

# Metabolomics : 식품기술의 현재와 미래

## Potential of Metabolomics in Food Science

박호영 | 신소재연구단

Ho-young Park | Neo Food Resources Research Group

### 개 요

대사체학(metabolomics) 연구는 다양한 유전적, 생리·병리적, 환경적 등의 조건에서 변화되어 나타나는 생체 내 저분자량(1500 Da 이하) 대사체군(metabolome)의 구성과 농도를 분석하고 해석함으로써 생명현상의 변화와 원인을 규명해 나가는 연구 분야이다. 대사체군이란 세포, 조직 또는 생체 내에 존재하는 내인성에서 외인성에 이르는 펩타이드, 아미노산, 핵산, 탄수화물, 비타민, 폴리페놀 등 저분자량의 대사체 산물의 집단을 말한다.

이러한 대사체학은 ‘오믹스(-omics)’의 한 분야이며, 유전자나 단백질의 기능을 밝히는 유전체학(genomics) 및 단백질체학(proteomics)과 더불어 중요한 연구의 한 분야로 인식되고 있다. 대사산물(metabolite)은 실제로 생명체의 표현형(phenotype)을 가장 잘 나타내는 저분자량의 생화학적 성분이다. 혈액, 뇨, 조직과 같은 생체 시료의 완전한 대사체 프로파일(profile)은 그 자체로서 또는 유전자의 발현(gene expression)과 연관된 데이터와 조합하

여, 생체 내에서 일어나는 다양한 생리학적 및 병리학적 현상에 관하여 유용한 정보를 제공한다. 대사체학은 이러한 중요성으로 인하여 2005년 5월에 발간된 테크놀로지 리뷰(technology review)지에 올해의 10대 과학기술(10 emerging technology) 중의 하나로 소개되었다.

식품과학에 있어서 대사체학은 metabolomics for plant, health and outreach(META-PHOR)와 같은 식품연구프로그램처럼 현재 인류가 당면한 문제를 해결할 수 있는 가능성을 가지고 있다. 또한 향후 농업과 인간 영양에 있어서 효과적인 도구로 이용될 것으로 고려되고 있다.

### 대사체 기술 적용 분야

**식품** : 식품 분야에서 대사체학의 활용은 매우 다양하다. 먼저 기능성 식품의 활성물질 확보에 있어서 대사체학을 응용한 합성 경로 측정을 통해서 가능하다. 발효식품에 있어서 이용은 식품의 발효

진행 정도의 확인을 대사체 변화를 측정함으로써 식품의 발효정도(품질)를 평가 및 조절하는 것이 가능하다. 농산물을 원료로 사용하는 경우, 원료의 산지 및 규격 확인에 있어서 대사체 측정을 통한 평가로 가능하다. 가공식품의 경우 생산 및 가공 공정에서 대사체가 활용될 수 있으며 최종 생산품의 품질 확보에도 활용 가능하다.

**식물** : 산지 및 품종을 확인하는데 대사체학이 응용가능하며, 산업적으로는 품종개량 시 대사체학 활용이 가능하다. 식물의 경우에도 관상용뿐만 아니라 생리활성물질의 탐색을 위하여 대사체학이 가능하다.

**천연물** : 희소성, 약용 가능성 등으로 인하여 가치가 큰 천연물은 산지 구별, 제품 구별, 규격 확보 등이 필요한데, 특정 지표물질뿐만 아니라 대사체를 이용하여 천연물을 쉽고 정확하게 구별하는 것이 가능하다. 자원 확보 측면에서도 대사체를 이용하여 유용한 천연물을 표준화시키고 생리활성물질을 확보할 수 있다. 천연물 자원의 획득을 위한 규격화도 대사체를 활용하여 가능할 것이다.

## 식품 대사체학 연구 개요

식품과 농업에서의 대사체학 적용은 식물 대사체학(plants metabolomics)을 기반으로 발전하여, 그에 따른 대사체 프로파일링 및 대사체 분석 프로토콜을 따르고 있다. 우선 농업에서의 대사체학은 농산물의 품종 개량 및 식품에서의 안전성, 안정성, 영양적 가치 등을 평가하는 기준이 될 수 있는

연구방법을 들 수 있으며, 식품 내에 존재하는 천연성분들의 대사체 합성 경로 및 효소 작용에 관한 연구는 대사체 프로파일링이나 표적(targeted) 대사체의 접근을 통해 생체 화합물을 발견하고 연구하는데 발전 가능성이 높다. 이를 통해 식품 대사체학 연구는 소비자들의 욕구에 맞는 농산품 및 식품을 개발하는데 기여할 수 있으며, 생산과 가공에 따른 개발의 잠재적 가치를 가지고 있다.

## 시료의 정보에 대한 데이터베이스 구축

연구하고자 하는 대상 시료 및 환경적 영향에 대한 정보는 연구 대상의 분석방법 설정 및 데이터의 원인을 분석하는데 이용될 수 있다. U. C. Davis의 Oliver Fiehn 교수 연구팀은 생물학적 연구에 중점을 둔 데이터베이스를 구축하였다. 즉 생물학적 근원(종, 기관, 조직 등)이 다른 것들을 분류하고, 시료의 성장 조건(시간, 온도, 조도, 습도 등), 시료 처리 방법 등을 자세하게 입력하는 등 실험하는 시료의 정보 데이터베이스를 구축하여, 원하는 정보를 쉽게 찾을 수 있는 setupX 시스템을 만들었다 (Fig. 1).

## 대사체 추출방법의 개선

원하는 대사체들의 선택적인 추출은 다양한 생화학적 화합물을 분석하고, 적화된 데이터 산출을 가능하게 해주므로 이를 위한 추출방법의 최적화가 중요하다. 시료의 추출과정 전 보관 중에 생물의 대사과정을 중단시키기 위해서는 액체 질소를 이용한 급속 냉동, 동결건조 방법 등이 이용되고 있다. 대사체의 추출과정에서는 극성이 다른 다양

한 유기용매를 사용하게 되는데, 극성 대사체는 메탄올, 에탄올, 물 등을 사용하고, 지용성 대사체는 클로로포름 등을 주로 사용한다. 용매의 혼합량 및 사용량에 따라 1차 및 2차 대사체들의 추출 효율이 달라지며 초고압 추출, 초음파 추출 등의 새로운 추출방법 등이 개발됨에 따라 효율을 높일 수 있는 다양한 추출방법이 개발되고 있다.

기기종류의 특성에 따라 시료를 처리하는 추출방법이 달라질 수 있는데, GC/MS를 이용한 분석의 경우, 기기의 특성상 휘발성 대사체를 휘발성으로 변화시키는 유도체화 과정이 있어야 한다. 가장 흔한 유도체화 과정은 -OH, -COOH, -NH, -SH기를 가진 극성 화합물에 TMS(trimethyl-silyl) group을 붙여, 휘발성을 증가시키는 방법이다. 이때 사용되는 시약

은 MSTFA(N-methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide), TMSA(trimethylsilylacetamide), BSTFA(N,O-bis-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide) 등이며, 식물 대사체와 당 분석 시에는 MSTFA가 가장 많이 이용되었다.

### 대사체 프로파일의 데이터 분석방법

데이터의 분석과정은 배열(alignment), 리포팅(reporting), 통계분석을 포함하며, 검출된 대사체를 분류하고, 손실될 수 있는 데이터를 정리해주는 역할을 한다. 빈베이스(binbase) 프로그램은 기기분석을 통해 얻어진 데이터를 통합하고 여과하는 데이터 처리 알고리즘으로, 정확하고 재현성 있는 데이터를 제공해준다. 방대한 양의 데이터 결과는 데

			Sample Taken No: 0 time: 03:00 pm	Sample Taken No: 1 time: 06:00 pm	Sample Taken No: 2 time: 09:00 pm	Sample Taken No: 3 time: 11:00 pm
organ No: 0 organ name:	Line No: 0 Genotype: wildtype	Splitratio No: 0 Splitratio: Split 1: 5 (Agilent)	ClassID: 0 [6 Samples]			
organ No: 0 organ name:	Line No: 0 Genotype: wildtype	Splitratio No: 1 Splitratio: Split 1:50 (Agilent)	ClassID: 0 [6 Samples]			
organ No: 0 organ name:	Line No: 1 Genotype: C24	Splitratio No: 0 Splitratio: Split 1: 5 (Agilent)	ClassID: 0 [6 Samples]			
organ No: 0 organ name:	Line No: 1 Genotype: C24	Splitratio No: 1 Splitratio: Split 1:50 (Agilent)	ClassID: 0 [6 Samples]			
organ No: 1 organ name: liver	Line No: 0 Genotype: wildtype	Splitratio No: 0 Splitratio: Split 1: 5 (Agilent)	ClassID: 98183	ClassID: 98307	ClassID: 98431	ClassID: 98555 [6 Samples]
organ No: 1 organ name: liver	Line No: 0 Genotype: wildtype	Splitratio No: 1 Splitratio: Split 1:50 (Agilent)	ClassID: 98679	ClassID: 98803	ClassID: 98927	ClassID: 99051 [6 Samples]
organ No: 1 organ name: liver	Line No: 1 Genotype: C24	Splitratio No: 0 Splitratio: Split 1: 5 (Agilent)	ClassID: 98245	ClassID: 98369	ClassID: 98493	ClassID: 98617 [6 Samples]
organ No: 1 organ name: liver	Line No: 1 Genotype: C24	Splitratio No: 1 Splitratio: Split 1:50 (Agilent)	ClassID: 98741	ClassID: 98865	ClassID: 98989	ClassID: 99113 [6 Samples]

$$\begin{matrix} \text{organ} & \text{Line} & \text{Sample Taken} & \text{Splitratio} & = & \text{classes} \\ 2 & \times & 2 & \times & 4 & \times & 2 & = & 32 \end{matrix}$$

Fig. 1. SetupX view of a four dimensional study

이터의 구조나 목적에 따라 클러스터링(clustering) 및 주성분분석(principal component analysis, PCA), 부분최소제곱회귀분석(partial least squares regression, PLS) 등의 다변량통계분석을 통해 분석된다.

## 식물 대사체학 연구 개요

식물 대사체들은 식물 내에 존재하는 저분자 물질로서 세포막에서 발견되는 지용성 물질들, 세포의 수용성 부분들로부터 나온 극성 물질들, 산성·염기성 이온들, 안정한 구조물과 산화된 구조물 등을 포함한다. 식물의 2차 대사산물들 중에는 신진 대사에 필요한 다양한 화합물이 있으며, 그 중 많은 화합물이 현재 의약품, 향신료, 방향제, 염료, 향암제, 살충제 등으로 이용되고 있다.

식물 내에 존재하는 대사체의 양은 외부의 환경

변화나 내부의 유전적 변화에 의해서 변화된다. 따라서 식물 대사체학은 돌연변이 또는 다른 조작을 가했을 때 나타나는 식물들의 특이적인 반응들에 대해서 이해하는데 도움을 준다. 예를 들면, 새가 식물의 잎 위에 앉았을 때 식물은 어둠을 극복하기 위해서 광합성 경로를 조정해야 한다. 이 때 식물 내의 저분자 물질들의 변화를 관찰함으로써 식물이 어떤 반응을 보일 것인지에 대해서 예측할 수 있게 된다.

식물 대사체학은 생물 분야 대사체학의 대사경로를 규명하는 목적을 가지고 있고, 특히 미생물 분야의 대사체학처럼 시스템 생물학(systems biology) 입장에서 전체 대사체 유동(metabolic flux)을 수식으로 표시하고자 하는 방향으로 발전하고 있다(Fig. 2). 따라서 식물체의 대사체 분석을 통하여 특정 유전자의 기능을 규명할 수 있으며, 전체적인 생합성경로 규명에 의한 특정 유용 화합물의 생산을 증가시킬 수 있어서 의약 및 식품용 신소재 개발 등에 이용될 수 있다.

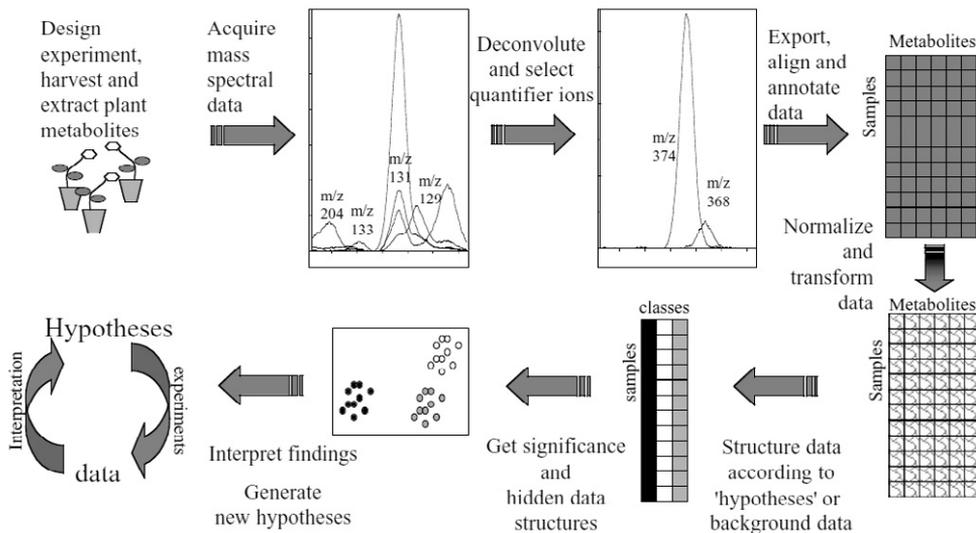


Fig. 2. Flowchart of a plant metabolomic experiment

### 식물 대사체 연구의 일반적인 flow 분석방법

한 종류의 분석기기로 대사체군 전체를 포함할 수 있는 프로파일링은 불가능하기 때문에 대사체를 정성적으로 파악하기 위해서 두 종류의 분석기기를 상호 연결하여 사용하는 것이 이상적이다. 또한 분석방법과 분석기기의 선택은 각 실험의 특성에 맞도록 매우 신중히 선택해야 한다. LC/MS와 GC/MS는 당, 당알코올, 유기산, 아미노산, 지방산과 넓은 범위의 다양한 2차 대사산물들을 포함하는 수백 가지의 화학물질들을 검출할 수 있으며, 질량이 같은 화학적 이성질체들을 구별하는데도 유용하다. 식물 재료 사용 시 LC/MS를 사용하는데, 이는 분석 대상 범위가 넓고 정량적 데이터를 얻을 수 있기 때문이다. 그러나 재현성이 떨어지는 단점이 있다. GC/MS는 LC/MS가 분석하기 어려운 지방산 계열의 화합물을 대상으로 할 때 매우 유리하고, 유도체화(derivatization) 분석을 통한 비휘발성 화합물의 분

석이 가능해지며, 데이터의 재현성과 안정성이 HPLC에 비해 월등히 높다. 하지만 비휘발성물질의 경우에는 화학적 유도체화가 필수적이기 때문에 시간이 걸리고, 원료물질의 변화를 가져올 수 있다. 예를 들면, 유도체화 된 기에 의해서 지배되는 조각들을 발생시키는 원인이 될 수 있고, 유도체화되지 않은 나머지 화학물질들의 규명을 어렵게 할 수 있다. 또한 이온화과정에서 고에너지를 사용함으로써 이것이 화학적 결합들을 붕괴시킬 수 있다.

NMR 중 <sup>1</sup>H-NMR은 정량성이 뛰어나고 정성분석이 가능하며, 샘플전처리에 어려움이 없고, 속도가 빠르나 민감도가 낮다는 단점이 있다.

CE-LIF(capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence)는 높은 민감도를 가지고 있으나 선택성이 낮은 단점이 있다.

식물 시료 세포 파괴를 대표적인 3가지 용매로 추출하여 실험할 수 있음을 보여준다(Fig. 3). H<sub>2</sub>O의 경우 염(salt), 이온(ions), 탄수화물(carbohydrate), 아미노산(amino acids), 유기산(organic acids)을

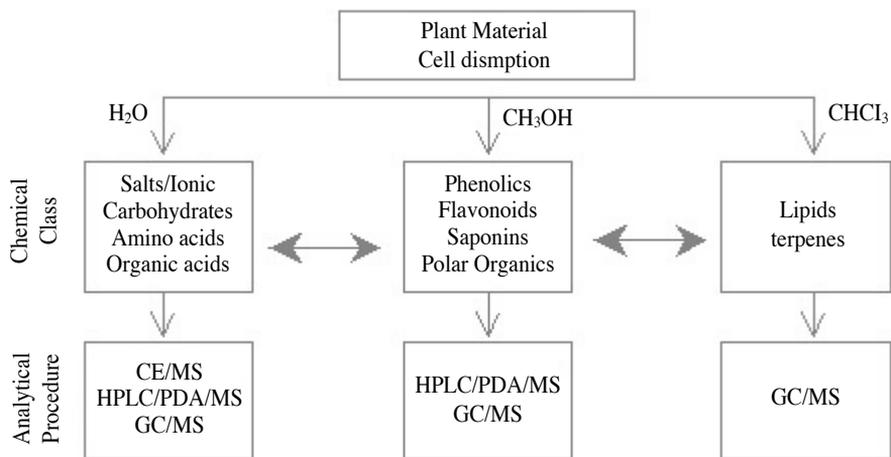


Fig. 3. Approach to surmounting the metabolome obstacles of chemical complexity and dynamic range employs sequential extraction followed by parallel analyses

추출하여 CE/MS, HPLC/PDA/MS, GC/MS로 분석할 수 있다. 메탄올 추출의 경우, 페놀(phenolic), 플라보노이드(flavonoid), 사포닌(saponin), 극성 유기(polar organic) 성분들을 추출시키고, 주로 HPLC/PDA/MS, GC/MS로 분석이 가능하다. 클로로포름으로 추출한 지질(lipid), 테르펜(terpene)류들은 GC/MS로 분석할 수 있다.

## 천연물 대사체학 연구 개요

천연물 복합제제의 다각적인 시도는 복합제제에 대한 활성을 확인해야 한다. 또한 재현성 있는 활성을 위해서는 제제의 표준화가 필수적이라는 지적이 있다. 이러한 추출물의 표준화는 제제의 품질을 확보할 수 있고 재현성 있는 결과를 얻기 위한 필수적인 요소이다. 천연물 제제는 대부분 식물에서 유래하며 그 성분들의 함량이 일정하지 않은 경향이 있다. 또한 동일한 기원의 식물이라도 지역, 수확시기, 기온변화 등의 외부환경에 의해 그 구성성분들이 변화되어 약리 활성 및 독성에 많은 영향을 미친다. 따라서 천연물 제제를 의약품화 하기 위해서 미국 및 유럽 등지에서는 표준화를 법적으로 규정하고 있다(Table 1).

대사체 연구 기법은 NMR과 GC/MS, LC/MS, LC/NMR 등의 분석기기를 사용하여 아주 감도가 높은 기술로 미세한 대사체의 변화도 검출해낼 수 있어 이러한 기법을 이용하여 원형(wild-type)과 유전자조작(transgenic) 식물의 미묘한 대사체의 차이를 구별해 내는 한편, 식물 종간의 분류(chemotaxonomy)도 수행되고 있다. 이러한 기법을 이용해 현재는 인삼, 마황, 대마 등의 대사체를 분석하여 이들 식물을 이용한 제제들의 품질관리에 이용하는 방법들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

## 대사체학에 있어서의 통계기법 및 데이터 해석

앞서 열거한 식품, 식물, 천연물에 대한 대사체 연구에 있어 모두 공통적으로 적용되며 데이터의 유의성을 결정하는데 가장 중요한 부분이 통계기법이다. 통계기법은 비단 대사체학뿐만 아니라 변수의 숫자가 관찰 집단의 숫자보다 많은 여타 다른 오믹스 연구에 있어도 매우 중요한 부분을 차지하고 있다. 오믹스에 사용되는 통계기법은 관찰대상이 되는 변수의 개수를 줄여 전체 데이터의 패턴을 적은 수의 새로운 변수로 나타내는 과정을 포함하

**Table 1.** Quality assurance of phytopreparations

1	Definitive authentication and taxonomic assignment e.g. through DNA-fingerprinting+DNA barcoding
2	Isolation and structural elucidation of all major constituents of the herbal drug
3	Identification of the true bioactive constituents
4	Multextract mixtures : standardization of the single extracts or 3D HPLC fingerprint analysis of the multicomponent extracts
5	Global harmonization of standardization criteria under the umbrella of the International Federation of Pharmaceutical Manufacturers Associations (IFPMA)

고 있다. 이론적으로는 이러한 과정은 고차원의 데이터 행렬을 새로운 축으로 회전시켜 보다 적은 축의 개수로 전체 데이터패턴을 나타낼 수 있도록 하는 패턴 인식과정과 동일하다. 결국 오믹스에 있어서의 통계분석은 복잡한 대사물질의 혼합물이 나타내는 패턴을 간소화하여 관찰 집단 간의 구분이나 특정집단의 표지신호를 찾아내는 것을 궁극적인 목적으로 한다.

이러한 통계기법에는 주로 주성분분석이 주로 이용되어왔다. PCA는 여타 다른 다변량 통계분석의 기본이 되며 데이터 간의 특정 패턴을 찾거나 예외적 데이터(outlier) 등을 찾아내는데 매우 유용하며 수십 년간 고고학, 교육학, 인문사회학 등의 여러 분야에서 사용되어 왔다. 대사체학에서도 PCA가 가장 먼저 활용되어 소개한 여러 가지 분야에 적용되어 왔다. PCA는 데이터 공간을 나타내는 행렬을 각 관찰 집단 간의 차이를 최대화하는 방향으로 회전시켜 특이벡터와 특이값을 찾기 때문에 얻어지는 주성분이 이미 알고 있는 데이터 내의 그룹 간의 차이를 가장 잘 반영하지는 못한다. 그러

므로 농산물의 산지별 구분 등의 실제적인 응용에 있어서는 다음에 제시된 회기분석법들보다 그룹 간 구별력이 떨어지며, 또한 관찰 집단 내에 존재하는 패턴을 찾으므로 미지샘플에 대해 정량적으로 그룹을 판별하는 것이 불가능하다.

많은 경우의 대사체학적 연구에서는 샘플이 가질 수 있는 그룹을 이미 알고(targeted) 있으므로 PCA를 이용한 패턴 분석보다는 미지 샘플을 판별할 수 있는 회기다변량분석이 더 적절하다. 최근에 보고된 orthogonal projections to latent structure-discriminant analysis(OPLS-DA)는 분광학적 데이터와 데이터의 특정 성질, 예를 들면 어떤 그룹에 속하는지의 여부를 연관시키는 회기분석법 중의 하나이다. 이 방법은 주 관심의 대상인 그룹 간의 차이가 첫 번째 특이벡터에 나타나도록 데이터 행렬을 회전시킴으로써 관찰값과 서로 다른 그룹 간의 연관된 변이를 쉽게 알아낼 수 있다. 그러므로 일반적으로 쓰여 왔던 회기분석법인 PLS-DA 보다 그룹 간의 차이를 더 적절하면서도 정확하게 반영할 수 있다(Fig. 4).

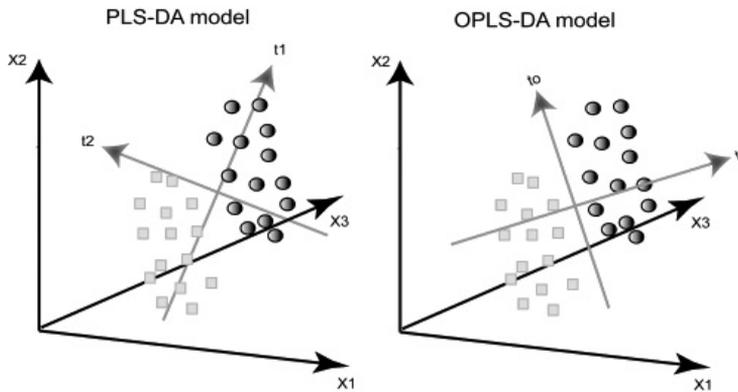


Fig. 4. Geometrical illustration of the difference between PLS-DA and OPLS-DA. The OPLS-DA model is rotated so that between class variation, difference between squares and circles, is found in the predictive component  $t_0$  and within class variation is seen in the first  $y$ -orthogonal components  $t_1$ .

최근 국내 연구진에 의해서 OPLS-DA와 이 결과에 따른 statistical TOCSY(STOCSY)를 이용한 한약재의 중국산 및 한국산 미지시료를 대사체학적 방법으로 구분한 연구가 논문으로 출판되어 OPLS-DA를 이용한 대사체학 연구가 활발해지리라 여겨진다.

## 국내외 대사체 연구 현황

### 식품

#### 국내 대사체 연구

LC/MS를 이용한 식물 플라보노이드(flavonoids) 대사체 연구를 수행하였고, 대사물질 기반 천연물 연구 및 이를 활용한 기능성 소재 연구를 수행하고 있으며, 한약재의 정성·정량법 개발, 한약재 및 유용식물의 대사체 분석법 개발과 국내산 인삼 대사체 연구를 수행 중에 있다. GC/MS를 이용한 국내산 송이버섯의 대사체 특성을 규명한 바 있으며, 전통발효 식품 중 장류(청국장, 된장, 고추장)에 대한 대사체 프로파일링 실험을 수행하였다. NMR 분석방법으로써 국내산 송이버섯의 대사체 특성을 규명하였으며, 전통발효 식품 중 장류(청국장, 된장, 고추장)에 대한 대사체 프로파일링 실험을 수행 중에 있다.

#### 국외 대사체 연구

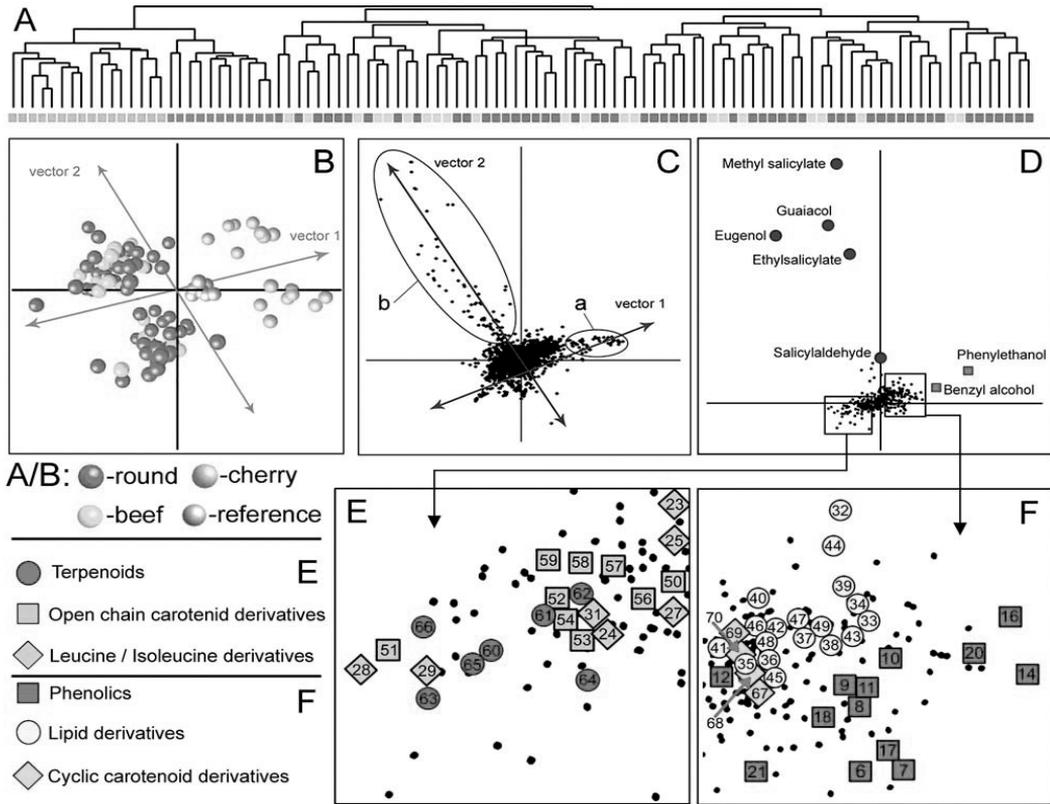
##### 식품 품질 관련 대사체 분석

독일의 Max-Planck 연구소에서는 감자 구근의 대사체인 주요 당류, 아미노산, 유기산을 GC/MS

로 분석하였으며, 영국에서는 GC-TOF/MS를 사용하여 감자 구근 내의 부위별 샘플 선택 및 분석효율을 높이는 결과를 보고하였다. 버진 오일의 리폭시게네이스(lipoxygenase)에 의한 2차 대사물의 대사체 분석을 통해 산지별 올리브 오일을 구분할 수 있는 생체지표물질을 선정하여, 객관적인 평가 지표 선정이 가능하였다. 표적 대사체 분석을 이용한 토마토의 휘발성 성분 프로파일링을 통해 토마토 종류 구별 및 시료 내 숙성 정도를 구분하는 보고가 있다(Fig. 5). 일본산 녹차 휘발성 성분 중 주요 화합물을 생체지표로 선정하여 분석한 연구에서는 녹차 시료의 품질과 등급을 결정하는데 이용된 바 있다.

##### 식품 안전성 관련 대사체 분석

최근 유전자 공학의 발달로 유전자 재조합으로 형질이 전환된 식물 개발이 급속도로 이루어지고 있으며, 이의 안전성 검증이 요구되고 있다. 대사체 분석은 유전자 재조합 식품에서 발견되는 의도하지 않은 독성물질을 분석하였다. 예를 들면 재조합 셀러리에서 발견되는 류판큐마린이나 재조합 감자에서의 당알칼로이드 등과 같은 물질을 표적 대사체 분석과 비표적 대사체 분석 접근을 통해 분석하였다. 또한 대사체 분석은 식품의 오염 및 위해 요소에 관한 지표를 만드는데 이용될 수 있는 연구방법으로, 식품의 부패를 일으키는 미생물이 생산해 내는 독성물질 및 off-flavor 물질을 표적 대사체 분석방법으로 오염 정도를 판단할 수 있다. 또한 식품 보존을 위해 사용하는 아질산염, 아황산염, 피로피온산, 소르빈산, 벤조산 등과 같은 화학적 식품 첨가물의 첨가 여부 및 안전성 평가를 위해 사용될 수 있다.



**Fig. 5.** Multivariate analyses of 94 tomato genotypes. A) Hierarchical tree of the 94 tomato genotypes based on intensity patterns of 20,000 individual molecular fragments. B) PCA plot showing two major types of differences between the tomato genotypes. C) PCA plot showing the distribution of 20,000 molecular fragments. D) PCA plot showing the distribution of the identified volatile metabolites determining the main differences between the tomato genotypes. E) and F), Two enlarged parts of the PCA plot shown in D)

영양, 식이와 건강 관련 대사체 분석

대사체 프로파일링은 개인 유전자형과 영양 및 식이가 건강에 미치는 영향을 이해하기 위한 접근 방법이 될 수 있다. 영양소는 식품으로부터 소비되는 화학적 물질로 알려져 있으며, 신체의 성장, 유지, 보수에 필수적인 요소로서 인간의 생존과 밀접한 관련이 있다(Fig. 6). NUGO(the european nutrigenomics organisation)는 유럽에서 만들어진

영양(nutrition), 유전학(genomics), 건강(health)과 관련된 조직으로 nutrigenomics에 관한 정보와 분야를 통합하고 공유하고 있다(<http://www.nugo.org/everyone>). 식물의 대사체 프로파일링과 데이터 동정 기술에 대한 연구를 하고 있는 유럽을 중심으로 한 META-PHOR라는 프로그램에서는 3가지 작물(브로콜리, 쌀, 멜론)의 대사체 분석 및 작물의 질과 영양에 관한 연구를 하고 있다(<http://>

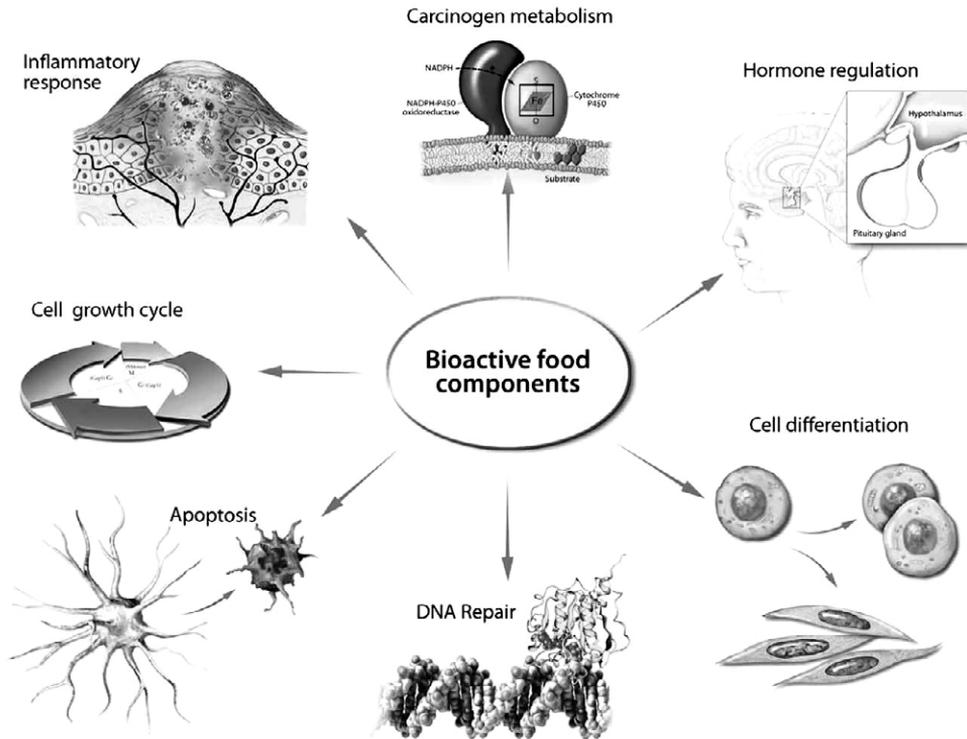


Fig. 6. Bioactive food components can influence genetic and epigenetic events associated with a host of disease processes.

www.meta-phor.eu/index.php). 과학적으로 요구되는 적정 필요량 이상의 필수 영양소의 섭취는 질병을 예방하고 건강한 생활을 영위하는데 중요하다. 하지만 필수 영양소의 필요량이 모든 사람에게 건강한 삶을 줄 수 있는 것은 아니다. 개인적인 대사체 분석 접근 방법은 아미노산, 지방 등과 같은 영양소의 효율성과 안전성에 관한 정보를 제공하여 개인대사 건강을 조절해줄 수 있는 정보지표가 될 수 있다.

식품의 대사체 전반에 대한 이해는 식이습관에서 비롯되는 만성적 질병이나 암, 심장질환, 당뇨와 같은 퇴행성 질병의 위험을 줄이고 소비자들의 질병을 예방하고 건강을 개선시키는 방향으로 이

용될 수 있다. 2003년 FAO/WHO에서는 과일과 채소가 풍부한 식이가 제2형 당뇨병, 비만, 심장질환, 암 등의 위험을 줄여준다고 보고한 바 있다. 유전자와 재배환경이 다른 다양한 브로콜리에서 항암 성분인 glucosinolates 함량을 측정하는 연구도 시행되었으며, 미국 일리노이대학의 Jeffery 교수는 효소작용에 의해 브로콜리의 sulforaphane이라는 항암물질의 활성을 증가시키는 방법에 대한 연구를 하였다. 식품 내에 존재하는 생체활성이 있는 화합물의 이해 및 생리학적 효과와의 관계에 대한 생화학적 연구는 건강한 생활을 위한 식이 및 개선에 큰 영향을 미칠 수 있다.

## 식물

### 국내 대사체 연구

한국생명공학연구원에서는 항암물질인 vinblastine, vincristine 등을 생산하는 일일초(*Catharanthus roseus*)를 주요 연구 대상으로 하여 NMR과 적외분광광도기(IR)를 이용한 대사체학 연구를 진행 중이며, 그 외 주요 연구로써 국내산 쌀 등을 이용한 연구결과를 발표한 바 있다. <sup>1</sup>H-NMR에 의한  $\gamma$ -aminobutyric acid의 간단하고 신속한 정량분석법 확립과 고수(*Coriandrum sativum* L.) 현탁배양세포로부터  $\gamma$ -aminobutyric acid의 생산 역시 수행된 바 있다.

중앙대학교 약학대학에서는 resveratrol을 생산하는 포도(*Vitis vinifera*) 현탁배양세포에 elicitor를 가하여 대사체 프로파일링 실험을 수행한 바 있으며, 기타 인삼 및 당귀의 현탁배양세포를 이용한 연구를 진행 중이다. 주요 분석방법으로는 NMR 및 GC/MS를 활용하고 있다. Elicitor 처리에 의한

포도 현탁배양세포 대사체 분석과 NMR과 다변량 분석법을 이용하여 silver nitrate에 의하여 변화하는 대사체군의 분석을 시도하였다.

인하대학교 의과대학에서는 인삼의 산지와 연령구분을 위한 대사체학 연구를 수행하였으며, 4종의 한국산, 중국산 한약재의 원산지 구분 및 구분 지표 발굴 연구 그리고 statistical TOCSY 및 OPLS-DA를 개량한 새로운 통계분석법을 개발하였다.

### 국외 대사체 연구

#### 식물 대사체 관련 연간 논문 게재 수 추이

Fig. 7의 그래프는 PubMed에서 boolean search string 방식으로(2007년 10월 14일 기준) 검색어를 [plant AND meta-bolomics OR metabolome OR metabolite profiling OR metabolite profile]로 하여 검색한 결과이다. 그 결과 총 994개의 논문이 검색되었다. 그 중 343개의 논문이 식물에 대해서 중점적으로 또는 부분적으로 다룬 논문들이었다. 이것

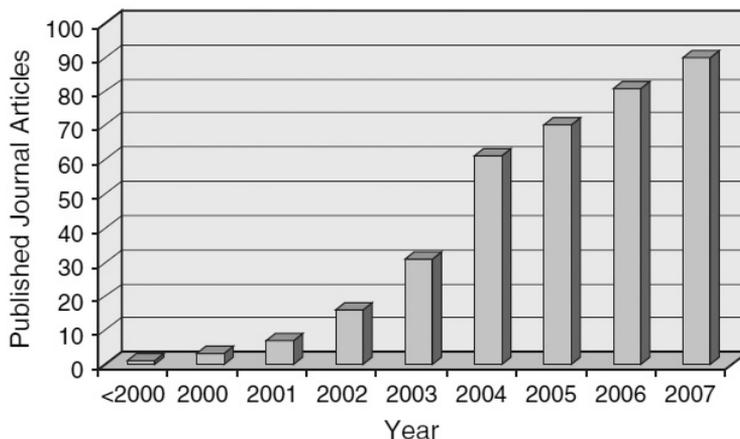


Fig. 7. Plant-related published journal articles by year of publication

을 연도별로 분류해 본 결과, 2000년 이전에는 단지 1건의 논문이 검색된 반면에, 2000년 이후로는 논문 게재수가 크게 증가하였다. 이런 관점에서 볼 때, 대사체 프로파일링과 대사체학 접근법이 식물 생명공학 분야에서 더욱 폭넓게 사용될 것으로 예상된다.

#### 연도별 연구 성과

다음의 연대표(Fig. 8)는 식물과 식물-숙주에 대한 대사체학 연구를 실행하고 있는 연구팀들이다. 10년 전에는 식물 대사체 연구가 매우 드물었으나,

현재에는 이 방식이 널리 확산되고 있다.

#### 천연물

#### 국내 대사체 연구

중앙대학교 약학대학, 고려대학교 생명과학대학 및 KIST에서 녹용, 인삼 및 수종의 한약재에 대한 기원, 원산지 등에 대한 NMR, GC/MS 및 LC/MS를 이용하여 대사체 프로파일링 연구를 수행하고 있다(Fig. 9).

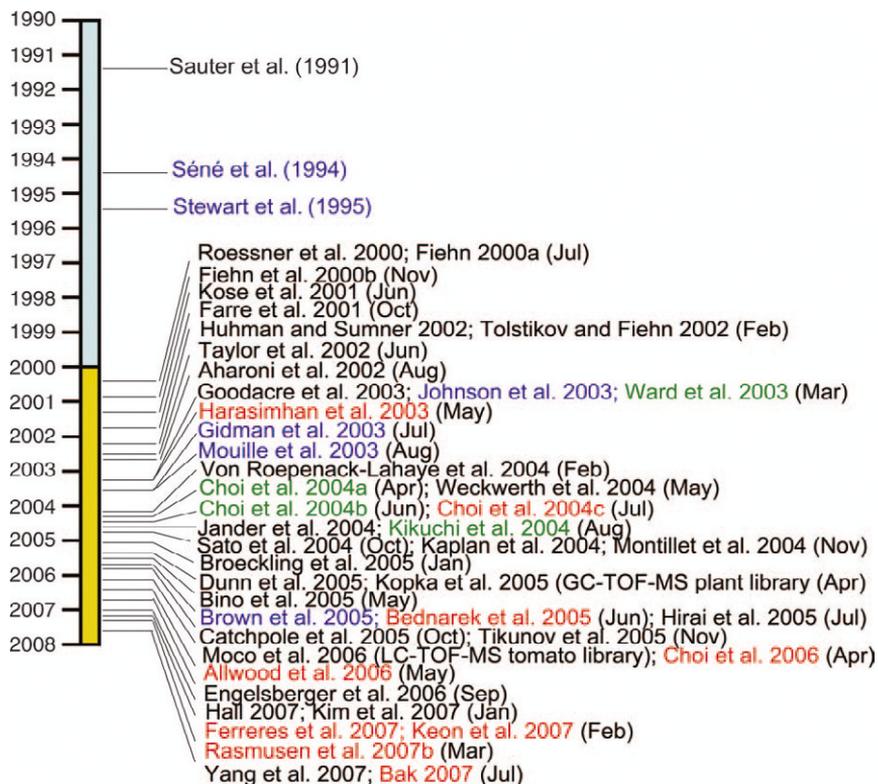


Fig. 8. A plant and plant-host metabolomics timeline (-), General MS profiling(gene function analysis/physiological analysis/development/protocols); (-), plant-host studies; (-), FT-IR fingerprinting; (-), NMR fingerprinting/profiling.

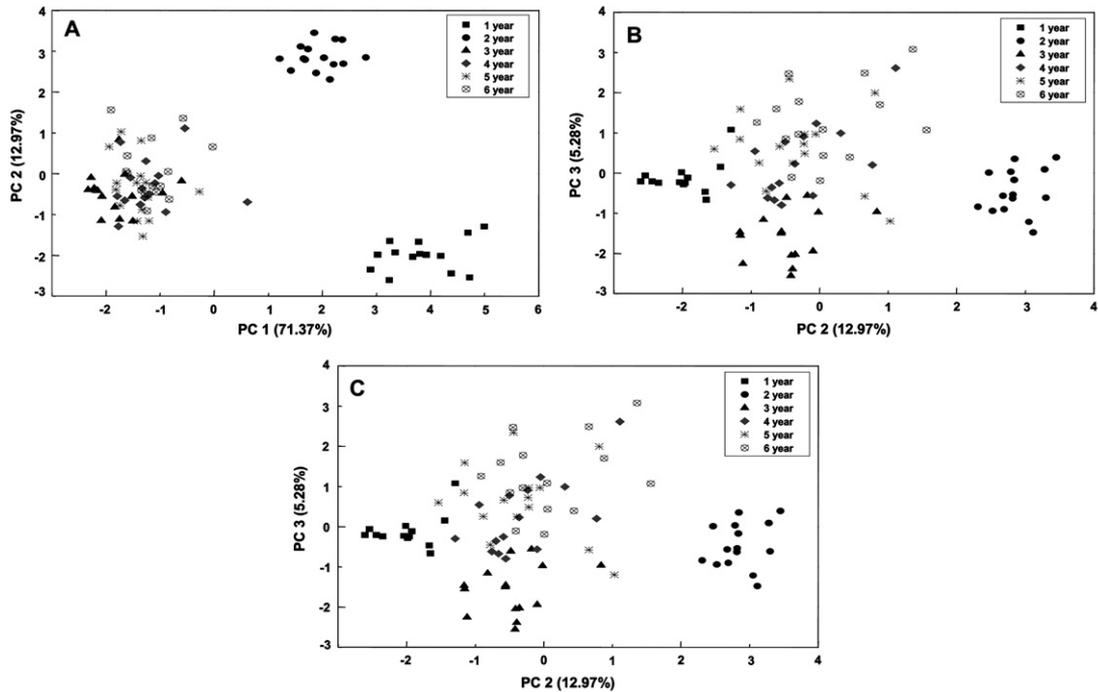


Fig. 9. PCA-derived score plots for the D<sub>2</sub>O/CD<sub>3</sub>OD (80:20) extracts of fresh ginseng root samples by the combination of PC1 and PC2 (a), PC1 and PC3 (b), and PC2 and PC3 (c)

### 국외 대사체 연구

#### 피버퓨( feverfew) 대사체 분석

피버퓨(*Tanacetum parthenium*)는 오랫동안 두통의 치료 목적으로 사용되어 왔고 임상 연구에서도 편두통에 효과적이라는 연구결과를 나타내었다. 활성물질로는 sesquiterpene lactone의 일종인 parthenolide로 알려져 있으며, parthenolide에 대한 분석은 HPLC 및 NMR을 이용한 방법들이 개발되었으나 이러한 방법은 복잡한 피버퓨 추출물 중에서 parthenolide만 분석하여 상승효과 또는 약리 효과를 나타낼 수 있는 sesquiterpene lactone을 포함한 다른 물질에 대한 분석은 불가능하다. 이러한

전체적인 대사체의 차이점을 분석하기 위해 <sup>1</sup>H-NMR 분석과 다변량분석 기법인 PCA를 수행하여 14개의 시료를 분석하여 그 중 2개가 나머지와 확연히 다른 대사체를 나타내었다. 이러한 분석법을 이용하여 천연물제제의 품질관리에 응용될 수 있음을 보여 주었다.

#### 은행잎 대사체 분석

은행잎 추출물은 기억력 증진 및 퇴행성 뇌질환을 포함한 다양한 질병 개선 목적으로 오랫동안 사용되어 왔고 주요한 성분으로는 다양한 탄수화물과 탄화수소, 지방, 유기산, 페놀류, 플라보노이드, 폴리페놀, 스테로이드, 카로테노이드 등이 알려져 있

으나 징코산(ginkgolic acid)유도체는 위험가능이 있는 물질로 알려져 은행잎 추출물제제에 있어 이 물질들의 기준을 정해야 한다는 연구결과가 있었다. 이에 따라 추출물 상태에서  $^1\text{H-NMR}$ 을 이용하여 징코산 유도체를 정량하는 기법을 개발하였다 (Table 2). 어떤 분리과정을 거치지 않고 복잡한 추출물 상태에서  $^1\text{H-NMR}$ 을 이용하여 징코산 유도체를 정량하였다는 점에서 이 방법은 정량분석기법으로 대사체 연구 기법의 개발 가능성을 타진하였다.

#### 마황(*Ephedra* sp.) 대사체 분석

*Ephedra sinica*, *Ephedra intermedia*, *Ephedra distachya* var *distachya* 등 3종의 마황속 식물의 전체 대사체를 어떤 분리 작업의 수행 없이  $^1\text{H-NMR}$  분석 후 PCA 분석을 수행하여 효과적으로 이들 식물을 구분할 수 있었으나, 이러한 대사체학 기법을 응용하여 시중에서 유통되고 있는 마황을 함유한 제제 9종을 분석한 결과, 하나의 시료에 *E. sinica* 와 *E. intermedia*가 혼합되어 있는 것을 확인하였으며 식물제제의 품질관리 및 기원 확인에 이러한  $^1\text{H-NMR}$  및 PCA분석 등의 대사체 분석기법이 응용

될 수 있음을 보여 주었다(Fig. 10, Fig. 11).

#### 인삼 대사체 분석

인삼은 고대로부터 사용되어 온 천연물 중 하나로써, 일반적으로 인삼은 *Panax quinquefolium* L.(American ginseng), *P. ginseng* C. A. Meyer (Asian ginseng)과 *P. notoginseng*(Burk) F. H. Chen(sanqi)이 혼용되어 사용되고 있는 실정이나, 이 3종 인삼은 각각의 다른 성분을 함유하고 있으며 약리활성도 상이하다. 그러나 외관상으로 이를 구분하기는 쉽지 않고 분쇄되어 있을 경우에는 판별이 거의 불가능하다. 또한 유통되고 있는 이들의 가치는 상이하어 이것들을 분석하는 방법의 개발이 필요한 상황이다. 이를 위하여 HPLC, GC/MS, LC/MS, LC/ELSD(evaporative light scattering detector), NMR 등 여러 기기분석기기를 이용한 분석방법들이 개발되었으나 시료전처리, 검출감도 등을 고려할 때 NMR 및 LC/MS 방법이 가장 좋은 방법으로 평가 받고 있다. 이 3종의 인삼시료의 대사체를 LC/MS로 분석하여 ginsenosides Rf, F11 및 notoginsenoside R1이 각각을 구분 지우는

**Table 2.** Comparison of the contents of ginkgolic acids of various extracts as determined by integration of H-3, H-4, and H-5 in the  $^1\text{H-NMR}$  spectrum and by GC analysis

Sample <sup>a</sup>	Amounts of ginkgolic acids <sup>b</sup> as determined by:			
	$^1\text{H-NMR}$			GC analysis <sup>c</sup>
	H-3	H-4	H-5	
Leaves	15.5 ( $\pm 0.5$ )	16.4 ( $\pm 0.6$ )	17.9 ( $\pm 0.5$ )	16.5 ( $\pm 1.2$ )
Sample 1	6.3 ( $\pm 1.0$ )	3.0 ( $\pm 0.2$ )	Not calculated <sup>d</sup>	4.5 ( $\pm 0.7$ )
Sample 2	3.1 ( $\pm 1.2$ )	1.8 ( $\pm 0.1$ )	2.5 ( $\pm 0.3$ )	3.2 ( $\pm 0.4$ )
Sample 3	Not detected <sup>e</sup>	Not detected <sup>e</sup>	Not detected <sup>e</sup>	Not detected
Sample 4	13.3 ( $\pm 2.1$ )	10.6 ( $\pm 1.3$ )	14.3 ( $\pm 1.0$ )	14.5 ( $\pm 4.7$ )
Sample 5	2.4 ( $\pm 0.2$ ) <sup>f</sup>	1.63 ( $\pm 0.1$ ) <sup>f</sup>	2.0 ( $\pm 2.5$ ) <sup>f</sup>	3.1 ( $\pm 0.3$ ) <sup>f</sup>
Sample 6	0.9 ( $\pm 0.1$ ) <sup>f</sup>	0.79 ( $\pm 0.1$ ) <sup>f</sup>	0.9 ( $\pm 0.1$ ) <sup>f</sup>	0.39 ( $\pm 0.03$ ) <sup>f</sup>

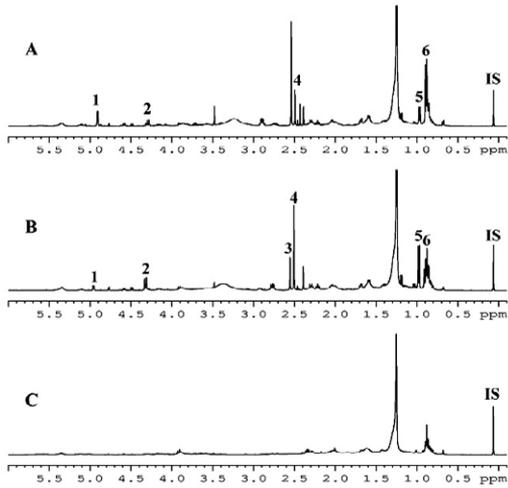


Fig. 10. <sup>1</sup>H-NMR spectra of organic fractions of ephedra : (A) *E. sinica*, (B) *E. intermedia*, (C) *E. distachya*

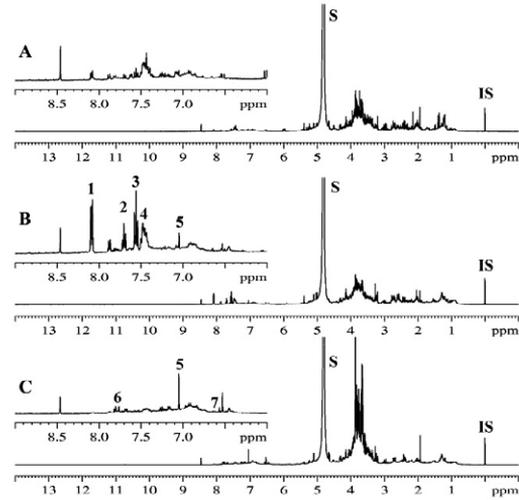
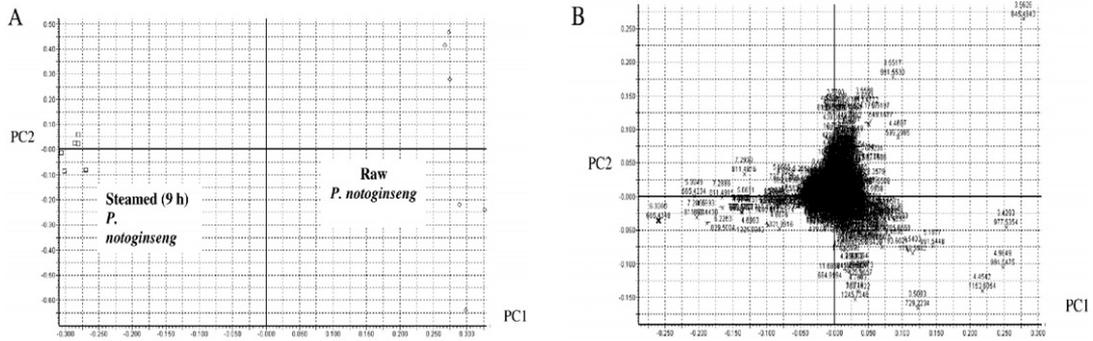


Fig. 11. <sup>1</sup>H-NMR spectra of aqueous fractions of ephedra : (A) *E. sinica*, (B) *E. intermedia*, (C) *E. distachya*

지표로 확인되었다. *P. notoginseng*의 수삼 및 홍삼의 대사체를 UPLC(ultraperformance liquid chromatography), TOF/MS(time-of-flight mass spectrometry)에 기반을 둔 대사체 분석법을 개발

하여 추출물의 판별 및 지표를 확보하기 위한 기본적인 연구를 수행하였다(Fig. 12).

또한 인삼의 대사체 분석을 NMR 및 PCA를 수행하여 대사체들의 차이점을 구별할 수 있었으나,



<sup>1</sup>H-NMR 분석을 수행하여 얻은 데이터의 해상도가 낮고 시그널이 겹쳐 각각의 화합물을 확인하기에는 어려운 점이 있어 2D J-resolved NMR experiment를 수행하여 이 데이터를 PCA를 수행하여 알라닌, 아르기닌, 콜린, 푸마린산, 이노지톨, 수크로스 및 진세노사이드 등이 판별에 중요한 대사체임을 확인하였다.

## 대사체 연구의 필요성과 기대효과

### 식품

식품에서의 대사체 연구는 식품 내의 다양한 대사체 프로파일링을 통해 식품 구성성분의 전반적인 이해 및 프로세스를 모니터링 할 수 있는 기반이 되며, 식품 내에 존재하는 천연성분들의 대사체 합성 경로 및 효소 작용에 관한 연구는 대사체 프로파일링이나 표적 대사체의 접근을 통해 생체 화합물을 발견하고 연구하는데 발전 가능성이 높다. 또한 식물에서 대사체 분석을 통한 특정 화합물의 발견은 기능성 식품 소재 개발 등에 이용될 수 있으며, 유전자 재조합 식품의 안전성 평가 및 식품의 오염 및 위해 요소에 관한 지표를 만드는데 이용할 수 있다

이러한 대사체학 연구는 소비자들의 욕구에 맞는 농산품 및 식품을 개발하는데 기여할 수 있으며, 생산과 가공에 따른 개발의 잠재적 가치를 가지고 있다. 장기적으로는 인간의 질병을 예방하고, 건강한 삶을 유지시키기 위한 식이와 땀 수 없는 연구 분야의 하나일 것이다.

### 식물

전 세계적으로 최근의 아기장대 또는 벼에 대한 유전체 연구가 활발하게 진행되었지만 대사체학을 이용한 대사체 연구는 초기 단계이다. 여러 농산물의 게놈 해독이 완성되면서 식량자원이나 제약원료 등 다양한 분야에서 식물 대사체학의 연구가 활발하게 진행되어야 함을 인식하고 유전체학(genomics), 전사체학(transcriptomics), 단백질체학(proteomics)과 더불어 대사체학에서 얻어지는 대사체의 총체적 데이터가 종합되어야 할 것이다.

대사체학은 선진국에서도 현재 활발히 연구되고 있는 분야로 대사체학 기술을 기반으로 축적된 고추, 인삼, 배추 등의 주요 식물의 대사체 정보들은 이 분야에서의 국제적인 우위 선점을 가능하게 할 것이다. 이를 통한 대사체학 기반 기술 연구는 국내 최첨단 분석기술의 비약적인 도약과 함께 외국으로의 기술이전 역할에 선도적인 역할을 할 수 있다.

한국에서 중요한 위치를 차지하고 있는 약용 및 식용 식물체에서 유래한 대사체들을 우선적으로 서로 연계하여 정량적 수치로 나타낼 수 있는 새로운 프로파일링 기술을 도출한다면 선진국의 타 연구진과는 차별화된 기술적 우위에 설 수 있게 될 것이다. 한국 고유의 주요 식물 대사체의 확보는 국가적인 지원이 반드시 필요한 분야이다.

### 천연물

천연물에 대한 연구는 수세기 동안 한 가지 또는 몇몇의 활성 성분이 생리활성을 결정한다는 가정 하에 주로 독립된 활성 성분을 찾으려는 방향으로

이루어지고 있었다. 그러나 고대로부터 동양에서는 치료의 목적으로 천연물을 복합제제의 형태로 사용하여 왔고 이는 일반적으로 시너지효과를 기본 바탕으로 하고 있다. 또한 현대의학의 유효성분 (silver bullet)이 하나의 특정 단백질 또는 수용체에 작용(mono-target approach)과는 별도로 전통 의학에서는 ‘herbal shotgun’ 이라 불리는 복합 또는 탕제를 이용하여 여러 가지 작용점에 작용 (multi-target approach)을 이용해 왔다. 천연물 복합제제의 다각화적인 시도는 복합제제에 대한 활성을 확인해야 하고 또한 재현성 있는 활성을 위해서는 제제의 표준화가 필수적이라는 지적이 있다. 이러한 추출물의 표준화는 제제의 품질을 확보할 수 있고 재현성 있는 결과를 얻기 위한 필수 요소이다. 천연물 제제는 대부분 식물에서 유래하여 그 성분들의 함량은 종에 따라 일정하지 않다. 또한 동일한 기원의 식물이라도 지역, 수확시기, 기온변화 등의 외부환경에 의해 그 구성성분들의 함량이 약리 활성 및 독성에 많은 영향을 미친다. 따라서 천연물 제제를 의약품화 하기 위해서 미국 및 유럽 등지에서는 표준화를 법적으로 규정하고 있다.

## 맺는말

대사체 연구는 향후 규격 설정, 가공, 품질관리, 안전관리 식품미생물 제어 등의 식품분야 발전에 중요한 분야가 될 것으로 보이며, 최근 대사체 연구 기술은 성분 분석에서 한걸음 나아가 소비자의 요구에 맞는 식품 소재를 개발하는 데로 영역을 확장해 나가고 있다. 대부분의 연구는 과일과 채소 등의 식물에 국한되어 있으나 향후 어류, 축산식육

류 등의 연구 분야로 확대도 가능할 것으로 기대되어진다.

## ● 참고문헌 ●

1. Allwood JW, Ellis DI, Goodacre R, Royston G, Metabolomic technologies and their application to the study of plants and plant-host interactions, *Physiol Plant*, **132**, 117-135, 2008
2. Baert K, Croubels S, Maes A, Hillaert U, van Calenbergh S, De Backe P, Comparative metabolic excretion profile of sodium salicylate in broiler chickens and homing pigeons, *J Vet Pharmacol Ther*, **27**, 123-127, 2004
3. Bailey Nj, Sampson J, Hylands PJ, Nicholson JK, Holmes E, Multi-component metabolic classification of commercial fever few preparations via high-field <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy and chemometrics, *Planta Med*, **68**, 734-738, 2002
4. Chan EC, Yap SL, Lau AJ, Leow PC, Toh DF, Koh HL, Ultra-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry based metabolomics of raw and steamed *Panax notoginseng*, *Rapid Commun Mass Spectrom*, **21**, 519-528, 2007
5. Cellini F, Chesson A, Colquhoun I, Constable A, Davies HV, Engel KH, Gatehouse AMR, Karenlampi S, Kok EJ, Leguay JJ, Lehesranta S, Noteborn HPJM, Pedersen J, Smith M, Unintended effects and their detection in

- genetically modified crops, *Food Chem Toxicol*, **42**, 1089-1125, 2004
6. Cho IH, Kim YS, Choi HK, Metabolomic discrimination of different grades of pine-mushroom(*Tricholoma matsutake* Sing.) using <sup>1</sup>H NMR spectrometry and multivariate data analysis, *J Pharm Biomed Anal*, **43**(3), 900-904, 2007
  7. Choi YH, Choi HK, Peltenburg-Looman AM, Lefeber AW, Verpoorte R, Quantitative analysis of ginkgolic acids from Ginkgo leaves and products using <sup>1</sup>H-NMR, *Phytochem Anal*, **15**, 325-330, 2004
  8. Wishart DS, Metabolomics : applications to food science and nutrition research, *Trends Food Sci Technol*, **19**, 482-493, 2008
  9. Duran AL, Yang J, Wang L, Sumner LW, Metabolomics spectral formatting, alignment and conversion tools(MSFACTs), *Bioinformatics*, **19**, 2283-2293, 2003
  10. Fukusaki E, Kobayashi A, Plant metaolomics : potential for practical operation, *J Biosci Bioeng*, **100**, 347-354, 2005
  11. Fiehn O, Metabolomics the link between genotypes and phenotypes, *Plant Mol Biol*, **48**, 155-171, 2002
  12. Fiehn O, Metabolic networks of *Cucurbita maxima* phloem, *Phytochemistry*, **62**, 875-886, 2003
  13. German JB, Roberts MA, Fay L, Watkins SM, Metabolomics and individual metabolic assessment : The next great challenge for nutrition, *J Nutr*, **132**, 2486-2487, 2002
  14. Guy C, Kopka J, Moritz T, Plant metabolomics coming of age, *Physiol Plant*, **132**, 113-116, 2008
  15. Juan M, Jose I, Edgardo E, Michelle D, Gary E, Metabolomic analysis in food science : a review, *Trends Food Sci Technol*, **20**, 557-566, 2009
  16. Kang J, Lee S, Kang S, Kwon HN, Park HJ, Kwon SW, Park S, NMR-Based metabolomics approach for the differentiation of ginseng (*Panax ginseng*) roots from different origin, *Arch Pharm Res*, **31**(3), 330-336, 2008
  17. Kim SW, Liu JR, Establishment of a simple and rapid method for quantitative determination of  $\gamma$ -aminobutyric acid using <sup>1</sup>H NMR and production of  $\gamma$ -aminobutyric acid in cell suspension cultures of *Coriandrum sativum* L., *Korean J Plant Biotechnol*, **34**, 207-212, 2007
  18. Le Gall G, DuPont MS, Mellon FA, Davis AL, Collins GJ, Verhoeven ME, Colquhoun IJ, Characterization and content of flavonoid glycosides in genetically modified tomato (*Lycopersicon esculentum*) Fruits, *J Agric Food Chem*, **51**, 2438-2446, 2003
  19. Mathers JC, Plant foods for human health : research challenges, *Proc Nutr Soc*, **65**, 198-203, 2006
  20. Park MK, Choi HK, Kwon DY, Kim YS, Study of volatile organic acids in freeze-dried Cheonggukjang formed during fermentation using SPME and stable-isotope dilution

- assay(SIDA), Food Chem, **105**(3), 1276-1280, 2007
21. Scholz M, Fiehn O, SetupX- A public study design database for metabolomic projects, Pac Symp Biocomput, **12**, 169-180, 2007
22. Shin YS, Bang KH, In DS, Kim OT, Hyun DY, Ahn IO, Ku BC, Kim SW, Seong NS, Cha SW, Lee DH, Choi HK, Fingerprinting analysis of fresh ginseng roots of different ages using <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy and principal components analysis, Arch Pharm Res, **30**, 1625-1628, 2007
23. Sumner Group, Metabolomics, <http://www.noble.org/PlantBio/Sumner/metabolomics.html>, 2010.05.03
24. Tikunov Y, Lommen A, de Vos CHR, Verhoeven HA, Bino RJ, Hall RD, Bovy AG, A novel approach for nontargeted data analysis for metabolomics. Large-scale profiling of tomato fruit volatiles, Plant Physiol, **139**, 1125-1137, 2005
25. Trethewey R, Plant metabolite profiling for industrial applications, Plant metabolomics, **57**, 327-339, 2006
26. Trujillo E, Davis C, Milner J, Nutrigenomics, proteomics, metabolomics and the practice of dietetics, J Am Diet Assoc, **106**, 403-413, 2006
27. Ulrich-Merzenich G, Zeitler H, Jobst D, Panek D, Vetter H, Wagner H, Application of the “-Omic-” technologies in phytomedicine, Phytomedicine, **14**, 70-82, 2007
28. Wiklund S, Johansson E, Sjostrom L, Mellerowicz EJ, Edlund U, Shockcor JP, Gottfries J, Moritz T, Trygg J, Visualization of GC/TOF-MS-Based metabolomics data for identification of biochemically interesting compounds using OPLS class models, Anal Chem, **80**, 115-122, 2008

**박 호 영** 이학석사

소 속 : 한국식품연구원 신소재연구단

전문분야 : 식품신소재개발 천연물화학

E-mail : hypark@kfri.re.kr

T E L : 031-780-9347