

## 식품 중 부정유해물질의 분석 능력평가

장문익 · 윤태형 · 홍무기 · 최동미★

식품의약품안전청, 식품평가부  
(2006. 12. 8. 접수, 2007. 1. 18. 승인)

### Proficiency test for analyzing illegal compounds in food

Moonik Chang, Taehyung Yoon, Mooki Hong and Dongmi Choi★

Food Evaluation Department, Korea Food & Drug Administration  
#231 Jinheung-Ro Eunpyung-Gu, Seoul 122-704, Korea  
(Received December 8, 2006; Accepted January 18, 2007)

**요 약** : 식품 중 발기부전치료 성분 및 유사물질의 분석능력을 평가하기 위하여 실험실간 정도관리를 시도하였다. 평가대상물질은 실데나필, 타다라필, 바테나필, 호모실데나필, 하이드록시호모실데나필, 슈도바테나필 6종이었으며, 참여기관은 식품위생검사를 담당하고 있는 13개 기관이었다. 표준시료는 이중맹검을 위하여 평가대상물질 중 임의의 3종을 함유하도록 조제한 인삼음료 13개이었다. 분석방법은 식품공전의 일반시험법에 제시되어 있는 발기부전치료제 유사물질 시험법에 따라 일정량을 취하여 물에 희석한 후 유기용매로 추출하여 HPLC/UV로 분석하고 LC/MS로 확인하는 방법을 적용하였다. 분석기간은 표준시료를 수령한 날로부터 60일이었다. 검사능력관리규정에 따라 Z-값 및 RSZ를 종합평가한 결과 10기관이 만족한 수준이었다.

**Abstract** : To perform proficiency test for determining anti-impotence drug-like compounds in food, inter-laboratory test has been done. Targets were 6 such as sildenafil, tadalafil, vardenafil, homosildenafil, hydroxy-homosildenafil and pseudo-vardenafil. Total 13 institutes were participated and all is in charging of food analysis. To do double blind test, the reference materials were made as 13 different ginseng drink samples and each sample had random 3 targets. By the official method for anti-impotence drug-like compounds in food code, sample was just diluted in water, extracted in organic solvents, determined by HPLC/UV and then confirmed by LC/MS. The analytical duration was 60 days after receiving sample. Ten out of 13 institutes were satisfied by evaluation of Z-score and RSZ according to the regulation for managing analytical quality assurance.

**Key words** : proficiency test, anti-impotence compound, food, HPLC, MS

### 1. 서 론

삶의 질을 향상시키는 의약품의 일종인 비아그라

(주성분: 실데나필)는 반드시 의사의 처방 하에 복용하여야 하는 경구용 발기부전 치료제로 2001년 시판되었으며, 이후 시알리스(주성분: 타다라필)는 2002년,

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-380-1664 Fax : +82-(0)2-382-4892

E-mail: mechoi@kfda.go.kr

레비트라(주성분: 바데나필)는 2003년, 자이데나(주성분: 유데나필)는 2005년에 시판되었다.<sup>1,3</sup> 그러나 의사의 진단 및 그에 따른 처방을 기피하는 발기부전 환자의 성향과 식품을 섭취함으로써 질병치료나 건강한 신체를 유지하고자하는 국민 정서를 악용하여 식품에 실데나필 등을 불법 첨가하여 건강기능식품이라 허위 과대광고를 하는 사례가 날로 증가하고 있는 추세이다. 또한 식품 감시망을 피하고자 실데나필 등과 유사한 화학구조를 가진 미지의 물질을 홍삼음료, 인삼함유식품, 영지버섯가루, 프로폴리스 추출물, 어린이들이 즐겨먹는 코코아 분말 등 다양한 식품에 과량 첨가하는 사례도 증가하고 있다.<sup>4,5</sup> 이와 같이 실데나필, 타다라필, 바데나필과 같은 의약품 성분이 식품에 불법으로 첨가될 경우 오남용의 우려가 있고, 두통, 소화불량, 코막힘, 안면홍조와 같은 부작용 등 국민건강을 위협할 수 있으며, 특히 이들과 유사한 화학합성물질을 불법으로 제조하여 첨가할 경우에는 안전성 및 건전성이 확보되지 않았기 때문에 부작용이나 위해성이 전혀 보고된 바 없어 상용시의 부작용을 예측할 수 없다.<sup>1,3,6</sup>

식품의약품안전청에서는 식품안전을 확보하기 위하여 정당하지 않은 방법으로 제조한 인체의 건강을 해할 우려가 있는 미지의 물질을 규명하여 호모실데나필(2002년), 홍데나필(2003년), 하이드록시호모실데나필(2004년), 아미노타다라필(2004년), 슈도바데나필(2005년), 하이드록시홍데나필(2005년)로 명명하고, 이들 6종 부정유해물질의 식품 중 기준규격 및 시험법을 식품공전에 설정하고 있다.<sup>7-12</sup> 또한 수입식품등의 검사와 수거한 식품등의 검사에 관한 사무를 행하기 위하여 그에 필요한 시설을 갖춘 기관을 식품위생검사기관으로 지정하고 있는데, 이들 기관에서 식품 중 부정유해물질을 검사하고 있다.<sup>13</sup> 이와 같이 여러 다른 검사기관에서 분석이 수행되고 있으므로 식품검사의 질적 수준을 향상시키고 일정하게 유지시키기 위하여 측정치의 정확도와 정밀도를 검증할 수 있는 실험실간의 정도관리가 요구되고 있다. 미지시료에 대한 검사결과를 비교하는 공동연구의 수행은 검사결과의 신뢰도를 향상시킬 뿐만 아니라 식품 위기 시에 신속하게 대처할 수 있는 실험실간의 협력기반을 구축할 수 있는 장점도 지니고 있다. 또한 분석 대상물질, 분석 방법, 분석 장비에 따른 검사결과의 객관적인 검증 및 정확한 원인분석으로 분석이론 및 실습교육을 강화할 수 있다.<sup>14-17</sup> 따라서 본 연구에서는 검사결과에 대한 신뢰성 및 정확성을 확보하고 검사기관 간의 역

량 강화를 위하여 일부 식품위생검사기관의 식품 중 부정유해물질의 검사능력을 측정 및 평가하고자 한다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약 및 기구

메탄올은 HPLC급을 J.T. Baker(Phillipsburg, NJ, USA)에서 구매하였고, 디클로로메탄 및 중탄산나트륨은 잔류농약급과 특급을 Wako Pure Chemical Industries Inc.(Osaka, Japan)에서 각각 구매하였다. 그리고 1-Hexanesulfonic acid sodium salt는 Sigma(St. Louis, USA)에서, 무수황산나트륨은 Merck(Darmstadt, Germany)에서 구매하였다.

### 2.2. 실험방법

#### 2.2.1. 대상기관

식품위생법의 규정에 의한 식품위생검사기관 중 13개 기관(L01~L13)을 대상으로 하였다.

#### 2.2.2. 평가대상물질

실데나필(Sildenafil; S), 바데나필(Vardenafil; V), 타다라필(Tadalafil; T), 호모실데나필(Homosildenafil; HS), 하이드록시호모실데나필(Hydroxy-homosildenafil; HHS), 슈도바데나필(Pseudo-vardenafil; PV) 6종을 대상으로 하였다.

#### 2.2.3. 표준시료

표준물질 실데나필(Sildenafil: Viagra®의 유효성분), 바데나필(Vardenafil: Levitra®의 유효성분), 타다라필(Tadalafil: Cialis®의 유효성분) 및 유데나필(Udenafil: 자이데나®의 유효성분)은 한국화이자, 바이엘, 한국릴리 및 동아제약에서 제공받았으며, 호모실데나필(Homosildenafil), 하이드록시호모실데나필(Hydroxy-homosildenafil), 홍데나필(Hongdenafil), 하이드록시홍데나필(Hydroxy-hongdenafil), 아미노타다라필(Aminotadalafil) 및 슈도바데나필(Pseudo-vardenafil)은 합성하여 사용하였다.

인삼음료에 임의로 선택한 표준물질 3종이 각각 100~300 µg/mL로 되도록 첨가하여 표준시료 13개(S01~S13)를 조제하였다(Table 1).

#### 2.2.4. 시료배부 및 결과제출

대상기관과 표준시료의 번호가 L\*\* = S\*\*\*와 같이 각각 일치되도록 하고 각 대상기관에 공시료 1개 및

Table 1. The reference samples

No.	Targets					
	S <sup>1</sup>	T <sup>2</sup>	V <sup>3</sup>	HS <sup>4</sup>	HHS <sup>5</sup>	PV <sup>6</sup>
S01	○			○	○	
S02	○			○		○
S03			○	○	○	
S04			○	○		○
S05		○		○	○	
S06		○	○		○	
S07	○		○	○		
S08	○		○		○	
S09	○				○	○
S10	○	○	○			
S11	○	○		○		
S12		○	○	○		
S13	○	○				○

1. sildenafil
2. tadalafil
3. vardenafil
4. homosildenafil
5. hydroxy-homosildenafil
6. pseudo-vardenafil

표준시료 2개를 배부하였다. 결과는 표준시료수령 후 60일 이내에 제출하도록 하였다.

### 2.2.5. 평가방법

검사관리규정(식품의약품안전청 고시 제2005-23호, 2005.05.16)에 따라 개별 측정치에 대한 정확도인 Z값(Z-score) 및 검사결과와 편향성인 RSZ에 근거하여 종합평가하였다.

#### (1) Z-score

측정값의 정규분포 변수인 Z값은 다음의 식과 같이 검사기관의 측정값(x)과 참값(X)의 차를 결과값의 분산정도(s)로 나누어 산출하였다. 참값은 주관기관의 첨가농도값을 선택하였으며 결과값의 분산정도는 목표표준편차(Target Standard Deviation)로 Horwitz의 공식에 의하여 산출하였다.

$$Z = \frac{x - X}{s}$$

#### (1) RSZ(Rescaled Sum of Score)

검사기관의 측정결과에 대한 편향성을 나타내는 지표인 RSZ는 각 대상기관별 Z값을 모두 합하여 항목수(m; Z값의 개수)의 루트값으로 나누어 산출하였다.

$$RSZ = \frac{\sum Z}{\sqrt{m}}$$

### (3) 평가기준

검사결과를 각각  $|Z| \leq 1$ 인 경우 “매우 만족(5점)”,  $1 < |Z| \leq 2$ 인 경우 “만족(4점)”,  $2 < |Z| \leq 3$ 인 경우 “보통(2점)”,  $3 < |Z|$ 인 경우 “불만족(0점)”으로 점수를 부여한 후 각각의 항목(m)을 합한 총점(sum)을 아래의 산출식에 의해 100점으로 환산하였으며, 환산점수(score)가 60점 이상인 경우 “적합”, 60점 미만인 경우 “미흡”으로 평가하였다. 다만, 1항목이라도 불만족인 경우에는 환산점수에 상관없이 미흡으로 평가하였다. 또한, 환산점수 90점 이상 및  $|RSZ| \leq 1$ 으로서 불만족 항목이 없는 기관은 우수기관으로 선정하였다.

$$\text{score} = \frac{\text{sum}}{m} \times \frac{100}{5}$$

### 2.2.6. 실험방법

가능한 동일한 실험방법에 따라 수행한 분석결과를 평가하기 위하여 식품공전의 7. 일반시험법 22. 식품중 유해물질 시험법 1) 발기부전치료제 유사물질 시험법을 적용하도록 하였다.

#### (1) 시료 중 대상물질 추출

시료 일정량(~5 mL)을 물(10 mL)로 녹이고 메탄올(70 mL)을 가하고 진탕추출한 후 여과지로 여과한다. 여액에 1% 중탄산나트륨용액 1 mL를 가하고 디클로로메탄(50 mL)로 3회 추출한 후 디클로로메탄층을 모아 삼각플라스크에 옮겨 무수황산나트륨을 넣어 때때로 흔들어 섞으면서 30분간 방치하여 수분을 제거한다. 이 액을 40°C 이하의 수욕상에서 감압하여 디클로로메탄을 날려보내고 잔사를 메탄올 또는 이동상에 녹여 일정량으로 한 후 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 사용한다.

#### (2) 기기 분석

고속액체크로마토그래프-자외부흡광광도검출기(UV-detector), PDA 검출기 및 액체크로마토그래피/질량분석기를 사용한다. HPLC 컬럼은 C<sub>18</sub>(4.6 mm id, 250 mm, 5 μm)이며, 검출기파장은 UV 291 nm이다. 이동상으로는 0.1% sodium-1-hexane-sulfonate를 함유하는 0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>: 95% acetonitrile 혼합용액을 7:3에서 2:8로 적정 시간동안 균등분배한다. 시료는 10 μL를 주입하며 유속은 1.2 mL/min이다. 정성시험에 있어 표준용액 및 시험용액을 HPLC에 주입하여 얻어진 크로마토그램상의 각 피이크를 표준용액의 피이크와 비교할 때 어느 측정조건에서도 그 머무름 시간이 일치하여야 한다. 정성시험에서 얻어진 결과를 근거로 하여 피이크 높이법 또는 피이크면적법에 따라서 정량한다.

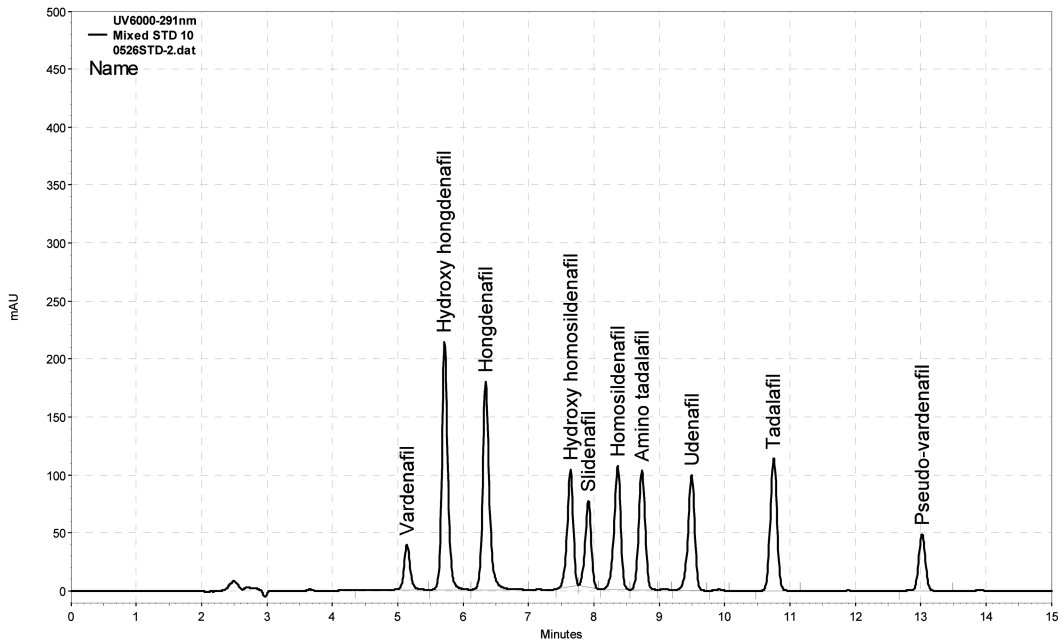


Fig. 1. The typical chromatogram of standards.

확인시험을 위해 액체크로마토그래피/질량분석을 하였을 때 시험결과는 표준품과 일치하여야 한다.

### 3. 결과 및 고찰

미지시료에 대한 실험실 간의 분석결과를 비교하기 위한 공동연구에 참가한 13개 기관은 분석결과를 정해진 기간 내에 제출하였다. 표준시료는 Table 1에 나타나 있듯이 각각의 기관마다 고유한 시료를 제공하기 위하여 서로 다른 13개를 조제하였으며 각각의 표준시료는 발기부전치료제 성분이나 그 유사물질 중 3종을 함유하고 있다. 또한 주관기관에서 조제한 표준시료가 참여기관간의 공동연구인 정도관리의 목적을 달성할 수 있도록 매 시료 당 3회 이상의 반복실험을 통하여 균질성을 확보하였으며, 2주마다 1회의 정기적인 실험을 통하여 분석 종료 시까지 안정성을 확인하였다.

정도관리에 참여한 식품위생검사기관은 식품공전에 수록되어 있는 고속액체크로마토그래프/자외부흡광광도검출기(UVdetector), PDA 검출기 및 액체크로마토그래피/질량분석기를 사용하는 발기부전치료제 유사물질 시험법을 이용하였다. 상기의 조건 하에서 식품공전에 기준규격이 설정되어 있는 유해물질 6종 및 발기부전치료제 성분 4종을 포함한 표준물질 혼합액

에 대한 크로마토그램은 Fig. 1과 같으며 바데나필, 하이드록시홍데나필, 홍데나필, 하이드록시호모실데나필, 실데나필, 호모실데나필, 아미노타다라필, 유데나필, 타다라필, 슈도바데나필의 순으로 용리되었다. 우선적으로 정성분석을 위하여 참여기관에서 제출한 표준시료에서 검출한 대상물질을 확인한 결과 크로마토그램 상의 각 피이크의 머무름 시간(Retention time)이 표준용액 피이크의 머무름 시간과 모두 일치하였으므로 13개 기관 모두 만족으로 평가되었다. 또한 PDA 스펙트럼의 경우에서도 표준용액과 검출한 대상물질이 일치하였으므로 정성확인을 객관적으로 재검증할 수 있었다.

미지농도 시료 분석의 정확성은 다른 실험자가 측정한 값을 상호 비교함으로써 입증할 수 있는데 개별 측정치에 대한 정확도인 Z-score는 분석결과에 대한 정규분포 변수로 그 값이 -2에서 +2 사이에 존재하면 만족할만한 수준으로 평가되므로 전형적으로 연관이 있는 공동연구에서 얻어지는 재현성의 표준편차라 할 수 있다. Table 2에 나타나 있듯이 3개의 기관이  $|Z| \leq 2$ 를 벗어났으며, 측정결과에 대한 편향성인 RSZ의 경우 -3.0~2.0의 분포를 나타내고 있다. Fig. 2를 통하여 각각의 대상물질에 대한 Z-score를 좀 더 상세히 살펴보면, 6종의 대상물질 중 실데나필, 타다라필, 바데나필, 슈도바데나필의 4종이  $|Z| \leq 2$ 를 벗어났으며, 기관

Table 2. Z-score and RSZ of anti-impotence drug-like compounds

No.	Z-Score						RSZ
	S	T	V	HS	HHS	PV	
L01	0.2			0.3	-0.3		0.1
L02	-0.5			-1.1		-0.3	-1.1
L03			-0.2	-0.3	-0.1		-0.3
L04			-0.2	-0.4		-0.7	-0.7
L05		-0.7		0.1	0.2		-0.2
L06		-0.1	0.2		-1.0		-0.6
L07	3.1		0.3	0.0			2.0
L08	0.3		3.5		-0.5		1.9
L09	-0.5				-0.2	-0.7	-0.6
L10	-0.4	0.2	-0.4				-0.3
L11	-0.5	-2.0		-1.7			-1.9
L12		-0.7	-0.8	-0.8			-1.0
L13	-1.2	-2.3				-3.3	-3.0

13의 경우 타다라필 및 슈도바데나필 2종의 대상물질이  $|Z| \leq 2$ 를 벗어났음을 알 수 있다. 참여기관 전체의 RSZ는 Fig. 3에서 볼 수 있는데 기관 7, 8, 11 및 13의 경우  $|RSZ| \leq 1$ 을 벗어났다.

종합평가를 위하여 평가기준에 따라 검사결과에 점수를 부여하여 환산한 결과는 Table 3에 제시하였는데, 환산점수(score)가 60점 미만이거나 1항목이라도 불만족인 미흡기관은 3개 기관이었으나, 60점 이상인 적합기관은 3개 기관이었으며, 평가환산점수 90점 이상 및  $|RSZ| \leq 1$ 으로서 불만족 항목이 없는 우수기관은 7개 기관이었다. 따라서 전체 13개 기관 중 10개 기관이 만족한 결과를 얻었음을 알 수 있었다. 또한, 이러한 평가결과를 근거로 분석능력이 미흡한 식품위생검사 기관에 대해서는 직접 해당기관을 방문하여 분석 전 반에 걸친 점검을 실시하여 식품 중 부정유해물질에

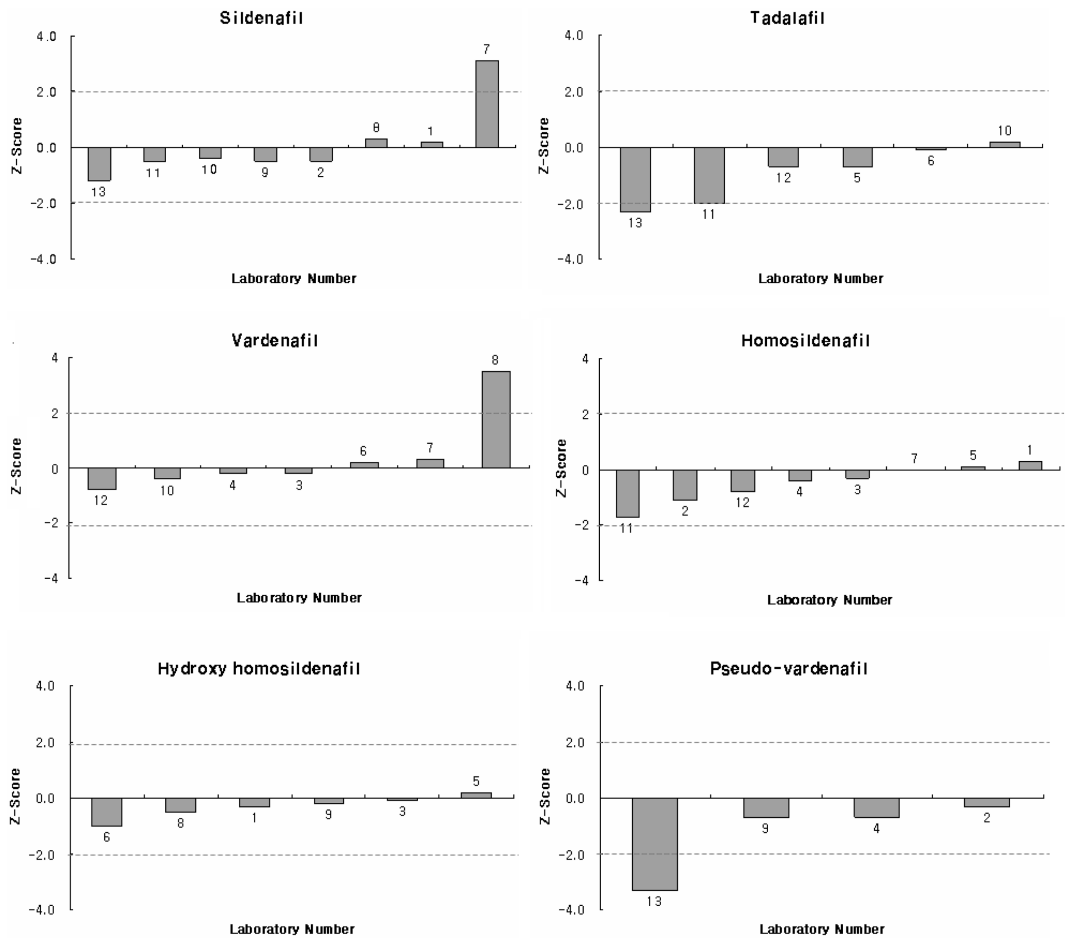


Fig. 2. Representation of accuracy Z-scores for targets. The dotted line indicates the threshold value of the satisfactory Z-scores ( $|Z| \leq 2$ )

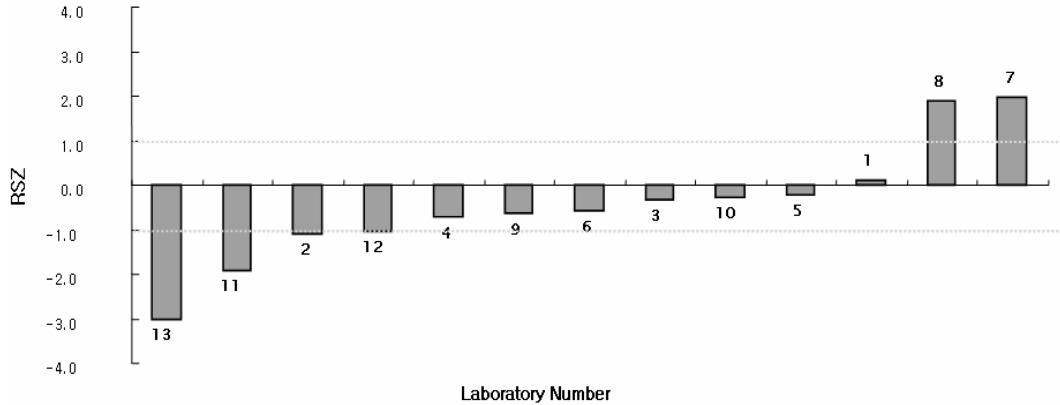


Fig. 3. Representation of RSZ for laboratories. The dotted line indicates the threshold value of the satisfactory RSZ ( $|RSZ| \leq 1$ )

Table 3. Statistical evaluation of differences among laboratories

No.	RSZ	Score	Remarks
L01	0.1	100	E <sup>1</sup>
L02	1.1	93	S <sup>2</sup>
L03	0.3	100	E
L04	0.7	100	E
L05	0.2	100	E
L06	0.6	100	E
L07	2.0	67	U <sup>3</sup>
L08	1.9	67	U
L09	0.6	100	E
L10	0.3	100	E
L11	1.9	87	S
L12	1.0	100	S
L13	3.0	40	U

- 1. excellent
- 2. satisfied
- 3. unsatisfied

대한 분석 역량을 강화하였다. 결과적으로 검사결과의 정확도와 정밀도를 검증할 수 있는 실험실간의 정도 관리를 통하여 일부 식품위생검사기관의 검사능력에 대한 신뢰성 확보와 분석능력 향상을 도모하였다. 따라서 본 연구결과를 토대로 하여 향후 우리나라 전체 식품위생검사기관의 식품 중 부정유해물질에 대한 검사능력관리를 수행할 수 있을 것이다.

### 참고문헌

1. E. Boyce, E. Umland, *Clin. Ther.*, **23**, 2-23(2001).  
 2. R. Skoumal, J. Chen, K. Kula, J. BreZa, N. Calom-

firescu, B. Basson, V. Kopernicky, *Eur. Urol.*, **46**, 362-369(2004).  
 3. J. Mulhall, F. Montorsi, *Eur. Urol.*, **496**, 30-37(2006).  
 4. 식품의약품안전청 보도/해명자료 (<http://www.kfda.go.kr>)  
 5. 日本 厚生労働省 報道発表資料 (<http://mhlw.go.jp/kinkyu/diet/other/050623-1.html>)  
 6. 오남용우려의약품지정등에관한규정, 식품의약품안전청 고시 제2002-7호(2002.2.18).  
 7. 식품공전, 식품의약품안전청 (2005).  
 8. e-Letter of New Hazard Chemicals, **1**(2), 7-11(2005), (<http://blog.korea.kr/nhct>)  
 9. e-Letter of New Hazard Chemicals, **1**(8), 54-57(2005), (<http://blog.korea.kr/nhct>)  
 10. 최동미, 임무혁, 이경진, 권광일, 정지윤, 박건상, 홍무기, 이철원, *분석과학회지*, **17**(6), 520-526(2004).  
 11. KFDA Library of IR, MS & NMR Spectra-Anti-impotence Drugs and Analogues(행정간행물등록번호; 11-1470000-000881-14), 식품의약품안전청, 2005.  
 12. C. Shin, M. Hong, D. Kim, Y. Lim, *Magn. Res. Chem.*, **42**(12), 1060-1062(2004).  
 13. 식품위생법, 보건복지부 (2005.7).  
 14. 검사능력관리규정, 식품의약품안전청 고시 제2005-23호(2005.5.16).  
 15. 숙련도시험운영기준, 한국교정시험기관인정기구 (KOLAS-R-003;2004).  
 16. UK Central Science Laboratory ([www.fapas.com](http://www.fapas.com))  
 17. E. Hund, D. Massart, J. Smeyers-Verbeke, *Anal. Chim. Acta*, **423**, 145-165(2000).