KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 46, No. 2, pp. 213~218 (2014)
http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2014.46.2.213

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

©The Korean Society of Food Science and Technology

유전자변형 β-carotene 강화 쌀의 생체 이용과 영양기능성 탐색

이영택 · 이경원[1] · 성기승[1] · 김성수[1] · 이종석[2] · 이옥환[2] · 조현석[3] · 서석철[3] · 한찬규[1,*]
가천대학교 식품생물공학과, [1]한국식품연구원, [2]강원대학교 식품생명공학과, [3]국립농업과학원 농업생명자원부

Assessment of the Bioavailability and Nutritive Function of Genetically Modified β-Carotene-biofortified Rice by Using Wistar Rats

Young-Tack Lee, Kyung-Won Lee[1], Ki-Seung Seong[1], Sung-Soo Kim[1], Jong Seok Lee[2], Ok-Hwan Lee[2], Hyun-Seok Cho[3], Seok-Chul Suh[3], and Chan-Kyu Han[1,*]
Department of Food Science and Biotechnology, Gachon University
[1]Korea Food Research Institute
[2]Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University
[3]National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration

Abstract The purpose of this study was to investigate the bioavailability and nutritive functions of Nak-Dong rice or genetically modified β-carotene-biofortified rice (GM rice) in an experimental animal model. Wistar rats fed either GM rice or Nak-Dong rice did not show differences in bioavailability, growth, organ weights, or visceral fat, suggesting that the nutrient content of GM rice is compositionally equivalent to that of conventional Nak-Dong rice. In addition, GM rice showed improved nutritive function in terms of increased defecation, decreased lipids, and decreased blood glucose.

Keywords: bioavailability, nutritive function, β-carotene-biofortified rice, substantial equivalence, genetically modified organism

서 론

생명공학기술의 발전으로 어떠한 유용한 유전자를 다른 생물체에 삽입함으로써 형질전환시킨 유전자변형생물체(Genetically Modified Organism, GMO)들이 다양하게 개발되고 있다(1). 유전자변형 작물은 콩, 옥수수, 목화, 유채 등 주요 작물들이 제초제, 해충, 병 저항성을 지니도록 개발되어 상업적으로 이용되기 시작하면서 인구증가에 따른 식량부족, 지구 기후 및 환경의 변화, 그리고 농경지 및 생산성 감소 등의 문제점을 극복하는 방안으로 인식되고 있다. 현재 국내에서도 다양한 종의 유용 GMO들이 개발되고 있으나, 많은 양의 GMO들이 수입되고 있으며 현재까지 상업화된 GMO는 없는 실정이다(2,3).

전 세계 인구의 반 이상이 주식으로 이용하는 중요한 에너지원인 쌀은 주로 도정과정을 거쳐 백미로 가공하여 이용되는데, 이 경우 백미에는 Fe, Zn, vitamin E와 vitamin A 등의 영양소가 감소하게 된다(4). 쌀의 영양학적 품질을 향상시키기 위한 방법으로 쌀 배유에 provitamin A인 β-carotene을 생합성하도록 형질전환시킨 황금쌀(golden rice)이 개발되었다(5-8). 황금쌀의 carotenoid 물질은 vitamin A 결핍증을 완화시키며, 인체의 노화방지, 항암 효과 등 생리적 기능성을 부여해 줄 수 있다(9-11).

GM작물의 개발을 위해서는 위해성 평가와 심사를 받아야 하며, 이를 식품으로 이용할 경우에는 식품에 대한 안전성을 입증받아야 한다(12). 일반적으로 GM작물의 안전성은 실질적 동등성(substantial equivalence)에 의한 안전성 평가로서 주요 및 미량 영양성분 함량이 분석되어야 하고, 영양학적 실험자료로서 동물의 식이섭취량과 체중증가량 등이 조사되어야 하며, 독성학적 실험자료로서 투여시 독성이 나타나지 않아야 한다(13-16). GM작물의 이러한 안전성 평가에는 열처리나 도정 등 조리가공에 따른 비교가 필요하고 취약계층에 대한 영양학적 특성이 조사되어야 한다(17,18). 그러나 GMO의 안전성에 대한 연구결과가 매우 부족하여 이에 대한 체계적인 연구가 필요한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 국내에서 개발된 유전자변형 β-carotene 강화쌀(GM쌀)과 모종쌀(낙동쌀)을 공시재료로 선정하였고, 동물모델에서 생체 이용률과 영양기능성을 비교 분석하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 쌀 시료는 모종인 낙동벼와 수원과 군위에서 재배한 유전자변형 β-carotene 강화벼로서 농촌진흥청 국립농업과학원 생물안전성과에서 제공받아 사용하였다(19). 벼를 제현기(Satake Engineering Co, Tokyo, Japan)로 왕겨를 분리하고 도정기(Fujihara Factory, Tokyo, Japan)로 도정하여 백미를 제조하였으며, 백미를 취반하여 동결건조기에서 2일간 건조한 다음 분쇄하여 분석시료로 사용하였다.

실험동물 및 사육환경

본 실험에서는 한림실험동물연구소로부터 구입한 수컷 Wistar 흰쥐를 사용하였다. 1주일간의 검역 및 순화를 거친 뒤 건강하다

*Corresponding author: Chan-Kyu Han, Korea Food Research Institute, Seongnam, Gyeonggi 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9236
Fax: 82-31-709-9876
E-mail: ckhan@kfri.re.kr
Received October 1, 2013; revised December 31, 2013; accepted December 31, 2013

고 판정된 것 중 체중이 155±5 g의 것을 실험에 사용하였다. 실험동물은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기회수 10-20회/h, 조명 시간 12시간(08:00 점등-20:00 소등), 조도 150-300 Lux로 설정된 환경에서 stainless steel wire cage (225 W×200 L×180 H mm)에서 한 마리씩 분리 사육하였다. 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

실험그룹과 투여물질

실험그룹은 모종쌀(낙동쌀), GM쌀(β-carotene 강화쌀, 배아중 2 mg/100 g 함유) 및 Harlan 2018S-diet를 기본식이로 하는 대조군 그룹으로 총 3그룹으로 나누고 각 그룹의 흰쥐의 배정은 무작위적으로 배정하였다. 실험식이 중 전분 함량은 실험 식이군에서 각각 낙동쌀과 β-carotene 강화쌀로 30% 대체하여 재형성시킨 펠렛식이를 4주 동안 급여하였다. 실험식이의 일반성분은 AOAC법(20)에 의하여 분석하였다. 즉, 수분 함량은 105°C 상압건조법, 회분 함량은 550°C에서 직접회화법을 이용하여 분석하였다. 조단백질 함량은 micro-Kjeldahl법을 이용한 단백질 자동분석기(Kjeltec protein analyzer, Tecator Co., Hoeganaes, Sweden)로 분석하였고, 조지방 함량은 Soxhlet법을 이용하여 분석하였다. 총 당질함량은 위의 측정치를 합한 값을 100에서 뺀 값으로 하였다. 총 식이섬유(total dietary fiber) 함량은 AOAC법(21)에 의한 효소중량법(enzymatic-gravimetric method)으로 분석하였고, 무기질(Ca, P) 함량은 AOAC법(22)에 의하여 ICP-AES (inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy)법으로 분석하였다.

간조직 및 분변의 지질농도

간조직 및 분변의 총콜레스테롤(total cholesterol, TC)과 중성지방(triglyceride, TG) 농도를 측정하기 위해 Folch 등의 방법을 수정하여 지질 성분을 추출한 후 분석하였다(23). 간 조직과 건조된 분변을 정량하여 50 mL cornical tube에 chloroform:methanol (2:1, v/v) 용액을 가한 후 homogenizer (Ultra-Turrax T25, Janke & Kunkel GMBH & Co. KG, Staufen, Germany)를 사용하여 일정하게 균질화시켰다. 이 균질액을 원심분리(1,000×g, 4°C, 10분)하여 하층액인 chloroform 층을 분석에 이용하였다. 중성지방(TG) 측정은 하층액 10 μL를 1.5 mL eppendorf tube에 취한 후 fume hood에서 12시간 동안 자연건조 시킨 후 50 μL methanol을 가하여 용해시켰다. 여기에 표준 효소비색법을 이용한 kit (Asan pharm. Co., Ltd., Seoul, Korea)를 사용하여 550 nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다. 총콜레스테롤(TC) 및 HDL-C (high-density lipoprotein-cholesterol) 측정은 하층액 500 μL을 취하여 fume hood에서 24시간 동안 자연건조 시킨 후 50 μL Triton X-100:chloroform (1:1, v/v) 용액을 첨가하여 vortex한 후 450 μL chloroform으로 희석하여 총량이 500 μL가 되도록 한 후 vortex하였다. 이 용액 10 μL를 1.5 mL eppendorf tube에 취한 후 fume hood에서 12시간 자연건조한 후 표준 효소비색법을 이용한 kit를 사용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈액의 수집 및 분석

실험식이 급여 종료 후에 실험동물을 14시간 절식시키고 경동맥에서 혈액을 채취하여, 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리한 후 혈청 분석에 이용하였다. 혈청에서 혈당, 콜레스테롤, 중성지방, 칼슘, 칼륨 등을 자동혈청분석기(ADVIA 1650, Bayer Inc., New York, NY, USA)로 측정하였으며, 혈구세포는 자동혈구분석기(XE2100D, Sysmex Co., Kobe, Japan)를 이용하여 분석하였다.

통계분석

통계분석은 SPSS program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준편차(mean±SD)로 제시하였고, 각 처리군 유의성은 실험군의 결과측정치에 대해 one-way ANOVA 분석후 Duncan's multiple range test를 이용하여 $p<0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

실험식이의 일반성분

실험식이의 일반성분은 Table 1과 같다. 실험식이의 수분함량은 9.63-9.99%로 비슷하였다. 조지방, 조단백질 및 조회분함량은 대조군이 모종쌀과 GM쌀 실험군 보다 높았으나 두 실험식이군간의 차이는 없었다. 탄수화물은 두 실험군이 대조군 보다 높았으며, 두 실험식이군간의 차이는 없었다. 식이섬유는 모종쌀과 GM쌀 보다 대조군이 훨씬 높았고, 모종쌀 보다 GM쌀이 적었다. 에너지는 363-367 kcal/100 g로 실험식이군간 차이가 없었다. 칼슘(Ca)과 인(P) 함량은 모종쌀과 GM쌀 실험군 보다 대조군이 높았다. 전반적으로 GM쌀이 모종쌀에 비해 식이섬유가 적고, 칼슘(Ca) 함량이 많은 것을 제외하고는 모종쌀과 GM쌀 실험식이의 일반성분이 유사하였다. 이러한 결과는 유전자 변형된 β-carotene 강화쌀은 의도한 바의 β-carotene이 쌀의 종실에 생합성 됨과 함께 모종 쌀과 비교시 일반성분, 지방산, 아미노산 및 무기질 함량에는 별 다른 영향을 미치지 않았다는 내용과 유사한 결과이다(17).

체중, 증체량, 식이효율 및 배변량의 변화

모종쌀과 GM쌀 첨가식이를 4주 동안 급여한 Wistar 흰쥐의 증체량, 식이섭취량, 식이효율 및 배변량은 Table 2와 같다. 실험 개시체중은 평균 155 g이었고, 종료시 체중은 두 실험군 보다 대조군이 높았으며, 모종쌀과 GM쌀간에는 유의적인 차이는 없었다. 실험기간동안 평균 일당 증체량은 각각 7.26, 7.47, 7.95 g으로 대조군이 두 실험군에 비해 다소 높은 것으로 나타났으며, 모종쌀과 GM쌀 실험군간에는 유의적인 차이는 없었다. 식이섭취량은 두 실험군 보다 대조군이 29.58 g으로 통계적으로 유의하게 많았다($p<0.05$). 식이효율(Feed efficiency ratio, FER)은 실험군간 차이가 없었다. 배변량은 각각 6.71, 7.27, 17.48 g으로 대조군이 두 실험군에 비해 통계적으로 유의하게 많았고, 두 실험군중에서는 GM쌀이 모종쌀 보다 8% 정도 더 많았다. 한편, 실험기간중 흰쥐의 체중, 증체량, 식이섭취량 및 식이효율변화는 Fig. 1과 같았다. 따

Table 1. Proximate analysis of the experimental diets

	Diet		
	Nak-Dong rice	GM rice	Control
Moisture (%)	9.63	9.99	9.85
Crude fat (%)	3.49	3.47	5.90
Crude protein (%)	16.69	16.55	18.24
Crude ash (%)	3.72	3.67	5.84
Carbohydrate (%)	66.47	66.32	60.17
Dietary fiber (%)	6.09	4.95	17.20
Energy (kcal/100 g)	364.00	363.00	367.00
Ca (mg/100 g)	958.35	1165.45	1192.26
P (mg/100 g)	538.68	534.28	789.42

Table 2. Effects of diets supplemented with Nak-Dong rice or β-carotene biofortified rice on body weight gain, diet intake, feed efficiency ratio (FER), and fecal amount in Wistar rats

Group	Initial body wt. (g)	Final body wt. (g)	Body weight gain (g/d)	Diet (g/d)	FER	Feces (g/d)
Nak-Dong rice	154.1±3.36^{ns}	352.2±16.37^{ns}	7.26±1.58^{ns}	24.45±1.83^{b}	0.300±0.083^{ns}	6.71±0.74^{b}
GM rice	154.5±7.26	358.2±35.25	7.47±1.52	25.08±1.46^{b}	0.301±0.076	7.27±0.88^{b}
Control	156.8±4.38	374.3±19.08	7.95±2.11	29.58±2.65^{a}	0.278±0.093	17.48±3.15^{a}

Values are mean±SD (n=11).
Means with different letters are significantly different (p<0.05).
^{ns}not significant

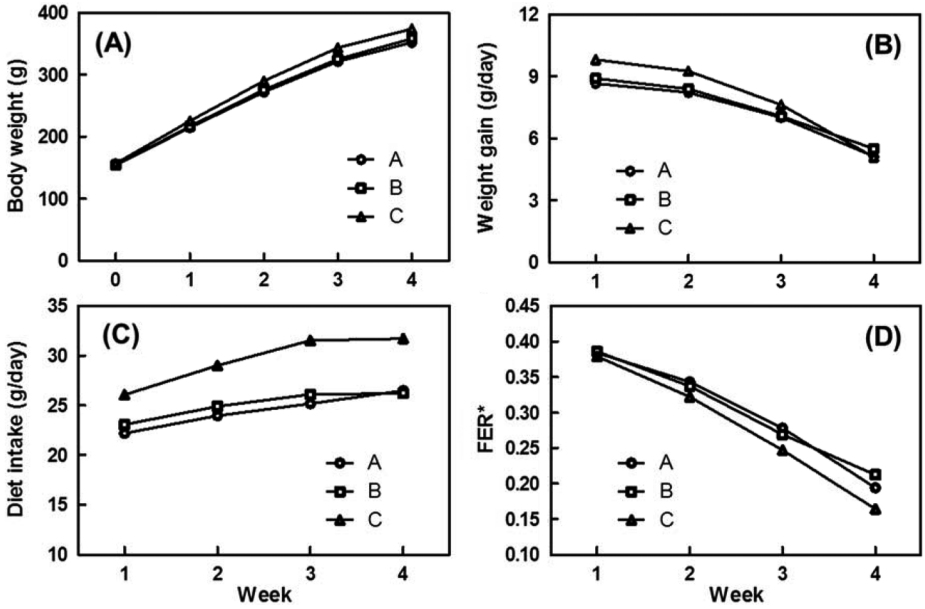

Fig. 1. Effects of diets supplemented with Nak-Dong rice or β-carotene biofortified rice in Wistar rats. (A) Body weight changes. (B) Body weight gain. (C) Diet intake. (D) Feed efficiency ratio (FER). A; Nak-Dong rice, B; GM rice, C; Control.

라서, GM쌀의 급여는 흰쥐에게 식이섭취량이나 체중 증가와 같은 일반적인 성장에 부정적인 영향을 주지 않는 것으로 보인다. 이러한 결과는 GMO의 영양적 안전성은 GM작물이 일반 작물과 영양적 안전성에서 차이를 보이지 않았다는 내용과 유사한 결과이다(24,25).

장기, 경골 및 체지방 무게의 변화

모종쌀과 GM쌀 첨가식이를 4주 동안 급여한 Wistar 흰쥐의 장기, 경골 및 체지방무게는 Table 3와 같다. 간장무게는 모종쌀과 GM쌀 실험군 보다 대조군이 3.38 g으로 통계적으로 유의하게 무거웠으며(p<0.05), 모종쌀과 GM쌀 실험군간에는 유의적인 차이가 없었다. 신장, 비장 및 정소무게는 실험군과 대조군간에 차이가 없었다. 경골무게는 0.771-0.830 g으로 두 실험군과 대조군간에 차이가 없었고, 두 실험군중에서는 GM쌀이 모종쌀 보다 다소 경골무게가 무거웠으나 유의적인 차이는 없었다. 내장지방(visceral fat accumulation)의 무게를 살펴본 결과, 신장주변지방패드(perirenal fat pad, RFP) 무게는 실험군중 GM쌀이 모종쌀에 비해 낮았으나 대조군과는 차이가 없었다. 정소상체지방패드(epididymal fat pad, EFP) 무게는 대조군과 두 실험군간에 유의적인 차이가 없었다. 따라서, GM쌀의 실험식이를 급여하였을 때, 장기는 모종인 낙동쌀 식이 섭취군과 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 간, 신장, 폐 등의 6개 장기의 무게를 측정한 결과 유전자 변형된 백미 및 현미밥으로 배합한 실험식이가 모종 식이 섭취군과 유의적인 차이가 없었다는 내용과 유사한 결과이다(15). GM 작물은 적은 생산비용으로 높은 수확량을 얻을 수 있는 반면 이에 대한 안전성의 여지는 여전히 남아있다. GM작물을 먹었을 경우 혹은 이를 이용하는 사료를 먹은 가축들의 경우 이입된 유전자에 의하여 다른 유전자의 발현을 유도 혹은 감소시키는 등의 영향을 주게 되면 세포나 조직에 많은 영향을 주게 된다. 또한 이를 섭취한 동물 등에서 형질전환이 된 유전자의 발현이 일어날수 있는데 돼지 사료로 GM작물을 사용한 경우 이들의 혈액 및 각종 장기 등에서 형질전환에 이용된 유전자의 단편들이 확인이 되는 것으로 나타났는데, GM작물이 그렇지 않은 작물에 비해 유전적 전이현상이 더 클 것이라는 것을 추측하게 한다(26). 유전자 이입에 따른 GM쌀과 모종쌀 섭취 마우스의 housekeeping gene 발현패턴을 살펴본 결과에서 18S rRNA, 25S rRNA, eukaryotic elongation factor-1α, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, ubiquitin-5, ubiquitin-10, β-tublin, eukaryotic inifiation factor-4a, actin 11 등에서 큰 차이를 보이지 않았다고 보고되었다(27). 본 실험결과 GM쌀은 모종과 비교시 실험동물로 사용된 흰쥐의 식이섭취량, 체중증가량 및 대변 배설 등의 임상증상 및 장기의 무게에 큰 영향을 미치지 않았다. 그러므로 본 실험에 사용된 GM쌀은 실험동물에서 장기적 측면에서 어떠한 부정적 영향도 미치지 않는 것으로 사료되나 이에 대한 연구는 보다 장기적인 관점에서 실시되어야 할 것으로 사료된다.

Table 3. Effects of diets supplemented with Nak-Dong rice or β-carotene biofortified rice on the weight of organ, tibia, and body fat in Wistar rats
(Unit: g/100 g BW)

Group	Organ				Tibia (g)	Body fat	
	Liver	Kidney	Spleen	Testes		RFP[1)]	EFP[2)]
Nak-Dong rice	2.90±0.17[b]	0.39±0.04[ns]	0.27±0.03[ns]	0.50±0.06[ns]	0.771± 0.050[ns]	0.71±0.23[ns]	0.74±0.15[ns]
GM rice	2.93±0.16[b]	0.39±0.02	0.28±0.04	0.48±0.09	0.821±0.071	0.65±0.22	0.72±0.14
Control	3.38±0.20[a]	0.39±0.04	0.27±0.04	0.48±0.04	0.830±0.084	0.68±0.13	0.71±0.10

Values are mean±SD (n=11). Means with different letters are significantly different (p<0.05).
[1)]RFP: perirenal fat pad
[2)]EFP: epididymal fat pad
[ns]not significant

Table 4. Effects of diets supplemented with Nak-Dong rice or β-carotene biofortified rice on the weight of liver and fecal lipid in Wistar rats

Group	Liver (mg/g wet liver tissue)		Feces (mg/g feces)	
	TC[1)]	TG[2)]	TC	TG
Nak-Dong rice	9.34±3.81[a]	31.41±8.88[b]	6.65±4.05[ab]	9.88±2.80[b]
GM rice	4.58±4.46[b]	35.04±8.79[ab]	5.21±1.53[b]	6.82±3.75[b]
Control	2.26±3.10[b]	39.91±9.46[a]	10.12±3.78[a]	19.73±3.93[a]

Values are mean±SD (n=11). Means with different letters are significantly different (p<0.05).
[1)]TC: total-cholesterol
[2)]TG: triglyceride

간조직과 분변지질의 함량의 변화

모종쌀과 GM쌀 첨가식이를 4주 동안 급여한 Wistar 흰쥐의 간조직과 분변의 지질농도는 Table 4와 같다. 간조직중 총콜레스테롤(TC) 함량은 모종쌀(9.34 mg/g)이 대조군(2.26 mg/g) 보다 높았으며, GM쌀(4.58 mg/g)은 대조군과 유의적인 차이는 없었으나, 모종쌀에 비해 통계적으로 유의하게 낮았다(p<0.05). 중성지방(TG) 함량은 모종쌀 식이군(31.41 mg/g)과 대조군(39.91 mg/g) 간에 유의한 차이가 있었다(p<0.05). 분변중 총콜레스테롤(TC) 함량은 대조군(10.12 mg/g)에 비해 모종쌀(6.65 mg/g)과 GM쌀(5.21 mg/g) 실험군에서 통계적으로 유의하게 낮았고, 모종쌀에 비해 GM쌀 식이군이 더 낮았다. 분변중 중성지방(TG) 함량은 모종쌀과 GM쌀 두 실험군이 각각 9.88, 6.82 mg/g으로 대조군(19.73 mg/g) 보다 통계적으로 유의하게 낮았으며(p<0.05), 두 실험군간에는 유의적인 차이는 없었다. 분변으로 배설되는 지질함량은 두 실험군 보다 대조군이 유의하게 많았고, 두 실험군에서는 모종쌀이 GM쌀 보다 유의한 차이가 없이 각각 28, 45% 더 많은 것으로 나타났다. 본 실험결과 영양기능 측면에서 유전자 변형된 β-carotene 강화쌀은 모종 쌀에 비해 실험동물로 사용된 흰쥐의 간과 분변의 지질농도를 낮추는 것으로 사료된다. Silva 등(28)은 β-carotene 첨가 식이가 고콜레스테롤 함유 식이로 유도된 흰쥐의 간조직내 총지질과 총콜레스테롤 함량을 감소시켰다고 보고하였으며, β-carotene 첨가 식이는 콜레스테롤 대사와 관련된 sterol regulatory element-binding protein 2,3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase, low-density lipoprotein receptor, peroxisome proliferator-activated receptor α, cholesterol-7a-hydroxylase 발현에는 영향을 미치지 않았다고 보고하였다.

혈청 생화학치의 변화

모종쌀과 GM쌀 첨가식이를 4주 동안 급여한 Wistar 흰쥐의 혈청 생화학치는 Table 5와 같다. 미네랄 중 철(Fe) 농도는 모종쌀과 대조군 보다 GM쌀이 통계적으로 낮았고, 마그네슘(Mg) 농도는 대조군 보다 모종쌀과 GM쌀 두 실험군이 각각 2.41, 2.54 mg/dL로 통계적으로 낮았으며(p<0.05), 두 실험식이군 간에는 유의적인 차이가 없었다. 칼슘(Ca) 농도는 11.04-11.30 mg/dL로 대조군 및 실험군간 차이가 없었다. 간기능을 측정하는 효소수치 중 AST (GOT) 활성은 모종쌀과 대조군 보다 GM쌀이 통계적으로 높았고, ALT (GPT)활성은 두 실험군보다 대조군이 유의하게 높았으며(p<0.05), 두 실험식이군 간에는 유의적인 차이가 없었다. 공복혈당은 모종쌀 식이군(85.09 mg/dL)이 대조군(80.18 mg/dL)에 비해 높았으며, GM쌀 식이군(73.09 mg/dL)이 모종쌀 식이군에 비해 유의적으로 낮았다(p<0.05). 총콜레스테롤(TC) 농도는 대조군(101.82 mg/dL) 보다 두 실험식이군(76.27, 70.55 mg/dL)이 통계적으로 유의하게 낮았으며(p<0.05), 모종쌀보다 GM쌀 식이군이 낮았다. HDL-C 농도는 대조군에 비해 두 실험식이군이 유의하게 낮았고, 두 실험식이군 간에는 유의적인 차이가 없었다. LDL-C 농도는 두 실험군이 대조군 보다 유의하게 낮았으며(p<0.05), 모종쌀에 비해 GM쌀 식이군이 더 낮았다. 중성지방(TG) 농도는 유의적인 차이가 없었지만 두 실험군이 대조군 보다 평균 18% 낮았으며, 모종쌀에 비해 GM쌀 식이군이 더 낮았다. 한편, 혈구세포를 보면 적혈구수(RBC)는 두 실험군이 대조군 보다 유의하게 낮았으나(p<0.05), 모종쌀과 GM쌀 두 실험군 간에는 유의적인 차이가 없었다. 백혈구수(WBC)는 5.23-6.91($\times 10^3/\mu L$) 범위로 실험군간 차이가 없었다. 헤마토크릿치(Hct)와 혈색소(Hb) 함량은 두 실험식이군이 대조군 보다 통계적으로 유의하게 낮았으나(p<0.05), 모종쌀과 GM쌀 두 실험군간에는 유의적인 차이가 없었다. 혈소판수(Platelet)는 대조군에 비해 두 실험식이군에서 유의하게 낮았으며(p<0.05), 모종쌀에 비해 GM쌀 식이군이 더 높았다(Table 6). 이러한 결과는 GM작물이 모종과 비교시 실험동물모델에서 혈액학 실험에서 유의적인 차이가 없었다는 보고와 유사한 결과이다(29,30). 또한 유전자 변형된 β-carotene 강화쌀은 모종과 비교시 혈액내 immunoglobulin (IgM, IgE, IgG1, IgG2a)와 cytokine (TNF-α, IL-5, IL-12) 수치에 유의적인 차이가 없어 유전자 변형된 β-carotene 강화쌀 식이로 인한 생체내 면역력저하 경향은 관찰되지 않았다고 보고되었다(16). 본 실험결과 GM쌀은 모종쌀과

Table 5. Effects of diets supplemented with Nak-Dong rice or β-carotene biofortified rice on serum minerals and hematochemicals in Wistar rats

Hemato-chemicals	Group		
	Nak-Dong rice	GM rice	Control
Iron (μg/dL)	346.64±105.85[a]	249.00±53.25[b]	400.09±100.43[a]
Mg (mg/dL)	2.41±0.19[b]	2.54±0.20[b]	2.84±0.10[a]
Ca (mg/dL)	11.04±0.33[ns]	11.12±0.33	11.30±0.30
AST (U/L)	112.73±16.14[b]	132.45±12.09[a]	115.73±13.32[b]
ALT (U/L)	29.00±4.52[b]	32.73±4.17[b]	45.00±4.69[a]
Glucose (mg/dL)	85.09±9.07[a]	73.09±8.30[b]	80.18±8.38[ab]
TC (mg/dL)	76.27±9.10[b]	70.55±7.06[b]	101.82±16.34[a]
HDL (mg/dL)	64.55±6.89[b]	60.91±7.50[b]	87.18±12.58[a]
LDL (mg/dL)	6.45±1.44[b]	6.27±1.49[b]	15.00±2.97[a]
TG (mg/dL)	88.73±21.91[ns]	82.91±34.62	104.55±36.12

Values are mean±SD (n=11). Significantly different (p<0.05), [ns]not significant
AST: aspartate aminotransferase
ALT: alanine aminotransferase
TC: total-cholesterol
HDL: high-density lipoprotein cholesterol
LDL: low-density lipoprotein cholesterol
TG: triglyceride

Table 6. Effects of diets supplemented with Nak-Dong rice or β-carotene biofortified rice on hematological parameters in Wistar rats

Group	RBC (×10^6/μL)	WBC (×10^3/μL)	Hct (%)	Hb (g/dL)	Platelet (×10^3/μL)
Nak-Dong rice	7.50±0.37[b]	5.23±1.27[ns]	48.39±2.61[b]	14.72±0.81[b]	1195.4±142.53[b]
GM rice	7.64±0.41[b]	5.72±2.38	48.08±2.19[b]	14.48±0.59[b]	1246.3±174.98[ab]
Control	8.10±0.24[a]	6.91±1.97	53.33±1.91[a]	16.10±0.58[a]	1375.4±200.83[a]

Values are mean±SD (n=11). Significantly different (p<0.05), [ns]Not significant
RBC: red blood cell
WBC: white blood cell
Hct: hematocrit
Hb: hemoglobin

비교시 실험동물로 사용된 흰쥐의 혈청 생화학적 지표에 큰 영향을 미치지 않았으며, 영양기능 측면에서 혈중 지질농도를 낮추며, 공복혈당치를 유의하게 감소시켰다.

GM 작물은 생산량 증대라는 목적을 달성하면서 미래 식량문제를 해결할 수 있는 유력한 대안 중의 하나로 알려있다(31). 하지만 원래 가지고 있지 않은 새로운 유전자가 이입된다는 관점에서 볼 때 이와 같은 작물을 섭취하는 생물의 안전성 측면은 아직 밝혀지지 않은 부분이 많이 있는 것으로 판단된다(32). 본 실험에서 국내에서 개발된 유전자변형 β-carotene 강화쌀(GM쌀)의 일반성분은 모종인 낙동쌀에 비해 식이섬유가 적고, 칼슘(Ca) 함량이 많은 것을 제외하고는 실험식이의 일반성분이 유사하였다(17). 모종쌀과 GM쌀 첨가식이를 4주 동안 급여한 흰쥐를 살펴보았을 때 GM쌀의 급여는 모종쌀과 비교시 흰쥐에게 식이섭취량이나 체중 증가와 같은 일반적인 성장에 부정적인 영향을 주지 않았고, 또한 간, 신장, 비장 등의 6개 장기의 무게를 측정한 결과 GM쌀은 모종쌀 식이 섭취군과 비교시 유의적인 차이가 없었으며(15,27), 혈청생화학치에서도 모종쌀과 GM쌀 두 실험군간에는 유의적인 차이가 없었다(16,29,30). 이상의 결과에서 실험에 사용된 GM쌀은 실험동물에서 안전성의 측면에서 어떠한 부정적 영향도 미치지 않는 것으로 사료되나 이에 대한 생물개체의 안전성 연구는 보다 장기적인 관점에서 실시되어야 할 것으로 판단된다. 반면, GM쌀은 모종쌀에 비해 배변량을 증가시키고, 간과 분변 및 혈중 지질농도를 낮추며, 공복혈당치를 유의하게 감소시키는 것으로 나타나 영양기능성을 지닌 것으로 사료된다(28).

요 약

본 연구에서는 β-carotene 강화쌀의 생체이용율과 영양기능성을 모종쌀과 비교하였다. 실험동물은 수컷 Wistar 흰쥐를 사용하였고, Harlan 2018S-diet를 기본 식이로 하였다. 실험 식이는 낙동쌀(모종쌀), β-carotene 강화쌀(GM쌀) 및 Harlan 2018S-diet(대조군)으로 하였고, 실험군당 11마리씩 배정하였다. 실험식이에 함유된 전분 함량은 모종쌀과 GM쌀로 각각 30% 대체하였고, 펠렛 식이로 재성형하여 4주 동안 급여하였다. 실험기간동안 GM쌀의 급여는 모종쌀과 비교시 흰쥐에게 식이섭취량이나 체중 증가와 같은 일반적인 성장에 부정적인 영향을 주지 않았다. 간, 신장, 비장, 체지방 등의 6개 장기의 무게를 측정한 결과 GM쌀은 모종쌀 식이 섭취군과 비교시 유의적인 차이가 없었다. 간지질중 총콜레스테롤(TC) 함량은 GM쌀 식이군이 모종쌀 식이군 보다 유의하게 낮았고, 분변지질(TC, TG) 농도 역시 GM쌀 식이군이 모종쌀 식이군에 비해 낮았다. 혈청생화학치와 혈구세포의 변화를 살펴보면 전반적으로 두 실험군(모종쌀, GM쌀) 간의 차이가 없었으나, 혈청지질 농도는 GM쌀 식이군이 모종쌀 식이군 보다 낮았고, 공복혈당은 GM쌀 식이군이 모종쌀 식이군 보다 통계적으로 유의하게 낮았다. 위의 결과들을 종합하면 GM쌀은 모종쌀에 비해 생체이용 측면에서 성장률과 장기무게 및 체지방 등에서 차이가 없었고, 영양기능 측면에서는 배변량을 증가시키고, 간과 분변 및 혈중 지질농도를 낮추며, 공복혈당치를 유의하게 감소시키는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 농진청 바이오그린21사업의 지원에 의한 결과로 이에 감사드립니다.

References

1. Bedo Z, Rakszegi M, Láng L. Design and management of field trials of transgenic cereals. Methods Mol. Biol. 478: 305-314 (2009)
2. James C. Global status of commercialized biotech/GM crops. ISAAA Briefs No. 37-2007. ISAAA, Ithaca, NY, USA (2007)
3. Woo HJ, Lim SH, Lee KJ, Won SY, Kim TS, Cho HS, Jin YM. Current development status on the genetically modified crops in Korea. Korean J. Intl. Agri. 18: 221-229 (2006)
4. Juliano BO, Bechtel DB. The rice grain and its gross composition. pp. 37-50 In: Rice Chemistry and Technology. Juliano BO (ed). AACC, St. Paul, MN, USA (1985)
5. Yonekura-Saakakibara K, Saito K. Review: Genetically modified plants for the promotion of human health. Biotechnol. Lett. 28: 1983-1991 (2006)
6. Ye X, Al-Babili S, Klöti A, Zhang J, Lucca P, Beyer P, Potrykus I. Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. Science 287: 303-305 (2000)
7. Hoa TT, Al-Babili S, Schaub P, Potrykus I, Beyer P. Golden Indica and Japonica rice lines amenable to deregulation. Plant Physiol. 133: 161-169 (2003)
8. Paine JA, Shipton CA, Chaggar S, Howells RM, Kennedy MJ, Vernon G, Wright SY, Hinchliffe E, Adams JL, Silverstone AL, Drake R. Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. Nat. Biotechnol. 23: 482-487 (2005)
9. Dawe D, Robertson R, Unnevehr L. Golden rice: What role could it play in alleviation of vitamin A deficiency? Food Policy 27: 541-560 (2002)
10. Zhu C, Sanahuja G, Yuan D, Farré G, Arjó G, Berman J, Zorrilla-López U, Banakar R, Bai C, Pérez-Massot E, Bassie L, Capell T, Christou P. Biofortification of plants with altered antioxidant content and composition: genetic engineering strategies. Plant Biotechnol. J. 11: 129-141 (2013)
11. Tanaka T, Shnimizu M, Moriwaki H. Cancer chemoprevention by carotenoids. Molecules 17: 3202-3242 (2012)
12. Lee KP, Kim DH, Kweon SJ, Baek HJ, Ryu TH. Risk assessment and variety registration of transgenic crops. J. Plant Biotechnol. 35: 13-21 (2008)
13. OECD. Safety Considerations of Foods Derived by Modern Biotechnology: Concepts and Principle. Organization for Economic Co-operation and Development, Paris, France (1993)
14. Kim HC, Kim HM. Risk assessment of genetically modified organism. J. Toxicol. Pub. Health 19: 1-12 (2003)
15. Lee SH, Park HJ, Cho SY, Chun HK, Park YH, Jeong MH, Park SH. Evaluation of nutritional safety for the herbicide-resistant rice in growing male rats. Korean J. Nutr. 36: 1030-1035 (2003)
16. Park SJ, Jeong MH, Park KH, Park JE. Effect of dietary genetically modified β-carotene biofortified rice on immune in rats. Reprod. Dev. Biol. 36: 133-139 (2012)
17. Lee YT, Kim JK, Ha SH, Cho HS, Suh SC. Analyses of nutrient composition in genetically modified β-carotene biofortified rice. J. Koran Soc. Food Sci. Nutr. 39: 105-109 (2010)
18. Lee YT, Kim MH, Im JS, Kim JK, Ha SH, Lee SM, Kweon SJ, Suh SC. Influence of cooking on nutrient composition in provitamin A-biofortified rice. Korean J. Food Sci. Technol. 43: 683-688 (2011)
19. Ha SH. Fusion polynucleotide for biosynthesis of β-carotene comprising self-cleavage 2A sequence and transformed cells using the same. Korean Patent 10-0905219 (2009)
20. AOAC. Official Methods of Analysis. 15th ed. Method 925.30, 945.46, 976.06. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1990)
21. AOAC. Official Methods of Analysis. 16th ed. Method 991.42. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1995)
22. AOAC. Official Methods of Analysis. 16th ed. Method 970.12. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1995)
23. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. J. Biol. Chem. 226: 487-509 (1957)
24. Vasconcelos IM, Maia AA, Siebra EA, Oliveira JT, Carvalho AF, Melo VM, Carlini CR, Castelar LI. Nutritional study of two Brazilian soybean (Glycine max) cultivars differing in the contents of antinutritional and toxic proteins. J. Nutr. Biochem. 12: 55-62 (2001)
25. Padgette SR, Taylor NB, Nida DL, Bailey MR, MacDonald J, Holden LR, Fuchs RL. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. J. Nutr. 126: 702-716 (1996)
26. Mazza R, Soave M, Morlacchini M, Piva G, Marocco A. Assessing the transfer of genetically modified DNA from feed to animal tissues. Transgenic Res. 14: 775-784 (2005)
27. Lee DY, Heo JC, Lee KH, Kim DH, U SU, Cho HS, Lee SH. Comparison of expression pattern of housekeeping genes in mice fed genetically modified rice. Korean J. Food Preserv. 14: 688-694 (2007)
28. Silva LS, de Miranda AM, de Brito Magalhães CL, Dos Santos RC, Pedrosa ML, Silva ME. Diet supplementation with beta-carotene improves the serum lipid profile in rats fed a cholesterol-enriched diet. J. Physiol. Biochem. 69: 811-820 (2013)
29. Batista R, Nunes B, Carmo M, Cardoso C, José HS, de Almeida AB, Manique A, Bento L, Ricardo CP, Oliveira MM. Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya sample. J. Allergy Clin. Immunol. 116: 403-410 (2005)
30. Kim KM, Kim CK, Kim BO. Safety test of brown rice expressing *Arabidopsis* calcium transporter by feeding trial in mice. J. Life Sci. 18: 1390-1394 (2008)
31. Gujar GT, Kalia V, Kumari A, Singh BP, Mittal A, Nair R, Mohan M. *Helicoverpa armigera* baseline susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry toxins and resistance management for Bt cotton in India. J. Invertebr. Pathol. 95: 214-219 (2007)
32. Reis LF, Van Sluys MA, Garratt RC, Pereira HM, Teixeira MM. GMOs: building the future on the basis of past experience. An. Acad. Bras. Cienc. 78: 667-686 (2006)