가공식품 65종의 내재유전자 및 삽입유전자 35S promoter, NOS terminator에 대한 정성 PCR분석을 하여 국내 옥수수 가공식품 중 GM 옥수수의 사용실태를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 가공조건별 유전자의 변화를 연구하기 위한 옥수수는 미국곡물협회에서 제공된 유전자재조합옥수수 *Bt11* 품종을 사용하였다. Fig. 1은 *Bt11* 옥수수의 삽입유전자와 구조유전자를 도식화한 것이다. 전분당 생산은 관련업체의 도움을 받았으며, 시중에서 구입된 일반 옥수수를 사용하여 연구를 수행하였다. 모니터링 연구에 사용된 옥수수 가공식품은 대형마트와 일반소매점에서 65품목을 구입하여 분석하였다. 그 외 사용된 시약은 특급을 사용하였다.

Primer의 제작

옥수수의 검출을 위한 프라이머들은 Table 1과 같다. Nopaline synthase(NOS) terminator gene 및 cauliflower mosaic virus의 35S promoter(CaMV 35S) gene을 근거로 Genebank를 통하여 제작하였다(20). 옥수수 품종을 나타내는 대조구 유전자는 Zein gene에 대하여 primer를 제작하였다.

DNA의 추출

DNA의 추출은 *DNeasy plant mini prepTM*(Qiagen, USA)법과 *PowerprepTM*(Kogenbiotec, Korea)법을 병용하여 사용하였다. 시료는 100mg을 채취하여 3회 반복하여 분석하였으며, 추출된 DNA들은 UV-spectrophotometer(Jasco 3200, Japan)를 이용하여 260 nm에서 정량 하여 사용하였다. 한편 추출한 DNA는 0.5%의 agarose gel(Takara, Japan)상에서 50V로 20분 동안 전기영동하여 추출된 DNA의 상태를 확인을 하였으며, marker로는 100 bp DNA Ladder(Bioneer, Korea)를 사용하였다.

PCR조건

PCR을 위한 반응용액은 DNA농도에 따라 DNA농도를 20 ng/ μ L로 준비하였다. 반응용액 조성은 10 \times PCR buffer 5 μ L (Takara, Japan), primer mixture 4 μ L(10 pM/ μ L), Taq DNA polymerase (Takara, Japan) 1 unit(1 μ L), DW 10 μ L로 최종 반응액이 25 μ L가 되도록 조성하였다. 주형 DNA는 농도에 따라 1 μ L 부피로 희석하여 thermocycler(Perkin Elmer 5700, USA)를 이용하여 PCR을 수행하였다. PCR조건으로 첫 cycle에서 1분간 94°C에서 수행을 한 후, 94°C에서 20초, 60°C에서 40초, 72°C에서 30초씩 37 cycle을 수행하였으며, 마지막 단계로 72°C에서 8분간 수행한 후, 4°C에서 PCR산물을 보존하였다. PCR산물은 1.5% agarose gel상에서 전기영동 후, Image analysis system(Bioneer, Korea)을 사용하여 산물의 크기 및 양을 확인하였다.

열처리 조건에 따른 *Bt11* 유전자의 변화

열처리는 전자렌지, 볶음(직접가열), 유당, extruder처리(일명 '뽕튀기') 등의 조건으로 나누어 실험하였다. 실험에 사용된 *Bt11* 옥수수는 Blender(Hanil, Korea)를 이용하여 250 mesh를 통과할 수 있도록 미세하게 분쇄하였다. 분쇄된 100% *Bt11* 옥수수 시료에 non-GM(비형질전환)으로 확인된 옥수수가루를 중량비율로 혼합하여 우리 나라 표시기준 한계치인 3%(w/w)가 되도록

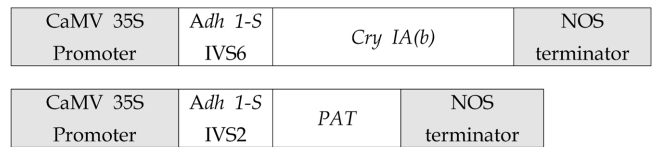


Fig. 1. Schematic diagram of structural gene and inserted gene of *Bt11* corn.

CaMV 35S promoter: Cauliflower mosaic virus 35S promoter, NOS terminator: Nopaline synthase(NOS) terminator gene, *CryIA(b)*: Insect control protein *CryIA(b)* derived from *Bacillus thuringiensis*, PAT: phosphinothricin N-acetyltransferase (PAT) which confers tolerance to glufosinate, *Adh 1-S* IVS6: Intron from maize alcohol dehydrogenase 1S gene, *Adh 1-S* IVS2: IVS 2 intron from maize alcohol dehydrogenase.

Table 1. Sequence of primers for detection of GM corn

| Primer/probe | Oligonucleotide sequence (5'→3') | Product size (bp) |
|----------------------|---------------------------------------|-------------------|
| Zein-F ¹⁾ | 5'-ctc cca atc cttt gac atct gc-3' | 117 |
| Zein-R ²⁾ | 5'-cct gtc acc aag aga gaa atc ga -3' | |
| 35S-F | 5'-atc att gcg ata aag gaa ag-3' | 130 |
| 35S-R | 5'-aat cca ctt gct ttg aag ac-3' | |
| NOS-F | 5'-ata att gcg gga ctc taa tc-3' | 132 |
| NOS-R | 5'-gcc ggt ctt gcg atg att-3' | |

¹⁾Forward primer.

²⁾Reverse primer.

조제하였다. 전자렌지 가열은 시료를 10 g씩 균질하게 비이커에 담아 전자렌지(Samsung REC-230, Korea)의 '간편모드'에서 가열한 후 1분 간격으로 꺼내어 시료를 준비하였다. 볶음은 hotplate(Jenway 1000, USA) 표면온도를 150°C로 유지 후 시료 10 g을 팔고루 저어주면서 30초, 1분, 2분, 3분 간격을 시료를 채취하여 분석하였다. 유당처리에 사용한 기름은 옥수수 유래의 DNA 검출을 최소화하기 위하여 올리브유를 이용하였다. 옥수수 분말을 반죽하여 2 g씩 원형 편상(ϕ 2 cm) 모양으로 성형한 후 상온에서 2시간 건조시켰다. 이를 미리 150°C로 가온된 오일조(Tecator 1046, USA)에서 1분에서 6분까지 유당 처리 후 1분 간격으로 꺼내어 시료를 준비하였다. 또한 *Bt11* GM옥수수 원곡을 extruder를 이용하여 extrude corn을 제조 후 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA시료들은 내재유전자, 35S promoter부위와 NOS terminator부위를 정성 PCR분석을 통하여 유전자 변화를 분석하였다.

온도, 수분, 압력을 포함하는 열처리 후의 유전자의 손실 효과

Bt11 옥수수 원료의 가열처리 과정에서 온도, 수분, 압력에 의한 복합처리 과정에서의 유전자의 변화는 3%(w/v)의 옥수수 용액 10 mL를 100°C로 20분간 증탕하여 상압가열의 효과를 분석하였다. 또한 고압증기멸균기(Hirayama HVE60, Japan)에서 3%(w/v)의 옥수수 용액 10 mL와 건조분말 10 g을 멸균(121°C, 1.5기압, 20분)후 상온에서 동일한 용액함량으로 조정 후 DNA를 추출하여 PCR분석을 실시하였다. 건열 조건에서의 유전자의 변화를 비교하기 위하여 건조기(Jisico J-DH4, Korea)에서 121°C에서 2시간 건조한 후 DNA를 추출하여 비교하였다.

당화효소에 의한 옥수수 GM유전자의 영향

당화효소는 α -amylase(from *Bacillus amyloliquefaciens* Sigma A7975, USA)를 사용하였으며 standard buffer는 0.05 M NaCl과

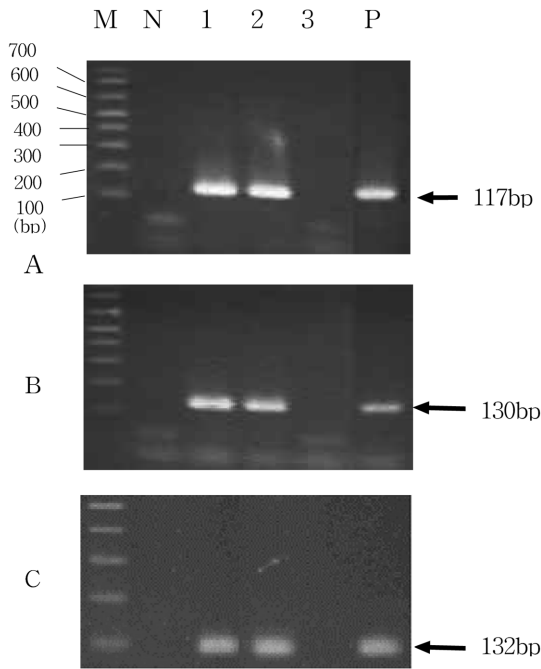


Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of PCR products from Zein, 35S promoter, NOS terminator on *Bt11* corn after microwave heat treatment.

A: Zein detection, B: 35S promoter detection, C: NOS terminator detection, lane M: marker (100 bp DNA Ladder, Bioneer™ Korea), lane N: Negative Control, lane P: Positive Control, lane 1: 1 min., lane 2: 2 min., lane 3: 3 min.

0.01 mL CaCl₂를 포함한 pH 6.9의 0.05 M potassium phosphate buffer를 사용하였다. 당화 효소 반응은 3%(w/v) *Bt11* 전분용액 0.5 mL를 0.05 M potassium phosphate buffer에 용해하여 α-amylase을 50, 25, 10, 5, 1, 0.1, 0.01% 가 되도록 첨가하고 40°C에서 30분간 반응시켰다. 반응 종료는 dinitrosalicylic acid reagent(DNS)를 첨가하고 100°C로 10분 가열하여 반응을 중지시키고, 냉각한 후 DNA를 추출한 후 PCR분석을 하였다.

옥수수 전분당 제조시의 유전자의 변화 비교

옥수수 전분당 제조시 옥수수유전자의 변화를 분석하기 위하여 제조공정별로 시료를 채취하여 분석하였다. 옥수수 전분당의 제조공정은 옥수수 원료를 침지 하여 옥수수전분을 제조하고 당화효소를 처리하여 당화액을 제조하는 당화공정과 탈색, 여과 등을 거쳐 전분당을 생산하는 정제공정으로 나눌 수 있다. 단계별 분석을 위하여 옥수수, 침지옥수수, 옥수수전분, 전분유액, 액화액, 액당당화액, 액당여과배출, 액당탈색배출, 액당음이온배출, 액당양이온배출, 액당 60, 무수결정포도당 순으로 나누어 각 단계별로 500 g(mL)의 시료를 채취하였다. 채취된 시료는 내재유전자, 35S promoter부위와 NOS terminator부위를 탐지하는 정성 PCR분석을 통하여 유전자 변화를 분석하였다.

시중제품의 모니터링 분석조사

시중에서 유통되는 제품 중 옥수수를 원료로 사용한 가공식품 65종 구입하여 분석하였다. 분석시료는 옥수수가공식품의 대표성을 갖기 위해 시중에서 구입한 통조림, 스낵류, 분말류, 전분류, 전분당류, 기타 제품 등으로 나누어 분석하였다.

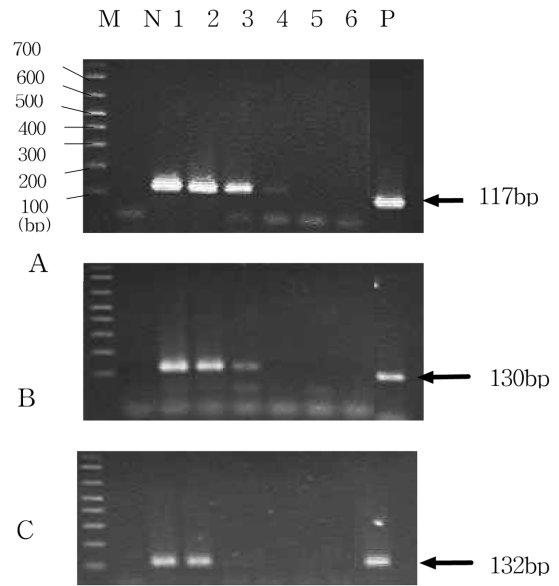


Fig. 3. Agarose gel electrophoresis of PCR products from Zein, 35S promoter, NOS terminator on *Bt11* corn as direct heating and extruder treatment.

A: Zein detection, B: 35S promoter detection, C: NOS terminator detection, lane M: marker (100 bp DNA Ladder, Bioneer™ Korea), lane N: Negative control, lane P: Positive control, lane 1: Not treated, lane 2: 30 second, lane 3: 1 minute, lane 4: 2 minute, lane 5: 3 minute, lane 6: extrude corn.

결과 및 고찰

옥수수의 가열공정에 따른 유전자의 변화

가열처리공정은 옥수수를 이용하여 제품을 생산하는데 가장 일반적인 물리적인 변성 요인이며, 그 중 전자렌지는 고주파를 이용하여 물체의 내부에 들어있는 물분자를 고속으로 진동시켜 발생하는 열로 가열하는 방식이다. 실험에 사용된 *Bt11* 옥수수의 유전자는 *Bacillus thuringiensis*의 *CryIA(b)* 유전자를 삽입 유전자로 가지고 있어(8) *Bacillus*속의 고유의 특성인 내열성을 가질 것으로 추측되었다. 실험 결과 고주파를 이용한 전자렌지 가열의 경우 처리 1분과 2분 사이에서는 내재유전자가 거의 변화 없이 보존되었으며, 삽입유전자인 35S promoter, NOS terminator도 잘 보존되었다(Fig. 2). 가열 3분 이후에는 수분의 증발로 갈변되기 시작하면서 내재유전자와 삽입유전자 모두 소실되었다. 이는 수분의 증발에 의한 건조과정이 유전자내의 공유결합에 영향을 주어 유전자가 소실된 것으로 보이며, 삽입된 *CryIA(b)*에 의한 유전자의 내열성 증가 등의 변화는 관찰되지 않았다.

150°C의 hotplate에서 직접 가열하는 경우는 옥수수차를 만드는 공정에서 주로 응용되며, 고주파를 이용한 전자렌지의 열처리 결과보다 옥수수 유전자의 소실이 약간 빠른 것으로 나타났다(Fig 3). 가열 후 30초와 1분간은 내재유전자 및 35S promoter와 NOS terminator유전자가 잘 보존되었으나 2분 이후에는 열에 의하여 대부분의 유전자가 소실되었다. 특히 직접 가열하는 경우 1분이 경과한 이후 NOS terminator가 35S promoter에 비하여 약간 먼저 소실되었으며(Fig. 3의 lane 3), 이는 구조적인 차이점으로 인하여 NOS terminator가 열 등의 물리적인 변성요인에 대하여 민감하기 때문인 것으로 추정되었다. 이러한 결과는 Yamakuchi 등(21)의 유전자의 안정성 면에서

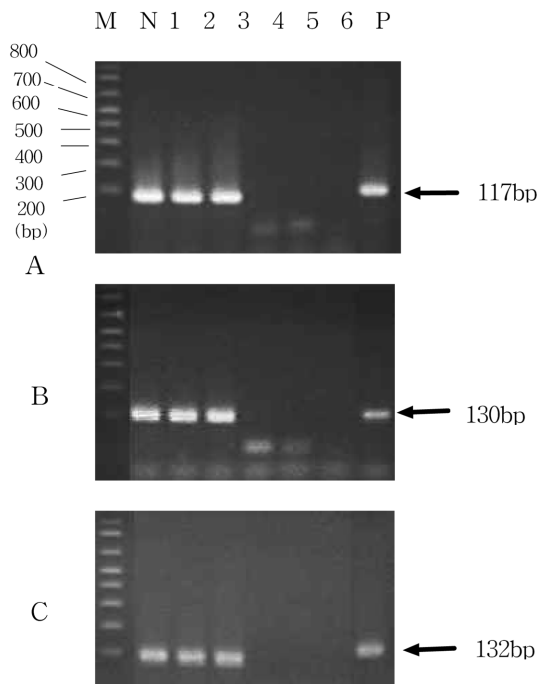


Fig. 4. Agarose gel electrophoresis of PCR products from Zein, 35S promoter, NOS terminator on *Bt11* corn as olive oil frying.

A: Zein detection, B: 35S promoter detection, C: NOS terminator detection, lane M: marker (100 bp DNA Ladder, Bioneer™ Korea), lane P: Positive control, lane 1: 1 minute, lane 2: 2 minute, lane 3: 3 minute, lane 4: 4 minute, lane 5: 5 minute, lane 6: 6 minute.

35S promoter가 NOS terminator에 비하여 안정하다는 결과와 일치하였다.

옥수수 유탕처리에 의한 유전자 손실을 비교

유탕처리는 콘칩이나 옥수수과자를 생산하는 공정을 기준으로 하였다. 튀김공정으로 올리브유를 이용하여 *Bt11* 옥수수를 150°C에서 유탕처리 후 시간별로 유전자의 변화를 비교하였다. 그 결과 Fig. 4와 같이 1-3분까지 내재유전자와 삽입유전자가 모두 안정적으로 보존되었으며, 4분이 경과한 이후에 유전자가 소실되었다. 이는 전자렌지나 직접가열에 비하여 2배 이상 유전자가 안정적으로 보존됨을 의미하며, 동일한 온도라도 가열매체의 차이에 의하여 변성도의 차이가 발생함을 알 수 있었다. 유탕처리에 의한 유전자 손상은 다른 가열매체에 비하여 적으며, 유탕처리 가공식품은 다른 가공처리 방식의 식품에 비하여 유전자가 잘 보존될 것으로 판단된다.

온도, 수분, 압력에 의한 열처리 가속효과

멸균과정에서 수분의 함유 유무에 따라서 유전자의 분해 정도에 차이가 나타났다. Fig. 5와 같이 용액상태로 멸균하는 경우는 Zein, 35S promoter, NOS terminator가 모두 소실되었으나, 분말상태로 멸균한 경우는 증폭산물의 intensity변화 없이 잘 보존됨을 알 수 있었다. 이는 압력에 의하여 물분자의 활성도가 증가하여 유전자의 결합에 손상을 준 것으로 생각되었다. 반면, 상압에서는 100°C로 증탕가열 후에도 유전자가 잘 보존되는 것으로 분석되었다. 건조기에서 150°C 2시간 가열한 경우 Fig. 5의 lane 3과 같이 증폭산물의 intensity는 다소 떨어지나 내재유전자 및 삽입유전자가 모두 잘 보존됨을 알 수 있었다. 온도, 수분, 압력이 복합적으로 작용하는 멸균가공 제품으

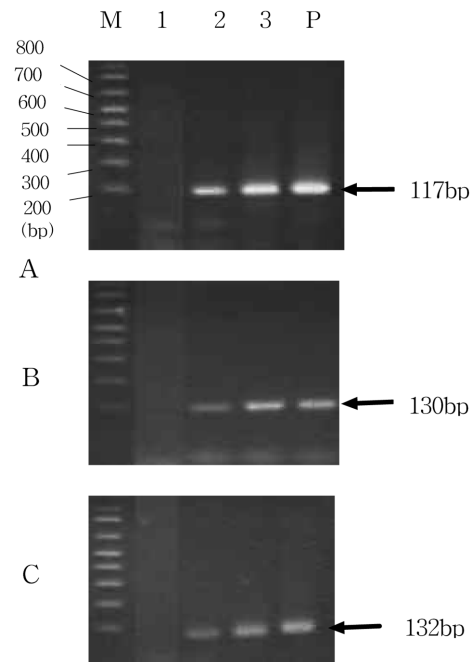


Fig. 5. Agarose gel electrophoresis of PCR products from Zein, 35S promoter, NOS terminator on *Bt11* corn as comparative study for autoclave, drying- autoclave, and drying at 121°C.

A: Zein detection, B: 35S promoter detection, C: NOS terminator detection, lane M: marker (100 bp DNA Ladder, Bioneer™ Korea), lane P: Positive control, lane 1: Autoclave (121°C 15 min (minute)) on corn solution, lane 2: Autoclave (121°C 15 min (minute)) on corn powder, lane 3: drying (121°C 2 hr).

로는 통조림이 대표적이며, 옥수수 통조림이 완벽한 멸균처리가 된다면 유전자가 소실되어 검출되지 않을 것으로 추정된다. 반면, 건조상태로 멸균하는 경우에는 옥수수 유전자가 잔존하므로 옥수수 분말 및 관련 제품들은 멸균처리의 여부와 관계없이 재조합 유전자가 보존될 가능성이 높은 것으로 판단된다.

당화효소처리에 의한 옥수수 유전자의 변화

당화효소 α -amylase에 의한 효소 반응 후 유전자의 손실을 분석한 결과 Fig. 6과 같이 내재유전자와 삽입유전자의 희석배율과 효소의 농도와 관계없이 유전자의 손실은 관찰되지 않았다. 전분의 당화과정에서 작용하는 효소는 전분의 α -1,4 결합에만 영향을 주며 DNA에는 손상을 미치지 않는 것으로 판단된다. 실제로 전분당의 제조 시 당화처리에 의해서는 DNA의 손상을 받지 않는 것으로 분석되었다.

옥수수 전분당 제조시의 유전자의 변화

옥수수 전분당의 제조과정은 옥수수를 침지하여 전분을 제조하고 당화효소 및 이성화당효소 반응으로 전분을 당화 시켜 포도당과 과당으로 만드는 과정으로(22) 제조공정을 14단계로 나누어 단계별로 내재유전자와 삽입유전자의 변화를 분석하였다. 원료 옥수수를 침지하고 전분을 제조하는 과정에서는 내재 유전자 Zein이 잘 보존되었고, 전분유액에서도 내재 유전자는 잘 보존되었다(Fig. 7). 전분유액의 난용성 전분처리를 위하여 고온 고압으로 처리 후 당화효소의 반응에 의한 액당당화액 제조과정에서는 미약하게 내재유전자가 분석되었다(Fig. 7, lane 4). 이러한 DNA의 소실은 당화효소에 의한 영향보다는 고온 고압으로 처리과정에 의한 영향이라고 판단되었으며, 액당당화

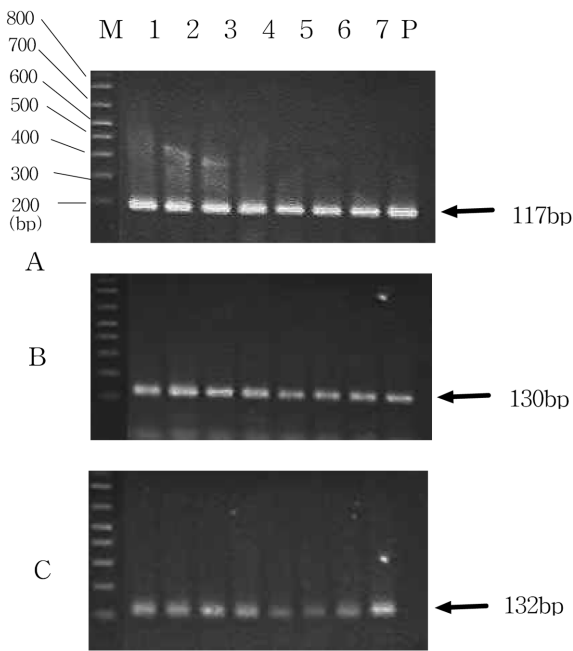


Fig. 6. Agarose gel electrophoresis of PCR products from Zein, 35S promoter, NOS terminator on *Bt11* corn by α -amylase treatment.

A: Zein detection, B: 35S promoter detection, C: NOS terminator detection, lane M: marker (100 bp DNA Ladder, Bioneer™ Korea), lane P: Positive control, lane 1: not treated, lane 2: 50%, lane 3: 25%, lane 4: 10% , lane 5: 5% , lane 6: 1%, lane 7: 0.1%.

액에서 액당여과배출로 진행되는 공정에서는 액당과 반응슬러지를 분리되는 여과과정으로 대부분의 유전자가 이 공정에서 제거되는 것으로 분석되었다(Fig. 7, lane 6). 여과된 액당을 탈색·이온 교환하여 포도당을 제조하는 정제공정에서는 어떠한 유전자도 검출되지 않았다. 이러한 결과로 미루어 전분당의 유전자재조합 여부의 분석은 전분유액 단계가 적합하며, 전분유액을 당화효소 처리하여 당화액이 된 이후에는 열손상에 의해 적은 양의 DNA만 잔존하게 되므로 분석단계로는 적합하지 않은 것으로 생각되었다. 정제공정에는 여과배출에 의하여 DNA

가 제거된 이후이므로 유전자 분석이 불가능한 것으로 판단된다.

옥수수 가공식품의 모니터링 조사

옥수수 가공식품에서 GM옥수수 사용여부는 내부유전자인 Zein과 삽입유전자인 35S promoter와 NOS terminator를 이용하여 판정하였다(7). 시중에 유통되고 있는 옥수수 가공식품 중 65건에 대하여 PCR분석을 실시한 결과 13.6% 인 9건에서 GM 옥수수 원료를 사용한 것으로 분석되었다(Table 2). 콘칩과 나초와 같은 유통처리 과자류에서 2건이 검출되었으며, 옥수수 분말인 옥수수빵 믹스와 비스킷에서 1건씩 검출되었다. GM 옥수수 원료를 사용한 울무차와 쇠고기 수프에서 각각 1건씩 GM 옥수수 원료의 사용이 확인되어, 제품명과는 달리 GM 옥수수 원료를 사용하고 있는 것으로 분석되었다. 울무차의 경우 미국산 옥수수 전분을 20%, 쇠고기 수프는 미국산 옥수수가루를 24.3%함유하고 있어 미국산 옥수수가루에 GM옥수수가 포함되어 있음을 알 수 있었다. 옥수수 전분당과 팝콘, 옥수수 통조림, 전분당에서는 유전자를 검출 할 수 없었다. 팝콘용 옥수수의 경우 내재유전자는 검출이 잘 되나 삽입유전자가 검출되지 않아 유전자재조합 원료를 사용하지는 않는 것으로 판명되었다. 콘플레이크 역시 내재 유전자는 검출이 되었으나 삽입유전자는 검출되지 않았다. 전분당과 옥수수통조림, 빵튀기, 옥수수 기름에서는 옥수수의 유전자가 전혀 검출되지 않아, 공정단계 별 실험 결과에서 열처리 후 유전자가 소실되는 결과와 일치하였다. 콘칩과 나초와 같은 유통처리 제품에서의 내재유전자 및 삽입유전자의 검출은 유통처리 후 다른 열처리 조건보다 유전자가 보존될 가능성이 높다는 모의실험결과와 일치하는 결과로, 유통처리제품은 유전자가 잘 보존되어 GM 옥수수의 검출이 용이할 것으로 판단된다.

요 약

유전자재조합 옥수수 *Bt11*을 이용하여 가공조건에 따른 유전자의 변화를 조사한 결과, 직접 가열하여 탄화 혹은 갈변되거나 수분을 함유한 멸균조건에서는 내재유전자 및 삽입유전자는 완전히 소실되는 것으로 나타났다. 반면, 유통처리나 건조상태의 멸균, 단순 건조 등의 방법으로는 유전자의 많은 양

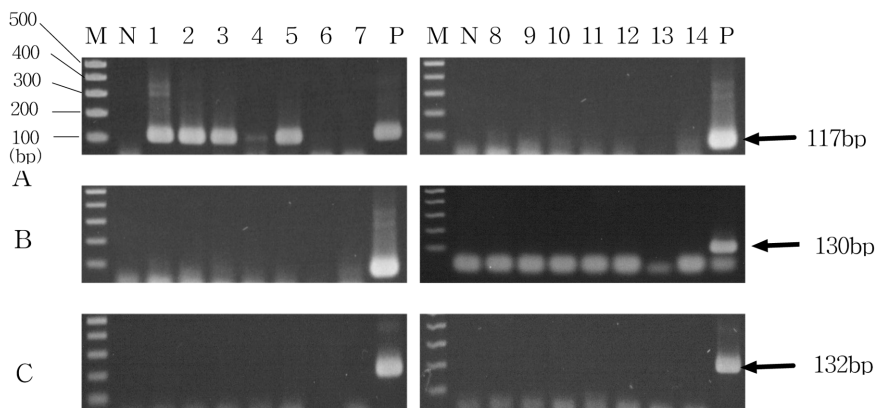


Fig. 7. Agarose gel electrophoresis of PCR products from Zein, 35S promoter, NOS terminator on corn syrup producing process.

A: Zein detection, B: 35S promoter detection, C: NOS terminator detection, lane M: marker (100 bp DNA Ladder, Bioneer™ Korea), lane N: Negative control, lane P: Positive control, lane 1: corn powder, lane 2: soakan corn, lane 3: corn starch, lane 4: liquified starch, lane 5: starch solution, lane 6: filtered solution, lane 7: discard of filtered syrup, lane 8: decolor, lane 9: syrup anion 1st drain, lane 10: syrup cation 1st drain, lane 11: syrup anion 2nd drain, lane 12: syrup cation 2nd drain, lane 13: syrup 60, lane 14: glucose.

Table 2. GM corn containing processed foods in the Korean market

| Sample classification | Nos ¹⁾ | 35S ²⁾ | Zein | Counts of Positive | Counts of Negative |
|-----------------------|-------------------|-------------------|------|--------------------|--------------------|
| Yulmu tea | D | D | D | 1 | 0 |
| Corn chip | D | D | D | 2 | 7 |
| Bread mix | D | D | D | 1 | - |
| Nacho | D | D | D | 2 | - |
| Biscuit | D | D | D | 1 | 5 |
| Beef soup | D | D | D | 1 | 0 |
| Corn soup | D | D | D | 1 | 1 |
| Corn syrup | ND | ND | ND | - | 4 |
| Popcorn | ND | ND | D | - | 6 |
| Corn tea | ND | ND | ND | - | 2 |
| Corn flake | ND | ND | D | - | 4 |
| Corn starch | ND | ND | ND | - | 3 |
| Corn oil | ND | ND | ND | - | 5 |
| Extrude corn | ND | ND | ND | - | 3 |
| Boiled corn can | ND | ND | ND | - | 3 |
| Ham | ND | ND | ND | - | 4 |
| Etc | ND | ND | ND | - | 9 |
| Total | | | | 9 | 56 |

¹⁾Nopaline synthase (NOS) terminator.

²⁾35S promoter (CaMV 35S) gene, D: detected, ND: Not detected

이 보존됨을 알 수 있었다. 당화효소를 이용한 효소처리에서는 유전자에 영향을 주지 않는 것으로 나타났으며 실제 가공생산 공정에서도 전분당의 생산공정에서 효소처리 단계에서는 영향이 없었고 이후 당화액을 여과하는 과정에서 유전자가 소실되는 것으로 나타났다. 이러한 모의 실험결과를 토대로 가공식품을 65종 모니터링 분석한 결과 13.6%인 9종에서 유전자재조합 옥수수를 사용한 것으로 확인됐으며, 콘칩 등의 과자류에서 사용이 많은 것으로 나타났다. 특히 미국산 옥수수 분말을 사용한 울무차, 쇠고기 수프, 옥수수 수프, 식빵믹스 등에서 GM 옥수수의 검출빈도가 높았으며, 옥수수통조림, 전분당, 식용유, 팥콘류 등에서는 검출되지 않았다.

감사의 글

본 논문은 2001년도 과학재단 특정목적기초연구사업(관리번호 R01-2000-000-00188-0)의 일환으로 수행된 연구결과와 일부이며 이에 감사하는 바이다.

문헌

- Economic impacts of genetically modified crops on the agri-food sector. Commission of the European Communities, London, UK (2000)
- Hurst CD, Knight A, Bruce IJ. PCR Detection of genetically modified soya and maize in food stuffs. *Molecular Breeding* 5: 579-586 (1999)
- Duijn GV, Biert RV, Marcelis HB, Hessing HP. Detection methods for genetically modified crops. *Food Control* 10: 375-378 (1999)
- KFDA. Regulation of genetically modified organism labelling. KFDA 2001-43. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea (2000)
- Gachet E, Martin GG, Meyer FV. Detection of genetically modified organisms (GMOs) by PCR: A brief review of methodologies available. *Trends Food Sci. Technol.* 9: 380-388 (1999)
- Luthy J. Detection strategies for food authenticity and genetically modified foods. *Food Control* 10: 359-361 (1999)
- Lipp M, Brodmann P, Piesch R, Pauwel K, Anklam J. IUPAC collaborative trial study of a method to detect genetically modified soybean and maize in dried powder. *J. AOAC Int.* 82: 923-928 (1999)
- Hupfer C, Hotzel H, Sache K, Engal KH. Detection of genetically modified insect-resistant Bt-Maize by means of polymerase chain reaction. *Food Control* 205: 442-445 (1997)
- ILSI Europe Report Series, Method development in relation to regulatory requirements for the detection of GMOs in the food chain. ILSI Europe, London, UK (2000)
- MacCormick CA, Griffin HG, Underwood HM, Gasson MJ. Common DNA sequences with potential for detection of genetically manipulated organisms in food. *J. Appl. Microbiol.* 84: 969-980 (1998)
- Schreiber GA. Challenges for methods to detect genetically modified DNA in foods. *Food Control* 10: 351-352 (1999)
- Meyer R. Development and application of DNA analytical methods for the detection of GMOs in food. *Food Control* 10: 391-399 (1999)
- Hubner P, Studer E, Luthy J. Quantitative competitive PCR for the detection of genetically modified organisms in food. *Food Control* 10: 353-358 (1999)
- Zimmermann A, Lithy J, Pauli U. Quantitative and qualitative evaluation of nine different extraction methods for nucleic acids on soya bean food samples. *Z. Lebensm. Unters Forsch A.* 207: 81-90 (1998)
- Stave JW. Detection of new modified proteins in novel foods derived from GMO-future needs. *Food Control* 10: 367-374 (1999)
- Lipp M, Anklam E, Brodmann, Pietsch K, Pauwels J. Result of an interlaboratory assessment of a screening method of genetically modified organism in soy bean and maize. *Food control* 10: 379-383 (1999)
- DIMF-GEN. Development of method to identify foods produced by means of genetic engineering. Dec. 15 (2000)
- Jankiewicz A, Broll H, Zagon J. The official method for the detection of genetically modified soybeans: a semi-quantitative study of sensitivity limits with glyphosate-tolerant soybean and

- insect-resistnat Bt maize. Eur. Food Res. Technol. 209: 77-82 (1999)
19. Hrdegger M, Brodmann P, Herman A. Quantitative detection of the 35S promoter and the NOS terminator using quantitative competitive PCR. Eur. Food Res. Technol. 209: 83-87 (1999)
20. Kim YB, You SW. Study for detection of glyphosate tolerant soybean using PCR, Korean J. Food Sci. Technol. 33: 521-524 (2001)
21. Yamakuchi T, Mouri M, Hujanami T. Disappear of DNA originate from soybean during Miso fermentation-recombinant DNA. Sci. Technol. Miso. 48: 399-402 (2000)
22. Kim BS, Park MH, Bae NG. Quality change of starch syrups during storage. Korean. J. Food Sci. Technol. 27: 729-735 (1995)

(2004년 4월 1일 접수; 2004년 4월 12일 채택)