

## 두부 중 GMO 정량분석법 검증 및 함량 조사

미생물관리팀

최영희 · 한은정 · 김민정 · 조주연 · 이정숙 · 황인숙 · 신용승

# Verification of GMO Quantification Method and Monitoring GM Soybean Events in Tofu

*Microbial Control Team*

Young-hee Choi, Eun-jung Han, Min-jung Kim, Ju-yeon Jo,  
Jeong-sook Lee, In-sook Hwang and Yong-seung Shin

### Abstract

This study aimed to determine whether it is possible to quantify genetically modified (GM) events in tofu, to identify all GM soybean events, and to quantify the three most frequent events (RRS, MON89788, A2704-12) in tofu samples. The extracted DNA from tofu and quantification method met acceptance criteria according to the European Network of GMO Laboratories (ENGL). The Ct means of lectin extracted from 20 tofu and 20 kinds of soybean were compared to assess DNA degradation during processing. There was no significant Ct difference between the two groups. Real-time PCR was then used to track GM soybean events and there were no detectable GM events in 21 tofu samples made from domestic soybeans. However, A2704-12 was detected in all 44 tofu samples made from imported soybeans and MON89788 (42), RRS (30), MON87708 (18), DAS4406-6 (3), and A5547-127 (1) were also detected and one or more of these events were simultaneously detected in each sample. The ranges of A2704-12, RRS, and MON89788 were 0.02 – 0.08%, 0.02 – 0.16%, and 0.03 – 0.10% respectively, and these three events' largest total was 0.26%. This was a very low presence compared to 3%, the adventitious level in Korea, and it was assumed that there was unintended contamination during cultivation and distribution.

**Key words** : tofu, genetically modified soybean, GMO detection, quantification, Real-time PCR

## 서 론

두부는 우리나라뿐만 아니라 아시아지역에서 콩 (*Glycine max L.*)을 주원료로 하는 대표적인 콩가공식품으로 콩을 침지하여 분쇄, 가열, 응고, 압착 성형과정을 거쳐 만들어진다. 최근에 두부는 뛰어난 식물성단백질 자원으로 각광받고 있지만(1), 국내 콩 자급률이 약 22%로 대부분의 콩을 수입에 의존하고 있다(2). 2020년에 미국과 브라질로부터 약 121만 톤의 콩을 수입하였고, 그중 비유전자변형 콩은 약 15만 톤(12%)이었다. 원산지별 두부 제조용 원료콩은 국산 19.6%, 수입산 80.4%가 사용되고 있다(3, 4).

유전자변형농산물에 대한 표시제도는 농산물품질관리법에 따라 2001년 3월부터 시행되고 있으며, 농산물에서 유전자변형농산물의 비의도적 혼입이 3% 이하인 경우 유전자변형 표시를 면제하도록 하고 있다. 가공식품은 유전자변형식품 등의 표시기준에 따라 원료의 유전자변형여부 표시를 가공식품원료란에 기재하도록 하고 있다. 또한 3% 이하로 구분유통관리된 경우 GMO(Genetically Modified Organism) 표시를 면제하며, 3%를 초과한 경우는 '유전자변형'이라고 표시하도록 하고 있다.

국제생명공학응용서비스(International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications, ISAAA)에 따르면 대두의 경우 37개의 유전자변형 이벤트가 식용으로 승인되어 있고, 우리나라의 경우 후대교배종을 포함하여 29개의 콩 유전자변형 이벤트가 승인되어 있으며, 그중 17개 이벤트에 대한 시험방법이 식품공전에 등록되어 있다.

PCR을 이용한 콩과 옥수수에 대한 GMO 정성분석에 대한 연구(5~9)와 RT-PCR를 이용한 GMO 정량분석에 대한 연구들이 이루어져 왔지만(10~13), 정량분석에 대한 연구는 매우 제한적이다. 또한 식품공전 유전자변형식품의 시험법은 농·축산물과 단순 분쇄 가공 농축의 경우 재조합 유전자의 정성분석과 정량분석이 모두 적용 가능하나,

가공식품의 경우 정성분석만 적용하도록 규정하고 있다. 가공과정 동안 DNA 분해 및 파괴에 대한 연구(12~16)와 가공식품에서 GMO 함량을 분석한 연구들이 이루어졌지만(10, 17~18), 국내에서는 가공 공정 동안 DNA 분해 정도 등을 고려한 정확한 정량시험법이 확립되어 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 콩과 두부에서 추출한 콩 내재유전자를 대상으로 가공과정 동안 DNA 분해 여부를 평가하여 두부 중 유전자변형 콩 이벤트의 정량가능성을 검토하고, 국산 및 수입산 콩으로 만든 두부에서 유전자변형 콩 이벤트를 정성분석한 다음 두부에서 검출률이 높은 이벤트인 RRS, MON89788, A2704-12에 대한 정량분석을 수행하여 국내 유통 두부 중 유전자변형 콩 이벤트에 대한 정확한 정보를 제공하고 표시기준 준수 여부를 확인하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료

서울지역 대형마트 및 두부 제조업소에서 두부 65개(국산 21개, 수입 44개)와 제조업소 20곳에서 두부 제조용 수입산 원료콩을 구매하여 분석 시료로 사용하였다. 모든 두부 및 콩 시료는 '유전자변형'으로 표시되어있지 않았다. 원료콩은 균질하게 분쇄하여 유전자 추출 시료로 사용하였고, 두부는 55°C에서 하룻밤 방치하여 수분을 증발시켜 남은 고형분을 분쇄하여 시료로 사용하였다.

### 2. 프라이머, 프로브 및 플라스미드

프라이머와 프로브는 바이오니아(Bioneer. Co)로부터 합성하여 사용하였고(Table 1), 정성분석을 위한 양성대조구는 코젠바이오텍(Kogene, Co, Korea)으로부터 구매하였다. RRS, MON89788, A2704-12 이벤트의 정량분석을 위해 GM soybean

(RRS) Detection Plasmid Set, GM soybean (RR2, MON89788) Detection Plasmid Set, GM soybean(LLS, A2704-12) Detection Plasmid Set(NipponGene, Tokyo, Japan)를 사용하였다. 정량 시험법 유효성 검증을 위해 GTS 40-3-2(RRS) soybean powder(0.1% BF410ck, 1% BF410dk)(IRMM, Geel, Belgium)를 구매하여 사용하였다.

### 3. DNA 추출 및 순도

자기흡착비드 형태의 Plant DNA Extraction Kit로 Nextractor NX-48(Genolution, Seoul, Korea)를 이용하여 콩 및 두부에서 DNA를 추출하였다. PD lysis solution 800  $\mu$ L와 protease K 20  $\mu$ L를 150 mg 시료가 담겨진 1.5 mL centrifuge

tube에 넣고 15초 동안 혼합하였다. 이를 heating block에서 20분간 추출하고 13,500 rpm으로 5분 동안 원심분리한 후 sample well에 400  $\mu$ L 분주하여 NX-48로 추출하였다.

DNA 농도 및 순도 확인을 위해 UV/Visible spectrometer(JENWAY Genova nano, Bibby Scientific Ltd. UK)를 이용하여 230, 260, 280 nm에서 흡광도를 측정하였다. A260/A280과 A260/A230이 1.7 ~ 2.0일 경우 PCR에 적합한 DNA로 판단하였다. 또한 JRC technical report(ENGL, European Network of GMO Laboratories)(19)에 따라 추출 DNA를 평가하기 위해 Ct값과  $\log(1/\text{dilution factor})$ 로 검량선을 작성하여 R<sup>2</sup>, 기울기, 증폭효율을 확인하였고, 단계 희석한 DNA 추출물의 평균  $\Delta$ Ct 값과 이론적  $\Delta$ Ct 값을 비교하였다.

Table 1. Primer pairs and probes used for real-time PCR

Name	Name	Oligonucleotide DNA sequence(5'-3')	Amplicon length (bp)
Lectin	Le1n02-5'	5'-GCC CTC TAC TCC ACC CCC A-3'	118
	Le1n02-3'	5'-GCC CAT CTG CAA GCC TTT TT-3'	
	Le1-Taq	5'-FAM-AGC TTC GCC GCT TCC TTC AAC TTC AC-TAMRA <sup>a</sup> -3'	
CaMV P35S	P35S 1-5'	5'-ATT GAT GTG ATA TCT CCA CTG ACG T-3'	101
	P35S 1-3'	5'-CCT CTC CAA ATG AAA TGA ACT TCC T-3'	
	P35S-Taq	5'-FAM-CCC ACT ATC CTT CGC AAG ACC CTT CCT-TAMRA-3'	
tNOS	NOS ter 2-5'	5'-GTC TTG CGA TGA TTA TCA TAT AAT TTC TG-3'	151
	NOS ter 2-3'	5'-CGC TAT ATT TTG TTT TCT ATC GCG T-3'	
	NOS-Taq	5'-FAM-AGA TGG GTT TTT ATG ATT AGA GTC CCG CAA-TAMRA-3'	
RRS (GTS40-3-2)	RRS 01-5'	5'-CCT TTA GGA TTT CAG CAT CAG TGG-3'	121
	RRS 01-3'	5'-GAC TTG TCG CCG GGA ATG-3'	
	RRS-Taq	5'-FAM-CGC AAC CGC CCG CAA ATC C-TAMRA -3'	
MON89788	MON89788-5'	5'-TCC CGC TCT AGC GCT TCA AT-3'	139
	MON89788-3'	5'-TCG AGC AGG ACC TGC AGA A-3'	
	MON89788-Taq	5'-FAM-CTG AAG GCG GGA AAC GAC AAT CTG-TAMRA-3'	

Name	Name	Oligonucleotide DNA sequence(5'-3')	Amplicon length (bp)
A2704-12	KVM175-5'	5'-GCA AAA AAG CGG TTA GCT CCT-3'	64
	SMO001-3'	5'-ATT CAG GCT GCG CAA CTG TT-3'	
	A2704-12-Taq	5'-FAM-CGG TCC TCC GAT CGC CCT TCC-TAMRA-3'	
DP356043-5	DP356-f1	5'-GTC GAA TAG GCT AGG TTT ACG AAA AA-3'	99
	DP356-r1	5'-TTT GAT ATT CTT GGA GTA GAC GAG AGT GT-3'	
	DP356-p	5'-FAM-CTC TAG AGA TCC GTC AAC ATG GTG GAG CAC-TAMRA-3'	
DP305423-1	DP305423-f1	5'-CGT GTT CTC TTT TTG GCT AGC-3'	93
	DP305423-r5	5'-GTG ACC AAT GAA TAC ATA ACA CAA ACT A-3'	
	DP305423-1p	5'-FAM- TGA CAC AAA TGA TTT TCA TAC AAA AGT CGA GA-TAMRA-3'	
A5547-127	A5547-127Q-5'	5'-GCT ATT TGG TGG CAT TTT TCC A-3'	75
	A5547-127Q-3	5'-CAC TGC GGC CAA CTT ACT TCT-3'	
	A5547-127-Taq	5'-FAM-CCG CAA TGT CAT ACC GTC ATC GTT GT-TAMRA-3'	
MON87701	MON87701Q-5'	5'-CGT TTC CCG CCT TCA GTT TAA A-3'	89
	MON87701Q-3'	5'-TGG TGA TAT GAA GAT ACA TGC TTA GCA T-3'	
	MON87701-Taq	5'-FAM-TCA GTG TTT GAC ACA CAC ACT AAG CGT GCC-TAMRA-3'	
CV127	SE-127-f4	5'-AAC AGA AGT TTC CGT TGA GCT TTA AGA C-3'	88
	SE-127-r2	5'-CAT TCG TAG CTC GGA TCG TGT AC-3'	
	SE-127-p3	5'-6FAM-TTT GGG GAA GCT GTC CCA TGC CC-TAMRA-3'	
MON87705	MON87705 primer1	5'-TTC CCG GAC ATG AAG CCA TTT AC-3'	86
	MON87705 primer2	5'-ACA ACG GTG CCT TGG CCC AAA G-3'	
	MON87705 probe	5'-FAM-AAG AGA CTC AGG GTG TTG TTA TCA CTG CGG-TAMRA-3'	
MON87708	MON87708Q primer1	5'-TCA TAC TCA TTG CTG ATC CAT GTA G-3'	96
	MON87708Q primer2	5'-AGA ACA AAT TAA CGA AAA GAC AGA ACG-3'	
	MON87708Q probe	5'-FAM-TCC CGG ACT TTA GCT CAA AAT GCA TGT A-TAMRA-3'	
MON87769	MON87769 primer1	5'-CAT ACT CAT TGC TGA TCC ATG TAG ATT-3'	87
	MON87769 primer2	5'-GCA AGT TGC TCG TGA AGT TTT G-3'	
	MON87769 probe	5'-FAM-CCC GGA CAT GAA GCC ATT TAC AAT TGA C-TAMRA-3'	
FG72	MAE071	5'-AGA TTT GAT CGG GCT GCA GG-3'	70
	SHA097	5'-GCA CGT ATT GAT GAC CGC ATT A-3'	
	TM325	5'-FAM-AAT GTG GTT CAT CCG TCT T-MGBNFQ-3'	

Name	Name	Oligonucleotide DNA sequence(5'-3')	Amplicon length (bp)
DAS-44406-6	DAS-44406-5F	5'-TTA TTG TTC TTG TTG TTT CCT CTT TAG G-3'	99
	DAS-44406-5R	5'-CCT CAA TTG CGA GCT TTC TAA TTT-3'	
	DAS-44406-6-5p1	5'-FAM-ATT CGG ACC TCC ATG ATG ACC TTA CCG TT-TAMRA-3'	
DAS-68416-4	DAS-68416-4-3f5	5'-GTA CAT TAA AAA CGT CCG CAA TGT GT-3'	87
	DAS-68416-4-3r3	5'-GTT TAA GAA TTA GTT CTT ACA GTT TAT TGT TAG-3'	
	DAS-68416-4-3p3	5'-FAM-TTA AGT TGT CTA AGC GTC AAT A-MGB-3'	
SYHTOH2	FE08316 fwd	5'-GGG AAT TGG GTA CCA TGC C-3'	88
	FE08317 rev	5'-TGT GTG CCA TTG GTT TAG GGT-3'	
	FE08318 probe	5'-FAM-CCA GCA TGG CCG TAT CCG CAA-BHQ1-3'	
DAS-81419-2	DAS81419-f2	5'-TCT AGC TAT ATT TAG CAC TTG ATA TTC AT-3'	105
	DAS81419-r1	5'-GCT TCA AGA TCC CAA CTT GCG-3'	
	DAS81419-p3	5'-FAM-ATC AAC AGG CAC CGA TGC GCA CCG-TAMRA-3'	
MON87751	MON 87751 Q1	5'-GGC CTA ACT TTT GGT GTG ATG ATG-3'	87
	MON 87751 Q2	5'-CTA AAT TGC TCT TTG GAG TTT ATT TTG TAG-3'	
	MON 87751 Q3	5'-FAM-TGA CTG GAG ATC TCC AAA GTG AGG GGA AA-TAMRA-3'	

#### 4. 두부와 콩의 내재유전자 Ct 값 비교

두부 제조과정 중 DNA 분해 가능성을 조사하기 위해 콩과 두부에서 추출한 DNA로부터 내재유전자인 lectin을 RT-PCR로 분석하여 두 그룹의 Ct 값 평균을 비교하였다. 콩과 두부 각각 20개에서 DNA를 추출한 다음 100 ng/ $\mu$ L의 농도로 희석하여 lectin을 RT-PCR로 분석하였다. 두 추출물의 증폭곡선에서 lectin의 Ct 값을 통계적으로 비교분석하기 위해 IBM SPSS Statistics 20 software(SPSS Inc., IL, USA)를 이용하였다.

#### 5. 플라스미드 DNA 표준용액

두부에서 RRS, MON89788, A2704-12에 대한 정량분석은 각각의 플라스미드 DNA set(Nippon

Gene, Tokyo, Japan)를 이용하였다. 플라스미드 DNA set는 lectin과 구조유전자가 5개 농도 수준(20, 125, 1500, 20,000, 250,000 copies)으로 구성되어 있다. 즉, RRS 플라스미드 DNA set는 lectin과 RRS를, RR2 플라스미드 DNA set는 lectin과 MON89788를, LLS 플라스미드 DNA set는 lectin과 A2704-12를 포함하고 있어 내재유전자와 구조유전자의 검량선을 동시에 각각 구할 수 있다. 모든 RT-PCR 반응은 96-well 플레이트를 이용하여 플라스미드 DNA 표준용액과 시료에 대해 동시에 이루어졌다.

#### 6. 정량분석 유효성 검증

JRC technical report에 따라 플라스미드 DNA 표준용액으로 작성된 검량곡선의 R<sup>2</sup>와 증폭

효율을 확인하였고, GTS 40-3-2 콩 분말(0.1, 1.0%)을 이용하여 RRS 분석의 trueness를 검증하였다. Trueness는 실제값과 검증값 사이의 편향(bias)으로 표현되며, 두 값을 비교하였을 때  $\leq 25\%$  이어야 한다(19).

## 7. 정성 및 정량분석

RT-PCR를 이용하여 두부에서 내재유전자 및 스크리닝 유전자, 구조유전자의 정성분석을 실시한 다음 검출된 구조유전자 중 RRS, MON89788, A2704-12의 정량분석을 실시하였다. 프라이머 및 프로브의 조성은 Table 1과 같다. 반응액은 2X TaqMan Universal Mastermix(Applied Biosystems Co. Ltd., USA) 10  $\mu\text{L}$ , F/R-프라이머 100 pmole, 0.1  $\mu\text{L}$ , 프로브 100 pmole, 0.05  $\mu\text{L}$ , template DNA 200 ng 및 증류수로 최종 20  $\mu\text{L}$ 로 제조하여 RT-PCR(ABI 7500, Applied Biosystems Co. Ltd., USA)로 분석하였다. RT-PCR 반응 조건은 50  $^{\circ}\text{C}$ , 2 min - 95  $^{\circ}\text{C}$ , 10 min - 95  $^{\circ}\text{C}$ , 30 sec(40 cycle) - 59  $^{\circ}\text{C}$ , 1 min이었다.

정량분석을 위한 검량선은 Ct(Threshold of cycle) 값을 y축으로 하고, 이미 알고 있는 각각의 표준액의 copy 수를 x축으로 작성하였다. 시료의 내재유전자와 재조합 유전자의 Ct값을 구하고, 이들을 각각의 검량선에 내삽하여 유전자 copy 수를 구한다. 시료의 유전자변형 혼입률은 내재유전자의 copy 수에 대한 변형유전자 copy 수의 비율로 계산된다. 플라스미드 DNA 표준용액에 대한 보정계수(CF, Conversion Factor, RRS: 1.02, MON89788: 1.33, A2704-12: 0.98)를 적용하여 시료의 유전자변형 혼입률을 계산하였다. 또한 시료에서 플라스미드 DNA 최소 농도인 20 copy 미만으로 검출된 변형유전자는 정량한계 미만으로 간주하고 'trace'로 표시하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. DNA 평가

두부 추출 DNA의 농도와 순도는 230, 260, 280 nm에서 흡광도를 측정하여 확인하였다. DNA 농도는 157 ~ 794 ng/ $\mu\text{L}$ 이었고, 순도는 A260/A280과 A260/A230이 1.7 ~ 2.0로 나타났다. 두부에서 추출한 DNA를 평가하기 위해 Ct 값과  $\log(1/\text{dilution factor})$ 로 검량선을 구한 결과  $R^2$  0.999, 기울기 -3.256, 증폭효율 101.8%로 JRC technical report(19)에서 제시한  $R^2 \geq 0.98$ ,  $-3.6 \leq \text{기울기} \leq -3.1$ , 증폭효율 90 ~ 110%의 기준을 만족하였다(Fig. 1). 또한 단계 희석한 DNA 추출물의 평균  $\Delta\text{Ct}$  값과 이론적  $\Delta\text{Ct}$  값과의 차이가 0.06으로 기준인 0.5 이하를 만족하여 두부에서 추출된 DNA는 RT-PCR 분석에 적합한 것으로 판정되었다.

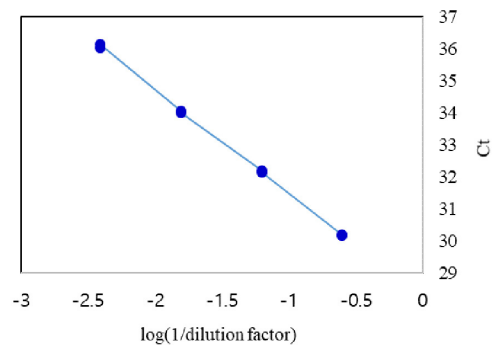


Fig. 1. Calibration curve plotted the Ct and the decadic logarithm of 1/dilution factor of lectin gene extracted from tofu for evaluation of DNA quality.

### 2. 두부와 콩의 내재유전자 Ct값 비교

두부 가공과정 중 DNA 분해 가능성을 조사하기 위해 콩과 두부의 추출 DNA로부터 lectin을 RT-PCR로 분석하여 두 그룹의 Ct 값 평균을 비교하였다. 그 결과, 콩의 경우 28.16 ~ 29.58(29.91 $\pm$ 0.47),

두부의 경우 27.96 ~ 29.78(29.00±0.11)로 두 그룹 간의 Ct 값 평균에 대한 유의성이 인정되지 않았다( $p > 0.05$ ). 따라서 비록 식품 가공과정 동안 열, 압력, 화학물질 등에 의한 DNA 분해가 일어날 수 있지만(14~16), 두부 제조과정 동안의 콩 내재 유전자 lectin(118 bp)의 분해는 일어나지 않은 것으로 확인되었다. 가공과정 동안 DNA 분해는 긴 amplicon에 비해 짧은 amplicon(< 200bp)이 영향을 적게 받는 것으로 보고된 바 있고, Zorica 등(17)은 두부의 제조가공과정 동안의 열처리 는 유의적으로 DNA 분해를 일으키지 않는 것으로 보고하였으며, 이는 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다.

### 3. 정량분석법 유효성 검증

유전자변형 콩 이벤트를 정량하기 위해 GM soybean detection plasmid를 이용하여 검량선을 작성하였다. 검량선과  $R^2$ , 기울기 및 증폭 효율을 Fig. 2와 Table 2에 나타내었다. 또한 유효성 검증을 위해 0.1%와 1% RRS CRM을 이용하여 진실성(trueness)를 확인한 결과 실측값과 인증값과의 편향(bias)이 각각 16.7%와 -4.3%로 나타났다(Table 3). 검량선의  $R^2$ , 기울기 및 증폭 효율, CRM을 이용한 편향(bias)이 ENGL(European Network of GMO Laboratories)이 제시한 기준(19)인  $R^2 \geq 0.98$ ,  $-3.6 \leq \text{기울기} \leq -3.1$ , 증폭효율 90 ~ 110%, 편향(bias)  $\leq \pm 25\%$  에 적합하였다.

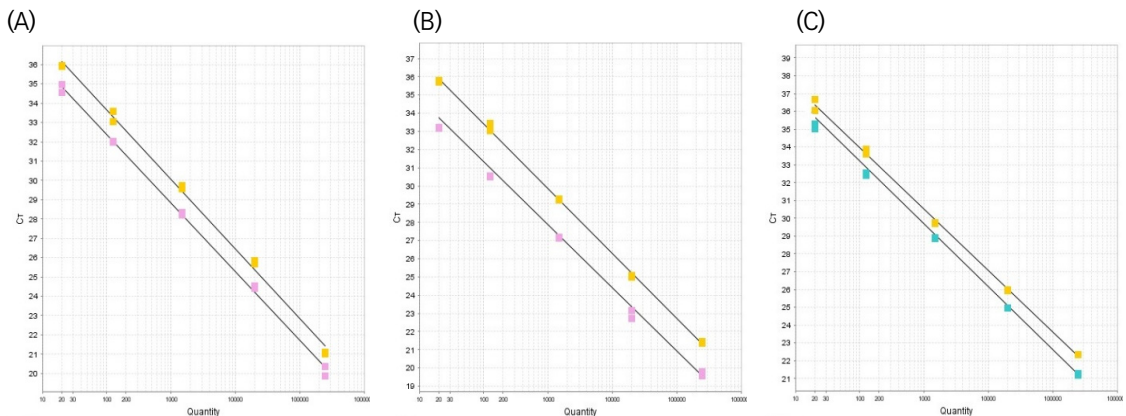


Fig. 2. Calibration curves of GM soybean Detection Plasmid Set in RT-PCR (A: Lectin(up) & RRS(down), B: Lectin(up) & MON89788(down), C: Lectin(up) & A2704-12(down)).

Table 2. Parameters of calibration curve generated with 3 GM soybean plasmid sets

GM soybean plasmid set	Event	Coefficient of determination ( $R^2$ )	Slop	PCR efficiency <sup>a)</sup> (%)
RRS	Lectin	0.996 ~ 0.999	-3.55 ~ -3.26	91.18 ~ 102.80
	RRS	0.998 ~ 0.999	-3.54 ~ -3.15	91.82 ~ 107.70
MON89788	Lectin	0.999	-3.49 ~ -3.44	93.58 ~ 95.30
	MON89788	0.998 ~ 0.999	-3.53 ~ -3.47	92.01 ~ 94.12
A2704-12	Lectin	0.997 ~ 0.999	-3.46 ~ -3.46	94.55 ~ 94.69
	A2704-12	0.999	-3.44 ~ -3.37	95.33 ~ 97.92

<sup>a)</sup>The PCR efficiency was calculated using the slope of the standard curve by the formula:  $10^{(-1/\text{slop})}-1$

Table 3. Trueness expressed as a bias of RRS verified at two CRM levels

Certified value (%)	True value (%)	Mean value (%)	Bias (%) <sup>a)</sup>
0.1	0.11	0.12	16.7
	0.11		
	0.13		
1.0	0.99	0.96	-4.3
	0.83		
	1.05		

$$^a)\text{Bias (\%)} = \frac{(\text{Tested mean value} - \text{Certified value})}{\text{Certified value}} \times 100$$

#### 4. 유전자변형 콩 이벤트의 정성 및 정량분석

두부에서 DNA를 추출하여 RT-PCR을 이용하여 내재유전자를 확인하고 35S 프로모터와 t-NOS 터미네이터의 검출 유무를 확인한 다음 식품공전의 스크리닝 I 법에 따라 유전자변형 이벤트에 대한 정성분석을 실시하였다. 또한 검출된 유전자변형 이벤트 중 검출빈도가 높은 RRS, MON89788, A2704-12에 대한 정량분석을 실시하였다.

국산 콩으로 만든 21개 두부는 유전자변형 이벤트가 모두 검출되지 않았고, 수입콩으로 제조된 44개 두부에서는 모두 1개 이상의 유전자변형 이벤트가 검출되었다. A2704-12는 수입콩으로 만든 두부에서 모두 검출되었고, MON89788 42회, RRS 30회 검출되었으며, 그 외 MON87708 18회,

DAS4406-6 3회, A5547-127 1회 검출되었다 (Table 4). RRS, MON89788, A2704-12의 정성 분석에서 증폭이 일어난 경우는 positive로 판정하였지만, 정량분석에서 Plasmid의 가장 낮은 농도인 20 copy보다 낮게 검출될 경우 'trace'로 나타내었고 정량값에 포함하지 않았다. RRS는 30회 중 24회, MON89788는 42회 중 2회, A2704-12는 44회 중 18회가 'trace' 결과를 나타내었고, A2704-12, MON89788, A2704-12에 대한 정량 분석 결과는 각각 0.02 ~ 0.08%, 0.03 ~ 0.10%, 0.02 ~ 0.10%로 나타났다. 유전자 변형 이벤트가 검출된 두부에서 이벤트 함량의 합 중 최대값은 0.26%로 우리나라의 비의도적 혼입치인 3%와 비교하였을 때 매우 낮은 수준인 것으로 나타났다 (Table 4).

Table 4. The result of qualification and quantification of GM events in 44 tofu made from imported soybeans

GM events	No. of positive / trace <sup>a)</sup>	GMO content (%) <sup>b)</sup>		
		Mean <sup>c)</sup> ± SD (%)	Min. of quantified (%)	Max. of quantified (%)
RRS	30/24	0.07 ± 0.04	0.02	0.16
MON89788	42/2	0.06 ± 0.02	0.03	0.10
A2704-12	44/18	0.04 ± 0.02	0.02	0.08
MON87708	18	-	-	-
DAS-44406-6	3	-	-	-
A5547-127	1	-	-	-
Sum			0.04	0.26

<sup>a)</sup> PCR positive, but <20copies of the GM event in the quantification reaction

<sup>b)</sup> The GMO content (%) is calculated by the following formula

$$\text{GMO content (\%)} = \frac{\text{Copies of GM event}}{\text{Copies of endogenous gene}} \times 100 \times 1/\text{CF}$$

<sup>c)</sup> Mean value of detective content in positive samples except for 'trace'



Andyn 등(18)은 스크리닝법에 의해 두부 4개를 포함하여 콩 함유 식품 56개(초콜릿 12, 비스킷 11, 유아식 10, 스낵 9, 두유 4, 간장 4, 콩가루 2)를 분석하였을 때 두부(1), 두유(2), 비스킷(2)에서 스크리닝 이벤트가 검출되어 10.7%(6/56)의 검출률을 나타내었고, 검출된 두부에 대한 RRS, MON89788, A2704-12 정량 결과 MON89788만 0.031%로 나타났다. Liliana G 등(10)은 두부 13개와 콩 함유 식품 60개(두유 18, 쿠키 12, 소스 12, 파스타 12 등)에서 RRS와 MON89788 이벤트를 분석한 결과 12.3%(9/73)의 검출률을 나타내었고, 두부 13개 중 1개에서 MON89788이 검출되었으며 그 함량은 0.13%로 나타났다. Ujhelyi 등(20)은 두부, 두유, 콩가루 등 콩 함유 식품 30개에 대해 RRS를 분석한 결과, 콩 함유 식품 7개에서 0.1% 미만의 함량을 나타내었다. 두부 중 유전자변형 콩 이벤트 정성분석 결과에서는 MON89788만 검출되어 본 연구와 상이한 결과를 보였지만 정량 분석에서는 MON89788의 함량이 0.1% 미만 ~ 0.13%로 본 연구의 MON89788 정량분석 결과인 0.03 ~ 0.10%와 유사한 결과값을 나타내었다.

또한, Taski-Ajdukovic 등(21)은 콩 단백질을 함유한 15개 육류가공품에서 RRS를 분석한 결과 12개 육류가공품에서 RRS가 검출되었으며 그 함량은 모두 0.1% 미만이었다고 보고하여 본 연구에서 수입콩으로 만든 두부에서 검출된 RRS의 함량

과 유사한 수준이었다.

유전자변형 콩 이벤트가 검출된 두부 중 1개 두부에서만 단일 이벤트가 검출되었고, 43개 두부에서는 모두 두 개 이상의 이벤트가 동시에 검출되었다. 그 중 RRS/MON89788/A2704-12가 동시에 검출된 경우가 15회로 가장 검출빈도가 높았다(Table 5). 김 등(22)은 소시지에서 RRS 등 5개 유전자변형 콩 이벤트를 모니터링한 결과 30개 소시지에서 RRS 5회, MON89788 1회 검출되었고 RRS/MON89788 2회, RRS/MON89788/A2704-12 3회 검출되어 두 개 이상의 이벤트가 동시에 검출되어 본 연구결과와 유사한 경향을 보였다. 이는 유전자변형 콩을 재배하는 국가에서 단일형질뿐만 아니라 후대교배종의 재배 가능성과 생산, 수입 및 유통과정에서의 다른 유전자변형 콩 이벤트를 함유한 콩의 혼입 가능성을 예측할 수 있다.

## 요 약

본 연구는 두부에서 유전자변형 콩 이벤트의 정량 가능성을 검토하고 국내 승인 유전자변형 콩 이벤트에 대한 정성 및 정량분석을 실시하였다. 두부와 콩 20개에 대해 각각 콩 유전자를 추출하여 Ct 값 평균을 비교하였을 때 두 그룹간의 유의한 차이가 나타나지 않아 두부 제조과정 중 유전자의 손실

Table 5. Single and multiple soybean GM events detected simultaneously in tofu

No. of events	GM events	No. of detected
1	A2704-12	1
2	RRS, A2704-12 MON89788, A2704-12	1 7
3	RRS, MON89788, A2704-12 MON89788, A2704-12, MON87708	15 6
4	RRS, MON89788, A2704-12, DAS-44406-6 RRS, MON89788, A2704-12, MON87708	2 10
5	RRS, MON89788, A2704-12, MON87708, A5547-127 RRS, MON89788, A2704-12, MON87708, DAS-44406-6	1 1
Total		44

이 없는 것으로 간주하고 정량분석을 수행하였다. 두부 65개(국산 21개, 수입산 44개)에 대해 유전자 변형 콩 이벤트를 정성분석한 결과 국산콩으로 제조한 두부는 모두 검출되지 않았지만 수입콩으로 만든 두부 44개에서는 모두 유전자변형 콩 이벤트가 1종~5종 검출되었다. A2704-12는 수입콩으로 만든 두부에서 모두 검출되었고, MON89788은 42회, RRS은 30회 검출되었으며, 그 외 MON87708 18회, DAS4406-6 3회, A5547-127 1회 검출되었다. 검출률이 가장 높은 A2704-12, RRS, MON89788에 대해 정량분석한 결과 각각 0.02 ~ 0.08%, 0.02 ~ 0.16%, 0.03 ~ 0.10%로 나타났다. 검출률이 가장 높은 3개의 유전자 변형 콩 이벤트 함량의 합 중 최대값은 0.26%로 우리나라의 비의도적 혼입치인 3%와 비교하였을 때 매우 낮은 수준인 것으로 나타났다. 이러한 결과는 원료콩의 생산, 수입, 유통 등 취급과정에서 비의도적으로 혼입된 것으로 간주되며, 이는 유전자변형식품등의 표시기준에 적합하게 유통되고 있음을 확인할 수 있었다.

## 참고문헌

1. 강창수 : 두부산업 발전사. 식품과학과 산업, 54(3):171~183, 2021.
2. 한국농수산물유통공사 : 2020 식품산업 원료 소비 실태조사, 2021.
3. 변재연 : 곡물수급안정 사업 정책 분석, 국회예 산정책처. 2021.
4. 한국바이오안전정보센터, 2020유전자변형생 물체 주요통계.
5. Paola, C, Maria, RB., Renata, TBF, Fernanda, PC and Andre, LG : Detection of GMO in food products in Brazil: the INCQS experience. Food Control, 16:859~866, 2005.
6. Tosiah, A, Son, R, Zation, H and Jamal, KH : Detection of genetically modified soy in processed foods sold commercially in Malaysia by PCR-based method. Food Chem., 98:575~579, 2006.
7. Ozge, OA, Funda, Y and Karlo, M : PCR detection of genetically modified maize and soy in mildly and highly processed foods. Food Control, 32:525~531, 2013.
8. Kim, JH, Jeong, D, Kim, YR, Kwon, YR, Kwon, YK and Rhee, GS : Development of a multiplex PCR method for testing six GM soybean events. Food Control, 31:366~371, 2013.
9. Shin, HJ, Heo, EJ, Moon, JS, Kim, JH, Kim, YJ, Park, HJ, Yoon, YH, Kim, JM and Wee, HW : Validation of korean meat products and processed cheese for the detection of GMO using p35S and tNOS primers. Korean J. Food Sci. Ani. Resour., 31(5):658~662, 2011.
10. Liliana, G, Alexandra, P, Joana, C, Telmo, JRF, Beatriz, PPO and Isabel, M : Tracing two Roundup Ready soybean lines(GTS 40-3-2 and MON89788) in foods commercialized in Portugal. Food Control, 73:1053~1060, 2017.
11. Takashi, K, Hideo, K, Yasutaka, M, Satoshi, F, Masatoshi, W, Chihiro, S, Takahiro, W, Hiroshi, A, Tamio, M, Reiko, T, Satoshi, F, Akihiro, H and Kazumi, K : Evaluation of modified PCR quantitation of genetically modified maize and soybean using reference molecules. Interlaboratory study. J. AOAC International, 92(1):223~233, 2009.
12. Junich, M, Yasuyuki, N, Yosuke, K, Shinichi, F, Takuya, H, Hiroyuki, K, Youichi, K, Akio, N, Kazunari, K, Reiko,

- T, Reona, T and Kazumi, K : Quantification of DNA fragmentation in processed foods using real-time PCR. *Food Chem.*, 226:149~155, 2017.
13. Rie, M, Kimio, M, Naoki, S, Naomichi, U and Kunihiro, K : Applicability of quantitative PCR to soy processed foods containing Roundup Ready Soy. *Food Control*, 18:191~195, 2007.
  14. Fuguo, X, Wei, Z, Jonathan, NS and Yana, L : DNA degradation in genetically modified rice with CryAb by food processing methods: Implications for the quantification of genetically modified organisms. *Food Chem.*, 174:132~138, 2015.
  15. Kakaha, B, Inga, G, Tamara, K, Boris, V, David, M and Nelly, D : Influence of heat processing on DNA degradation and PCR-based detection of wild-type and transgenic maize. *J. Food Quality*, 1~11, 2019.
  16. Yan, D, Fusheng, C, Guan hao, B and Lifan, Z : Distribution and degradation of DNA from non-genetically and genetically modified soybean (Roundup Ready): Impact of soybean protein concentrate and soybean protein isolate preparation. *Food Chem.*, 335:1~9, 2021.
  17. Zorica, N, Gordanna, P, Dejana, P, Maja, I, Dragana, M, Milan, S and Vuk, D : Threshold level and traceability of Roundup Ready Soybean in tofu product. *Food Technology and Biotechnology*, 55(4): 1~18, 2017.
  18. Aydin, T, Stuart, JL and Elif, K : Monitoring the prevalence of genetically modified (GM) soybean in Turkish food and feed products. *Food Control*, 59:766~772, 2016.
  19. Hougs, L, Gatto, F, Goerlich, O, Grohmann, L, Lieske, K, Mazzara, M, Narendja, F, Ovesna, J, Papazova, N, Scholtens, I and Zel, J : Verification of analytical methods for GMO testing when implementing interlaboratory validated methods. *JRC technical reports*, 2017.
  20. Ujhelyi, G, Vajda, B, Beki, E, Neszlenyi, K, Jakab, J, Janosi, A, Nemedi, E and Gelencser, E : Surveying the RR soy content of commercially available food products in Hungary. *Food control*, 19:967~973, 2008.
  21. Taski-Ajdukovic, K, Nikolic, Z, Vujakovic, M, Milosevic, M, Ignjatov, M and Petrovic, D : Detection of genetically modified organisms in processed meat products on the Serbian food market. *Meat Science*. 81:230~232, 2009.
  22. Kim, JH, Song, JY, Hong, Y and Kim, HY : Monitoring of genetically modified soybean events in sausage products in South Korea. *Food Control*, 67:63~67, 2016.