

기체크로마토그래피를 이용한 식이보충제에서 메틸설폰닐메탄의 검증된 분석법 개발

박상욱¹, 이원재*

Development of a Validated Determination of Methylsulfonylmethane in Dietary Supplement by Gas Chromatography

Sang-Wook Park¹ and Wonjae Lee*

Received: 30 April 2015 / Revised: 4 July 2015 / Accepted: 27 July 2015

© 2015 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: The convenient determination of methylsulfonylmethane (MSM) for a commercially available dietary supplement was developed using gas chromatography (GC)-flame ionization detector (FID). Chromatography was performed on a capillary column (0.32 mm I.D × 30 m, 0.25 μm) coated with dimethylpolysiloxane using diethylene glycol methyl ether as an internal standard. The performance characteristics of GC were evaluated in terms of selectivity, linearity, precision, accuracy, recovery, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ). The calibration curve was highly linear (the coefficient of determination: 0.9979) within the concentration range of 10.0~800.0 μg/mL for MSM. The recoveries for three fortified concentrations were 96.7~97.1%, 96.6~97.3% and 96.8~97.2%, respectively. The LOD and LOQ of the method were 0.29 μg/mL and 0.97 μg/mL, respectively. All obtained results were acceptable according to the guidelines of the Association of Official Analytical Chemists for dietary supplements. Thus, the validated analytical method using the GC-FID system is suitable for the determination of MSM in dietary supplement formulations for quality control.

Keywords: Dietary supplement, Methylsulfonylmethane, Gas chromatography

1. INTRODUCTION

메틸설폰닐메탄 [methylsulfonylmethane (MSM), dimethyl sulfone]은 소나무 (Pine tree, *Pinus sylvestris*)로 펄프를 만들 때 생기는 디메틸설폰사이드 (dimethyl sulfoxide, DMSO)를 산화하여 증류, 정제, 여과, 농축을 거쳐 결정화시킨 유기 황화합물의 식이유향이다 [1]. 어린 식물이나 과일, 채소, 곡물, 동물 등에 존재하며, 해수면 위의 공기층에서 공중부양균인 *Afipia* 세균의 탄소원으로 이용되는 등 자연에 널리 분포되어 있다 [2]. 현재, 우리나라에서는 의약품 원료로 사용할 수 없으나, 기능성원료로서 MSM의 함량이 98% 이상으로 표준화 되도록 규정하고 건강기능식품에 사용할 수 있도록 인정하고 있다 [1]. 또한, 미국, 캐나다 등에서도 건강의 유익을 주는 원료로 승인되어 글루코사민 (glucosamine)과 콘드로이틴 (chondroitin)과 혼합하여 골관절염을 예방하거나 치료의 도움을 줄 수 있도록 식이보충제로 판매되고 있다. MSM을 골관절염 환자들에게 12주간 복용할 경우, 골관절염지수 (Western Ontario and McMaster Universities osteoarthritis index, WOMAC)가 줄었으며 육체적인 기능과 통증에 효과가 있는 것이 보고되었다 [3]. 또한 Herschler [4]는 MSM의 생화학적인 연구에서 환자들에게 의약품과 식이보충제로 사용될 때 점막의 염증, 알리지, 위장에 유용하다고 발표하였다. 그 밖에 Kalman [5] 등은 매일 3.0g의 MSM을 섭취할 경우, 운동 후

조선대학교 약학대학 약학과
College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea
Tel: +82-62-230-6376, Fax: +82-62-222-5414
e-mail: wlee@chosun.ac.kr

¹광주지방식품의약품안전청 유해물질분석과
¹Hazardous Substances Analysis Division, Gwangju Regional Food & Drug Administration, Gwangju 500-580, Korea

근육의 통증과 피로를 줄일 수 있다는 연구결과를 보고하였으며, Barmaki [6] 등은 10일 동안 보충제를 복용하였을 때 항산화 능력의 영향으로 근육의 손상을 줄이는 것을 확인하였다고 발표하였다. 또한 Usha [7] 등은 무작위 조절 시험연구에서 (randomized controlled trials) MSM이 무릎의 퇴행성관절염 통증을 완화시킨다는 결과를 보고하였다. 앞에서 기술한 바와 같이 식이보충제로 MSM이 진통이나 소염, 알러지, 관절염 등 보조치료를 위해 널리 사용되어 왔음에도 불구하고 아직까지 건강기능식품 관리를 위한 검증된 MSM 분석법은 거의 보고되지 아니하였다. Takeuchi [8] 등은 사람의 소변으로부터 디메틸설폭사이드 (dimethyl sulfoxide, DMSO)와 디메틸설포 (dimethyl sulfone, MSM의 old name)을 분석하기 위해서 2,2-디메톡시프로판과 염산을 처리하여 DB-WAX capillary column에서 GC-MS로 분석하는 방법을 개발하였으나, 전처리 방법이 복잡하여 정확성이 낮고, 제안한 분석법 자체가 검증되지 않았다. 아주 최근에 Šatínský [9] 등은 복합 식이보충제중에 MSM 성분만을 fused silica cyanopropylphenylmethylpolysiloxane의 Alltech AT column에서 GC-FID로 분석하여 직선성, 정확성, 반복정밀성, 검출한계, 정량한계를 구하는 분석법을 보고하였다. 하지만 이는 복합 식이보충제로 사용된 MSM을 quality control하기 위한 분석연구이었고, 식이보충제 분석법 검증을 위해 제정된 Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 가이드라인을 따라 검증하지는 않았다 [10]. 그래서 검체 증량과 기질변화에 대한 반복정밀성, 고농도에서의 회수율 시험등을 수행하지 않았고, GC 분석조건에서는 분석 온도를 190°C로 일정하게 유지함으로써 시험액으로부터 오염물질이 컬럼에 침적되는 현상을 충분히 고려하지 않았다. 결국 시험자, 환경, 시험과정 설계 등의 내외부 요인에서 발생하는 시험방법의 불완전성을 보완하기 어려운 한계를 가지고 있으며 또한 연구결과에서도 검출한계, 정량한계도 상당히 낮은 결과를 보여주고 있다. 이외에도 적포도주나 생체 귀지 (cerumen)에 함유된 MSM 분석을 위해 silica fused Stabilwax-DA 컬럼을 사용하여 GC-MS 분석법으로 보고된 적이 있지만 이들 분석방법은 식이보충제로 사용되는 MSM 분석으로 사용되기는 편리하지 않아 적절하지 않다 [11,12]. 따라서 본 연구에서는 MSM 기능성원료를 이용하여 다양한 제형으로 만들어져 판매되고 있는 건강기능식품을 대상으로 Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 가이드라인 [10]의 검증절차에 따라 적합성, 최적성, 안정성을 고려한, 편리하면서도 최적의 검증된 분석방법을 개발하여 식이보충제 MSM의 기준 및 규격관리와 관련된 중요자료로 활용하고자 하였다 [13].

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. 실험재료

표준물질인 MSM과 내부표준물질 (IS)인 디에틸렌글리콜 메틸에테르 (diethylene glycol methyl ether)는 Sigma-Aldrich사

(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, 메탄올은 Merck사 (Darmstadt, Germany)로부터 HPLC급을 구입하여 사용하였다. 본 연구에서 사용한 시료는 국내 대형 마트에서 직접 구입했으며, 제형과 원료형태에 따라 MSM1, MSM2 및 MSM3로 구분하여 사용하였다.

2.2. 표준용액 및 내부표준용액 조제

내부표준용액은 디에틸렌글리콜 메틸에테르를 메탄올에 녹여 20 mg/mL가 되도록 한다. 표준용액은 표준물질 MSM 100 mg을 정밀하게 달아 메탄올 100 mL에 녹여 표준원액으로 하고 이 표준원액을 100 mL 부피플라스크에 취하고 내부표준용액 1.0 mL씩 가하여 메탄올으로 표선까지 맞춘 것을 표준용액으로 한다.

2.3. 시험용액의 조제

제형이나 기질이 다른 3개의 표본시료 (MSM1, MSM2, MSM3)를 대상으로 캡슐제는 캡슐을 제거한 후 균질화기로 완전히 균질화시키며, 정제는 막자사발을 이용하여 완전히 분쇄한 후 균질화기로 균질화시킨 것을 사용하였다. 그리고 시료 일정량을 100 mL 용량플라스크에 취하고 내부표준용액 1 mL를 넣은 후 메탄올 50 mL를 넣은 후 마개를 닫고 50°C에서 10분간 초음파추출한다. 추출 후 즉시 실온 온도로 식히고 메탄올으로 정용한다. 추출액을 실린지용 필터(0.45 µm)로 여과하여 시험용액으로 한다.

2.4. 기기 분석조건

기능 (지표)성분을 분석하기 위해 불꽃이온화검출기 (flame ionization detector, FID)가 달린 가스크로마토그래피 6890 기기 (Agilent Tech., CA, USA)를 사용하였으며, 컬럼은 DB-1 capillary column (0.32 mm I.D. × 30 m, 0.25 µm, dimethylpolysiloxane, Agilent Tech., CA, USA)을 사용하였다. 캐리어 가스는 질소를 사용하였고, 유속은 분당 1.0 mL로 분석했으며 기타 분석조건은 Table 1과 같다.

2.5. 시험방법의 검증

2.5.1. 적용성 (applicability)

서로 다른 기질의 표본시료에 대하여 최적의 분리능을 결정하기 위해서 AOAC 가이드라인 [10]의 신뢰도 특성 (reliabi-

Table 1. GC conditions for analysis of MSM

| Items | Conditions |
|----------------|---|
| Column | DB-1 Capillary column (0.32 mm I.D × 30 m, 0.25 µm, dimethylpolysiloxane) |
| Carrier gas | Nitrogen |
| Flow rate | 1.0 mL/min |
| Injector temp. | 250°C |
| Detector temp. | 300°C |
| Oven temp. | 60°C (4 min) → (8°C/min) → 120°C (3 min) |
| Split ratio | 25:1 |
| Injection vol. | 1 µL |

lity characteristics)에서 제안하고 있는 정확성, 반복정밀성, 측정불확도, 재현정밀성, 중간 정밀성, 정량한계, 검출한계 등을 제시하여 표현하였다.

2.5.2. 선택성(selectivity)

선정된 표본시료에서 잔존하는 방해물질 (interference)을 제거함과 동시에 지표 (기능)성분을 효과적으로 추출할 수 있는 방법을 제시하며, 크로마토그래피를 이용하여 최적의 상태로 정량화 할 수 있는 정도, 즉, 분리능으로 선택성을 평가하였다.

2.5.3. 직선성(linearity)

표준용액을 이용하여 표본시료가 포함될 수 있는 농도범위를 선정하고 농도와 기기 반응 시그널간의 함수 관계를 그래프로 나타내었다. 선형성의 적절성을 판단하기 위해서 결정계수 (coefficient of determination)를 나타내는데 본 연구에서는 AOAC 가이드라인 [10]에서 제안하고 있는 결정계수가 0.99 이상인지를 확인하였다.

2.5.4. 정확성(accuracy)

시료가 전체 시험법을 거쳐 회수되는 백분율을 보았으며, 표준물질 첨가법에 따라 단일 분석용액에 대해 측정하고 같은 수준 및 원래 수준의 2배 또는 3배의 표준분석물을 추가하여 확인하였다.

$$\text{Recovery (\%)} = (C_f - C_u) \times 100 / C_a$$

C_f = Concentration of the fortified in test sample

C_u = Concentration of the unfortified in test sample

C_a = Calculated(not analyzed) concentration of analyte added to the test sample

2.5.5. 검출한계 (limit of detection, LOD) 및 정량한계 (limit of quantitation, LOQ)

검출한계 및 정량한계는 공시료 (blank)의 측정값에 공시료의 표준편차를 3배를 더한 값을 검출한계로 했으며, 표준편차를 10배를 더한 값을 정량한계로 하고, 그 식은 다음과 같다.

$$\text{LOD} = X_{\text{BI}} + 3S_{\text{BI}}$$

$$\text{LOQ} = X_{\text{BI}} + 10S_{\text{BI}}$$

X_{BI} = Blank value

S_{BI} = Standard deviation of the blank

2.5.6. 반복정밀성 (repeatability precision)

짧은 시간 내에 동일한 분석자, 시약, 장비, 기구 등 조건이 동일하게 유지되는 상태에서 서로 다른 기질, 농도, 시간에서 동시 반복을 수행하였다. 5번의 반복실험을 통해 얻어진 값으로 다양한 반복 표준 편차를 구하고 허용범위 결정은 질량 백분율 (mass fraction, C)을 $\text{RSDr} = C^{-0.15}$ 의 식에 따라 결정하였다. 이로부터 계산된 값을 측정된 반복성의 RSDr 값과 HORRATr 공식 [10]에 의해 비교하여 0.5~2.0 사이에 존재할 경우 동일한 조건에서의 반복실험에 문제가 없는지를 확인하였다.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. 적용성

국내 유통 중인 MSM 보충제에 대하여 전체 시료를 대표할 수 있는 서로 다른 속성 (제형, 원료특성 등)의 3개 표본시료 (MSM1, MSM2, MSM3)을 선정하여 분석법 검증을 수행했으며, 시료의 MSM 성분량과 부원료의 정보는 Table 2과 같다.

3.2. 선택성

분석법 검증실험의 선택성을 확인하기 위하여 MSM 표준품과 시료에서의 분리도 및 머무름 시간을 확인하였다. Fig. 1의 A는 표준물질 MSM과 내부표준물질 (IS)을 혼합한 용액을 분석한 크로마토그램이며, B는 MSM1과 IS를 동일조건으로 분석한 크로마토그램이다. 또한 C는 B시료에 표준물질 MSM을 spiking한 후 동일조건으로 분석한 크로마토그램인데 Fig. 1 전체에서 MSM 성분과 IS의 머무름시간이 서로 일치함을 알 수 있다. 또한 분리능 (resolution, R_s)을 확인하기 위하여 시료용액 중의 두 개의 피크의 머무름시간 t_1 과 t_2 의 분리 시간적 거리와 두 개의 피크 폭 W_1 과 W_2 를 조사한 결과 5.8로 나타남으로서 AOAC 가이드라인 [10]에서 제시하는 최소 1.0 이상의 분리능을 가짐을 확인할 수 있었다.

3.3. 직선성

표준용액 7개의 농도로 적절히 희석하여 10.0, 25.0, 50.0, 100.0, 200.0, 400.0, 800.0 $\mu\text{g/mL}$ 농도에 대한 직선성을 검토

Table 2. Description of the commercially available MSM samples used in this study

| Sample | Formulation | Dosage form | Source |
|--------|--|-------------|--------|
| MSM1 | 62.5% MSM plus other ingredients ¹⁾ | Tablet | Korea |
| MSM2 | 54% MSM plus other ingredients ²⁾ | Capsule | Korea |
| MSM3 | 53.6% MSM plus other ingredients ³⁾ | Tablet | Korea |

¹⁾Glucosamine hydrochloride, Microcrystalline cellulose, Coral calcium, Shark cartilage.

²⁾Mixed lactose powder, N-acetylglucosamine, Coral calcium, Fish collagen.

³⁾N-acetylglucosamine powder, Shark cartilage powder, Hydroxypropylmethyl cellulose, Magnesium stearate.

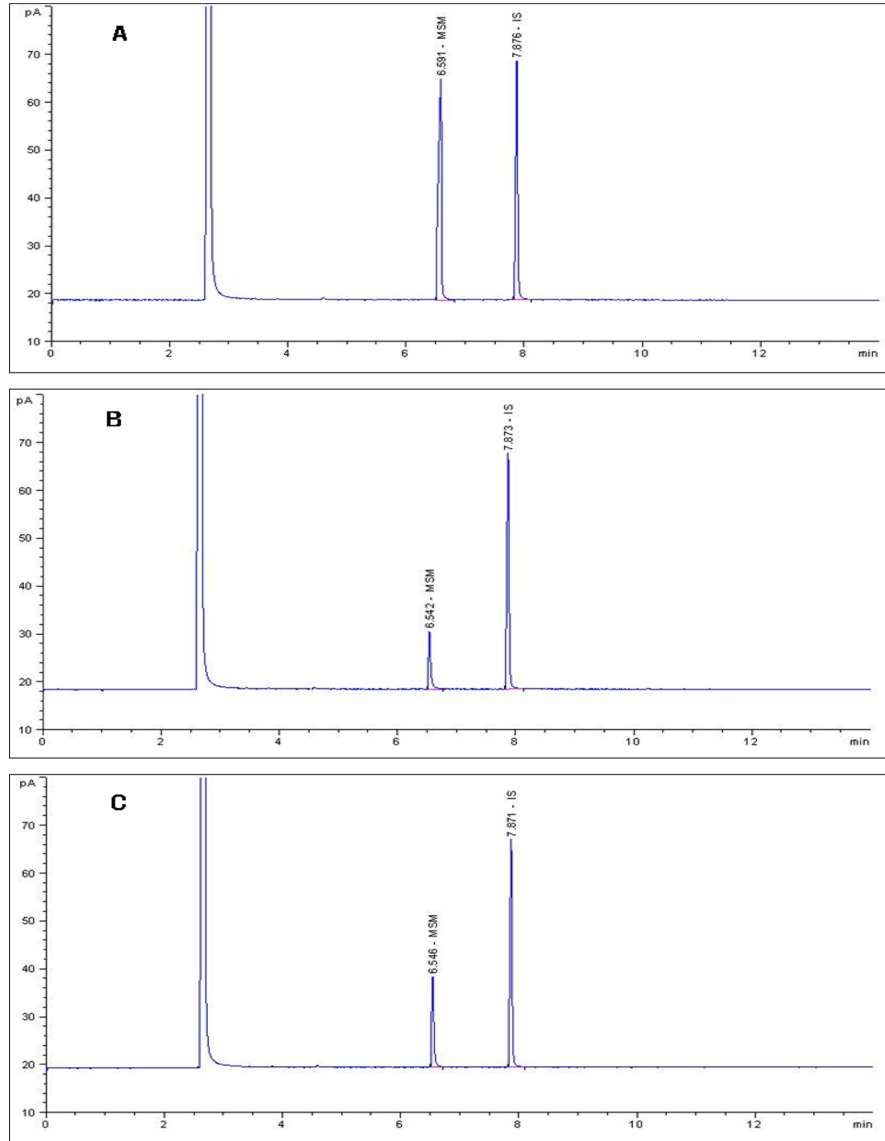


Fig. 1. GC chromatograms of MSM in dietary supplement [A: standard MSM (6.59 min.) and IS (diethylene glycol methyl ether, 7.88 min), B: MSM1 sample and IS, C: MSM1 sample and IS spiked with standard MSM].

했으며, 시험시 나타날 수 있는 오차범위를 확인하기 위하여 각 농도에 대해서 3회 반복 실험을 수행했다. 그 결과 직선성 결정계수는 0.9997로 AOAC 가이드라인 [10]에서 요구하는 결정계수 0.95 이상을 만족함을 확인하였다 (Fig. 2).

3.4. 함량측정과 반복정밀성

3.4.1. 검체량 변화에 대한 반복정밀성

검체량의 변화에 대한 반복 정밀성을 확인하기 위하여 표본 시료 MSM1을 3개의 농도 (616.1 mg/g×1배, 2배 및 3배로 늘리고 각각에 대해서 5회 반복 측정했다. 그 결과 Table 3에서 보여주고 있는 바와 같이, 표본시료에서의 MSM1 함량은 1 배로 증량할 경우 61.6%, 2배에서 59.8%, 3배에서는 60.4%로 나타났으며, 평균 MSM 함량은 60.6%로 확인되었다. 또

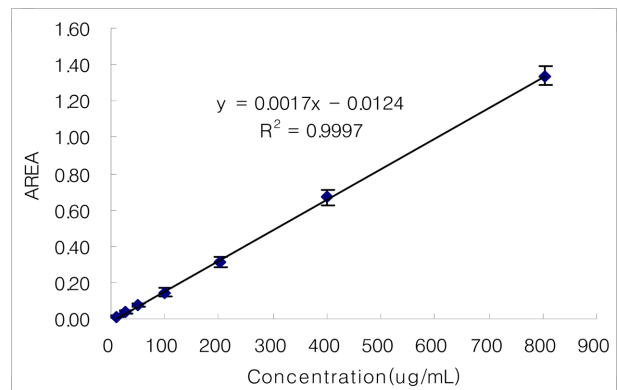


Fig. 2. Calibration curve of MSM (n=3).

Table 3. Repeatability precision data for different sample amounts of MSM1 (n=5)

| Treatment | Different sample amounts of MSM1 ¹⁾ | | |
|-------------------------------------|--|-------|-------|
| | 1× | 2× | 3× |
| Mean (mg/g) | 616.1 | 597.7 | 604.1 |
| Mean (%) | 61.6 | 59.8 | 60.4 |
| S.D. | 6.2 | 5.5 | 8.4 |
| RSD (%) | 1.0 | 0.9 | 1.4 |
| Acceptable values (%) ²⁾ | 0.3~1.1 | | |

¹⁾Known amounts (1-3 times) of MSM1 were used.

²⁾Acceptable values proposed by AOAC guideline [10].

한 각각의 증량에 대한 상대표준편차는 1.0%, 0.9%, 1.4%로 나타났으며, 평균 함량값을 이용하여 AOAC 가이드라인 허용범위를 확인한 결과 0.3~1.1로 확인되었다 [10]. 따라서 시료 검체량의 변화에 따른 반복정밀성은 시료량의 변화를 616.1 mg/g×1배 및 2배까지 늘리더라도 동일한 조건에서의 반복실험에 문제가 없다는 것을 알 수 있었으나, 시료량의 변화를 3배로 했을 경우에는 AOAC에서 제안하는 허용범위를 초과하는 것으로 보아 반복정밀성은 시료량의 영향을 받는다는 것을 알 수 있었다.

3.4.2. 시료 기질변화에 대한 반복정밀성

시료 기질변화에 대한 반복 정밀성을 확인하기 위하여 서로 다른 기질을 가지고 있는 표본시료 3개 (MSM1, MSM2, MSM3)를 각각 5회 반복 실험하였다. 그 결과 Table 4에서 보여주고 있는 바와 같이, MSM 함량이 MSM1 시료에서는 61.6%, MSM2 시료에서는 47.9%, MSM3 시료에서는 49.6%로 나타났다. 이러한 결과 값을 이용하여 허용범위를 확인한 결과 3개의 표본시료에서 모두 0.3~1.1%이었다 [10]. 산출된 허용범위를 이용하여 각 표본시료의 상대표준편차가 허용범위에 포함되는지를 확인한 결과 MSM1은 1.0%, MSM2와 MSM3은 1.1%로 나타남에 따라 서로 다른 기질을 가지고 있는 표본시료의 반복정밀성은 동일한 조건에서의 문제가 없다는 것을 확인할 수 있었다.

3.4.3. 분석시간별 반복정밀성

분석 시간의 변화에 대한 반복정밀성을 확인하기 위하여 균질화시킨 시료 MSM1을 4°C 냉장실에 보관하면서 0h, 24h,

Table 4. Repeatability precision data for different sample matrices of MSM (n=5)

| Treatment | Several MSM dietary supplement formulations | | |
|-------------------------------------|---|---------|---------|
| | MSM1 | MSM2 | MSM3 |
| Mean (mg/g) | 616.1 | 479.4 | 495.8 |
| Mean (%) | 61.6 | 47.9 | 49.6 |
| S.D. | 6.2 | 5.1 | 5.3 |
| RSD (%) | 1.0 | 1.1 | 1.1 |
| Acceptable values (%) ¹⁾ | 0.3~1.1 | 0.3~1.1 | 0.3~1.1 |

¹⁾Acceptable precision values proposed by AOAC guideline [10].

Table 5. Repeatability precision data at changed analysis time (n=5)

| Treatment | Different analysis times of MSM1 | | |
|-------------------------------------|----------------------------------|-------|-------|
| | 0h | 24h | 48h |
| Mean (mg/g) | 616.1 | 606.0 | 607.2 |
| Mean (%) | 61.6 | 60.6 | 60.7 |
| Inter-day S.D. | 6.2 | 6.6 | 6.6 |
| Inter-day RSD (%) | 1.0 | 1.1 | 1.1 |
| Intra-day RSD (%) | 0.9 | | |
| Acceptable values (%) ¹⁾ | 0.3~1.1 | | |

¹⁾Acceptable values proposed by AOAC guideline [10].

48h마다 시험조작을 5회 반복 실험하였다. 그 결과 Table 5에서 보는 바와 같이, MSM 함량이 0h에서는 61.6%, 24h에서는 60.6% 및 48h에서는 60.7%로 나타났으며, 상대표준편차는 각각 0h은 1.0%, 24h과 48h은 1.1%로 확인 되었다. 5회 반복 측정을 통해 확인한 함량 측정값을 이용하여 허용범위를 확인한 결과, 시간별 상대표준편차와 intra-day RSD%가 모두 허용범위를 만족함을 알 수 있었다 [10]. 따라서 동일한 조건에서 분석시간을 달리하더라도 본문에서 제시하는 시험방법의 반복정밀성은 문제가 없다는 것을 확인할 수 있었다.

3.5. 정확성

3개의 표본시료 (MSM1, MSM2, MSM3)에 대하여 각각의 함량측정값의 1배, 2배 및 3배가 되도록 일정량의 MSM 표준용액을 첨가하였고, 5회 반복실험을 통하여 평균 회수율을 측정하였다. 그 결과 Table 6에서 보여주고 있는 바와 같이, 3개의 표본시료에서의 회수율이 각각 96.7~97.1%, 96.6~97.3%,

Table 6. Accuracy data at fortified concentration of MSM1-3 (n=5)

| Treatment ¹⁾ | Fortified Concentration MSM1 | | | Fortified Concentration MSM2 | | | Fortified Concentration MSM3 | | |
|-------------------------------------|------------------------------|-------|-------|------------------------------|-------|-------|------------------------------|-------|-------|
| | (µg/mL) | | | (µg/mL) | | | (µg/mL) | | |
| | 125.4 | 250.8 | 376.2 | 108.3 | 216.6 | 324.9 | 108.3 | 216.6 | 324.9 |
| Mean (%) | 97.1 | 97.3 | 97.0 | 97.1 | 96.6 | 97.2 | 96.7 | 96.7 | 96.8 |
| S.D. | 0.7 | 1.3 | 1.4 | 2.1 | 2.2 | 2.0 | 1.6 | 2.4 | 1.6 |
| RSD (%) | 0.7 | 1.4 | 1.4 | 2.2 | 2.3 | 2.1 | 1.6 | 2.5 | 1.7 |
| Acceptable values (%) ²⁾ | 96.8~101.4 | | | 96.4~101.5 | | | 96.5~101.5 | | |

¹⁾Known concentrations (1-3 times of each MSM content) of standard MSM were added to the corresponding MSM1-3 samples for fortified concentrations.

²⁾Acceptable values proposed by AOAC guideline [10].

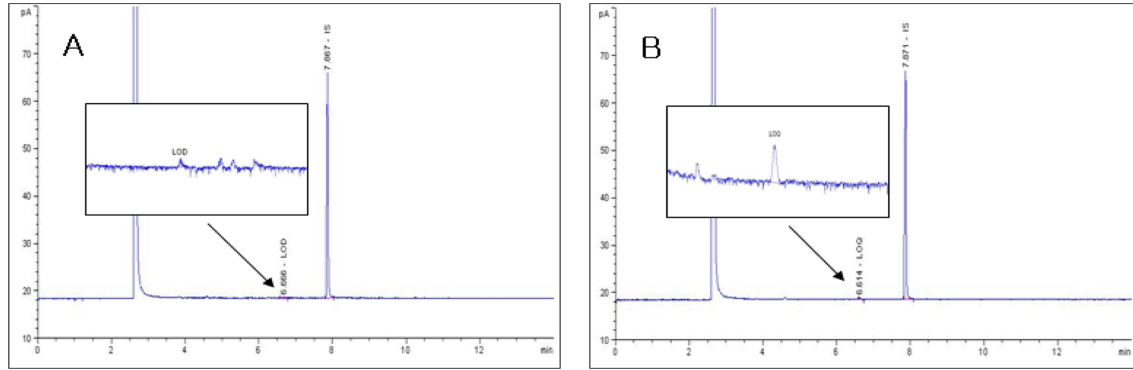


Fig. 3. GC chromatograms of MSM for LOD (0.29 µg/mL) (A) and LOQ (0.97 µg/mL) (B).

96.8~97.2%로 나왔으며, 상대표준편차는 0.7~2.2%, 1.4~2.5%, 1.4~2.1%로 나타났다. 이러한 결과는 AOAC 가이드라인 [10]에서 제시하고 허용범위에 모두 포함되는 것으로서 동 시험법에 대하여 서로 다른 기질을 가진 시료에 대하여 정확성에 문제가 없다는 것을 알 수 있었다.

3.6. 검출한계 및 정량한계

검출한계 및 정량한계를 구하기 위하여 표본시료를 분석한 크로마토그램에서 기능(지표)성분이 위치하는 곳의 노이즈(noise)값을 10회 측정값으로부터 표준편차를 구하고 3배를 더한 값을 검출한계, 10배를 더한 값을 정량한계로 하였다. 그 결과 검출한계는 0.29 µg/mL이며, 정량한계는 0.97 µg/mL로 나타났다 (Fig. 3). 본 분석법의 검출한계와 정량한계 결과를 최근에 발표된 복합 식이보충제 중 MSM을 GC-FID로 분석한 Šatinský [9] 등의 실험결과와 (검출한계: 7.1 µg/mL, 정량한계: 23.5 µg/mL) 비교해 볼 때 상당히 좋은 결과임을 보여주고 있다.

4. CONCLUSION

본 연구에서는 MSM 식이보충제로부터 지표성분인 MSM을 GC-FID로 간편하게 분석하는 방법을 개발하였고, AOAC 가이드라인 [10]에서 제안하는 성능특성으로 본 분석법을 검증하였다. 그 결과 선택성에서 분리능은 5.8로 가이드라인에서 요구하는 1.0 이상을 만족했으며, 직선성은 7개의 농도범위 10.0~800.0 µg/mL에서 결정계수가 0.9997으로 확인되었다. 그리고 정확성을 확인하기 위하여 3개의 표본시료 (MSM1-3)에서 산출된 함량 측정값을 이용하여 허용범위를 설정한 후 따로 표준물질 첨가법에 따라 농도별 회수율을 확인한 결과 각각 96.7~97.1%, 96.6~97.3%, 96.8~97.2%를 보여주어 가이드라인의 허용범위를 모두 만족함을 알 수 있었다. 또한 반복정밀성을 확인하기 위하여 MSM1의 표본시료를 각각 616.1 mg/g×1배, 2배, 3배로 증량하여 5회 반복측정한 결과, 616.1 mg/g×1배와 2배는 가이드라인 허용범위를 만족하였

으나, 3배로 증량할 경우 허용범위를 벗어나는 것을 확인하였다. 그리고 기질에 대한 반복 정밀성을 확인하기 위해 3개의 표본시료를 대상으로 MSM을 5회 반복측정한 결과 상대표준편차가 각각 1.0%, 1.1%, 1.1%로 확인되었고 허용범위인 0.3~1.1%를 모두 만족했다. 분석시간별 반복정밀성 시험에서는 표준시료 MSM1을 대상으로 0h, 24h, 48h 반복측정한 결과, 시간별 상대표준편차와 intra-day 상대표준편차가 모두 허용범위인 0.3~1.1%로 만족함을 알 수 있었으며, 검출한계와 정량한계는 각각 0.29 µg/mL와 0.97 µg/mL로 확인되었다.

REFERENCES

1. Korea's Ministry of Food and Drug Safety, Information for health functional food. <http://www.foodnara.go.kr/hfood/>. (2008).
2. Natasha, D. R., T. L. Lathem, L. M. Rodriguez-R, J. M. Barazesh, B. E. Anderson, A. J. Beyersdorf, L. D. Ziemba, M. Bergin, A. Nenes, and K. T. Konstantinidis (2012) Microbiome of the upper troposphere: Species composition and prevalence, effects of tropical storms, and atmospheric implications. *Natasha Leon-Rodriguez*. 110: 2575-2580.
3. Kim, L. S., L. J. Axelrod, P. Howard and N. Buratovich (2006) Efficacy of methylsulfonylmethane (MSM) in osteoarthritis pain of the knee: a pilot clinical trial. *Osteoarthr. Cartil.* 14: 286-294.
4. Herschler, R. J. (1985) Dietary and pharmaceutical uses of methylsulfonylmethane and compositions comprising it. *USP 4,514,421*.
5. Kalman, D. S., F. Samantha, R. S. Andrew, R. K. Diane and J. B. Richard (2012) Influence of methylsulfonylmethane on markers of exercise recovery and performance in healthy men: a pilot study. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 9: 46-56.
6. Barmaki, S., S. Bohlooli, F. Khoshkharesh and R. B. Nakhostin (2012) Effect of methylsulfonylmethane supplementation on exercise - Induced muscle damage and total antioxidant capacity. *J. Artic. Randomized Control Trial.* 52: 170-174.
7. Usha, P. R and M. U. R. Naidu (2004) Randomised, double-blind, parallel, placebo-controlled study of oral glucosamine, methylsulfonylmethane and their combination in osteoarthritis. *Clin. Drug*

- Invest.* 24: 353-363.
8. Takeuchi, A., S. Yamamoto, R. Narai, M. Nishida, M. Yashiki, N. Sakui, and A. Namera (2010) Determination of dimethyl sulfoxide and dimethyl sulfone in urine by gas chromatography-mass spectrometry after preparation using 2,2-dimethoxypropane. *Biomed. Chromatogr.* 24: 465-471.
 9. Šatínský, D., M. Pospilov, and R. Sladkovsk (2014) A new gas chromatography method for quality control of methylsulfonylmethane content in multicomponent dietary supplements. *Food Anal. Methods* 7: 1118-1122.
 10. Association of Official Analytical Chemists. AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. <https://www.yumpu.com/en/document/view/11700995/aoac-guidelines-for-single-laboratory-validation-of-chemical.htm> (2000).
 11. Ferreira, A. C. S., P. Rodrigues, T. Hogg, and P. G. De Pinho (2003) Influence of some technological parameters on the formation of dimethyl sulfide, 2-mercaptoethanol, methionol, and dimethyl sulfone in port wines. *J. Agric. Food Chem.* 51: 727-732.
 12. Prokop-Prigge, K. A., E. Thaler, C. J. Wysockia, and G. Preti (2014) Identification of volatile organic compounds in human cerumen. *J. Chromatogr. B*, 953: 48-52.
 13. Korea's Ministry of Food and Drug Safety, Notice #2013-186, "Standard and specification for health functional food". <http://www.mfds.go.kr/daegu/index.do?mid=26&seq=20854&cmd=v> (2013).