식품가공분야에서 대사체의 활용

Application of Metabolomics in Food Processing Research

김미정

Mi Jeong Kim

창원대학교 식품영양학과

Department of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 51140, Korea Interdisciplinary Program in Senior Human Ecology, Changwon National University, Changwon 51140, Korea

김 미 정

Correspondence to

Mi Jeong Kim
Department of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 51140, Korea
Interdisciplinary Program in Senior Human Ecology, Changwon National University, Changwon 51140, Korea
Tel: +82-55-213-3512
Fax: +82-55-281-7480
E-mail: mjkim@changwon.ac.kr

Ⅰ. 서론

최근 빅데이터 값을 수집 · 분석할 수 있는 기술이 급속도로 발전하고 있으며 코로나 펜데믹이 몇 년간 지속되고 있는 가운데 더 많은 특별한 예측 섹션을 요구하는 오믹스(omics)와 같은 연구분야들에 관심이 증가하고 있다. 대사체학(metabolomics)이란 오믹스(omics)의 한 분야로서 식물 및 식품에서 인간 및 동물 조직 및 생체 유체에 이르는 다양한 샘플에서 저분자 대사 산물(일반적으로 1500 Da 미만)을 분석하는 대사 산물과 관련된 모든 화학적 과정에 대한 체계적인 연구로 정의할 수 있으며, 세포 또는 생물학적 시스템과 관련된 대사 상태 및 전체적인 생화학적 현상에 대한 개요를 제공한다 [1]. 대사체 학의 응용 분야는 식물, 동물 및 인간의 최종 형질을 결정하는 유전자를 파악하는 것에서부터 의약, 식품 등 매우 다양한 부분에 적용되고 있다 [2]. 식품 시스템에 대사체학을 적용하는 것을 "식품 대사체학"이라고 할 수 있다 [3]. 식품 대사체학의 주요 적용 분야는 크게 식품 자원 생산, 식품산업의 가공 및 안전, 인간의 식품 섭취 후 주요 성분의 체내 모니터링 분야까지 모든 식품 시스템 과정에 적용될 수 있다 [3](그림 1).

분석 화학 관점에서 식품은 잠재적으로 수십만 가지의 화합물(영양소 및 비영양소)로 구성된 복잡한 고체, 반고체 또는 액체 매트릭스로 구성되어져 있으며 식품 대사체학은 인간에 의한 자원 생산, 가공, 저장 및 식품에 대한 소비자 기호도 속성을 포함한다 [4] (그림 2). 식품은 다양한 기능성분들이 복합체로 존재하고 있어 섭취 시 다양한 경로로 인체에 영향을 미치며, 오믹스 기술은 식품성분들이 인체 내 반응에 미치는 복잡한 영향을 이해할 수 있게 하는데 많은 도움을 주고 있다.

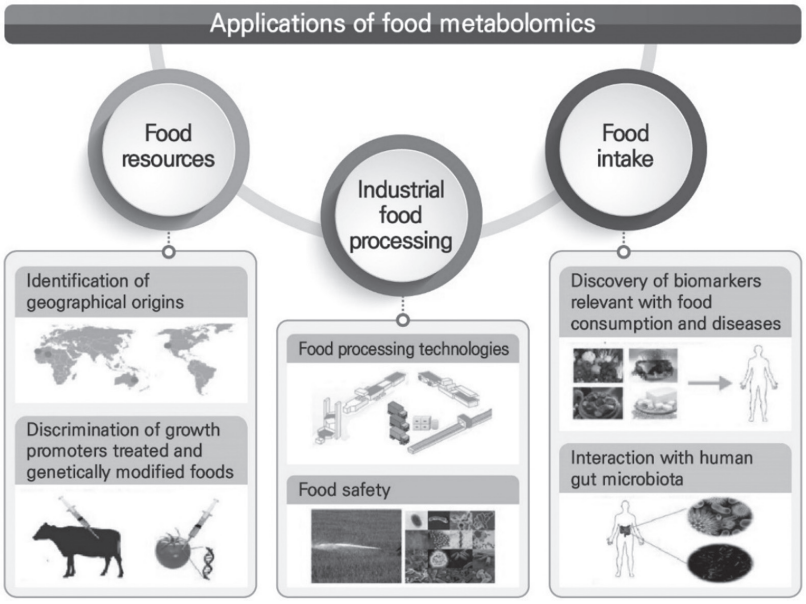


그림 1. 식품 대사체학의 주요 적용 분야 [3]

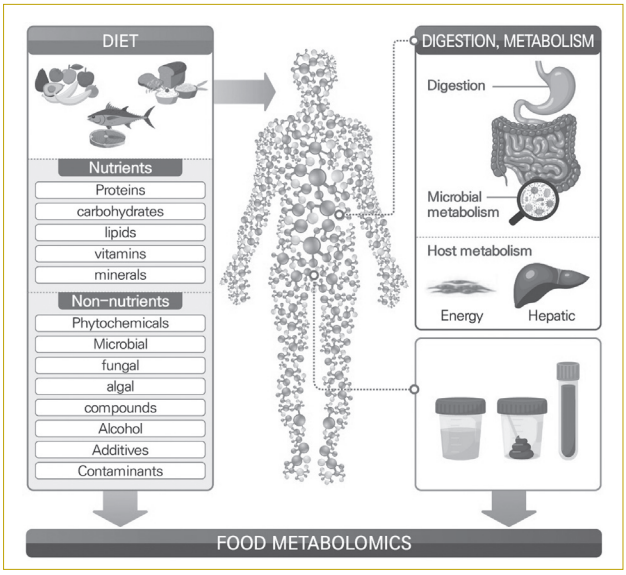


그림 2. Sources of metabolites in Food Metabolomics [4]

단편적인 기능성 연구 데이터 분석이 아닌 다수준 네트워크 분석을 통한 기능성 소재 선정 기술을 활용하는 기술적 차별성을 통해 천연물을 이용한 기능성 소재 발굴연구가 지속되어지고 있다. 최근 전 세계적으로 개인 맞춤형 의약품 및 식품이 강조되면서 오믹스 기술을 응용하는 체계적 접근(systemic approach)을 사용하여 식품의 기능성(health claims)을 뒷받침하는 연구들이 시도되고 있다. 현재까지 이러한 다중 오믹스 분야는 식품 섭취와 관련된 분야인 영양대사체학(nutrimetabolomics)에 집중되어지고 있다. 하지만 식품을 가공하거나 조리되는 과정에서 발생하는 다양한 물리화학적 특성(아미노산, 유기산, 핵산, 지방산, 지방산, 식물화학물질 등)을 가진 복잡한 분자 네트워크의 변화는 식품의 품질지표 및 소비자의 기호도 속성에 영향을 미치게 된다. 따라서 본 원고에서는 대사체학이 식품의 가공 중의 변화와 소비자의 감각특성에 활용되어진 예를 소개하고 분석과정, 데이터 처리 및 해석 방법에 대한 정보를 제공하고자 한다.

II. 본론

식품 대사체 분석 과정

식품에서 대사체 물질 측정을 수행하기 위해서는 시료에 존재하는 물질의 다양한 특성을 가능한 유지한 상태로 분석해야 하며 대사물질을 한 번에 망라적으로 측정, 개개의 대사물질의 정성, 정량성을 유지해야 하기 때문에 전처리부터 분석 기기의 선택, 수백 이상에 달하는 방대한 양의 데이터로부터 필요한 정보를 효율적으로 수집하는 통계적 지식까지 필요하다. 식품 대사체 분석 과정은 그림 3과 같이 시료 전처리, 데이터 수집, 데이터 처리, 통계 데이터 분석, 대사체 식별, 생물학적 해석으로 구성된 여러 단계를 포함한다[4].

먼저 시료의 전처리 단계에서는 분석하고자 하는 시료의 특성과 분석 기기에 따라 용매의 선택 (극성과 비

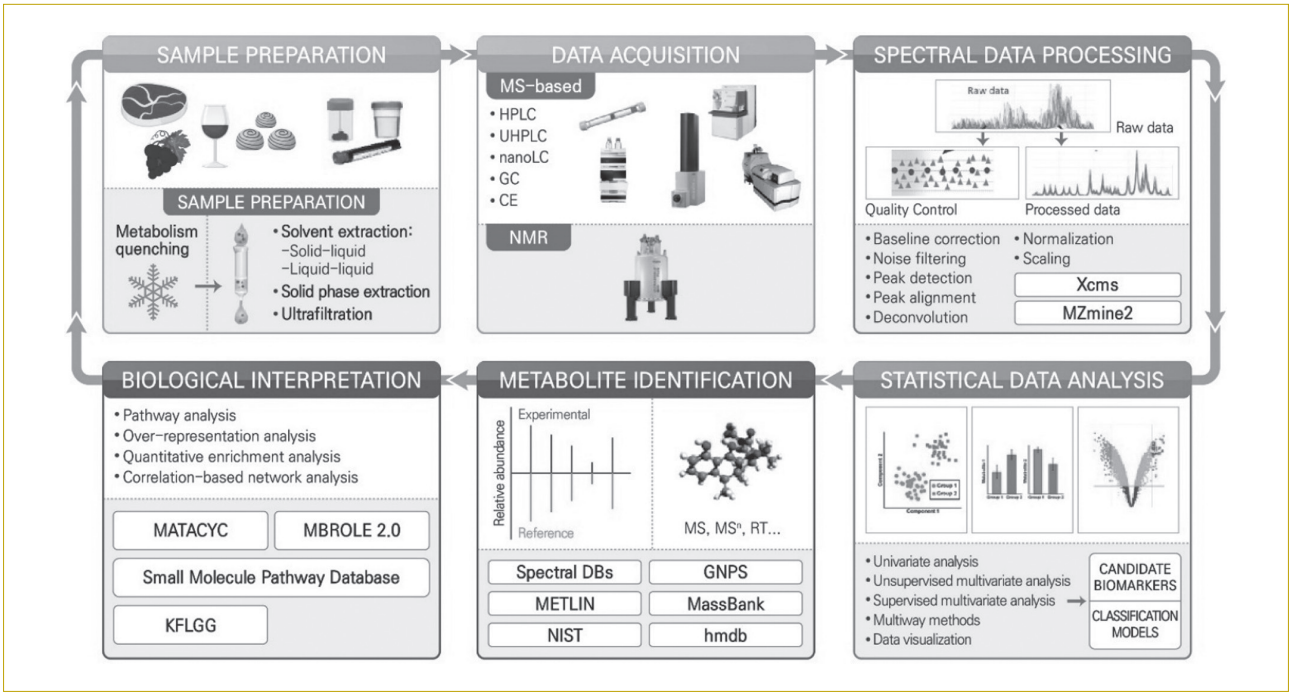


그림 3. Workflow in Metabolomics[3]

극성), 유도체화의 유무(gas chromatography-mass spectrum, GC-MS의 경우 derivatization 필요), 효과적인 추출을 위해 microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction, solid-phase extraction 등이 이용되어지고 있다 [4]. 식품의 저분자 대사체 물질들을 분리 정량에 가장 흔하게 사용하고 있는 분석기기들은 nuclear magnetic resonance (NMR)과 MS로 NMR은 MS와 비교하여 non-discriminating과 non-destructive nature 특성 때문에 감도가 낮지만 시료 전처리의 간편함, 시료 수거의 용이함 때문에 식품의 분자 식별과 미지 화합물의 구조 설명에 널리 사용되어지고 있다 [4]. 반면 MS는 NMR에 비해 감도가 높아 낮은 농도의 대사체를 분석할 수 있는 이점이 있다 [4]. 대사체 물질들의 분리 후 정량과정에서는 baseline correction, noising 제거, peak 선택, 데이터의 정렬(alignment), normalization과 scaling 등이 포함된다. 데이터 처리 후 서로 다른 화합물과 일치하는 peak 영역이 수집되고 통계 분석을 위한 데이터 매트릭스로 변환된다. 다음 단계인 대사체 통계 데이터 분석은 일반적으로 principal component analysis (PCA)와 hierarchical cluster analysis (HCA)와 같이 데이터의 트랜드와 상관관계를 알아본 후 회귀 및 판별의 예측 모델 구축을 위해 partial least squares (PLS)와 같이 다변량해석 방법을 사용한다 [4]. 마지막으로 대사체 식별과 생물학적 해석의 과정으로 대사체의 기능적 해석을 할 수 있다. 대사체 식별과 생물학적 해석은 기존 라이브러리나 데이터베이스를 활용하여 가능하며 이미 많은 데이터베이스가 많은 연구자들에 의해 소개되었다. 그 중 FoodDB (http://foodb.ca)는 식품의 풍미, 색, 맛, 질감 및 향을 제공하는 많은 성분을 포함하여 27,000가지 식품 다량 영양소와 미량 영양소의 전용 리소스이다. FoodDB의 질량 스펙트럼 정보가 HMDB에 중복되지만 FoodDB는 HMDB에 없는 식품 소스 및 식품 농도에 대한 추가 정보를 제공하기 때문에 식품 대사체 분야에서 중요한 데이터베이스이다.

최근 식품의 다양한 기능성 성분의 대사체를 데이터베이스 구축하여 정보를 제공하고자 하는 연구들이 활발히

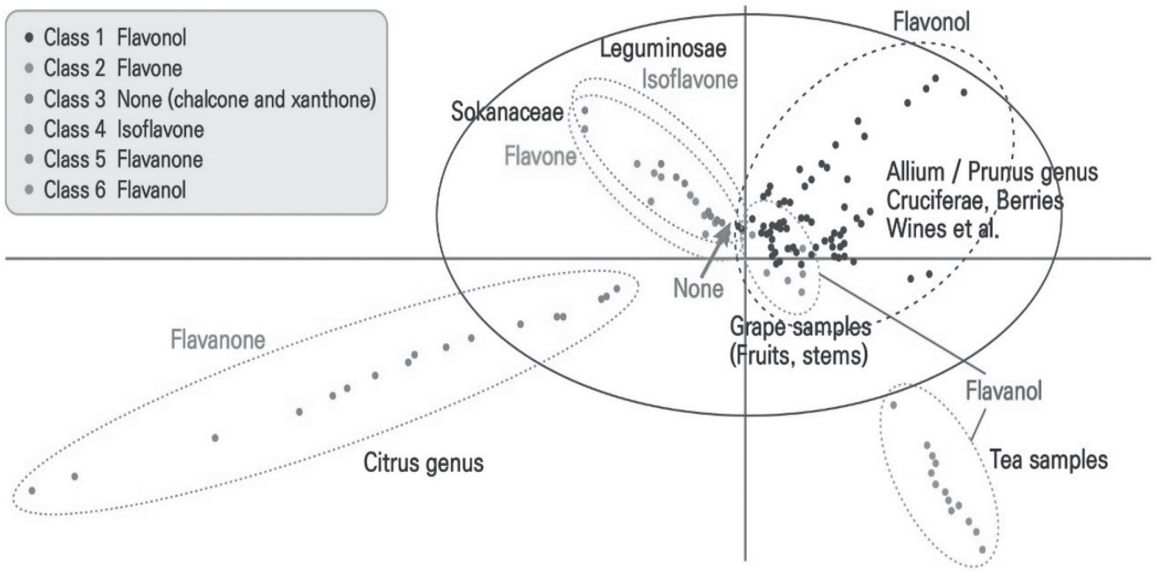


그림 4. 농식품올바로 기능성분 지도(PLS-DA)(출처: 농촌진흥청 농식품올바로)

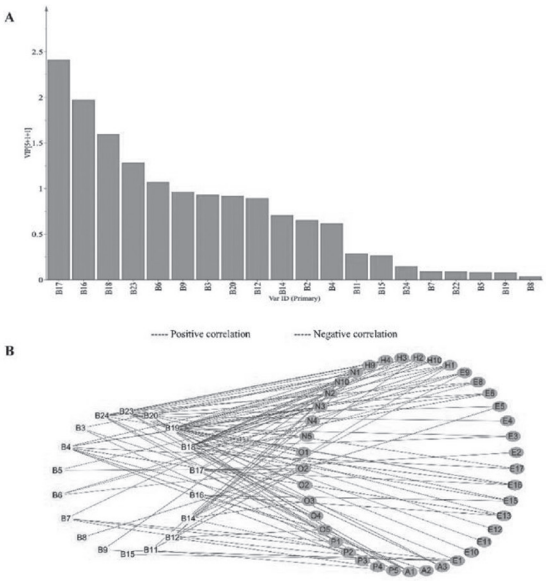
진행되어지고 있다. 예를 들어 농촌진흥청에서 제공하고 있는 농식품올바로(http://koreanfood.rda.go.kr)에서는 질량분석기술 기반의 기능성분을 PLS-DA통계분석을 통해 토종농산물 576점에 대한 플라보노이드 유도체 476종와 관련된 정보를 탑재하고 있어 해외 농산물 수입 증가에 따른 국내 농산물의 기능성분 정보 제공으로 국제 경쟁력 강화에 활용하고 있다 (그림 4).

식품 가공 중 대사체 변화

앞서 기술했듯이 식품 분야에서 대사체는 식품 안전 및 미생물학, 식품 가공, 식품 미생물학, 식품 진위 판정을 포함한 다양한 식품 부분에 활용되어지고 있다. 그 중 가공 분야에서 대사체학은 식품 공정별 대사체 물질의 변화와 관련한 생리활성, 품질지표 등과 상관관계 분석을 통해 중요한 연구분야로 자리잡고 있다. 특히, 대사산물의 변화가 품질지표나 그 기능성에 영향을 미칠 수 있는 발효식품이나 맥주 제조에 사용되는 맥아 생산과 같은 발아 공정의 연구에서 비표적 대사체 분석이 식품 공정 중 대사산물의 전체적인 생화학적 변화와 생물 변환을 설명하기 위한 분석 접근 방식으로 적용되어지고 있다.

예를 들어 중국의 전통 콩 발효 식품인 sufu 생산 공정 중 중요한 박테리아를 탐색하기 위해 발효되는 동안 박테리아 군집과 대사체 물질 변화를 분석하고 이들의 관계를 밝힌 연구에서는 그림 5와 같은 결과를 얻었다 [5]. Sufu 제조 중 *Enterobacteriaceae*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Lactococcus*는 발효하는 동안 우세 분류군이었으며 33개의 비휘발성 대사체와 72개의 flavor compounds를 분리하였다 [5]. 박테리아 군집과 대사체의 상관분석 결과 sufu의 최종 품질에 영향을 미치는 특성은 *Enterobacter* 및 *Lactococcus*의 영향을 받는 것으로 나타났다 [5]. 이 중 *Enterobacter*는 포도당, 과당과 같은 당류와 상관관계가 높았으며 *Lactococcus*는 주요 풍미와 연관성이 높은 결과를 보였다. 반면, *Pseudomonas*는 에스테르, 산, 히스타민 등과 같이 sufu의 negative 품질과 상관성이 높았다 [5]. 즉, 대사체학은 발효 식품들의 quality control을 위해서 우선적으로 우수 균주를 확보하는데 이용될 수 있다.

그 밖에도 그림 6에서 보는 바와 같이 밀 맥아 가공 중



B3	*Sphingobacterium*
B4	*Bacillus*
B5	*Massilia*
B6	*Enterococcus*
B7	Norank *Cyanobacteria*
B8	*Lactobacillus*
B9	*Enterobacter*
B11	*Staphylococcus*
B12	*Comamonas*
B14	*Empedobacter*
B15	*Streptococcus*
B16	*Pseudomonas*
B17	*Lactococcus*
B18	Unclassified *Enterobacteriaceae*
B19	*Weissella*
B20	*Stenotrophomonas*
B23	*Acinetobacter*
B24	*Delftia*
N1	Ethanol
N2	Eucalyptol
N3	1-Hexanol
N4	3-Octanol
N5	3-methyl-1-Butanol
N10	1-Heptanol
P1	2-methoxy-Pheno
P2	Phenol
P3	Eugenol
P4	2-Methoxy-4-vinylphenol
P5	2-methoxy-4-Phenol

A1	Acetic acid
A2	Hexanoic acid
A3	Butanoic acid
O1	2-pentyl-Furan
O2	Benzoyl-dl-alanine
O3	Indole
O4	1-(6-methyl-3-pyridinyl)-Ethanone
O5	Styrene
E1	Ethyl Acetate
E2	1-methyl-4-(1-methylvinyl)cyclohexyl acetate
E3	Heptanoic acid, ethyl ester
E4	Octanoic acid, ethyl ester
E5	Butanoic acid, 3-hydroxy-, ethyl ester
E6	Decanoic acid, ethyl ester
E8	Hexadecanoic acid, ethyl ester
E9	2-octanoic acid, 2'-hexyl-, methyl ester
E10	Ethyl Oleate
E11	Linoleic acid ethyl ester
E12	Ethyl 9,12,15-octadecatrienoate
E13	Ethyl nicotinate
E15	Benzeneacetic acid, ethyl ester
E16	Hexanoic acid, ethyl ester
E17	Tetradecanoic acid, ethyl ester
H1	2-Heptanone
H2	3-Octanone
H3	2-(formyloxy)-1-phenyl-Ethanone
H4	2-Nonanone
H9	Benzaldehyde
H10	Benzeneacetaldehyde

그림 5. Sufu 발효 중 미생물 생성과 휘발성 대사체와의 상관관계 분석 [5]

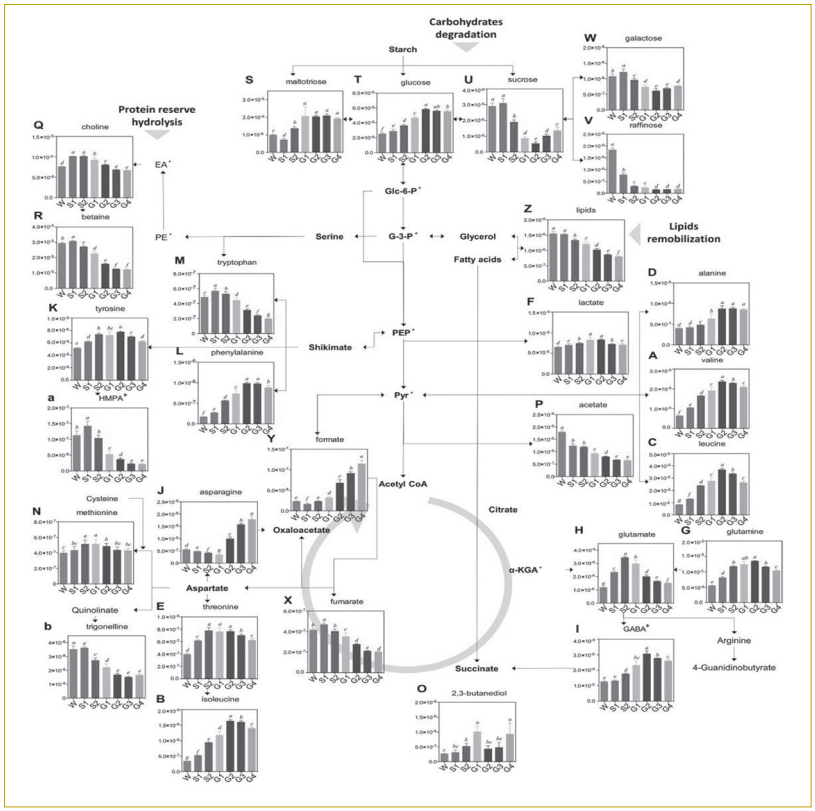


그림 6. 밀 맥아 가공 중 대사체 변화 [6]

비표적 대사체 분석을 통해 주요 대사물질들이 어떻게 변화되는지를 유추할 수 있으며 1차 대사산물들과 생리활성, 생리활성 물질 간의 상관관계 분석을 통해 기능성 물질 확보에 있어 합성 경로도 유추할 수 있다 [6]. 밀 맥아 가공 동안 전분 분해, 단백질 분해 및 세포 분해 변화와 이에 상응하는 대사 산물들은 맥아 제조 후 맥주의 품질에 영향을 미칠 수 있어 가공 식품분야에서 대사체 분석 기술의 유용성을 시사한다.

대사체와 식품에 대한 감각특성과의 관계

식품 발효 중 생성되는 대사산물들은 최종 제품의 품질뿐만 아니라 소비자 기호도에도 영향을 미칠 수 있다. 그림 7은 dragon 과일 주스를 *Lactobaillus plantarum* FBS05를 사용하여 발효 후

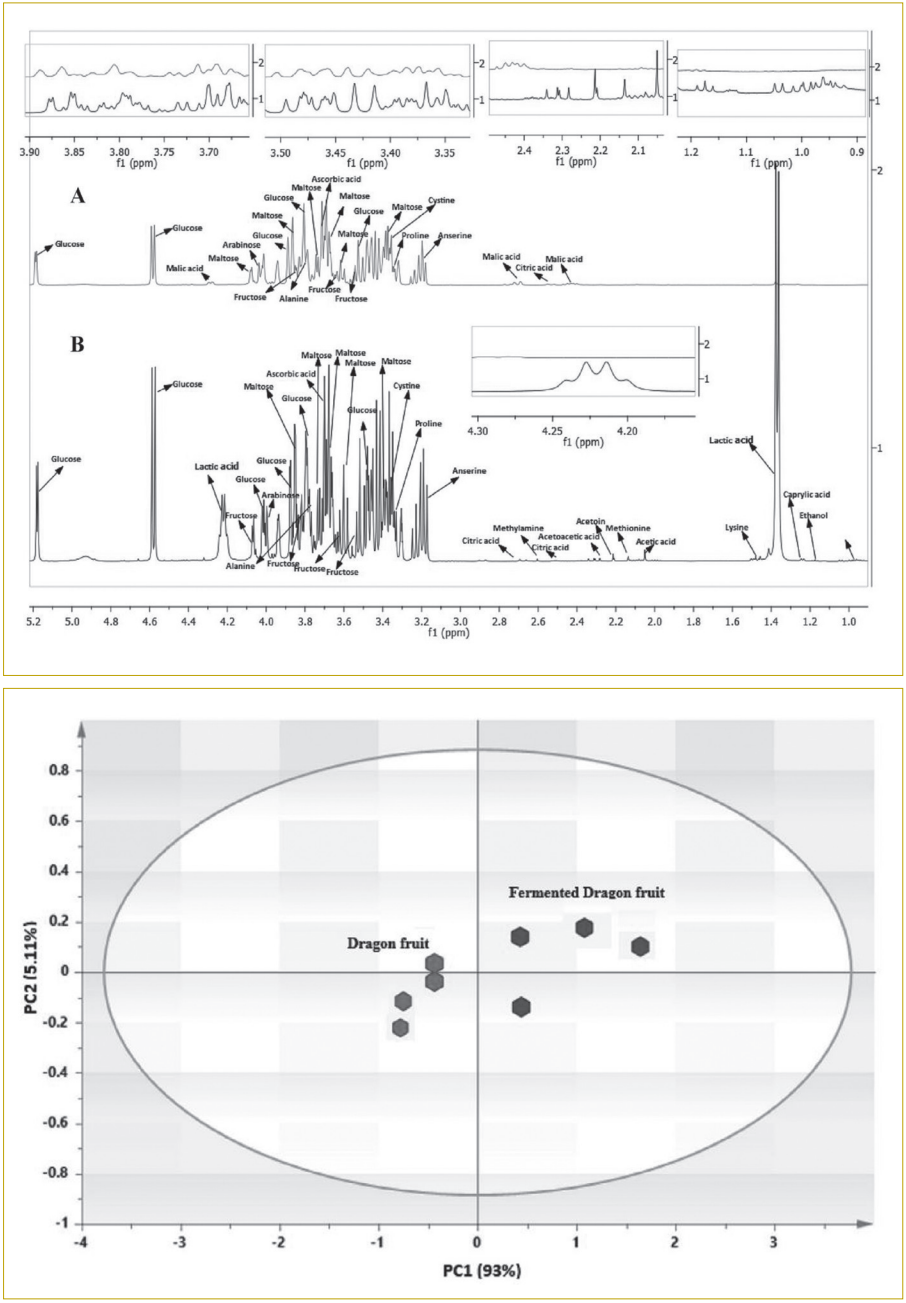


그림 7. NMR profile and PCA scores of non-fermented and fermented dragon fruit juice [7]

^{1}H-NMR로 비표적대사체 분석 후 항산화, 소비자 기호도와의 관계를 연구한 결과이다 [7]. 앞서 기술했듯이 NMR을 이용한 분석은 MS에 비해 감도가 낮아 분리된 대사체의 수(발효 주스 21개, 신선한 주스 12개)가 적지만 발효 유무의 차이는 다변량 분석으로 구분되었으며, dragon 과일 주스의 발효 유무에 따른 소비자 기호도에 영향을 미친 대사체 물질로는 lysine, alanine, acetic acid, succinic acid, lactic acid, glucose, iso-butyrate와 betaine 등으로 발견되었다 [7]. 이 연구와 같이 NMR을 이용한 대사체 분석은 간편한 전처리, 신속한 분석 결과의 장점이 있어 실제 식품을 생산하는 식품회사에 가공 품질과 소비자 기호도를 고려한 제품 생산에 도움을 줄 수 있다.

NMR을 사용한 비표적대사체 분석 외에 LC-MS/MS, GC-MS/MS을 이용한 비표적대사체 분석은 시료 간 차이 구분이 어려울 때 사용하기에 적절할 수 있다. 그림 8은 염도를 다르게 제조한 된장의 대사산물, 소비자의 감각특성, 물리적 특성 등을 분석하여 그 상관관계를 나타낸 결과이다. 전통 발효식품인 된장은 염도에 따라 발효 속도가 달라지며 생성되는 대사산물들이 달라진다. 생성되는 대사산물들에 의해 기호도에 영향을 미칠 수 있는 texture, 유리아미노산, 지방, 당 등의 분해 정도가 달라질 수 있다. 하지만 시료 간 염도의 차이가 12, 15, 18, 20% 정도로 큰 차이가 없는 경우 NMR과 같은 기기 분석 시 시료 간 대사체 구분이 어려울 수 있기 때문에 이런 경우에는 감도가 높은 MS 이용이 효율적이다.

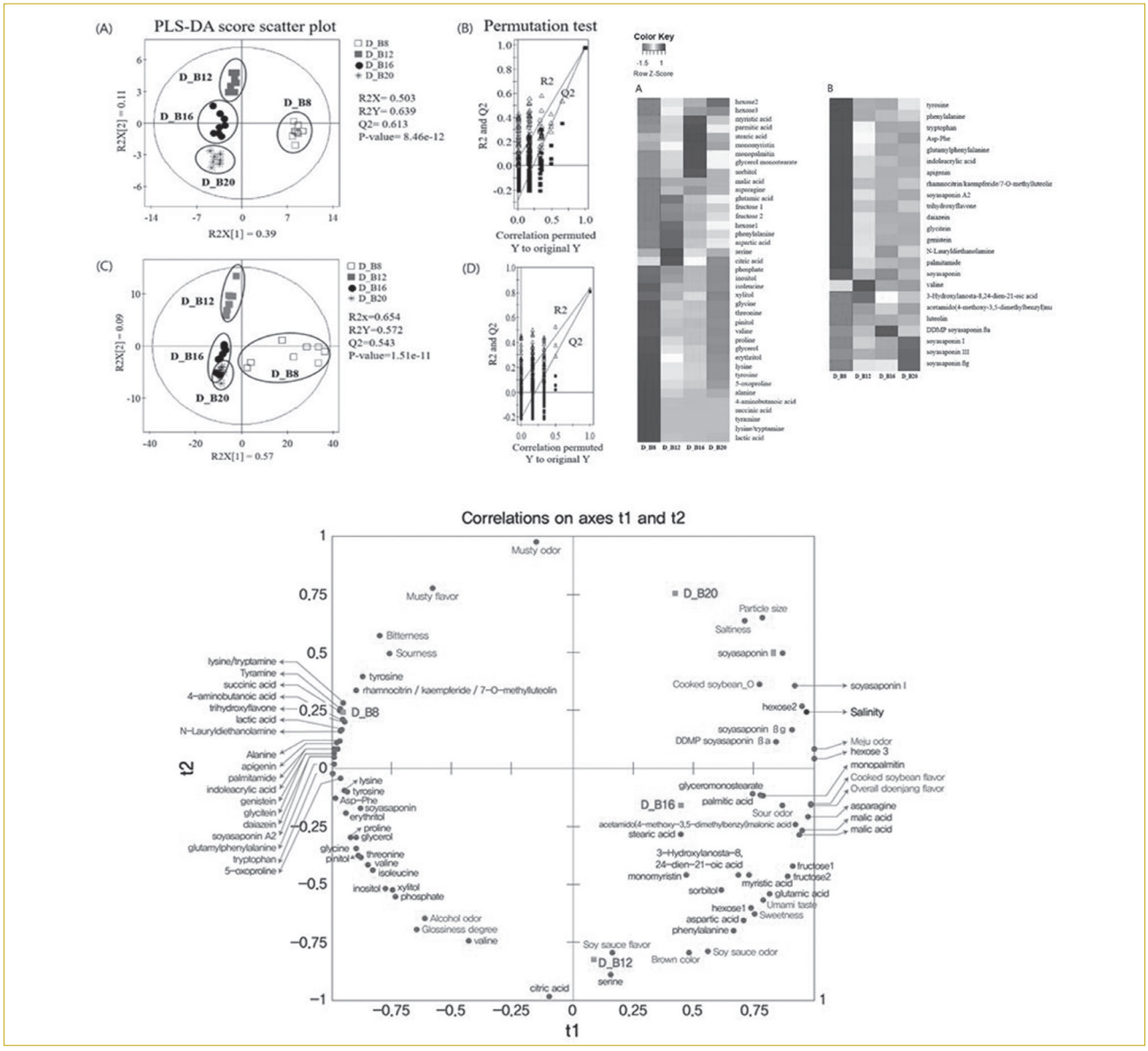


그림 8. 다양한 염도의 된장 제조의 대사체 프로파일 및 소비자 기호도 특성의 PLS-DA score plots, heat maps, and correlation map [8]

또한, 미국 플로리다 대학의 Citrus Research and Education Center (CREC)에서는 소비자의 감각특성과 비표적 대사체와 관련성 구명을 통해 식품의 맛, 향, 질감 등 감각특성 정보를 기반으로 데이터베이스화 하는 연구가 진행 중에 있다. 그림 9는 품종 별 망고의 향미특성에 관계된 대사체 분석과 소비자 감각특성과의 다중분석을 통해 대사체 기반 바이오 마커를 발굴한 결과이다. 소비자 감각특성 결과로 단맛과 신맛의 기호도는 과일 향미, 카라멜 향미, 코코넛 향미 대사체와 높은 상관관계를 보였으며, 미국의 CREC에서는 이러한 연구 결과들을 소비자들이 선호할 수 있는 품종을 개발하는데 활용하고 있다 9.

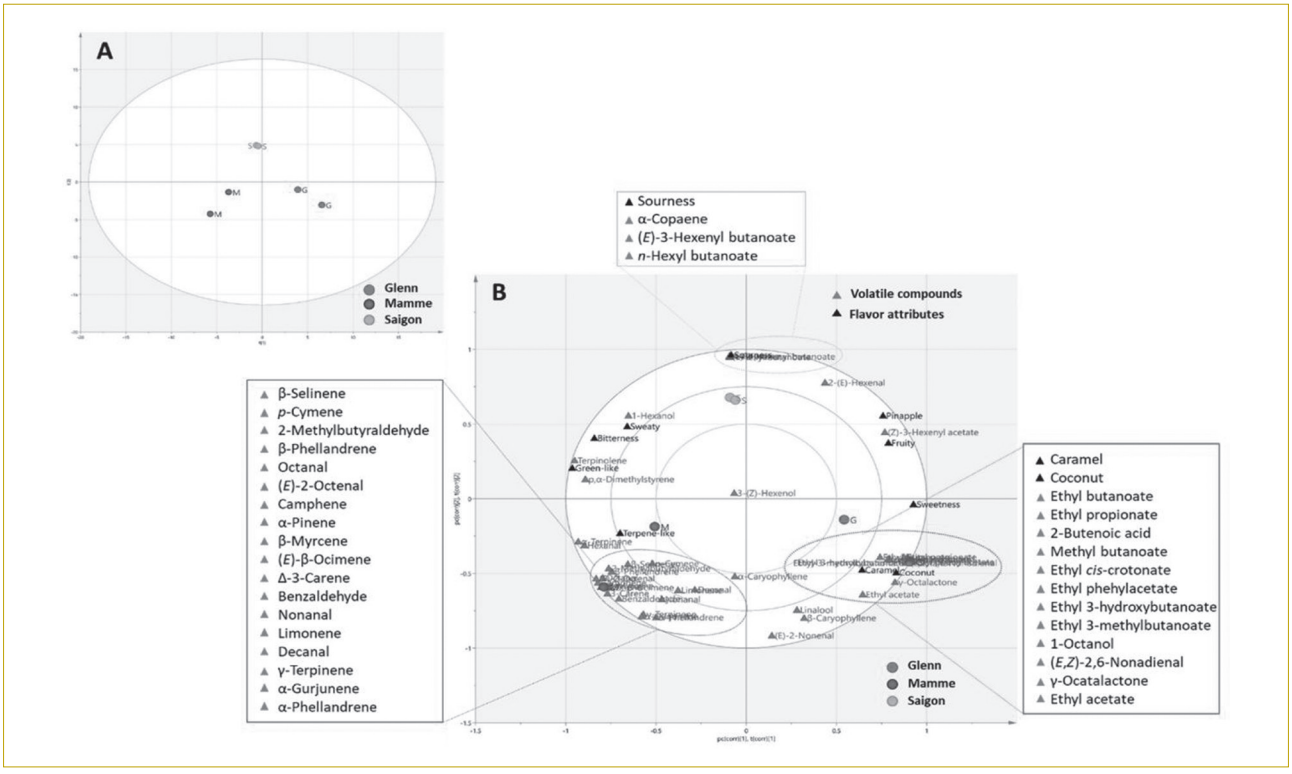


그림 9. 세 개의 망고 품종의 소비자 감각특성과 대사체와 상관관계 [9]

Ⅲ. 결론

기존 대사체학은 질병에 대한 새로운 바이오 마커 발견이나 생물학적 데이터를 기반으로 하는 의학, 약학 및 기초 생물학 분야에서 활용도가 높았다. 하지만 최근 몇 년간 식품분야에서는 발효 등의 생물학적 공정법뿐만 아니라 감각특성과 관련한 연구에도 유용하게 적용되어지고 있다. 이는 유전체, 장내 미생물, 대사체 등의 바이오 빅데이터와 식품 통합 데이터베이스를 기반으로 하는 플랫폼 구축과 인공지능 기반 분석의 중요성이 대두되어지고 있으며 식품 통합 데이터베이스 안에는 식품 가공에 의한 특성 변화 및 소비자의 감각특성의 반영이 요구되어지고 있다. 따라서, 식품 분야에서 대사체학의 활용도는 더욱 다양화 되고 활성화 될 것으로 사료된다.

참고 문헌

1. 박호영. (2010) Metabolomics: 식품기술의 현재와 미래. Bulletin of Food Technology. 23(2), 238-256
2. 김현진. (2012) 식품분야에서 대사체 분석 기술의 활용. Food Science and Industry. 45(2), 36-44
3. Kim, S., Kim, J., Yun, E. J., Kim, K. H. (2016) Food metabolomics: from farm to human. Current Opinion in Biotechnology. 37, 16-23
4. Garcia-Cañas, V., Simó, C. (2019) Food Metabolomics-An Overview. Reference Module in Food Sciences
5. Huang, X., Yu, S., Han, B., Chen, J. (2018) Bacterial community succession and metabolite changes during sufu fermentation. LWT-Food Science and Technology. 997, 537-545
6. Byeon, Y. S., Hong, Y.-S., Kwak, H. S., Lim, S.-T., Kim, S. S. (2022) Metabolite profile and antioxidant

potential of wheat (*Triticum aestivum* L.) during malting. Food Chemistry. 384, 132443

7. Muhialdin, B. J., Kadum, H., Zarei, M., Meor Hussin, A. S. (2020) Effects of metabolite changes during lacto-fermentation on the biological activity and consumer acceptability for dragon fruit juice. LWT-Food Science and Technology. 121, 108992

8. Kim, S.S., Kwak, H. S., Kim, M. J. (2020) The effect of various salinity levels on metabolomic profiles, antioxidant capacities and sensory attributes of doenjang, a fermented soybean paste. Food Chemistry. 328(30), 127176

9. Sung, J., Suh, J. H., Chambers, A. H., Crane, J., Wang, Yu. (2019) Relationship between sensory attributes and chemical composition of different mango cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 67, 5177-5188