

Application of Metabolomics in Fermented Foods

김 현 진

한국식품연구원, 장수과학연구원

I. 서 언

Metabonomics 또는 metabolic profiling이라고도 알려진 metabolomics는 다양한 유전적, 생리적 또는 환경적 조건에서 세포나 조직, 혈액, 뇨 등에 존재하는 1,500 Da 이하의 저분자 물질 (metabolome)의 변화를 high-throughput technology를 이용하여 분석하는 “-omics”의 한 분야이다. Genomics와 transcriptomics가 질병과 같이 내외부의 환경적 스트레스에 의한 다양한 유전자 및 전사체의 변화에 대한 정보를 얻기 위한 방법이고 proteomics가 단백질의 변화를 분석하는 방법이라면 metabolomics는 변형된 유전자나 단백질들이 실제로 어떤 기능을 갖는지에 대해 연구함으로써 유전형질이 표현형질로 나타나는지에 대한 연결고리를 밝힐 수 있는 중요한 연구 분야이다. 이러한 중요성 때문에 2005년 MIT Technology review가 전 세계적으로 연구가 진행되는 첨단기술 중 5년 이후 경제, 사회적 파급 효과가 큰 10대 기술 중 하나로 metabolomics를 선정하였으며 5년이 지난 2010년도에는 Nature지가 선정한 2020 visions의 하나로 선정되었다.

Metabolomics 연구는 크게 세단계로 구성되는데 생체시료로부터 metabolome을 검출·확인하기 위한 초정밀분석기술 단계와 분석된 data를 통계학적으로

로 분석하는 단계, 그리고 발굴된 metabolic profiles을 이용하여 pathway를 도출해내는 단계로 구성되어 있다. 첫 단계인 초정밀분석기술 단계는 특정 metabolome을 target으로 하지 않고 분석해 낼 수 있는 모든 metabolome을 분석하는 global (non-targeting) metabolic analysis와 target한 특정 물질만을 분석하는 target metabolic analysis로 나눌 수 있는데 global analysis인 경우 시료가 적게 들어가고 전처리 과정이 거의 필요 없는 반면 농도가 낮은 metabolite의 분석은 어렵다. 그러나 target analysis인 경우 시료량이 많이 들어가고 전처리 작업이 들어가지만 낮은 농도의 metabolite도 분석이 가능한 장점을 갖고 있다. 두 번째 단계는 data 분석 단계로 NMR이나 MS로 분석한 모든 data를 다변량통계분석을 이용하여 통계학적으로 분석하고 그 결과를 시각화시킴으로 인하여 비교하는 그룹 간의 차이를 한 눈에 볼 수 있도록 하였으며 어떤 metabolome이 비교 그룹 간의 차이에 관여하는지를 쉽게 알아볼 수 있도록 하였다. 마지막 단계로 시료분석과 통계분석을 통해 얻어진 metabolic profiles를 생체 네트워크로 재구성하여 metabolic pathway를 구축하는 단계이다.

Metabolic analysis에 사용되는 대표적인 분석 장비는 NMR와 MS이며 분석 장비의 특성에 따라 분석될 수 있는 metabolome이 특이적으로 구분될 수 있다. 이 중에서 가장 많이 사용되고 있는 장비는

비파괴검사인 NMR로 감도가 떨어지고 시료의 양이 많이 필요하며 검출 가능한 물질이 한정되어 있다는 단점에도 불구하고 분석시간 짧고 resolution과 재연성이 높을 뿐만 아니라 metabolic database가 잘 구축되어 있어서 metabolic analysis에 많이 사용되고 있다. NMR과 더불어 metabolomics 연구에 사용되는 기기가 MS로 분석방법에 따라 gas chromatography (GC)/MS와 liquid chromatography (LC)/MS가 있다. GC/MS는 다른 장비와는 달리 시료를 유도체화시켜야하고 분석시간이 길다는 단점을 갖고 있지만 감도, 재연성, 분석 시료량, metabolic database 구축에 있어서 장점을 갖고 있다. LC/MS는 최근에 기기적인 업그레이드로 인하여 분석시간이나 낮은 resolution과 같은 기기적인 단점은 많이 보완되었지만 metabolome를 위한 database 구축이 다른 장비들에 비해 한정되어 있어서 다른 장비에 비해 많은 노력이 요구되고는 있지만 분석 가능한 metabolite의 수가 다른 기기에 비해 월등히 많고 적은 시료 양으로도 분석이 가능하기 때문에 최근에 가장 많이 쓰이고 있는 장비 중 하나이다. NMR과 MS의 문제점들을 상호보완하기 위하여 최근에 LC-NMR/MS 장비가 사용되고 있으며 실제로 많은 연구팀들이 NMR, GC/MS, LC/MS 장비를 두 개 이상 사용하여 시료를 분석함으로써 보다 많은 metabolites을 분석하고 data 신뢰도를 높이는데 노력하고 있다.

이렇게 얻어진 시료의 spectrum data를 분석하기 위해서는 MarkerLynx, Chenomx NMR, MATLAB 등의 프로그램을 이용하여 일정 감도이상의 data만을 모으고 (mining), retention time을 맞추고 (alignment), total spectrum intensity로 각각의 spectrum intensity를 나누어주고 (normalization), 일정 간격으로 data를 합침 (binning)으로써 data의 오차를 줄여 잘못된 결과를 도출할 가능성을 낮게 한 다음 다변량통계분석을 이용하여 통계학적으로 data를 분석한다. Principal component analysis (PCA), partial least squares

(PLS), discriminant analysis (DA)의 다변량통계분석을 이용하여 분석된 한 시료의 spectrum data를 2차원 또는 3차원 공간에 한 점으로 표시해주고 이들 점들이 모여서 그룹 간의 차이를 시각화시켜주고 어떤 metabolites이 그룹 간의 차이에 관여하는지에 대한 정보를 제공해준다.

미생물과 식물 분야에서 시작되었던 metabolomics 연구가 최근 들어 신약개발 분야와 의학 분야뿐만 아니라 식품분야에서 까지 활용되고 있다. 특히 식품분야에서는 크게 식품성분 분석, 식품 품질·원산지 평가, 식품섭취 모니터링, 및 식품섭취 후 생리변화 분석으로 나누어지는데 그 중에서도 가장 활발하게 연구되고 있는 분야가 식품과 생리변화와의 상관성을 규명하는 일이다.

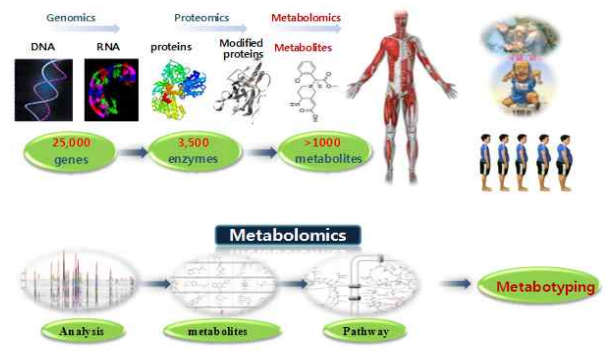


그림 1. Food metabolomics

우리나라 전통발효식품의 건강기능성에 대한 과학적 증거가 축적되면서 전통발효식품의 시장이 확

대되고 있지만 전통발효식품에 대한 표준화 연구가 되어있지 않아서 전통발효식품의 연구에 많은 어려움이 있다. 따라서 본 발표에서는 metabolomics에 대한 전반적인 이해를 돕기 위한 기본적인 부분과 LC/MS-based metabolomics 기술을 발효식품의 제조 과정 중 발효대사산물들의 변화를 모니터링하는데 적용함으로써 발효식품의 nutritional quality control 및 표준화에 어떻게 응용할 수 있는지에 대해 언급하였다.

II. 참고 문헌

1. 김현진, Metabolomics 기술을 활용한 식품의 건강 기능성 연구, 식품기술, 2010
2. Hee Joo Kang, Hye Jeong Yang, Min Jung Kim, Eun-Su Han, Hyun-Jin Kim., Dae Young Kwon. Metabolomic Analysis of meju during Fermentation by Ultra Performance Liquid Chromatography-Quadrupole-Time of Flight Mass Spectrometry (UPLC-Q-TOF MS), Food Chem., 2011, 127, 1056-1064.

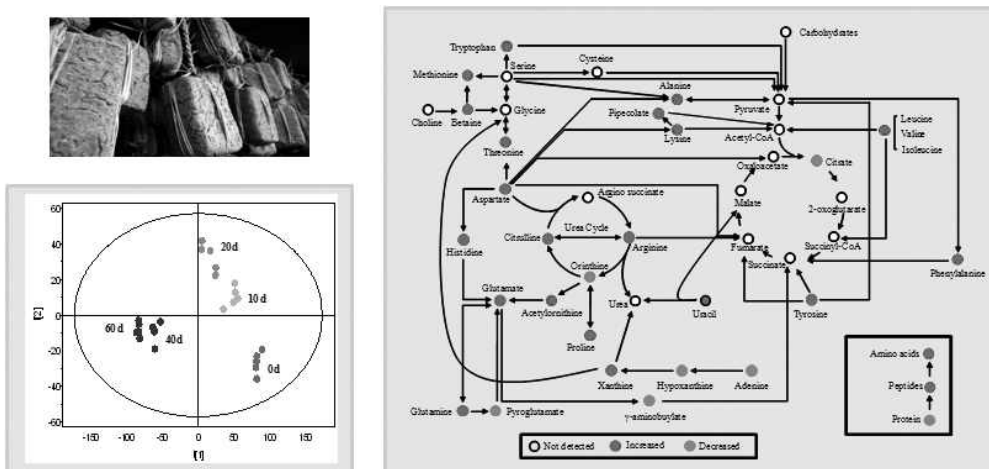


그림 2. Metabolomic analysis of meju during fermentation using UPLC-Q-TOF MS and schematic representation of metabolites produced during meju fermentation.