형질전환 해충저항성 벼의 주요영양성분 및 항영양소 분석

이소영¹ · 박수윤¹ · 신공식¹ · 이진형¹ · 임명호¹ · 이시명¹ · 오선우¹ · 정응기² · 여운수^{1*}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 생물안전성과, ²농촌진흥청 국립식량과학원 답작과

Analysis of Key Nutrients and Anti-nutrients in Insect-resistant Transgenic Rice

So-Young Lee¹, Soo-Yun Park¹, Kong-Sik Shin¹, Jin-Hyoung Lee¹, Myung-Ho Lim¹, Si-Myung Lee¹,
Seon-Woo Oh¹, Eung-Gi Jeong², and Yunsoo Yeo^{1*}

¹Biosafety Division, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Jeonju 560-500, Korea

²Rice Research Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 441-857, Korea

Abstract : Content of key nutrients and anti-nutrients of the insect-resistant transgenic rice (Btt12R) developed in Korea that contains a *cryIIIA* insecticidal gene was compared with those of its non-transgenic counterpart (*Oryza sativa* L. cv. Nakdongbyeo). Grains of Btt12R, its parent cultivar, and two commercial rice plants (cv. Yeonganbyeo and Hwaseongbyeo) grown in the adjoining fields under the same environmental conditions and field management were used for this study. Among the analyzed 47 nutrients (8 proximates, 17 amino acids, 8 fatty acids, 9 minerals, and 5 vitamins) and two anti-nutrients (trypsin inhibitors and phytic acid), although the levels of 17 components differed between Nakdongbyeo and Btt12R, all of the measured values from Btt12R were within the ranges of values observed in the two typical Korean varieties and commercial rice provided by the OECD. These results confirm that the nutritional quality of rice grains was not affected by the insertion of the *cryIIIA* gene.

Keywords : Compositional analysis, Food safety, Transgenic rice, Insect resistance, CryIIIA

서 언

벼(*Oryza sativa* L.)는 국내뿐만 아니라 전세계에 걸쳐 분포하는 3대 곡류 중 하나로 전세계 인구의 절반가량이 주식으로 이용하고 있다(OECD 2004). 최근 소비자들의 생활수준이 향상되어 소비성향이 건강을 우선시 하는 식생활 패턴으로 옮겨지면서 농약의 사용을 최대한 억제한 친환경 고품질 쌀의 요구가 매우 높아지고 있다(Choi 2002). 생명공학기술의 발전으로 원하는 목적을 지닌 유전자를 타생물체에 삽입함으로써 다양한 유전자변형생물체, 즉 GMO (Genetically Modified Organism)들이 만들어지고 있다(Lee et al. 2010). 전세계적으로 GM작물은 1996년 170만 ha에서 재배되기 시작하여 2013년에는 27개국에서 GM작물의 재배면적이 1억 7

천만 ha로 100배나 급속히 증가 하였다(James 2013). 이렇듯 유전적으로 변형된 작물의 개발이 최근 몇 년간 계속해서 성장하고 있으며, 여러 나라에서 상업적인 GM작물 재배도 매년 증가하고 있다(James 2013). 특히, 제초제 또는 해충저항성을 갖도록 개발된 유전자변형 작물들은 생산비 절감에 따른 경제적 효과뿐만 아니라 제초제나 살충제 사용을 줄임으로써 농업생태계를 보호할 수 있는 장점을 가지고 있다(Owen 2000).

유전자변형 작물에 도입된 유전자가 일반 재배 식물이나 근연 야생종으로 이동될 경우 잡초화 및 야생종 멸종에 따른 농업 생태계의 교란도 우려된다(Conner et al. 2003). 그러므로 GM작물의 개발 건수와 재배면적이 나날이 증가하고 있는 만큼 개발된 GM작물의 상업화를 위해서 안정성 평가는 필수적으로 수행 해야 한다(Dunwell 1999). GM작물은 환경방출 전에 환경위해성과 최종적으로 식품으로 이용되는 과정에서 발생할 수 있는 식품안전성에 대하여 철저한 검증과정을 거

*Corresponding author (E-mail: ysyee@korea.kr, Tel: +82-63-238-4708, Fax: +82-63-238-4704)

(Received on October 18, 2014. Revised on October 20, 2014.
Accepted on November 6, 2014.)

쳐야 하는데(Lee et al. 2008, Oh et al. 2014), 이러한 검증과정은 식품의약품안전처(Ministry of Food and Drug Safety, KFDA)의 승인을 얻어야 하며, 이는 1993년 경제협력개발기구(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)에서 제안된 실질적 동등성 개념에 기반을 두고(Park et al. 2012) 주요 및 미량 영양성분 함량 분석과 독성, 알레르기 유발 가능성 등을 평가해야 한다(Lee et al. 2008).

본 연구에서는 *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*의 내충성 독소 발현 Btt(*CryIIIa*) 유전자를 벼에 형질전환하여 벼물바구미에 대하여 내충성을 보이는 GM벼인 Btt12R(Lee et al. 2013)에 대한 주요영양성분 및 항영양소를 모본인 낙동벼와 상업화 품종인 영안벼와 화성벼의 것과 비교 분석하여 Btt12R의 영양성분 함량이 일반벼의 함량과 차이가 있는지를 확인하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 쌀 시료는 국립농업과학원 GMO 격리 포장(경기도 수원시 서둔동)에서 2013년에 재배하여 사용하였다. 시료는 이벤트의 모품종인 낙동벼와 Btt12R을 각각 3구획에서 무작위로 채취하였다. 국내 재배종과의 주요영양성분과 항영양소 함량을 비교분석하기 위해, 영안벼와 화성벼도 Btt12R과 동일한 포장에서 재배하여 수확하였다. 채취한 종자시료는 11-14%의 수분함량이 되도록 건조한 후 제현기(Satake rice machine Type THU, Satake Engineering Co., Tokyo, Japan)로 처리하여 왕겨를 분리하여 현미를 제조하였다. 현미는 Planetary Mono Mill (Pulverisette 6; Fritsch, Idar-Oberstein, Germany)로 분쇄하여 미세 분말을 얻었고, 이 분말은 분석 전에 -80℃에서 보관하였다.

성분 분석

수분정량은 상압건조 방법으로 105℃에서 건조하여 정량하였고, 조단백질은 semimicro-Kjeldahl (AOAC 2005b)법을 사용하여 단백질 자동분석기(Kjeltec 2400 Auto, Foss Tecator, Eden Prairie, MN, USA)로 분석하였으며, 조지방은 AOAC(2000a)방법으로 Soxhlet 추출기(Soxtec System HT 1043 extraction unit, Foss Tecator, Eden Prairie, MN, USA)를 사용하여 diethyl ether로 추출하여 정량하였으며, 조회분은 600℃ 직접회화법(AOAC 2005a)으로 측정하였고, 조섬유는 AOAC (2005c)방법에 의해 1.25% H₂SO₄와 NaOH

용액으로 분해하여 측정하였다. 가용성 및 불용성 식물섬유는 Lee et al. (1992)이 제시한 분석법인 amylase와 protease, amyloglucosidase의 효소 중량 방법으로 측정하였고, starch 함량은 amylase/amyloglucosidase를 사용한 starch assay kit (St. Louis, MO, USA)를 사용하여 정량하였다. 탄수화물 함량은 다음 계산을 사용하여 추정하였다: 탄수화물(%)=100-(단백질%+지방%+회분%).

아미노산 함량은 식품공전의 방법(AOAC 2005d)에 따라 시료를 일정량 취하여 6 N HCl용액을 가하고 질소가스를 주입한 후 110℃에서 24시간 동안 가수분해 시킨 후 로타리 증발기를 이용하여 HCl을 제거하고 증류수로 3회 세척한 다음 감압 농축하여 sodium citrate buffer (pH 2.2)로 용해한 후 아미노산 자동 분석기(Amino Acid Analyser L-8500A, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다.

지방산은 AOCS(1997b)에서 제시하는 방법에 따라 추출하였다. 분쇄된 시료 100 mg에 내부표준물질(pentadecanoic acid) 1 mg/mL와 CHCl₃:MeOH (2:1 v:v) 2.5 mL을 첨가하여 20분 동안 초음파 분해하였다. 0.58% NaCl 수용액 2.5 mL를 넣고 혼합 후 13,000 rpm에 5분 동안 4℃에서 원심분리 하였다. 상층액을 제거하고 남은 하층액 2.5 mL를 질소가스로 농축한 후 toluene 0.1 mL과 5 N NaOH 0.02 mL, MeOH 0.18 mL을 넣고 85℃ 향온수조에 약 5분간 반응시켰다. 반응 후 0.3 mL의 14% boron trifluoride를 첨가하고 다시 85℃ 향온수조에 5분간 반응시킨 후 냉각시켰다. 증류수 0.4 mL와 pentane 0.8 mL를 넣고 2,000 rpm으로 4℃에서 15분간 원심분리 하여 상층액을 취한 후 질소가스로 농축하였다. Hexane 0.1 mL를 넣고 용해한 후 gas chromatography (GC; GC 2010, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 측정하였다.

무기질 함량 분석을 위해 식품공전의 방법(AOAC 2000b)에 따라 질산을 이용한 습식분해법을 이용하여 시료를 분해하였으며 사용된 기기는 ICP-OES (Integra XL Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer, GBC Co., Melbourne, Australia)로 분석하였다.

비타민 B₁ 함량 분석을 위해 분쇄된 시료 100 mg에 0.1 N HCl용액을 첨가하여 80℃ 향온수조에서 30분간 추출하였다. 냉각 후 2 N sodium acetate buffer (pH 4.5) 0.3 mL와 H₂O 0.2 mL를 혼합한 후 13,000 rpm, 5분 동안 4℃에서 원심분리 하였다. 상층액 0.4 mL에 NaOH로 용해한 1% potassium ferriocyanide 0.3 mL를 첨가하고 1분 동안 상온에 방치하였다. 3.75 N HCl 0.3 mL를 첨가한 후 Sep-Pak C18 cartridge

을 사용하여 추출하였다. 2 mL의 0.005 M ammonium acetate buffer (pH 5.0)로 세척한 후 MeOH:0.005 M ammonium acetate (6:4 v:v)용액 2 mL로 용출하였다. 이를 여과한 후 high performance liquid chromatography (HPLC; LC-20A, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 분석하였다. 비타민 B₂ 분석을 위해 분쇄된 시료 100 mg에 H₂O 1 mL를 첨가한 후 78°C 향온수조에서 20분 동안 추출하였다. 냉각 후 15,000 rpm에 10분 동안 4°C에서 원심분리 하여 상층액을 여과한 후 HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japan)로 분석하였다. 비타민 B₃와 E는 Kim et al. (2011, 2012b)가 제안한 방법을 따라, 추출액을 *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl) triifluoroacetamide로 유도체화 하여 GC time-of-flight mass spectrometry로 분석하였다. 비타민 B₇은 분쇄된 시료에 0.1% H₃PO₄ 용액을 첨가하여 30 분간 초음파 분해하여 추출하였다. 15,000 rpm으로 10분 동안 4°C에서 원심분리 후 상층액을 여과하여 HPLC로 측정하였다.

Trypsin inhibitor 측정은 AOCS (1997a)방법을 사용하여 측정하였다. 분쇄된 시료 500 mg에 0.01 N NaOH 10 mL를 첨가한 후 3시간 동안 초음파 분해하였다. 13,000 rpm으로 10분 동안 4°C에서 원심분리 후 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 mL씩 분주하고 최종 1 mL 되도록 물로 희석하였다. 0.001 M HCl에 녹인 trypsin을 1 mL 첨가하였다. 합성기질 BAPA (Benzoyl-DL-arginine-*p*-nitroanilide hydrochloride) 2.5 mL 첨가 후 37°C에서 10분 동안 향온수조에서 반응시켰다. 30% acetic acid용액을 0.5 mL 넣어 반응을 정지하였고, 여과액의 흡광도를 410 nm에서 측정하였다. Trypsin 억제제의 1 단위는 0.01 trypsin을 통해 BAPA 소화 흡광도 판독으로 감소한 억제제의 양으로 정의하였다.

Phytic acid의 함량은 분쇄된 시료 250 mg에 2.4% HCl 5 mL를 첨가하여 2시간 동안 초음파 분해하여 분석하였다. 9,000 rpm에 20분 동안 4°C에서 원심분리 후 상층액을 25배로 희석하였다. 음이온교환컬럼(AG-1-X8) 크로마토그래피 (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, USA)을 사용하여 추출하였다. 간섭하는 화합물과 무기인산은 0.1 M NaCl 10 mL와 H₂O 10 mL의 순서로 세척하여 제거하였다. 결합한 phytate를 0.7 M NaCl 30 mL로 용출하고, 용출한 부분표본 1.5 mL에 0.5 mL Wada reagent [0.03% iron(III) chloride, 0.3% sulfosalicylic acid]를 넣어 반응시켰다. Salicylate-Fe (III)복합체의 흡광도는 분광광도계(Backman Coulter, Fullerton, CA, USA)를 사용하여 500 nm에서 확인하였다. Phytate의

농도는 sodium phytate (0-100 g/mL; sigma-Aldrich Canada, Oakville, ON, Canada)에서 얻어 준비된 표준곡선으로 계산하였다.

통계처리

해충저항성벼와 모품종벼의 영양성분 함량의 동등성 검정에 대한 통계처리로 SAS 9.2 software(SAS Institute, Cary, NC, USA)를 사용하여 *t*-test로 *p*<0.05 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

일반성분 함량

동일한 재배환경 및 포장관리 하에 재배 후 수확한 해충저항성 GM벼 Btt12R과 모본인 낙동벼의 현미에서 분석한 일반성분의 결과는 Table 1과 같다. 분석한 8가지 성분 중, 수용성 및 불용성 식이섬유, 전분, 탄수화물의 함량은 Btt12R과 낙동벼에서 유의적 차이가 없었다. 탄수화물 함량은 직접적인 분석법이 아닌, 산술적 계산으로 구한 값으로 조단백질과 조지방, 조회분의 값을 제외한 백분율로 나타내었다. Btt12R의 조단백질(5.43%)과 조회분(1.10%), 조섬유(0.58%)의 함량은 낙동벼(6.34%와 1.24%, 0.91%)보다 낮았으며, 조지방(1.77%)의 함량은 낙동벼(1.46%)보다 높았다. 하지만, Btt12R의 이 4가지 성분의 함량은 동일한 포장에서 함께 재배한 국내 주요 상업화 품종인 영안벼와 화성벼에서 분석한 함량 및 OECD (2004)에서 제공한 벼의 일반성분 함량의 범위에 포함되었다. 이를 통해, Btt12R의 일반성분의 함량이 일반적인 재배종의 범위 내에 있음을 확인하였다.

아미노산 조성

Btt12R 및 낙동벼, 영안벼, 화성벼의 현미에 함유된 아미노산 함량을 분석하여 비교한 결과는 Table 2에 나타났다. Btt12R과 낙동벼에서 분석한 17가지 아미노산 조성은 모두 동등한 결과를 보였다. Btt12R에 함유되어 있는 아미노산의 함량은 glutamic acid가 16.91%로 가장 높았으며, Aspartic acid가 9.17%, Arginine이 8.27%, Leucine 7.88% 순으로 분석되었다. 낙동벼의 아미노산 함량 역시 glutamic acid가 16.96%로 가장 높았으며, Aspartic acid>Arginine>Leucine 순으로 Btt12R의 함량 순서와 동일하였다. 통계분석 결과로 Btt12R과 낙동벼의 아미노산 조성은 유의적 차이가 없음을 확인하였다.

Table 1. Comparison and analysis of differences of the proximates measured in brown rice.

Component	Resistance cultivars		Commercial cultivars		OECD ^z	<i>p</i> value ^y
	Nakdongbyeo	Btt12R	Yeongan	Hwaseong		
Protein	6.34 ± 0.11	5.43 ± 0.15	5.30 ± 0.20	5.22 ± 0.08	7.1–8.3	<0.05
Lipid	1.46 ± 0.11	1.77 ± 0.12	1.77 ± 0.24	2.08 ± 0.22	1.6–2.8	<0.05
Ash	1.24 ± 0.02	1.10 ± 0.07	0.90 ± 0.06	1.05 ± 0.09	1.0–1.5	<0.05
Fiber	0.91 ± 0.04	0.58 ± 0.10	0.58 ± 0.20	0.78 ± 0.09	0.6–1.0	<0.05
SDF ^x	0.33 ± 0.04	0.39 ± 0.04	0.42 ± 0.14	0.19 ± 0.05	0.7	NS ^u
IDF ^w	4.13 ± 0.05	4.12 ± 0.25	4.03 ± 0.29	4.79 ± 0.12	2.3	NS
Starch	63.87 ± 1.75	66.79 ± 3.09	61.68 ± 5.37	58.84 ± 2.85	66.4	NS
Carbohydrates ^v	89.89 ± 0.23	90.73 ± 0.23	92.03 ± 0.42	91.64 ± 0.24	87.4–90.3	NS

The values of proximate were calculated as percentage of dry matter. Each value is the mean ± standard deviation (n=3)

^zSource: OECD (2004) data

^yAnalysis using a *t*-test for comparison between Nakdongbyeo and Btt12R. A significant difference is indicated if the *p* value is <0.05

^xSDF: soluble dietary fiber

^wIDF: insoluble dietary fiber

^vCarbohydrates levels were estimated by the following formula: %carbohydrates=100-(%protein+%lipid+%ash)

^uNS: Not Significant

Table 2. Comparison and analysis of differences of the amino acids measured in brown rice.

Component	Resistance cultivars		Commercial cultivars		OECD ^z	<i>p</i> value ^y
	Nakdongbyeo	Btt12R	Yeongan	Hwaseong		
Alanine	5.70 ± 0.11	5.72 ± 0.05	5.69 ± 0.14	5.42 ± 0.08	5.8	NS ^x
Arginine	8.10 ± 0.11	8.27 ± 0.11	8.03 ± 0.19	7.65 ± 0.15	8.5–10.5	NS
Aspartic acid	9.25 ± 0.14	9.17 ± 0.05	8.89 ± 0.20	8.82 ± 0.16	9.0, 9.5	NS
Cysteine	2.47 ± 0.06	2.44 ± 0.21	2.66 ± 0.13	2.41 ± 0.10	2.2–2.4	NS
Glutamic acid	16.96 ± 0.29	16.91 ± 0.11	16.93 ± 0.31	15.74 ± 0.33	16.9, 17.6	NS
Glycine	4.82 ± 0.10	4.90 ± 0.05	4.73 ± 0.14	4.66 ± 0.08	4.7, 4.8	NS
Histidine	2.56 ± 0.26	2.55 ± 0.05	2.48 ± 0.05	2.48 ± 0.06	2.4, 2.6	NS
Isoleucine	3.57 ± 0.07	3.57 ± 0.02	3.49 ± 0.06	3.30 ± 0.06	3.6–4.6	NS
Leucine	7.89 ± 0.10	7.88 ± 0.05	7.86 ± 0.13	7.18 ± 0.09	8.3–8.9	NS
Lysine	4.04 ± 0.08	4.02 ± 0.04	3.82 ± 0.11	4.01 ± 0.04	3.9, 4.3	NS
Methionine	2.18 ± 0.06	2.24 ± 0.22	2.33 ± 0.10	2.40 ± 0.09	2.3, 2.5	NS
Phenylalanine	5.06 ± 0.09	4.98 ± 0.03	4.96 ± 0.09	4.60 ± 0.07	5.0, 5.3	NS
Proline	4.67 ± 0.16	4.78 ± 0.09	4.24 ± 0.10	3.99 ± 0.06	4.8, 5.1	NS
Serine	5.14 ± 0.09	5.19 ± 0.03	5.11 ± 0.13	4.97 ± 0.12	4.8–5.8	NS
Threonine	3.74 ± 0.07	3.78 ± 0.02	3.61 ± 0.09	3.58 ± 0.07	3.9–4.0	NS
Tyrosine	3.60 ± 0.27	3.59 ± 0.08	3.83 ± 0.24	3.58 ± 0.07	3.8–4.6	NS
Valine	5.23 ± 0.15	5.36 ± 0.03	5.22 ± 0.09	5.00 ± 0.09	5.0–6.6	NS

The values of amino acids were calculated as a percentage to total protein. Each value is the mean ± standard deviation (n=3)

^zSource: OECD (2004) data

^yAnalysis using a *t*-test for comparison between Nakdongbyeo and Btt12R. A significant difference if the *p* value is <0.05

^xNS: Not Significant

지방산 조성

Btt12R과 낙동벼, 영안벼, 화성벼의 지방산 조성 결과는 Table 3에 나타났다. 현미에서 myristic acid (C14:0)과 palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2), linolenic acid (C18:3), arachidonic acid (C20:0), gadoleic acid (C20:1)를 포함한 총 8가지 지방산을 분석하였다. 그 중, oleic acid와 linolenic acid를 제외한 나머지 지방산조성은 모두 두 벼 품종간에 유의한 차이가 없음을 *t*-test를 통해 확인하였다. Btt12R의 oleic acid 함량(37.90%)은 낙동벼(36.14%)보다 높은 반면, linolenic acid (1.40%)은 낙동벼(1.65%)보다 낮았다. 하지만, 두 성분의 함량은 국내 재배종을 대상으로 지방산 조성을 분석하여 발표한 Kim et al. (2013)과 Kyoun et al. (2006), Park et al. (2012)의 결과에 부합하였다. 벼의 지방산 함량 결과는 OECD (2004)에 제시된 내용을 활용할 수 없어, 국내 재배종의 분석 결과를 발표한 자료를 참고했다. 낙동벼와 영안벼, 화성벼를 포함한 국내 재배종의 지방산 조성은 oleic acid과 linoleic acid, palmitic acid가 대부분(80% 이상)을 차지하고 있으며, 이는 Btt12R의 결과와 동일하였다. 이상의 결과로, Btt12R의 지방산 조성이 국내 재배종의 범위 내에 있음을 확인하였다.

무기질 함량

해충저항성 Btt12R과 모본인 낙동벼의 무기질 원소에 대한 함량을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 비록, 구리를 제외한 나머지 8가지 원소에서 Btt12R과 낙동벼 간에 유의적 차

이가 나타났지만, Btt12R의 모든 무기질 원소는 국내 재배종과 OECD에 제시된 함량 범위에 부합하였다. OECD (2004)에서 제시한 상업화 품종의 무기질 원소의 함량은 일반성분이나 아미노산 조성과는 달리 매우 넓은 범위로 나타남을 알 수 있었다. Heinemann et al. (2005)와 Parengam et al. (2010)은 현미의 무기질 원소 함량이 재배지역에 따라 다르게 나타나며, 이는 재배지의 토양 및 비료, 살충제, 제초제 등에 의해 기인될 수 있다고 보고하였다. Btt12R의 무기질 함량은 $P > K > Mg > S > Ca > Zn > Mn > Fe > Cu$ 순이었으며, 낙동벼는 $P > K > Mg > S > Ca > Mn \geq Zn > Fe > Cu$ 순으로 함량을 보였다. 분석한 무기질 원소에서 Btt12R의 인과 칼륨, 마그네슘, 황이 차지하는 비율이 97% 이상이었으며, 이는 낙동벼 및 국내 재배종 모두 동일하게 나타났다. 이를 통해, Btt12R에서 분석한 모든 무기질 원소의 함량이 일반적인 재배종의 범위 내에 있음을 확인하였다.

비타민 함량

Btt12R과 낙동벼의 현미에서 분석한 5가지 비타민 중 비타민 B₁과 B₃, E의 함량에 유의적 차이가 없음을 통계 분석을 통해 확인하였다(Table 5). Btt12R의 비타민 B₂의 함량(0.62 µg/g)은 낙동벼(0.72 µg/g)보다 낮고 영안벼(0.59 µg/g)와 화성벼(0.61 µg/g)보다 높았지만, OECD (2004)에 제시된 함량의 범위(0.4-1.4 µg/g) 내에 있었다. Btt12R의 비타민 B₇의 함량(5.70 µg/g)은 낙동벼(1.08 µg/g)보다 높았지만, 함께 재배하여 수확한 국내 상업화 품종인 영안벼와 화성벼

Table 3. Comparison and analysis of differences of the fatty acids measured in brown rice.

Component	Resistance cultivars		Commercial cultivars		Literature ^z	<i>p</i> value ^y
	Nakdongbyeo	Btt12R	Yeongan	Hwaseong		
Myristic acid (C14:0)	4.06 ± 0.02	0.44 ± 0.17	0.32 ± 0.03	0.39 ± 0.05	0.22 - 0.50	NS ^x
Palmitic acid (C16:0)	14.92 ± 0.13	15.38 ± 0.33	15.50 ± 0.42	15.02 ± 0.41	16.62 - 22.04	NS
Stearic acid (C18:0)	2.08 ± 0.06	1.97 ± 0.15	2.89 ± 0.76	3.37 ± 0.69	0.75 - 2.76	NS
Oleic acid (C18:1)	36.14 ± 0.05	37.90 ± 0.31	34.49 ± 0.73	35.33 ± 1.65	35.98 - 44.23	<0.05
Linoleic acid (C18:2)	33.13 ± 0.02	31.12 ± 0.89	31.72 ± 0.81	31.62 ± 0.83	31.10 - 42.66	NS
Linolenic acid (C18:3)	1.65 ± 0.03	1.40 ± 0.06	1.34 ± 0.18	1.18 ± 0.09	0.83 - 3.36	<0.05
Arachidonic acid (C20:0)	0.56 ± 0.01	0.61 ± 0.04	0.50 ± 0.04	0.61 ± 0.02	0.44 - 0.76	NS
Gadoleic acid (C20:1)	0.50 ± 0.01	0.58 ± 0.05	0.60 ± 0.18	0.63 ± 0.09	0.35 - 0.60	NS

The values of fatty acids are indicated as a percentage of total fatty acids. Each value is the mean ± standard deviation (n=3)

^zSource: Kim et al. (2013), Kyoun et al. (2006), and Park et al. (2012)

^yAnalysis using a *t*-test for comparison between Nakdongbyeo and Btt12R. A significant difference is indicated if the *p* value is <0.05

^xNS: Not Significant

의 비타민 B₇ 함량(3.38-12.77 µg/g)의 범위에 부합하였다. 이상의 결과로, Btt12R의 5가지 비타민 함량이 국내 재배종의 범위 내에 있음을 확인하였다.

항 영양소

벼 종자의 항영양소로 알려진 트립신 저해제와 피트산을 Btt12R과 낙동벼, 영안벼, 화성벼의 현미에서 분석하여 그 함량을 비교하였다(Table 5). 분석한 모든 시료의 트립신 저해제의 함량은 매우 낮게(<0.1 TIU/mg) 검출되었으며, 이는 해충저항성 및 제초제 내성을 갖도록 국내에서 개발한 형질전환벼를 대상으로 분석한 결과와 동일하였다(Kim et al. 2013,

Park et al. 2012). 피트산 함량은 Btt12R (0.82%)이 낙동벼 (1.01%)보다 낮고 영안벼(0.75%)와 화성벼(0.71%)보다 높았지만, Kim et al. (2012a)와 Park et al. (2012)가 보고한 낙동벼의 함량(0.69-0.87%)에는 부합하였다. 이를 통해, Btt12R의 2가지 항영양소의 함량이 국내 재배종의 범위 내에 있음을 확인하였다.

적 요

본 연구는 내충성 독소 발현 유전자(*CryIIIa*)를 벼에 형질전환하여 해충에 대한 저항성을 갖도록 국내에서 개발한 해

Table 4. Comparison and analysis of differences of the minerals measured in brown rice.

Component	Resistance cultivars		Commercial cultivars		OECD ^z	<i>p</i> value ^y
	Nakdongbyeo	Btt12R	Yeongan	Hwaseong		
Copper (µg/g)	6.74 ± 2.88	5.86 ± 2.73	2.75 ± 0.19	4.16 ± 0.71	1 - 7	NS ^x
Iron (µg/g)	16.70 ± 1.06	13.34 ± 0.44	11.72 ± 1.85	12.04 ± 1.57	2 - 60	<0.05
Zinc (µg/g)	32.05 ± 3.18	26.04 ± 1.91	19.22 ± 0.68	25.87 ± 1.68	7 - 33	<0.05
Manganese (µg/g)	32.27 ± 0.66	18.89 ± 0.58	25.41 ± 1.43	28.60 ± 2.57	2 - 42	<0.05
Calcium (mg/g)	0.14 ± 0.00	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.00	0.12 ± 0.01	0.1 - 0.6	<0.05
Sulfur (mg/g)	1.13 ± 0.01	0.96 ± 0.03	0.78 ± 0.02	0.98 ± 0.04	0.3 - 2.2	<0.05
Magnesium (mg/g)	1.33 ± 0.03	1.03 ± 0.05	0.96 ± 0.04	1.05 ± 0.10	0.2 - 1.7	<0.05
Potassium (mg/g)	3.00 ± 0.20	2.45 ± 0.18	2.34 ± 0.15	2.35 ± 0.23	0.7 - 3.2	<0.05
Phosphorus (mg/g)	4.51 ± 0.09	3.51 ± 0.15	3.23 ± 0.12	3.47 ± 0.29	2 - 5	<0.05

Each value is the mean ± standard deviation (n=3)

^zSource: OECD (2004) data

^yAnalysis using a *t*-test for comparison between Nakdongbyeo and Btt12R. A significant difference is indicated if the *p* value is <0.05

^xNS: Not Significant

Table 5. Comparison and analysis of differences of the vitamins and anti-nutrients measured in brown rice.

Component	Resistance cultivars		Commercial cultivars		OECD ^z	<i>p</i> value ^y
	Nakdongbyeo	Btt12R	Yeongan	Hwaseong		
Vitamin B ₁ (µg/g)	3.73 ± 0.11	3.60 ± 0.09	3.50 ± 0.21	3.74 ± 0.34	2.9 - 6.1	NS ^x
Vitamin B ₂ (µg/g)	0.72 ± 0.01	0.62 ± 0.01	0.59 ± 0.01	0.61 ± 0.03	0.4 - 1.4	<0.05
Vitamin B ₃ (µg/g)	4.57 ± 0.08	4.61 ± 0.49	4.28 ± 0.21	4.33 ± 0.27	35 - 53	NS
Vitamin B ₇ (µg/g)	1.08 ± 0.12	5.70 ± 0.44	12.77 ± 2.47	3.38 ± 0.22	0.04 - 0.10	<0.05
Vitamin E (µg/g)	12.20 ± 1.13	11.23 ± 0.92	13.39 ± 2.16	10.76 ± 1.44	9 - 25	NS
Trypsin inhibition (TIU/mg)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	Not available	
Phytic acid (%)	1.01 ± 0.05	0.82 ± 0.03	0.75 ± 0.05	0.71 ± 0.06	Not available	<0.05

Each value is the mean ± standard deviation (n=3)

^zSource: OECD (2004) data

^yAnalysis using a *t*-test for comparison between Nakdongbyeo and Btt12R. A significant difference is indicated if the *p* value is <0.05

^xNS: Not Significant

충저항성 GM벼(Btt12R)와 그 모본인 낙동벼의 주요영양성분과 항영양소를 분석하여 각 성분의 함량에 차이가 있는지를 비교하기 위해서 수행하였다. 이를 위해, 낙동벼와 Btt12R 뿐만 아니라 국내 상업화 품종인 영안벼와 화성벼를 수원 GMO 격리포장에서 동일한 조건하에 재배하여 수확한 현미를 사용하였다. 47가지 주요영양성분(8가지 일반성분, 17가지 아미노산, 8가지 지방산, 9가지 미네랄, 5가지 비타민) 중에 16가지 성분의 함량이 모본과 Btt12R 간에 차이를 보였지만, Btt12R의 이 16가지 성분은 함께 재배한 일반벼와 OECD에 명기된 함량 범위 내에 있었다. 2가지 항영양소 중 트립신 저해제는 모든 시료에 0.1 TIU/mg 미만의 극미량으로 존재했으며, Btt12R의 피트산 함량은 낙동벼와 일반벼의 피트산 범위에 포함되었다. 이상의 결과를 종합해보면, 분석한 Btt12R의 모든 주요영양성분 및 항영양의 함량이 모본 및 상업화 품종의 함량 범위에 포함되었으며, 이를 통해 *CryIIIa* 유전자를 벼 게놈에 삽입하는 것이 현미의 영양학적 품질에 영향을 미치지 않음을 확인하였다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 기관고유 사업(과제번호: PJ009654)의 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

1. AOAC. 2000a. Fat (Crude) or ether extract in meat. AOAC official methods 960.39: Gaithersburg, MD, USA.
2. AOAC. 2000b. Determination of lead, calcium, copper, iron, zinc, sodium, magnesium, phosphorus, potassium, manganese in food. AOAC official methods 999.11: Gaithersburg, MD, USA.
3. AOAC. 2005a. Ash of flour. AOAC official methods 923.03: Gaithersburg, MD, USA.
4. AOAC. 2005b. Nitrogen (total) in fertilizers. AOAC Official methods 955.04: Gaithersburg, MD, USA.
5. AOAC. 2005c. Fiber (crude) in animal feed and pet food. AOAC official methods 962.09: Gaithersburg, MD, USA.
6. AOAC. 2005d. Protein efficiency ratio. AOAC official methods 982.30: Gaithersburg, MD, USA.
7. AOCS. 1997a. In Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists. Official Method Ba 12-75. Champaign, IL, USA.
8. AOCS. 1997b. Fatty acid composition by gas chromatography. In official methods and recommended practices of the American Oil Chemists. Method Ce 1-62. Champaign, IL, USA.
9. Choi HC. 2002. Current status and perspectives in varietal improvement of rice cultivars for high-quality and value-added products. Korean J. Crop Sci. 47: 15-32.
10. Conner AJ, Glare TR, Nap JP. 2003. The release of genetically modified crops into the environment-Part II. Overview of ecological risk assessment. Plant J. 33: 19-46.
11. Dunwell JM. 1999. Transgenic crops: the next generation, or an example of 2020 vision. Ann. Bot. 84: 269-277.
12. Heinemann RJB, Fagundes PL, Pinto EA, Pentead MVC, Lanfer-Marquez UM. 2005. Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil. J. Food Compos. Anal. 18: 287-296.
13. James C. 2013. Global status of commercialized biotech/GM crops. ISAAA Briefs No. 46; Ithaca, NY, USA.
14. Kim JK, Park SY, Ha SH, Lee SM, Lim SH, Kim HJ, Ko HS, Oh SD, Park JS, Suh SC. 2012a. Compositional assessment of carotenoid-biofortified rice using substantial equivalence. Afr. J. Biotechnol. 11: 9330-9335.
15. Kim JK, Ha SH, Park SY, Lee SM, Kim HJ, Lim SH, Suh SC, Kim DH, Cho HS. 2012b. Determination of lipophilic compounds in genetically modified rice using gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. J. Food Compos. Anal. 25: 31-38.
16. Kim JK, Park SY, Ha SH, Lee SM, Lim SH, Yu CY, Suh SC, Kweon SJ. 2011. Stable isotope dilution gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry method for determining niacin in rice. Cereal Chem. 88: 397-399.
17. Kim JK, Park SY, Lee SM, Lim SH, Kim HJ, Oh SD, Yeo Y, Cho HS, Ha SH. 2013. Unintended polar metabolite profiling of carotenoid-biofortified transgenic rice reveals substantial equivalence to its non-transgenic counterpart. Plant Biotechnol. Rep. 7: 121-128.
18. Kyoun OY, Oh SH, Kim HJ, Lee JH, Kim HC, Yoon WK, Kim HM, Kim MR. 2006. Analyses of nutrients and anti-nutrients of rice cultivars. Korean J. Food Cookery Sci. 22: 949-956.
19. Lee JH, Shin KS, Suh SC, Rhim SL, Lee YH, Lim MH, Woo HJ, Qin Y, Cho HS. 2013. *CryIIIa* toxin gene expression in transgenic rice confers resistance to rice water weevil. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 115: 243-252.
20. Lee KP, Kim DH, Kweon SJ, Baek HJ, Ryu TH. 2008.

- Risk assessment and variety registration of transgenic crops. J. Plant Biotechnol. 35: 13-21.
21. Lee S, Prosky L, Devries J. 1992. Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods: Enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study. J. AOAC Int. 75: 395-416.
 22. Lee YT, Kim JK, Ha SH, Cho HS, Suh SH. 2010. Analyses of nutrient composition in genetically modified β -carotene biofortified rice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39: 105-109.
 23. OECD. 2004. Environment, health and safety publications series on the safety of novel foods and feeds. No. 10. Consensus document on compositional considerations for new varieties of rice (*Oryza sativa*): Key food and feed nutrients and anti-nutrients. Paris, France.
 24. Oh SD, Lim MH, Ryu TH, Sohn SI, Park SK, Lee KJ. 2014. Assessment of gene flow in disease resistant (OsCK1) genetically modified rice. Korean J. Breed. Sci. 46: 44-51.
 25. Owen MDK. 2000. Current use of transgenic herbicide-resistant soybean and corn in the USA. Crop Prot. 19: 765-771.
 26. Parengam M, Judprasong K, Srianujata S, Jittinandana S, Laoharojanaphand S, Busamongko A. 2010. Study of nutrients and toxic minerals in rice and legumes by instrumental neutron activation analysis and graphite furnace atomic absorption spectrophotometer. J. Food Compos. Anal. 23: 340-345.
 27. Park SY, Lee SM, Lee JH, Ko HS, Kweon SJ, Sun SC, Shin KS, Kim JK. 2012. Compositional comparative analysis between insect-resistant rice (*Oryza sativa* L.) with a synthetic *cryIAc* gene and its non-transgenic counterpart. Plant Biotechnol. Rep. 6: 29-37.