

## 대사체학(Metabolomics): 식품 과학과 영양 연구에서의 응용

이 상 희

식품분석센터

### Metabolomics: Applications to Food Science and Nutrition Research

Sang-Hee Lee

Food Analysis Center

#### 기술소개

Metabolomics는 새로운 'omics' 연구 분야로서, 대사체들 중 소분자 대사체 (<1500 Da)의 고효율적인 식별과 양의 측정에 초점을 맞추고 있다. 대사체들은 세포, 조직, 또는 유기체에서 발견되는 소분자 대사체, 또는 화학물질의 집합체이다. 이 소분자들은 펩티드, 아미노산, 핵산, 탄수화물, 유기산, 비타민, 폴리페놀, 알칼로이드, 미네랄, 그리고 세포나 유기체에서 흡수되고 합성되는 대부분을 포함한 내인성과 외인성 화학물질을 뜻한다.

Metabolomics 또는 metabolic profiling은 소분자 대사체를 분리하고 식별할 수 있게 해주는 최근의 기술 발전의 결과로 가능해졌다. 그런 최근 기술 발전으로는 질량 분석기(MS), 핵자기 공명기(NMR), 모세관 전기영동기(CE), 그리고 액체 크로마토그래피(UPLC, HPLC) 시스템 등이 있고, spectral 특징이나 크로마토그램 특징을 처

리할 수 있는 새로운 프로그램들이 개발되었다. 마찬가지로 metabolomics의 개발에 중요한 역할을 한 것은 각각의 다른 대사체들에서 발견되는 화학물질을 묘사한 정보와 spectral 정보를 포함한 전자 데이터베이스의 구축이다. 분석을 통한 대사체 분석 데이터의 처리와 해석에는 1) 화학 측정론(chemometric metabolomics)으로 일반적으로 화학물질은 식별하지 않고, 그것의 spectral pattern과 강도를 기록하여 통계적으로 비교하거나, 샘플의 종류를 구분하게 해주는 연관된 spectral 특징을 PCA나 PLS-DA와 같은 통계분석을 이용하여 분류한다. PCA는 여러 대사체 데이터 그룹을 그것의 공통된 특징의 일차 결합을 바탕으로 클러스터링 할 수 있게 해주는 기술이다. PCA는 클러스터링 기술로서 하나의 샘플이 다른 샘플과 어떻게 다른지, 어느 변수들이 이 차이에 가장 많이 기여하는지, 그리고 같은 방법으로 이 변수들의 상호연관성의 여부를 식별하는데 있어서 가장 일반적으로 사용된다. PCA

와 반대로 PLS-DA는 통제된 분류 기술로서 PCA 구성요소를 회전시킴으로서 관찰되는 그룹의 분리 능력을 강화시키는데 사용된다. PLS-DA의 기본 원칙은 PCA의 기본 원칙과 비슷하지만, PLS-DA에서는 식별된 종류의 본질에 대한 정보 또한 보조적으로 사용한다. PCA나 PLS-DA와 같은 chemometric approach는 단독으로 화합물의 직접적인 식별이나 양의 측정은 하지 못하나, 다른 샘플들 간의 종합적인 비교를 가능하게 해준다. 2) 정량적인 대사체 또는 targeted profiling은 샘플에 있는 특정 화합물을 식별하고 양을 측정하기 위한 노력에 초점을 맞춘다.

이것은 샘플의 NMR이나 MS 스펙트럼을 순수 화합물의 표준화된 스펙트럼 데이터와 비교하여 실시한다. 화합물의 구성성분이 식별되고 양이 측정된 후에 데이터는 가장 중요한 지표인자 또는 정보를 제공하는 대사경로를 식별하기 위하여 PCA나 PLS-DA를 사용하여 통계적으로 처리된다. 목적이나 사용하는 기기에 따라 정량적인 대사체는 지방이나 폴리페놀과 같은 특정 화합물을 선택적으로 표적화하거나, 또는 대사체들의 전부를 대상으로 전체적으로 분석할 수 있다. Chemometric 대사체와 정량적인 대사체는 둘 다 각각 장점과 단점이 있지만, 생리활성을 지닌 화합물의 식별의 중요성 때문에 많은 식품 과학과 영양연구 분야에서는 정량적인 대사체를 선호하고 있다. 최근 몇 년간, metabolomics는 생물학적 매트릭스 내의 많은 화학물질의 특성을 동시에 나타내어, 영양학자들에게 식품의 구성, 식품의 섭취, 그리고 다른 식이요법에 따른 분자 생물적인 결과에 대하여 훨씬 더 상세하고 전체적인 분자적 설명을 제공함으로써 식품과 영양학자들의 관심대상 분야로 대두되고 있다.

## 내용 요약

Metabolomics는 ‘오믹스(omics)’ 연구의 신생 분야로서, 생물학적 매트릭스 내의 소분자 대사체의 특징을 고효율적으로 묘사하는 것에 초점을 맞추어 진행하고 있다. 본 논문은 식품 과학과 기술에 대한 metabolomics의 최근 흐름에 초점을 맞추고, 잠재적인 응용분야를 1) 식품의 구성성분 분석, 2) 식품의 품질과 신뢰성의 평가, 3) 식품 섭취의 모니터링, 4) 식품의 개입 (food intervention)이나 식이요법 도전 연구(diet-challenge study)에 대한 생리적 모니터링 네 가지 분야로 나누어 기술하였다. 그러나 대사체학은 위에 언급한 식품 과학과 영양연구 분야에 이상적으로 응용되긴 하나, 아직까지는 기술력과 데이터베이스 부족의 제한이 있다는 문제점이 있다.

현재 기술은 아직 관련 대사체의 10분의 1 정도만이 검출이 가능하므로, 감지와 정량의 측정 능력을 더욱 강화시키고, 자동화시키며, 종합적으로 만들 수 있도록 향상시킬 필요가 분명히 있다. 영양과 연관된 화합물을 쉽게 식별하고 양을 측정할 수 있기 위해서는 더 많은 대사체, 식품 구성성분, 그리고 phytochemical에 대한 표준화된 spectral나 크로마토그램 데이터베이스가 구축되어야 할 것이다. 인간의 metabolome의 데이터베이스를 만들기 위한 전체적인 노력과 같이, 식품의 metabolome을 위해서도 유사한 노력이 필요하다. 또한 diet-challenge나 food intervention 실험을 통해 모은 계량적 metabolomic 데이터를 포함한 전체적인 영양 표현형 데이터베이스를 구축하고 공개하는 데에도 노력해야 할 필요가 있다.

## 이용분야

### 1. 식품의 구성성분 분석에 있어서의 metabolomics

일반적으로 식품의 구성성분은 단백질, 지방, 탄수화물, 섬유질, 비타민, 미량 원소 및 회분 확인과 같이 매우 광범위한 범주로 분석한다.

그러나, metabolomics의 도입으로 인하여 식품과 음료는 상당히 상세하게 분석되고 있으며, 어떤 식품에서는 수 백개 또는 수 천개의 다른 화학적 물질이 발견되고 식별되고 있다. 또한 식품의 생리활성이 있는 성분을 정확하게 식별하고, 그것이 잠재적으로 유익하거나 또는 유해한 결과에 대하여 더 자세히 이해할 수 있게 해준다.

Metabolomics 연구의 관점에서 볼 때, 대부분의 식품은 다양한 대사체와 화학 첨가물로 고체, 반고체, 또는 액체의 형태로 이루어진 복잡한 화학 혼합물이다. 일부 인공 주스, 청량음료, 순수화된 식물성 기름 등의 가공된 식품은 겨우 10~20가지의 다른 화합물로 이루어져 있고, 우유, 치즈와 같은 식품은 수 백 가지의 화합물로 이루어져 있으며, 과일, 고기 및 가공된 식품은 수 천 가지의 혼합물로 이루어져 있다. 다음 사항들을 고려해 본다면, 식품의 화학 성분의 숫자와 다양성은 더욱 놀랍다. 1) 육류에서 발견되는 것과 비슷한 것으로 예상되는 인간의 metabolome은 3,000개가 넘는 1 pM 이상의 내인성 대사체를 포함하며, 2) 우유 내 metabolome은 200개가 넘는 다른 종류의 올리고당을 포함하고 있다, 3) 식용 식물 metabolome은 10,000개가 넘는 화합물을 포함하고, 4) 미국 FDA는 식품 처리과정에 쓰일 수 있도록 승인이 된 3,000개가 넘는 식품 첨가물의 목록을 유지하고 있다. 이처럼 식품 metabolome은 상당한 화합물의

다양성만이 아니라 양적인 다양성을 갖고 있다. 식품의 구성성분들은 fM 수준부터 mM 수준까지의 범위를 갖고 있다. 그렇게 많은 종류와 광범위한 농도의 화합물을 감지, 식별, 그리고 양을 측정하는 것은 상당한 기술과 전산 능력을 요구한다. 그러므로 새로운 기술의 도입과 확장된 spectral 라이브러리와 함께 metabolomics는 상당히 새로운 지식을 건강과 질병과정 연구에 기여할 수 있다. 이미 우유, 포도, 토마토와 토마토 주스, 대황, 맥주, 셀러리 씨앗, 그리고 약초와 향료와 같은 식품 원료, 향신료 및 음료의 구성성분 분석은 metabolomics에 기반을 두고 연구되고 있다. 이러한 분석은 NMR, GC-MS, LC-MS, 그리고 CE기술을 종합적으로 사용하여, 100가지의 phytochemical이나 선택한 과일, 채소, 또는 음료 샘플에서 200가지 탄수화물을 식별하였다. 여러 가지 분리 기술과 감지기술의 종합적인 사용은 더 광범위한 범위의 대사체 감지를 가능하게 해준다. 특히 NMR은 극성이 높은 대사체 감지에 효과적이고, GC-MS나 LC-MS는 비극성이나 semi-polar한 대사체 감지에 효과적이다. 현재까지 발표된 식품을 기반으로 한 metabolomics 연구의 대부분은 영양분이 쉽게 액체로 추출될 수 있고, 대부분의 화학물 감지 기술은 액체로 사용했을 때 가장 효과적이기 때문에 고체식품보다는 액체나 음료 분석에 많이 이용되었다. 최근 metabolomic을 기반으로 한 우유에 대한 연구는 많은 결과를 도출하였다. 이 연구들은 고해상도 푸리에 변환(FT) 질량 분석기를 사용하여 200개가 넘는 다른 종류의 올리고당을 식별하였으며, 그중 대부분은 전에 식별되지 않았던 것이었다. LC-MS기술은 소 무리의 특성, 사육 방법, 그리고 우유의 질을 추적하는 용도로 사용되어, 그 결과 우유에서 15개의 비타민,

terpenoid 및 phytochemical을 식별하였다. MS 기술을 사용한 연구에 추가적으로 NMR 기술의 사용은 거의 12종류의 다른 지방산, 당류, 아세틸 탄수화물 및 다른 소분자 대사체의 빠르고 비파괴적인 감지와 양의 측정을 가능하게 하였다. 이러한 결과로, NMR기술은 우유의 특성을 연구하는 데 있어 좀 더 많은 시간을 소모하는 전통적인 기술을 대체할 가능성이 높다고 판단된다.

토마토와 토마토 주스 연구에서 LC-MS와 NMR 기술의 사용은 토마토의 다른 구성성분에 대한 상호보완적인 정보를 나타낸다는 것을 보여준다.

LC-MS기술은 적합한 reference 데이터베이스와 조합하여 폴리페놀, flavo-glucoside 및 알칼로이드와 같은 대사체의 식별을 가능하게 한다.

반면에 NMR은 LC 또는 LC-MS 기술로 구별을 할 수 없는 라이코펜이나 카로티노이드 이성체의 식별과 양의 측정에 매우 효과적인 것으로 나타났다.

다른 연구에서는 NMR을 사용하여 토마토에 있는 극성 화합물인 당, flavonoid glycoside, 아미노산, 그리고 유기산을 식별하고 양을 측정하였다.

토마토에 특징적으로 있는 당이나 산과 같은 극성 화합물 대사체의 변화는 좀 더 분명한 토마토 맛의 차이에 기여한다. 향후 경제적으로나 제약적으로 중요한 과일인 사과, 바나나, 오렌지, 딸기, 파인애플, 망고, 대추야자, 석류, 블루베리, 감자, 양배추, 당근, 아보카도, 시금치, 브로콜리, 콜리플라워, 양파, 옥수수과 같은 채소류, 밀, 보리, 귀리, 아마씨, 호밀과 같은 곡물류, 아몬드, 호두, 땅콩, 치즈, 요구르트, 와인, 식물성 기름, 생선 기름과 같은 가공 식품, 쇠고기, 닭고기, 어류 및 갑각류 등의 육류와 커피, 초콜릿, 은행나무, 녹차, 생강, 인삼, 마늘 등의 기능성 식품 및 음료를 대상으로 전체적

인 대사체 분석을 통하여 식품의 구성 성분을 연구할 가능성이 높다. 또한 metabolomic을 기반으로 한 식품 구성성분의 연구는 식품학자들이 다른 요리법(튀기는 것과 굽는 것, 찌우는 것과 끓이는 것)과 보존 방법(냉동, 건조, 훈제, 냉장)에 따른 결과를 더욱 정확하게 연구할 수 있도록 할 것이며, 이러한 연구는 식품학자들이 더 좋은 농작물을 선택하고 수정하여 교배하고, 가축이나 어류를 사육 및 번식시키고, 여러 가공 식품을 제조하는데 도움이 될 수 있을 것이다.

### 식품의 품질과 신뢰성 평가에 있어서의 metabolomics

Metabolic profiling을 통한 식품 성분의 식별은 식품의 불순물과 품질을 평가하는데 이용될 수도 있다. 특히, 식품의 불순물 감지는 특정 화합물이나 화합물의 농도가 주스, 추출액, 또는 오일의 종류에 따른 특징을 갖고 있다는 점을 이용한다. 또한 유사한 성분의 특징은 불포화 지방 함량, 유리 아미노산, 늘어난 비타민 함량, 풍부한 phytochemical 함량과 같이 맛, 향, 또는 색깔로는 구별이 되지 않는 식품을 구별하는데도 사용된다. 식품의 품질 평가는 식품의 품질 관리에도 영향을 미친다. 실질적으로, metabolomic 기술은 식품 업계에서 품질 관리 또는 일정한 식품의 생산을 위하여 가장 중요하게 쓰이고 있을 수 있다.

현재까지, 식품의 불순물과 품질에 관한 metabolomic 연구는 식물성 기름, 생선 기름, 과일 주스, 와인, 그리고 맥주와 같은 기름 또는 음료에 초점을 맞추었다. 일반적으로 과일 주스에 불순물을 첨가하는 것은 맛이나 색깔로 감지하기 어렵다. 예를 들어, 오렌지 주스는 가격이 싼

자몽 주스와 함께 혼합되어도 맛이나 색깔에는 뚜렷한 변화가 없다. 하지만, 순수 오렌지 주스에 자몽이 들어있는 것은 특정한 의약품을 사용하는 사람에게는 치명적인 결과를 가져올 수 있다. 자몽 주스는 여러 종류의 쿠마린과 유사한 플라보노이드와 다른 강력한 CYP450 억제제를 포함하고 있으므로, 이런 종류의 불순물 첨가의 감지와 예방은 특히 중요하다. 이러한 주스의 혼합을 감지하기 위한 전통적인 방법은 상당히 오랜 시간과 노력이 필요한 HPLC방법이 이용되었으나, 최근에는 NMR을 기반으로 하여 PCA를 사용하는 chemometric 방법이 개발되었다. 이 방법을 이용하여 59종류의 순수 오렌지 주스, 23종류의 자몽 주스, 그리고 10종류의 혼합 주스를 포함한 92종류의 주스에 실험해 본 결과, 98%의 상당히 정확한 결과를 얻을 수 있었으며, 이 NMR 방법은 chromatographic방법의 절반 이하의 시간이 소모된다. 주스 조제에 있어서의 일반적인 문제는 신선하게 즙을 짜서 만든 주스와 과육 세척을 통해 만들어진 주스를 구별하는 것이다. 자몽 주스의 경우와 마찬가지로, 과육 세척을 통해 만들어진 주스는 맛 또는 색깔로 쉽게 감지가 안 되기 때문에, 생산 비용을 줄이기 위하여 신선하게 즙을 짜서 만든 주스를 합한다. 이 문제를 해결하기 위하여 Le Gall et al. (2001)은  $^1\text{H}$  NMR과 주요 구성성분 분석을 사용하여 300종이 넘는 신선하게 즙을 짜서 만든 주스와 과육 세척을 통해 만들어진 주스를 구분하였다. 그 방법은 95%의 정확성을 나타냈으며, 특정한 지표인자 화합물인 디메틸프롤린(dimethylproline)의 양이 신선하게 즙을 짜서 만든 주스에 비해서 과육 세척을 통해 만들어진 주스에서 상당히 높게 나타난다는 것을 발견하였다. 변환된 아미노산의 감지를 이용한 방법의 개발은 과육 세척

을 통해 만들어진 주스를 매우 간단하고 경제적으로 감지할 수 있다. 또한, NMR은 맥주 생산에 있어 일정한 품질을 모니터링하는데 효과적으로 사용된다. 맥주 생산지는 여러곳으로 일정한 맛과 품질의 맥주를 만들기 위해서는 색깔, 알코올 함량 또는 비중뿐만이 아니라 분자 수준에서 수행할 수 있는 품질 관리 방법을 개발하는 것이 중요하다. Almeida et al. (2006)의 NMR과 PCA 분석을 이용한 연구에 의하면, 젓산, 피루브산, 텍스트란, 아데노신, 이노신, 우리딘, 타이로신, 그리고 2-페닐에탄올의 함량으로 생산 장소에 따른 맥주를 구분할 수 있었으며, 이 화합물들의 양을 측정하는 과정을 통해 품질 관리가 미약한 생산 장소에서 다른 생산 장소에 비하여 다양한 화합물이 나타났음을 보여주었다. 이 방법들은 다국적 기업의 탄산음료, 주스, 그리고 식물성 기름 제조에 있어서 품질 관리를 높이는데 사용될 수 있으며, 또한 유사한 방법으로 다른 장소에서 수확되는 기능성 식품의 품질 관리를 모니터링 하는데 사용될 수도 있다. 현재까지 대부분은 NMR과 PCA, 인공 신경망(artificial neural networks)이나 다른 다변량 분석을 함께 사용하여 식품/음료 불순물을 식별하고 구분하였다. 하지만 질량분석기를 사용하여 식품 불순물을 감지하는 것도 가능하다. 특히, 동위 원소비 질량분석기(IRMS)는 예전부터 와인과 올리브 오일의 불순물, 그리고 과일 주스에 첨가된 설탕과 신맛을 내는 산을 감지하는데 사용되어 왔다. IRMS는 샘플의 상대적인 동위 원소의 양이나 분류를 측정하는 질량분석기의 한 형태이다.

동위 원소의 양은 지리적 위치, 물리적 자원, 대사 물질의 반응, 또는 물질의 나이에 따라 변할 수 있다. 이에 따라 이미 밝혀진 내부 동위 원소 reference와의 비교를 통해 동위 원소의 양

은 화합물의 생화학적이거나 지리적 기원을 식별하는데 사용될 수 있는 것이다.

식품 안전 및 품질에 대한 관심이 높아짐에 따라 식품의 생산과 가공과정은 앞으로 더욱 정확하고 엄격한 식품 모니터링 시스템이 필요할 가능성이 높다. 신속하고 경제적인 metabolomic 기술은 음료와 기름의 불순물을 식별하고 전에는 감지 불가능하던 품질 관리 문제를 정확하게 모니터링 할 수 있는 metabolomics가 곧 식품 품질의 평가와 관리에 있어서 매우 중요한 역할을 할 것이라는 것을 암시하고 있다.

### 식품 섭취 모니터링에 있어서의 metabolomics

식품 섭취의 모니터링이나 측정은 영양학자들에게 가장 중요하면서도 어려운 과제이다. 영양학자들은 특정 식품이나 식이요법에 대한 연구의 대부분을 식품 섭취빈도 조사법(FFQs)을 통한 역학연구로부터 결과를 얻는다. 하지만 FFQs는 예상 식이요법 연구에는 무용지물이며, 개체간 10배 이상이 차이가 나는 순환 영양소나 미량 영양소의 혈장 수치를 직접적으로 측정할 수가 없다. 이러한 FFQs의 단점을 보완하고자, 식품 섭취의 모니터링에서 metabolomics의 활용은 새로이 부각되고 있다. 이 방법은 식품 구성성분 분석과 품질 측정을 통하여 얻어진 지식을 바탕으로 하여 혈액, 뇨, 또는 침의 분석에 적용한다. 이 방법은 metabolomics를 기반으로 한 의약품의 안전성이나 유효성을 평가하기 위해 사용하는 개념과 유사하다.

식품 섭취 모니터링에 기반을 둔 metabolomics의 활용은 식품 섭취의 패턴을 관찰할 수 있

을 뿐 아니라 주어진 식이의 생리적 결과에 대한 해석에 도움을 준다. 다음에서 논의될 식이요법과 영양 연구의 생리적인 모니터링에 있어서의 metabolomics 연구는 뇨나 혈액에서 식이요법의 비영양소의 부작용 결과로 야기되는 spectral 변화와 식이요법을 통해 일어난 spectral 변화를 구별할 수 있어야 한다. 이러한 구별의 실패는 식이요법 개입 연구에 있어서 심각한 착오를 일으킬 수 있다. 만약 실제로 식이요법으로 인하여 생긴 신호가 제대로 고려되지 않는다면, metabolomic 연구를 통해서 두 그룹이 서로 다른 식품을 먹었음을 알 수 있는 당연한 결과 밖에 없다. 일반적으로 영양소의 섭취 또는 식품에 특정한 지표인자를 식별하는 연구에 가장 좋은 biofluid는 뇨이다. 실제로 뇨와 혈액의 가장 큰 차이점은 대사체와 non-metabolite의 비율이다. 현재까지 발표된 대부분의 연구결과에 따르면 뇨는 혈액보다 상당히 높은 비율의 non-metabolite를 포함하고 있다. 예를 들어, 양파 섭취의 지표인자에 대한 최근 연구결과, 뇨 내 11가지의 퀴르세틴 대사체가 높은 양으로 감지된 반면에, 혈액에서는 5가지의 낮은 양의 퀴르세틴 대사체가 발견되었다. 혈액이나 뇨에서 발견될 수 있는 식품의 특정한 지표물질은 다양하다. 어떤 경우에는 화합물의 미미한 존재가 특정 식품을 섭취했음을 나타내고, 다른 경우에는 그 화합물의 농도가 일정기간동안 상당히 증가함을 알 수 있다. 어떤 지표인자는 48시간까지 남아있기도 하지만, 대부분의 food-specific 지표인자는 혈액이나 뇨 내에 5~10시간 동안 남아있다. 이러한 화합물의 대부분은 몸에 흡수되지 않는 phytochemical이나 비영양소이다. 여러 측면에서 신체는 이런 화합물을 약물이나 다른 xenobiotic을 대할 때와 같은 방법으로, 약물 검사와 약물

모니터링에 사용되는 방법은 식품 섭취 모니터링에서도 사용될 수 있다. 차이점은 약물은 보통 비교적 순수 화합물로 대사체가 상대적으로 적지만, 식품은 순수 화합물이 아니므로, 더 많은 성분과 대사체가 존재한다. 앞으로 멀지 않은 미래에는 metabolomic 방법을 통하여 더 많은 화합물이 식별되고 더 많은 식품이 연구됨에 따라 식품의 특정 지표물질은 더욱 늘어날 것이며, 식품 섭취의 지표물질 또한 한두 개에 관련된 화합물이 아니라 여러 화합물로 이루어진 특징적인 프로파일의 식별이 가능해질 가능성이 크다. 마찬가지로 농도 데이터는 섭취의 시간이나 양에 대한 정보와 합쳐져서 더욱 정확한 대사체 흐름과 유동, 그리고 대사체의 처리와 흡수에 대한 개별 차이의 식별을 가능하게 할 것이다.

### 식이요법과 영양 연구의 생리적인 모니터링에 있어서의 metabolomics

지난 세기 동안에 사람의 성장과 생존에 필요한 필수 영양소를 식별하는 데에 있어서 식품학자와 생화학자들은 커다란 진보를 이루었다. 향상된 식이요법에 관한 가이드라인과 의무적으로 필수 미네랄과 비타민 섭취로 인하여 대부분의 영양실조를 치료하는데 크게 성공하였으나, 오늘날의 영양학자들은 비만, 당뇨병, 만성 염증과 심혈관 질환과 같은 영양 과잉으로 인하여 생기는 질병의 치료와 예방법을 찾는 과제를 안고 있다. 그들은 또한 평균 수명 연장, 체중 감소, 신체적 또는 정신적 기능 향상, 동맥 경화증, 심장 질환, 암, 그리고 관절염 등과 같은 질병을 예방할 수 있는 생리활성이

있는 식품 성분을 찾아내야 하는 과제를 안고 있다. 이러한 과제 해결에 있어, 영양학자들은 건강에 대한 식이요법이나 생리활성이 있는 성분의 효과를 연구하는 두 가지 방법 중에 하나를 선택할 수 있다. 하나는 역학연구를 통하여 건강 상태나 질병에 걸릴 가능성과 장기간의 일정 식품 섭취의 연관성을 찾는 것이다. 다른 방법은 단기간의 예상 food intervention 또는 diet-challenge의 실험을 통해 연구하는 방법이다. 지금까지 역학연구를 통하여 향상된 건강 상태와 식이요법의 연관성이 밝혀졌지만, 이 연관성은 꼭 원인을 의미하는 것은 아니다. 따라서 지표인자의 양의 측정과 생리적 결과에 초점을 맞춘 diet-challenge 실험이 주요 영양소의 유익하거나 해로운 효과의 원인을 연구하는데 선호되고 있는 방법이다.

게놈적(genomic), 단백체적(proteomic), 그리고 가장 최근 들어서 metabolomic 기술은 diet-challenge 또는 food intervention 실험에 자주 사용된다. 측정되는 생리적 반응에 따라서 metabolomic 분석은 지표인자의 측정을 통해 산화적 스트레스, 항산화제 활성화, 염증 및 심혈관 질환의 위험을 측정할 수 있다. 또한 proteomic 지표와 전사체적(transcriptomic) marker를 이용하여 이러한 반응들을 감지할 수 있으나, 지표인자 사용의 장점은 모니터링 기술을 사용하여 식이요법과 관련된 화합물이나 대사체의 단기 농도의 변화를 볼 수 있다는 점이다. 노 내극성 화합물은 식품 섭취의 지표인자로 사용될 수 있으며, 식품에 대한 생리적 반응의 지표인자로 사용되는 화합물은 비극성으로, 대부분은 혈액에서 발견된다. 이것은 혈액이 일반적으로 더 안정적이고 신뢰할 수 있는 생리적 과정의 지표이기 때문이다.

Metabolomic 기술을 식이요법 개입 시도를 처음으로 한 연구 중 하나는 콩의 단백질과 이소플라본의 효능을 실험한 연구이다. 폐경 전인 여성을 대상으로 몇 주간의 콩 섭취 후의 혈장의 변화 분석을 위하여,  $^1\text{H}$  NMR 기술과 chemometric 기술이 사용되었다. 그 결과 삼투물질(osmolyte)의 변화와 에너지 대사에 따른 대사경로와 연관이 있는 lipoprotein, 아미노산, 그리고 탄수화물의 양에서 큰 변화가 감지되었다. Fardet et al. (2007)의 유사한 연구는 NMR에 기반을 두고 chemometric 기술을 사용하여 곡물과 밀가루 식이가 쥐에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 곡물을 먹은 쥐의 뇌 내에는 Krebs's Cycle의 중간 생성물, aromatic acid, 그리고 hippuric acid의 수치가 높게 나타났다. 이 대사체는 동물의 기초 대사의 변화뿐만 아니라 총 장내 세균의 신진대사의 변화를 나타내는 것일 수 있다. 혈장과 간에서의 NMR 연구결과 glutathione과 betaine의 증가를 나타내었는데, 이는 낮은 산화적 스트레스의 일반적인 지표이다. 식이요법 개입 효과의 대부분은 지표인자가 낮은 농도로 존재하므로, 최근의 많은 연구는 더욱 민감한 MS기술이나 immunoassay사용에 초점을 맞추고 있다. 이것은 과일과 채소의 다양성이 산화 지표인자 수준에 미치는 영향, 포도가 산화적 스트레스에 미치는 영향, 엑스트라 버진 올리브 오일이 혈장 염증성 인자와 산화적 스트레스 인자에 미치는 영향, 마카다미아 너트 섭취가 심혈관 질환결과에 미치는 영향, 그리고 gazpacho 수프의 섭취가 산화적 스트레스와 염증성의 혈장 지표인자에 미치는 영향 등에 대한 연구들을 포함한다. 이런 모든 연구는 통계적으로 중요한 효과를 나타내었고, 그 결과는 이전의 역학연구의 결과와 일치한다. 이 연구들의 대부분은 생리적인 효능을 측정하기 위

하여 소분자와 거대분자 단백질 지표인자를 둘 다 사용하였다. 많은 식품에서 생리활성 성분에 대한 이해가 늘어남으로서 앞으로의 식품의 생리적인 효과, 또는 식이요법 개입 실험에 관한 연구에서 다른 종류의 식품이나 식품 보조제로써 특정한 생리활성 성분을 사용하는 것을 줄여 나갈 가능성이 높다. 순수하거나 부분적으로 정제된 생리활성 성분의 사용은 생리적 해석을 더욱 쉽게 만들어 주고, 재연성이 높은 결과들을 얻을 수 있다. 이러한 종류의 연구는 이미 진행중으로, 예를 들어, Chiuve et al. (2007)은 betaine과 choline이 혈장 내 호모시스테인 수준에 미치는 영향에 대하여 연구하였다. 호모시스테인은 잘 알려진 심혈관 질환과 다른 만성 질환의 위험 요소로, 다른 유사한 연구로는 엽산, 오메가-3-다가 불포화 지방산, 다양한 정제된 과일의 폴리페놀과 같은 생리활성 성분이 사람, 동물, 그리고 여러 세포 시스템에 미치는 영향에 대한 연구결과들이 있다. 사람의 건강과 질병은 결국에는 장기간의 식이요법의 영향을 받지만, 단기간의 diet-challenge의 사용을 통하여 장기간 건강의 영향을 측정해보는 것은 아마도 metabolomics를 이용하여 가장 효과적이며 경제적으로 식이요법과 건강의 관계를 이해하는 방법일 것이다. 포도당, 과당, 지방, 그리고 고칼로리 diet-challenge 실험은 민감한 metabolomic 기술을 이용한 모니터링과 함께 사용하여 비만, 당뇨병, 심혈관 질환, 그리고 대사 증후군과 같은 만성 질환의 일시적인 발생에 대한 중요한 식견을 나타낼 가능성이 높다. 마찬가지로 생선/올리브 기름, 아마씨, 십자화과(cruciferous)의 야채, 폴리페놀이 많은 과일과 저칼로리 diet-challenge 실험은 이것이 대사 증후군과 심혈관 질환의 치료와 평균 수명 연장에 미치는 효과에 대한 중요한 식견을 나타낼 수

있다. 민감한 GC-MS나 LC-MS를 이용한 metabolomic 기술을 사용하여 적절하고 전체적인 모니터링을 한 diet-challenge 실험은 다른 식이 변동에 대한 폭넓은 개체간의 반응을 나타내는데 도움이 될 수 있다. 고 위험군에 속한 사람들은 당연히 특정한 질병 위험의 지표인자나 대사체가 더욱 높을 것이고, '위험이 낮은' 사람들은 별다른 변화를 나타내지 않을 것이다. Metabolomics는 표현형적 변화에 대해 더 정량적이고 화학적으로 상세한 이해를 제공할 것이라는 장래성이 있지만, diet-challenge 실험을 위한 transcriptomic 연구, SNP-profiling 연구, 복제 수의 변화(CNV)의 연구, 장내 메타지놈(gut metagenomic) 연구, 그리고 proteomic 연구와 효소 연구는 유전적 효과로 인한 개체간의 차이 또는 성향에 대하여 완전히 이해할 수 있게 할 것이다.

앞에 언급한 바와 같이 개체 간 식이는 매우 다양하며, 식이에 대한 개인의 반응 또한 매우 다양하다. 이 다양성은 확실히 metabolic 프로파일링과 대사체 '표준화'를 어렵게 만든다. 표준화와 대상간의 비교는 나이, 성별, 그리고 일변효과(diurnal effect)가 대사체의 농도에까지 영향을 미치므로 매우 복잡하다. 성별에 따른 범위, 나이에 따른 변화 또는 일시적인 효과를 포함한 대사체 또는 metabolomic 데이터베이스의 생성은 이를 도와줄 수 있다.

또한 잘 설계되고 잘 관찰된 diet-challenge 실험을 통해 모은 자료를 바탕으로 전체적인

metabolomic 데이터를 만드는 것은 데이터베이스 구축을 쉽게 만들 수 있을 것으로 판단된다.

## 참고문헌

1. Almeida C, Duarte IF, Barros A, Rodrigues J, Spraul M, Gil AM, Composition of beer by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy: effects of brewing site and date of production, *J Agric Food Chem*, **54**(3), 700-706, 2006
2. Chiuve SE, Giovannucci EL, Hankinson SE, Zeisel SH, Dougherty LW, Willett WC, The association between betaine and choline intakes and the plasma concentrations of homocysteine in women, *Am J Clin Nutr*, **86**(4), 1073-1081, 2007
3. David SW, Metabolomics: applications to food science and nutrition research, *Trends Food Sci Tech*, **19**(9), 482-493, 2008
4. Fardet A, Canlet C, Gottardi G, Lyan B, Llorach R, Remesy C, Whole-grain and refined wheat flours show distinct metabolic profiles in rats as assessed by a <sup>1</sup>H NMR-based metabonomic approach, *J Nutr*, **137**(4), 923-929, 2007
5. Le Gall G, Puaud M, Colquhoun IJ, Discrimination between orange juice and pulp wash by <sup>1</sup>H Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy: identification of marker compounds, *J Agric Food Chem*, **49**(2), 580-588, 2001

### 이상희 한의학박사

- 소속 한국식품연구원 식품분석센터
- 전문분야 대사체학(약물이나 식품의 유효성 및 안전성 평가연구, 바이오마커도출연구)
- E-mail shlee@kfri.re.kr
- TEL 031-780-9329