

HPLC 및 ESI-tandom Mass Spectrometry를 이용한 인터넷에서 판매되는 기능성표방식품 중 부정유해물질 모니터링

이용철* · 김복순 · 윤은선 · 김성단 · 장민수 · 박영애 · 신 영 · 정선옥 · 이재인 · 채영주
서울특별시 보건환경연구원

Monitoring of Forbidden Medicines as Adulterants in Dietary Supplements Marketed Online by HPLC and ESI-tandom Mass Spectrometry

Yong-Cheol Lee*, Bog-Soon Kim, Eun-Sun Yun, Sung-Dan Kim, Min-Su Chang, Young-Ae Park, Young Shin, Sun-Ok Jung, Jae-In Lee, and Young-Zoo Chae

Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment

Abstract It was carried out to detect anti-impotence drug-like compounds, sibutramine and their analogues in dietary supplements, which are doubtful whether they include illegal compounds. A total of 51 food products were bought online and have been investigated. The separation was achieved on a C18 column, with the mobile phase made up of water (5 mM sodium hexanesulfonate and 0.1% phosphoric acid) and 95% acetonitrile, at a flow rate of 1.2 mL/min with gradient elution using by HPLC-DAD. The UV signals were monitored at 220 nm and 291 nm. LC-ESI-tandom MS was utilized to confirm that detected compounds in samples are the same as the reference materials. Two nutrient supplement foods and ginseng products were found to contain 1.3-82.1 mg of sildenafil, dimethylthiolsildenafil and pseudovardenafil per serving size. In addition, two other processed products were detected to contain 1.7 and 2.2 mg of didesmethylsibutramine, derived from sibutramine per serving size.

Keywords: anti-impotence drug, sildenafil, sibutramine, LC-ESI-MS

서 론

소득증가와 함께 건강에 대한 관심이 높아지면서 건강의 유지와 증진에 효과가 있거나 혹은 기대되는 건강기능성식품의 소비가 증가하는 추세이다(1-3). 그러나 이러한 제품들 중에는 얻고자 하는 효과를 증대시키기 위해 식품에는 사용이 금지된 의약품 성분이나 화학적 합성품을 의도적으로 첨가하여 판매되어 소비자로 하여금 부작용을 일으키는 등 사회적으로 큰 문제를 일으키는 실정이다(4,5). 식품위생법에 따르면 식품이란 의약품으로 섭취하는 것을 제외한 모든 음식물을 말하며, 기준·규격이 고시되어 있지 아니한 화학적 합성품을 사용하거나 이 화합물이 첨가된 식품을 판매할 목적으로 제조·수입·가공·사용·조리·저장·소분·운반 또는 진열하는 행위를 금지하고 있다(6).

현재 시중에서 판매중인 발기부전치료제는 비아그라(실데나필), 시알리스(타다라필), 레비트라(바데나필), 자이데나(유데나필), 엠빅스(미로데나필) 5종이고, 이들과 유사한 생리작용을 나타내는 이카린, 요힘빈 성분을 비롯하여 발기부전 치료제 유사물질은 2004

년 4종에서 2007년 16종, 2010년 현재 총 29종으로 지속적으로 증가하여 식품공전에 고시되어 있으며(Table 1), 2010년 심각한 부작용이 우려되어 판매가 금지된 비만치료제 리덕틸의 성분인 시부트라민의 유사물질 데스메틸시부트라민 또한 고시되어 있다(7).

시부트라민 성분에 대한 연구로 데스메틸시부트라민의 규명은 Kwon 등(8)에 의해 식품 중 검출된 미지의 시부트라민 유사물질의 분석에 의해 이루어졌고, 또한 시부트라민과 *N*-desmethyl 대사체를 LC-ESI-MS로 동시분석한 연구들을 볼 수 있다(9,10). 시부트라민과 유사체인 데스메틸시부트라민, 디데스메틸시부트라민의 구조는 Fig. 1과 같다.

실데나필 성분의 비아그라 시장 출시 이후 발기부전치료제 유사물질의 규명에 대한 논문은 국내외 다수 있으며(11-14), 동시분석에 대한 논문으로는 HPLC를 이용한 5종의 동시분석법 연구(15), 실데나필, 흥데나필 등 6종의 동시분석 연구(16), 13종의 발기부전치료제 및 유사물질의 LC-ESI-tandom MS 동시분석법 개발(17) 등이 있다.

지금까지 다수의 논문을 통해서 많은 수의 부정유해물질의 규명이 이루어졌고, 동시분석법 연구도 있었으나 지속적으로 증가하는 시중 유통 식품 중 부정유해물질의 모니터링 차원에서는 이들 물질들에 대한 총체적이면서 동시에 효율적인 분석 연구가 필요하다. 발기부전치료제를 비롯한 부정유해물질은 생리효과를 충분히 나타낼 수 있도록 인위적으로 첨가되는 경우가 대부분이므로, 본 연구에서는 실제 시중에 유통되는, 특히나 온라인 상에서 성능 개선, 미용개선 등의 과대광고를 하고 손쉽게 구매할 수 있는 건강기능식품 및 건강기능성표방식품 중 체중조절용조제식

*Corresponding author: Yong-Cheol Lee, Food Safety Team, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Gwacheon, Gyeonggi 427-070, Korea
Tel: 82-2-570-3265
Fax: 82-2-570-3243
E-mail: dreamykafka@seoul.go.kr
Received August 29, 2011; revised November 27, 2011;
accepted January 18, 2012

Table 1. Analogues of anti-impotence drugs in Food Code

Compound name	Mother compound	Notification (date)
Homosildenafil	Sildenafil	2004-48 (2004.07.16)
Hongdenafil	Sildenafil	2004-48 (2004.07.16)
Hydroxyhomosildenafil	Sildenafil	2004-48 (2004.07.16)
Aminotadarafil	Tadarafil	2004-81 (2004.10.07)
Pseudovardenafil	Vardenafil	2004-32 (2005.06.02)
Hydroxyhongdenafil	Sildenafil	2006-01 (2006.01.18)
Dimethylsildenafil	Sildenafil	2007-11 (2007.02.28)
Xanthoanthrafil	-	2007-11 (2007.02.28)
Hydroxyvardenafil	Vardenafil	2007-26 (2007.05.07)
Norneosildenafil	Sildenafil	2007-26 (2007.05.07)
Demethylhongdenafil	Sildenafil	2007-63 (2007.09.06)
Piperidinohongdenafil	Sildenafil	2007-84 (2007.12.24)
Carbodenafil	Sildenafil	2007-84 (2007.12.24)
Thiosildenafil	Sildenafil	2007-84 (2007.12.24)
Dimethylthiosildenafil	Sildenafil	2007-84 (2007.12.24)
Acethylvardenafil	Vardenafil	2007-84 (2007.12.24)
Benzylsildenafil	Sildenafil	2008-51 (2008.08.13)
Norneovardenafil	Vardenafil	2009-24 (2009.05.07)
Oxohongdenafil	Sildenafil	2009-24 (2009.05.07)
Chlorodenafil	Sildenafil	2010-45 (2010.06.16)
Cinnamylidenafil	Sildenafil	2010-45 (2010.06.16)
Thiohomosildenafil	Sildenafil	2010-25 (2010.04.30)
Desulfovardenafil	Vardenafil	2010-25 (2010.04.30)
Nitrodenafil	Sildenafil	2010-25 (2010.04.30)
Cyclopentynafil	Sildenafil	2010-25 (2010.04.30)
Octylnortadarafil	Tadarafil	2010-25 (2010.04.30)
Thioquinapiperfil	-	2010-51 (2010.06.30)
Hydroxythiohomosildenafil	Sildenafil	2010-51 (2010.06.30)
Chloropretadarafil	Tadarafil	2010-51 (2010.06.30)

품, 기타가공품, 다류 및 음료류 등 총 51개 제품에 대하여 발기부전치료제 및 유사물질 34종, 이카린, 요힘빈, 시부트라민과 그

유사물질을 HPLC를 이용하여 동시분석하고, LC-MS/MS를 이용하여 정성분석을 진행하였다.

재료 및 방법

실험재료

표준품 신테나필 등 발기부전치료제 및 유사물질 34종과 시부트라민, 데스메틸시부트라민, 디데스메틸시부트라민은 식품의약품안전청에서 제공받았고, icariin(98%, Wako Chemicals, Osaka, Japan), yohimbin(98%, Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, USA)은 구입하여 사용하였다. Acetonitrile, methanol은 Merck사(HPLC Grade, Darmstadt, Germany), sodium hexanesulfonate와 ammonium formate는 Sigma-Aldrich사, phosphoric acid는 Kanto chemical사(Tokyo, Japan)에서 구입하였고, 실험에 사용된 물은 PRIMA & UHQ-MKII water purification(ELGA, High Wycombe, Buckinghamshire, England)을 이용하여 18.2 MΩ 수준으로 정제하여 사용하였다. 시료는 식품유형별로 영양보충용제품(nutrient supplement foods) 5건, 체중조절용조제식품(weight control foods) 5건, 식이섬유제품(dietary fiber products) 4건, 홍삼제품(ginseng products) 1건, 기타가공품(other processed products) 19건, 개별인정형제품(saw-palmetto extracts, garcinia cambogia extracts) 4건, 다류 및 음료류(solid tea, beverages) 3건, 기타식품(other products) 7건, 화분제품(bee pollen products) 1건, 알로에제품(aloe products) 1건, 프로폴리스추출물(propolis extracts) 1건으로 건강기능식품 및 기타식품류 총 51건을 인터넷 사이트에서 구매하여 분석하였다.

HPLC 조건

분석기기는 HPLC DAD(Agilent 1200 series, Agilent Technologies, Waldbronn, Germany)로 컬럼은 Eclipse XDB-C18(4.6×250 mm I.D. 5 μm, Agilent Technologies, Foster city, CA, USA), 그리고 이동상 용액 A(5 mM sodium hexanesulfonate와 0.1% phosphoric acid을 함유한 물), B(95% acetonitrile) 두 가지를 이용하여 Table 2의 조건으로 분석하였다.

HPLC MS/MS 조건

질량분석기는 API 4000Qtrap(Applied Biosystems, Foster City,

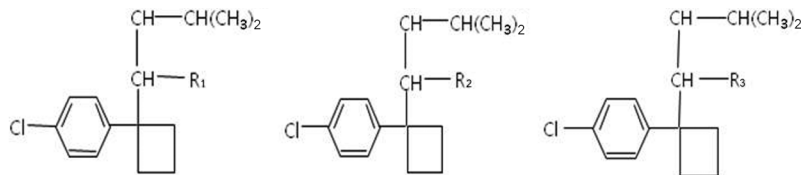


Fig. 1. Chemical structures of sibutramine ($R_1=N(CH_3)_2$), desmethysibutramine ($R_2=NHCH_3$), didesmethylsibutramine ($R_3=NH_2$).

Table 2. Operating condition of HPLC

UV Wavelength	220, 291 nm (200-400 nm)					
Injection volume	10 μL					
Column temperature	40°C					
Flow rate	1.2 mL/min					
Pump gradient program	Time (min)	A (%)	B (%)	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.0	90	10	35.0	50	50
	3.0	90	10	40.0	0	100
	13.0	75	25	40.9	0	100
	30.0	60	40	41.0	90	10
	33.0	55	45	50.0	90	10

Table 3. Operating condition of HPLC/MS-MS

Mobile solvent	A: 10 mM ammonium formate B: acetonitrile					
Injection volume	5 µL					
Column temperature	40°C					
Flow rate	0.2 mL/min					
Pump gradient program	Time (min)	A (%)	B (%)	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.0	90	10	9.0	10	90
	2.0	90	10	12.0	10	90
	3.0	80	20	15.0	90	10
	6.0	30	70	20.0	90	10

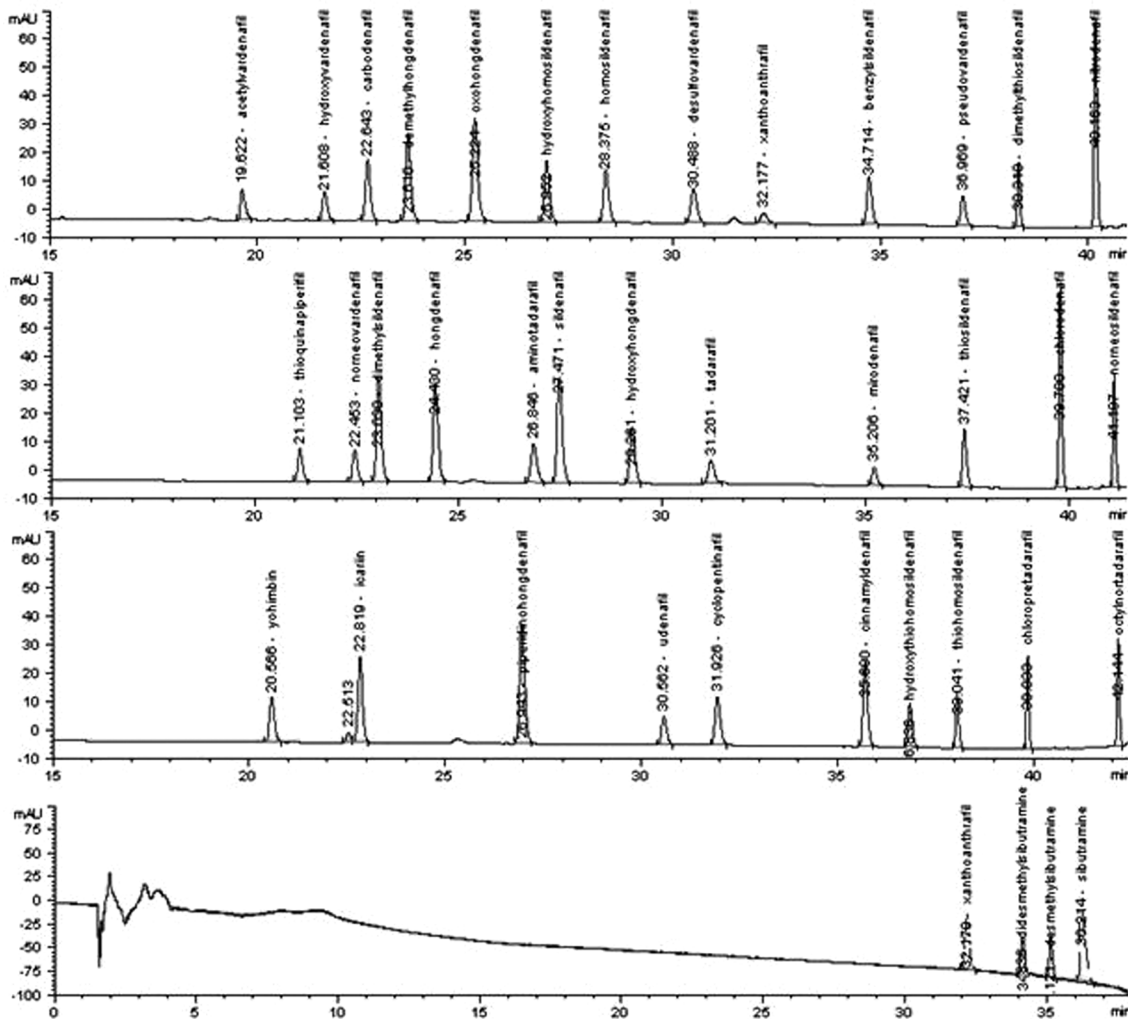


Fig. 2. HPLC chromatograms of 39 components in mixtures.

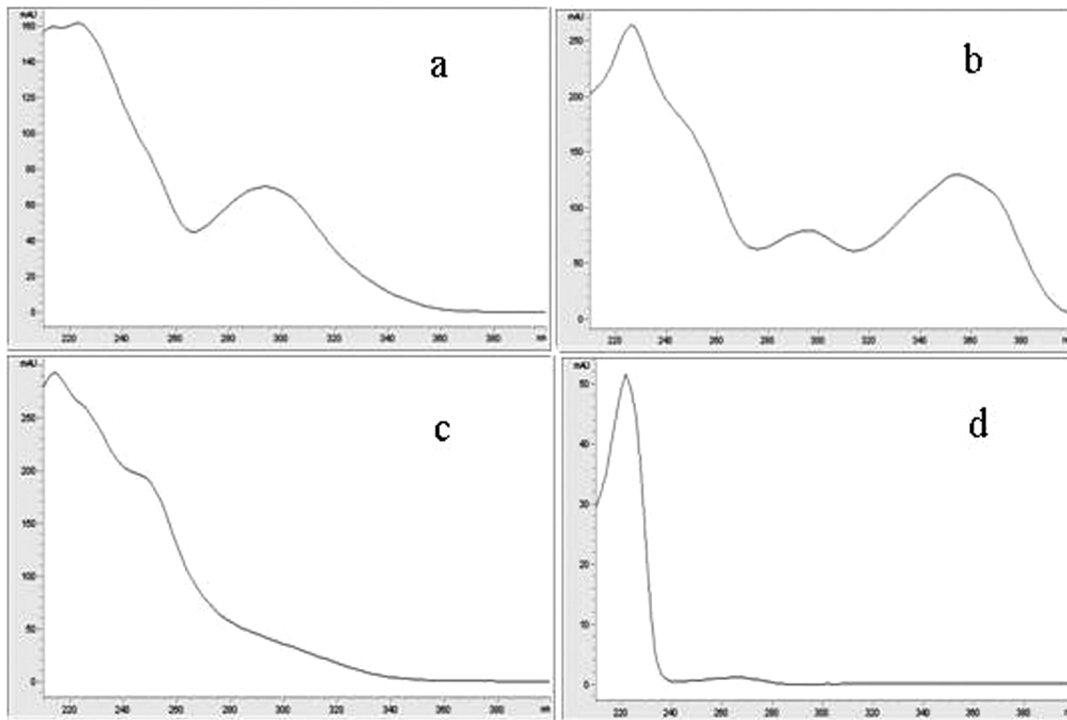
CA, USA)을 이용하였고, LC system은 Agilent 1200 series(Agilent Technologies), 컬럼은 Eclipse plus C-18(2.1×150 mm, 3.5 µm, Agilent Technologies)을 사용하였다. 검출된 성분들의 정성 분석을 위해 positive ion mode로 EP, DP, CE, CXP 등 MS 각각의 파라미터를 최적화한 MRM조건을 확립하고 Ion spray voltage 5500, Temperature 400, Ion source gas1 50.0, Ion source gas2 50.0, Curtain gas 20.0으로 Table 3의 HPLC 조건을 이용하여 분석하였다.

시험용액 및 표준용액의 조제

시험용액은 시료를 균질하게 분쇄한 후 약 1.0-2.0 g을 50 mL 메탄올에 녹여 30분간 초음파 추출 후 0.45 µm membrane syringe filter로 여과 후 분석하였고, 표준용액 또한 메탄올에 39 가지 성분을 녹여 10-20 µg/mL 농도의 3개 혼합표준용액으로 사용하였다. 검출된 화합물의 정성분석을 위해 표준용액과 시험용액을 0.1 µg/mL 수준으로 메탄올에 희석하여 LC-MS/MS 분석에 사용하였다.

Table 4. Contents of anti-impotence drugs and their analogues, and didesmethylsibutramine in samples

Food type (forms)	Compound	Levels (mg/g)	Serving size (mg/g, serving)
Ginseng products (capsule)	Sildenafil	136.9	82.1/0.6
Nutrient supplement foods 1 (capsule)	Pseudovardenafil	59.9	30.0/0.5
	Dimethylthiosildenafil	2.5	1.3/0.5
Nutrient supplement foods 2 (capsule)	Sildenafil	120.2	60.1/0.5
Other processed products 1 (pill)	Didesmethylsibutramine	2.2	4.3/2.0
Other processed products 2 (pill)	Didesmethylsibutramine	1.7	5.2/3.0

**Fig. 3. PDA spectrums (200-400 nm) of detected compounds.** a. sildenafil, b. dimethylthiosildenafil, c. pseudovardenafil, d. didesmethylsibutramine

회수율, 검출한계, 정량한계 실험

회수율 측정은 34가지 발기부전치료제 및 유사물질, 이카린, 요힘빈, 시부트라민 및 유사물질 2종이 들어있지 않음을 확인한 캡슐제형과 환제형에 2.0 µg/mL 의 농도로 첨가한 후 시험용액과 같은 방법으로 전처리하여 3회 반복실험하였다. 혼합표준용액을 0.2-2.0 µg/mL로 희석하여 검량선을 작성하였고, 검출한계 및 정량한계는 각각 신호대잡음비 3배 이상, 10배 이상인 농도로 계산하였다.

결과 및 고찰

발기부전치료제 5종과 유사물질 29종, 이카린, 요힘빈, 시부트라민, 데스메틸시부트라민, 디데스메틸시부트라민을 3개의 혼합표준용액으로 만들어 총 50분 동안 분석한 크로마토그램은 Fig. 2와 같고, 잔소안트라필, 시부트라민, 데스메틸시부트라민, 디데스메틸시부트라민은 220 nm 파장에서, 나머지 성분들은 291 nm에서 선택성이 높은 피크를 얻을 수 있었다.

크로마토그래피에서 중요하게 제시해야 하는 것은 분석하고자 하는 피크의 해상도(resolution)로써 선택성이라고도 표현되며, 해상도는 두 피크 사이의 머무름 시간 t_1 및 t_2 로서 나타나는 분리거리 및 기준선 폭인 w_1 과 w_2 로 표현되고 아래의 수식과 같다.

$$Rs=2(t_2-t_1)/(w_1+w_2)$$

미국 FDA는 화학적, 광학적 분해 물질을 포함한 활성의약품 형태를 지닌 성분들에 대하여 다른 분석물질 또는 다른 잠재적 방해물질의 공존 하에서 분석하고자 하는 성분을 정량화 할 수 있도록 인정하는 두 물질간 Rs 가 2 이상인 것을 권고하였고(18), Fig. 2의 혼합표준용액 각각의 피크 해상도를 계산한 결과 모두 Rs 가 2 이상인 선택성 높은 피크들을 분리할 수 있었다.

검출한계는 0.02-0.2 µg/mL, 정량한계는 0.1-0.5 µg/mL 수준으로 Choi 등(16)의 연구결과와 유사하였고, Jang 등(15)의 발기부전치료제 및 유사물질 5종의 검출한계 0.1 µg/mL 보다는 낮은 결과였다. 회수율은 평균 95-110%로 기존의 연구논문들과 비슷한 결과를 나타내었다(15,16).

인터넷에서 구매한 총 51개의 건강기능성표방식품에 대하여 위 39종의 부정유해물질을 모니터링하여 검출된 성분을 Table 4에 나타내었다. 캡슐형태의 홍삼제품과 영양보충용제품에서 실데나필이 1회 복용량당 각각 82.1과 60.1mg 검출되었고, 또한 캡슐형태의영양보충용제품 1건에서는 슈도바데나필과 디메틸티오실데나필 성분이 함께 검출되었다. 환제형의 기타가공품 2건에서는 시부트라민의 유사물질인 디데스메틸시부트라민 성분을 검출할 수 있었으며, HPLC 분석에 의해 검출된 성분들은 모두 표준물

Table 5. MRM condition of detected compounds in samples

Compound	Exact mass	Q1 mass	Q3 mass	Declustering Potential (volts)	Collision Energy (volts)	Collision cell Exit Potential (volts)
Sildenafil	474.2	475.3	100.1	116	41	16
			283.1	116	53	16
			311.2	116	41	16
Dimethylthiosildenafil	504.2	505.3	299.1	126	53	16
			327.1	126	43	18
			393.1	126	41	10
Pseudovardenafil	459.2	460.2	151.1	136	53	12
			312.1	136	51	16
			169.1	136	57	14
Didesmethyisibutramine	251.1	252.2	125.0	51	33	20
			139.0	51	17	12
			153.1	51	17	12

Table 6. LC-MS fragments data of reference materials and detected compounds in samples

Compound	Retention time (min)	MS ¹ (m/z)	MS ² (m/z) (% relative ion intensity)		
Sildenafil	8.61	475.3	100.1(100)	283.1(57.8)	311.2(42.5)
Ginseng products (capsule)	8.61	475.3	100.1(100)	283.1(55.2)	311.2(41.3)
Nutrient supplement foods 2 (capsule)	8.59	475.3	100.1(100)	283.1(54.1)	311.2(43.2)
Pseudovardenafil	10.53	460.2	151.1(100)	312.1(32.2)	169.1(16.6)
Nutrient supplement foods 1 (capsule)	10.53	460.2	151.1(100)	312.1(32.7)	169.1(17.9)
Dimethylthiosildenafil	9.23	505.3	299.1(100)	327.1(83.4)	393.1(31.4)
Nutrient supplement foods 2 (capsule)	9.04	505.3	299.1(100)	327.1(86.1)	393.1(32.2)
Didesmethyisibutramine	8.62	252.2	125.0(100)	139.0(73.8)	153.1(31.5)
Other processed products 1 (pill)	8.59	252.2	125.0(100)	139.0(75.9)	153.1(33.1)
Other processed products 2 (pill)	8.60	252.2	125.0(100)	139.0(76.0)	153.1(32.7)

질과 머무름시간이 일치하는 피크들을 관찰할 수 있었고, 각각의 자외선스펙트럼을 표준물질 스펙트럼과 비교한 결과 모두 99% 이상이 일치함을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

LC-MS/MS는 미량 성분의 정량에 유리하고, 특히 정성분석에 탁월하여 기존의 연구들에서 많이 활용되고 있다(11-14,17,19). MS/MS 분석 조건 중 MRM모드는 분석하고자 하는 모분자에 MS 각각의 파라미터를 조정하여 쪼개짐 이온의 감도를 최적으로 높이고, 형성된 이온들의 패턴을 비교하여 분석물질에 대한 높은 특이성을 나타내는 것으로 알려져 있다(20). 시료에서 검출된 화합물로 추정되는 표준용액을 0.1 µg/mL 수준으로 희석하여 MRM조건을 확립하고(Table 5) LC-MS/MS로 분석한 총이온크로마토그램을 Fig. 4에 나타내었다. 시험용액을 표준용액과 같은 수준으로 희석하여 분석한 결과 표준용액과 머무름 시간이 일치하는 피크가 관찰이 되었다. 표준품과 시료에서 검출된 화합물의 MS 데이터를 보면(Table 6), 실데나필은 475.3 m/z의 모분자 이온에서 100.1, 283.1, 311.2 m/z 3개의 쪼개짐 이온을 생성하였고, 나머지 화합물들도 각각의 모분자에서 생성되는 가장 높은 감도를 가진 3개의 쪼개짐 이온을 선택하였으며, 이는 기존의 연구와 일치하는 결과였다(9,10,17).

정성분석에 있어서 중요한 것은 모분자 이온에서 생성된 쪼개짐 이온들의 상대이온세기(relative ion intensity) 편차이다. 국제식품규격위원회(CAC)에 의하면 확인하고자 하는 화합물의 정성적 확인을 위해서는 이온세기 편차의 허용오차 범위를 정하여, 표준품의 이온세기 편차와 시료에서 검출된 화합물의 편차를 비교하도록 하였다. 즉, base peak를 기준으로 이온세기가 50%가 넘는

피크는 허용오차가 20%, 20에서 50% 사이는 허용오차가 25%, 10에서 20%는 허용오차가 30% 이내를 권고하였다(21). Table 6에 나타난 쪼개짐 이온들의 상대이온세기를 보면 표준품과 비교하여 시료에서 검출된 화합물들의 편차가 거의 일치함을 볼 수 있으며, 이는 허용오차 이내로, 정성적으로 시료에서 검출된 화합물과 표준품이 서로 일치한다는 것을 확인할 수 있었다.

요 약

인터넷에서 판매되는 건강기능성표방식품 51개를 구매하여 발기부전치료제 5종과 그 유사물질 29종, 이카린, 요힘빈, 시부트라민 그리고 시부트라민 유사물질인 테스메틸시부트라민, 디데스메틸시부트라민 총 39종의 부정유해물질을 3개의 혼합표준용액으로 만든 후 HPLC를 이용하여 총 50분 동안 이동상 용액 A(5 mM sodium hexanesulfonate와 0.1% phosphoric acid을 함유한 물), B(95% acetonitrile) 두 가지를 기울기 용매 조건으로 분석하였다. 검출된 화합물의 확인을 위하여 LC-ESI-tandem MS의 MRM 조건을 최적화하고 정성분석 한 결과 1개의 홍삼제품과 영양보충용제품 2건에서 실데나필과 슈도바테나필, 디메틸티오실데나필 성분이 1회 복용량당 1.3-82.1 mg 검출되었으며, 2개의 기타가공품에서 부작용이 우려되어 사용이 금지된 시부트라민의 유사물질인 디데스메틸시부트라민이 각각 1회 복용량 당 2.2, 1.7 mg이 검출되었다. 시중에 판매되는 비아그라의 실데나필 1회 최소복용량은 25 mg으로 시료에서의 검출량은 이보다 높은 수준으로 함유되었으며, 의사의 처방 없이 식품 중에 불법적으로 함유된 이

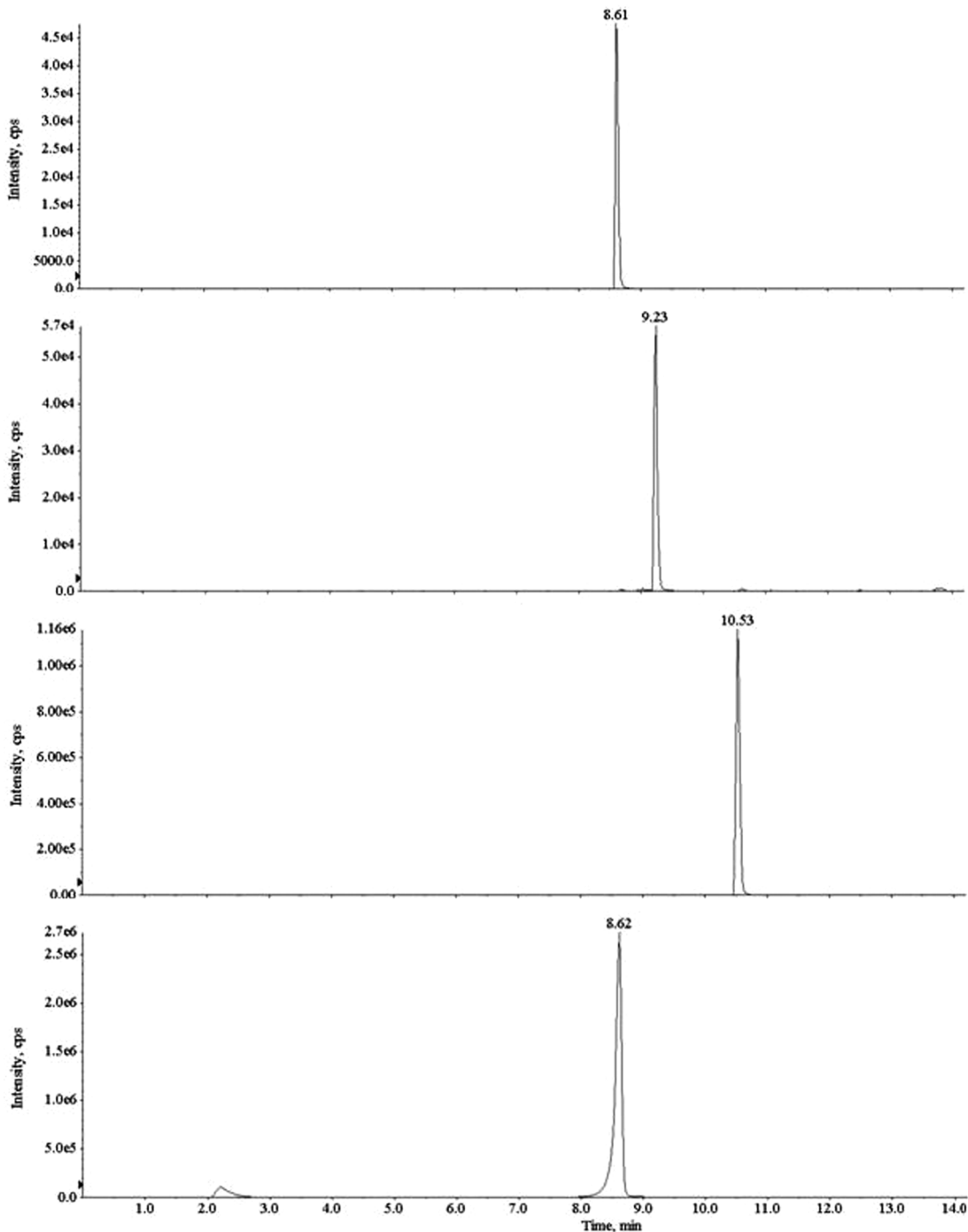


Fig. 4. Total ion chromatograms of sildenafil (RT: 8.61), dimethylthiosildenafil (RT: 9.23), pseudovardenafil (RT: 10.53), and didesmethylsibutramine (RT: 8.62).

들 물질 혹은 이들의 유사물질은 소비자들의 건강상에 문제를 일으킬 수 있으므로, 시중에 유통되는, 더욱이 온라인 상에서 음성적으로 판매되고 있는 건강관련식품에 대한 모니터링이 지속적으로 필요한 실정이다.

문 헌

1. Park YG, Park MY, Sung MK, Kwon HJ. Study on the intake pattern of health intended foods depending on inclusion of proclaimed health functional food materials. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 374-379 (2005)
2. Kim HK. Current status and prospect of nutraceuticals. *Food Indus. Nutr.* 9: 1-14 (2004)
3. Dwyer JT, Allison DB, Coates PM. Dietary supplements in weight reduction. *J. Am. Diet. Assoc.* 105: 80-86 (2005)
4. Choi DM. Structure elucidation and determination of illegal compounds (anti-impotence drug analogues) in foods. *Anal. Sci. Tech.* 21: 65-83 (2008)
5. KFDA. PDE-5 Inhibitors and their analogues detection survey. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 2-4 (2006)
6. MHW. Food Sanitation Law. Ministry of Health and Welfare, Seoul, Korea. pp. 24 (2009)
7. KFDA. Food Code. Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 2-1-15-2-1-19 (2010)

8. Kwon CH, Yoon TH, Oh JH, Lee KH, Choi DM. Elucidation and analysis of desmethylsibutramine in food. *J. Food Hyg. Safety* 25: 30-35 (2010)
9. Ding L, Hao X, Huang X, Zhang S. Simultaneous determination of sibutramine and its *N*-desmethyl metabolites in human plasma by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry Method and clinical applications. *Anal. Chim. Acta* 492: 241-248 (2003)
10. Chen J, Lu W, Zhang Q, Jiang X. Determination of the active metabolite of sibutramine by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 785: 197-203 (2003)
11. Shin MH, Hong MK, Kim WS, Lee YJ, Jeong YC. Identification of a new analogue of sildenafil added illegally to a functional food marketed for penile erectile dysfunction. *Food Addit. Contam.* 20: 793-796 (2003)
12. Zou P, Hou P, Oh SS, Chong YM, Bloodworth BC, Low MY, Koh HL. Isolation and identification of thiohomosildenafil and thiosildenafil in health supplements. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 47: 279-284 (2008)
13. Reepmeyer JC, d'Avignon DA. Structure elucidation of thioke-tone analogues of sildenafil detected as adulterants in herbal aphrodisiacs. *J. Pharmaceut. Biomed.* 49: 145-150 (2009)
14. Reepmeyer JC, d'Avignon DA. Use of a hydrolytic procedure and spectrometric methods in the structure elucidation of a thio-carbonyl analogue of sildenafil detected as an adulterant in an over-the-counter herbal aphrodisiac. *J. AOAC Int.* 92: 1336-1342 (2009)
15. Jang JH, Park KS, Park HK, Koo YE, Choi YJ, Hwang IK, Kim DB. Simultaneous identification/determination system for sildenafil, homosildenafil, vardenafil, and tadalafil as adulterants in foods. *J. Food Hyg. Safety* 18: 195-201 (2003)
16. Choi DM, Im MH, Lee KJ, Kwon KI, Jeong JY, Park GS, Hong MK, Lee CW. Determining Anti-impotence drug-like compounds in food. *Anal. Sci. Tech.* 17: 520-526 (2004)
17. Kim HY, Lee HM, Jang YM, Joo HJ, Jung YH, Lee MS, Park JS, Lee KH. Development of rapid analytical method of forbidden medicines in dietary supplements using LC-ESI-tandem MS. *Korean J. Food Sci. Technol.* 39: 372-379 (2007)
18. AOAC. Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. (2002) Available from: http://www.aoac.org/vmeth/validation_Guidelines.htm. Accessed Aug. 28, 2011.
19. Zhong D, Xing J, Zhang S, Sun L. Study of the electrospray ionization tandem mass spectrometry of sildenafil derivatives. *Rapid Commun. Mass Sp.* 16: 1836-1843 (2002)
20. Myung SW, Park SH, Cho HW. Analysis of sildenafil and its analogues by LC/MS/MS. *Anal. Sci. Tech.* 16: 488-498 (2003)
21. Codex alimentarius commission. Report of the 17th session of the codex committee on residues of veterinary drugs in foods. *Alinorm 08/31/31* (2007) Available from: <http://www.codexalimentarius.net/web/archives.jsp?year=08>. Accessed Aug. 28, 2011.