



건강기능식품에서 LC-MS/MS를 이용한 코엔자임Q10 분석법 연구

이진희 · 오미현*

경인지방식품의약품안전청 수입식품분석과

Analytical Method Development for Determination of Coenzyme Q10 by LC-MS/MS in Related Health Functional Foods

Jin Hee Lee, Mihyune Oh*

Imported Food Analysis Division, Gyeongin Regional Office of Food and Drug Safety, Incheon, Korea

(Received September 20, 2019/Revised October 2, 2019/Accepted October 28, 2019)

ABSTRACT - The Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) is amending its test methods for health functional foods (dietary food supplements) to establish regulatory standards and specifications in Korea. In this regard, we are continuing our research on analytical method development for the items listed in the Korean Health Functional Food Codex. In this study, we have developed a sensitive and selective test method that could simultaneously separate and determine coenzyme Q10 based on liquid chromatographic-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Calibration curves showed linearity with a correlation coefficient (R^2) of > 0.999 and the limits of detection (LODs) and limits of quantitation (LOQs) were in the range of 26.0 $\mu\text{g/L}$ and 78.9 $\mu\text{g/L}$, respectively. The recovery results ranged between 98.6-107.0% at 3 different concentration levels with relative standard deviations (RSDs) less than 5%. The proposed analytical method was characterized with high resolution of the coenzyme Q10 and the assay was fully validated as well.

Key words : Coenzyme Q10, Analytical method, LC-MS/MS, Health functional food

우리나라 건강기능식품은 2004년부터 「건강기능식품에 관한 법률」로 관리되고 있으며, 28종의 영양성분과 인삼 등 기능성원료 68종을 건강기능식품 공전에 수재하였다¹⁾. 2012년 건강기능식품의 생산 및 수입실적 규모는 2조 7,047 억원으로 전년대비 3.9% 성장하였다²⁾. 시장규모 성장과 더불어 건강기능식품의 유형, 형태 등의 다양성이 증가하고 있어 식품의약품안전처(이하 식약처)에서는 우수한 건강기능식품이 제조·공급될 수 있는 환경을 조성하고 삶의 질 향상 등 국민 건강증진을 위한 다양한 정책과 제도를 마련하여 시행하고 있다.

코엔자임Q10은 1957년 소의 심장에서 발견된 보조효소이며 세포막에 결합되어 있는 전자전달계의 필수적인 지질계 화합물이다³⁻⁷⁾. 유비퀴논(ubiquinone) 또는 유비데카레논(ubidecarenone)으로도 알려져 있고 비타민 유사작용인자, 비타민Q라고도 불린다. 물리적 특성으로는 황색의 결

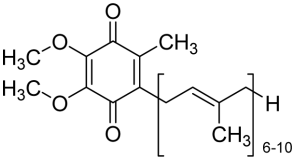
정성 퀴논화합물이며, 냄새나 맛은 없고 지용성 비타민 E, K와 비슷한 화학구조를 가진 지용성 물질로서 물에 거의 녹지 않는다(Table 1). 생리적으로는 항산화, plasma membrane에서 지방과 산화 방지, 편두통 및 심혈관질환 완화 등의 효능이 알려져 있다⁸⁻¹²⁾.

「건강기능식품공전」에 고시된 코엔자임Q10은 아그로박테륨 투메파시엔스(*Agrobacterium tumefaciens*), 파라콕커스 데니트리피칸스(*Paracoccus denitrificans*), 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 등의 배양산물을 헥산, 아세톤, 이소프로필알코올, 초산에틸로 추출하고 이를 농축 또는 정제하여 제조한다. 그 기능성은 “항산화·높은 혈압 감소에 도움을 줄 수 있음”으로, 일일섭취량은 “코엔자임Q10으로서 90-100 mg”으로 기재되어 있다. 기능성원료의 기능성분(또는 지표성분)의 함량은 코엔자임Q10(Coenzyme Q10)이 900 mg/g 이상이 함유되도록 규정되어 있으며, 시험법으로는 액체크로마토그래프(HPLC-UV)를 이용한 정량법이 수재되어 있다¹³⁾.

최근에는 건강기능식품 시장에서 다양한 식품원료가 혼합된 복합제품 개발이 활발하게 추진되고 있으며, 정제, 캡슐, 과립 등 12개 제형 이외 일반 식품 형태로도 확대

*Correspondence to: Mihyune Oh, Senior scientific officer, Gyeongin Regional office of Food and Drug Safety, 137, Juang-ro, Michuhol-gu, Incheon 22133, Korea
Tel: 82-32-450-3361, Fax: 82-32-442-4622
Email: mihyuneoh@korea.kr

Table 1. Molecular Structure of coenzyme Q10

Structure	Molecular formula	Molecular weight	CAS number
	$C_{59}H_{90}O_4$	863.37	303-98-0

되고 있다. 이러한 다양한 제품 중 특정 기능성분의 함량을 정확하게 측정하는 것은 건강기능식품의 품질관리를 위해서 반드시 요구되며 지속적인 시험법 개발이 필요하다.

공정서 수재현황에 따르면, 코엔자임Q10은 「건강기능식품공전」과 「대한민국약전」, 「미국약전(USP)」, 「유럽약전(EP)」 등에 등재되어 있다. 함량시험에서는 공통적으로 코엔자임Q10을 헥산·무수에탄올(5 : 2)혼합액으로 초음파진탕기로 추출용해하고 1% 무수염화제이철용액 및 무수에탄올로 희석하여 시험용액을 조제한다. 시험용액과 표준액은 액체크로마토그래프/자외분광광도검출기를 이용하여 275 nm(건기공전, USP, EP) 또는 280 nm(대한약전)에서 분석한다¹⁴⁻¹⁷⁾.

문헌으로 질량분석기(LC-MS/MS)를 이용한 분석법을 검토한 결과 혈장, 혈청, 유제품, 담뱃잎, 버섯 중 코엔자임Q10을 시험한 자료가 보고되어 있었다¹⁸⁻²¹⁾. Giacomo 등은 건강한 지원자들을 대상으로 식이조절한 후 혈장 중 코엔자임Q10을 메탄올과 헥산으로 추출하여 UPLC-MS/MS로 분석한 결과를 보고하였다¹⁸⁾. Ruiz-Jimenez 등은 혈청에서 ubiquinol-10과 ubiquinone-10을 LC-MS/MS로 분석하고 산화스트레스의 지표로 사용할 수 있는 비율을 제안하였다¹⁹⁾. Yuangang 등은 담배 잎에서 코엔자임Q10을 무수에탄올로 추출하고 LC-MS/MS를 이용한 분석법을 제안하였다²⁰⁾.

주로 혈장 등의 생체시료에서 분석한 경우는 있었으나 건강기능식품 등의 품질관리를 위한 분석법을 제안한 경우는 없었다. 본 연구에서 다양한 복합제품의 건강기능식품 중 LC-MS/MS를 이용하여 코엔자임Q10 정성 및 정량 분석법을 시도하였다.

계속적으로 늘어나는 건강에 대한 관심과 심혈관계 질환 등으로 우리나라에서 뿐 아니라 일본, 미국 등에서도 건강기능식품 코엔자임Q10 소비가 해마다 늘어나고 있다. 이에 따라 다양한 제품이 개발되고 있으며 광범위하고 다양한 매트릭스에서 정확하게 분석하는 정성·정량 분석법 개발이 요구되고 있다.

이에 본 연구에서는 다양한 매트릭스와 다성분 복합제품 등을 고려한 코엔자임Q10 분석법을 연구개발 하였으며, 그 결과를 토대로 건강기능식품 품질관리의 효율성 및 신뢰성을 확보하고 국민건강에 이바지하고자 하였다.

Materials and Methods

실험재료

시험법 적용성평가를 위하여 국내에서 건강기능식품으로 유통되고 있는 코엔자임Q10 캡슐 제품 14건을 구입하여 검체로 사용하였다. 대상제품은 코엔자임Q10 기능성 원료를 주원료로 함유하며 그 기능성과 함량을 「건강기능식품 표시기준¹⁾」에 따라 표기한 것으로 하였다.

정확도를 위한 회수율시험에서는 제품에 사용되는 부형제의 영향을 확인하기 위하여 코엔자임Q10을 함유하지 않은 건강기능식품으로 비타민 C 함유 제품을 선정하고 구입하여 시험에 사용하였다.

표준품 및 시약

본 연구에 사용한 표준물질 코엔자임Q10(coenzyme Q10)과 개미산은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사의 제품을 사용하였고, 아세토니트릴, 이소프로필알콜은 Merck사(Darmstadt, Germany)로부터, 이동상조제용으로는 HPLC급으로 구입하여 사용하였다.

분석장비

시험분석을 위해 사용된 액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS)는 Waters사(Milford, MA, USA)의 ACQUITY UPLC System이 결합된 QUATTRO MICRO tandem 사중극자 질량분석기를, 분석용 칼럼으로는 Acquity UPLC® BEH C₁₈(100 mm × 2.1 mm(i.d), 1.7 μm, waters)를 사용하였다.

표준용액의 조제

코엔자임Q10 표준물질 10 mg을 정밀히 달아 10 mL 부피플라스크에 넣고 헥산·무수에탄올(5 : 2)혼합액으로 용해한 후 표준원액으로 하였다. 표준원액을 희석용매를 이용하여 적절하게 희석하여 사용하였다. 희석용매는 헥산·무수에탄올(5 : 2)혼합액과 이동상을 10 : 90으로 혼합하여 사용하였다.

시험용액의 조제

균질화한 시료를 코엔자임Q10으로서 약 10 mg 해당량

을 정밀하게 달아 핵산·무수에탄올(5 : 2)혼합액 100 mL에 녹이고, 희석용매를 이용하여 적절하게 희석한 후 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 것을 시험용액으로 하였다. 희석용매는 표준액 제조에 사용된 것과 동일한 것을 사용하였다.

액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS) 분석조건

코엔자임Q10에 관한 질량분석법(LC-MS/MS) 논문을 검토하여 기기분석조건을 확립하였다. 분석칼럼은 모두 C_{18} 으로 치환된 역상칼럼을 사용한 것을 확인하였으며 본 시험법에서도 동일한 것을 사용하였다¹⁸⁻²¹⁾.

본 연구에서 건강기능식품 중 LC-MS/MS를 이용하여 코엔자임Q10 분석법을 시도하는 경우로 시험용액 조제 방법 선정에 참고자료가 부족하여 어려움이 있었다.

액체크로마토그래피법(LC) 또는 분석대상은 다르지만 LC-MS/MS에 사용된 방법 등을 문헌 등을 참고하여 3가지 혼합용매를 대상으로 예비시험을 실시하였다. 첫 번째로는 문헌에 보고된 에탄올 및 핵산에 대하여 각각 검토하였다^{19,22)}. 두 번째는 건강기능식품공전에 수록된 LC법 조제방법을 사용하였다¹⁴⁾. 검체를 핵산·무수에탄올(5 : 2) 혼합액으로 초음파진탕기로 추출용해하고 1% 무수염화제이철용액 및 무수에탄올로 희석하여 시험용액을 조제하였다. 마지막으로 두 번째 방법과 동일하게 검체를 핵산·무수에탄올(5 : 2)혼합액으로 초음파진탕기로 추출 용해하였다. 일반적인 LC-MS/MS 분석조건을 고려하고 수차례 예비시험을 통하여 핵산·무수에탄올(5 : 2)혼합액과 이동상을 10 : 90으로 혼합한 용액을 희석용매로 하여 검토하였다.

코엔자임 Q10을 LC-MS/MS를 이용하여 분석하기 위하여 여러 종류의 이동상이 보고되어 있었다¹⁸⁻²¹⁾. 최적의 이동상을 선정하고자 총 6가지 이동상; ① 5 mM ammonium formate in methanol, ② methanol : ethanol : isopropyl alcohol (70 : 15 : 15), ③ 2 mM ammonium acetate in methanol, ④ 5mM ammonium formate in isopropyl alcohol : methanol (50 : 50), ⑤ acetonitrile : isopropyl alcohol : Formic acid(90 : 10 : 0.1), ⑥ 0.5% Formic acid in acetonitrile : 0.5% formic acid in isopropyl alcohol (50 : 50)에 대하여 비교 실험하였다.

이밖에도 기기분석조건을 확립하기 위하여 문헌검토 및 예비시험을 실시하였고, 코엔자임Q10의 모분자에서 형성된 딸이온들에 대한 감도를 비교분석하여 정량이온과 정성이온을 선정하였다.

액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS) 분석법 유효성 검증

LC-MS/MS를 이용한 코엔자임Q10분석법을 확립한 후에는 시험법에 대하여 유효성을 검증하였다. 특이성 (specificity), 직선성(linearity), 검출한계(LOD, limit of

detection), 정량한계(LOQ, limit of quantification), 정확도 (accuracy), 정밀도(precision), 실험실간 교차검증에 대해 검증하였으며, AOAC 시험법 검증 가이드라인에서 제시하는 방법을 참고하였다²³⁾.

직선성은 표준용액 62.5, 125, 200, 400, 600 $\mu\text{g/L}$ 을 이용하여 유효성을 검증하였다. 정량한계와 검출한계는 직선성을 구하기 위하여 사용한 검량선을 3회 반복측정하여 기울기의 평균값(S)과 y절편의 표준편차(σ)를 이용하여 구하였다. 검출한계는 3.3 σ/S , 정량한계는 10 σ/S 로 산출하였다.

정확도(회수율)를 확인하기 위하여 코엔자임Q10을 함유하지 않은 비타민C 제품을 기질바탕시료(matrix blank: 기질 포함, 코엔자임Q10 불포함)로 선정하여 회수율을 검토하였다. 기질바탕시료에 코엔자임Q10 표준용액을 각각 150, 300, 450 $\mu\text{g/L}$ 이 되도록 첨가하여 3회 반복 실험을 하였다.

검체량의 변화에 대한 반복 정밀도와 실험실간 정밀도를 확인하기 위하여 검체 100 mg당 코엔자임Q10 20 mg을 함유하는 유통제품을 구입하여 이용하였다. 반복성 시험에서는 코엔자임Q10으로서 10 mg, 20 mg, 30 mg에 해당하도록 검체 각각 50 mg, 100 mg, 150 mg을 취하여 5회 반복 측정하였다. 실험실 2 곳에서 검체를 각각 5회 반복 측정하여 실험실간 정밀도를 확인하였다.

또한 유통·판매되고 있는 코엔자임Q10 함유 건강기능식품을 14건을 구입하여 본 연구에서 확립한 질량분석법에 대한 적용성 시험을 실시하였다.

Results and Discussion

액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS) 분석법 확립

시험용액 조제방법으로는 3가지 혼합용매를 대상으로 검토하였다. 첫 번째로는 에탄올 및 핵산에 대하여 각각 검토하였다. 검체가 용해는 잘 되었으나 피크검출이 잘 되지 않아 시험을 진행할 수 없었다. 두 번째로는 검체를 핵산·무수에탄올(5 : 2)혼합액으로 초음파진탕기로 추출용해하고 1% 무수염화제이철용액 및 무수에탄올로 희석하여 시험용액을 조제하였다. 이 경우도 역시 용해는 잘 되었으나 피크의 감도가 낮아서 시험이 용이하지 않았다. 마지막으로 검체를 핵산·무수에탄올(5 : 2)혼합액으로 초음파진탕기로 추출용해하고 핵산·무수에탄올(5 : 2)혼합액과 이동상을 10 : 90으로 혼합한 용액을 희석용매로 하였다. 이 경우 용해도 잘 되고 피크 검출도 용이하여 시험용액 조제 방법으로 선정하였다.

코엔자임Q10을 LC-MS/MS를 이용하여 분석하기 위하여 총 6가지 이동상에 대하여 검토하였다. ① 5 mM ammonium formate in methanol의 경우는 피크의 머무름 시간에 대한 재현성이 감소하였다. ② methanol : ethanol

Table 2. Selected-ion of LC-MS/MS for coenzyme Q10

Compound	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	Cone voltage (V)	Collision Energy (eV)
Coenzyme Q10	864	197	50	26

Table 3. Analytical conditions for the determination of coenzyme Q10

Items	Conditions
Mobile phase	A: 0.5% formic acid in acetonitrile B: 0.5% formic acid in isopropyl alcohol
Flow rate	0.2 mL/min
Ion mode	ESI, Positive mode
Injection volumn vol.	2 μ L
Analysis mode	MRM
Capillary voltage	2.0 kV
Source temp.	150°C
Desolvation temp.	200°C
Desolvation gas flow	500 L/h

: isopropyl alcohol(70 : 15 : 15)과 ④ 5 mM ammonium formate in isopropyl alcohol : methanol(50 : 50) 에서는 피크감도가 낮아 검출이 용이하지 않았다. ③ 2 mM ammonium acetate in methanol과 ⑤ acetonitrile : isopropyl alcohol : Formic acid(90 : 10 : 0.1)에서는 피크가 갈라지는 단점이 있었다. 마지막으로 ⑥ 0.5% Formic acid in acetonitrile : 0.5% formic acid in isopropyl alcohol(50 : 50)에서 피크의 머무름시간이 재현성 있고 잘 분리되었으며 낮은 농도까지 분석 가능하였다. 이상의 결과로 ⑥ 0.5% Formic acid in Acetonitrile : 0.5% formic acid in isopropyl alcohol(50 : 50)을 이동상으로 선정하였다(Table 3).

이 외에도 질량분석기를 이용한 분석조건은 확립하기 위하여 문헌검토 및 예비시험을 실시한 결과, ESI positive

ionization mode를 사용하였고 코엔자임Q10의 모분자모분자에서 딸이온들에 대하여 감도가 가장 크고 안정적으로 쪼개지는 이온을 선정한 결과 코엔자임Q10의 모분자 $[M+H]^+ = m/z$ 864 ion에서 m/z 197 ion으로 한 다음 정량분석에서는 다중반응검지법(Multiple Reaction Monitoring, MRM)을 이용하여 분석을 수행하였다(Table 2).

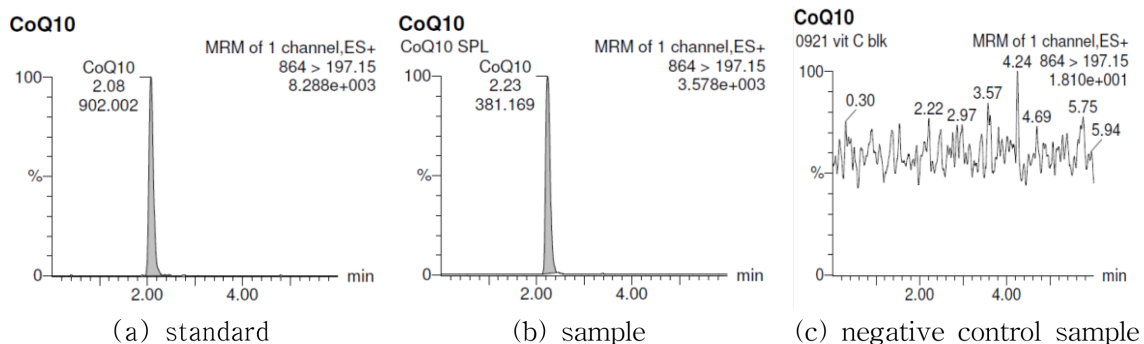
액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS) 분석법 유효성 검증

특이성 및 직선성

특이성을 확인하기 위하여 표준용액과 시험용액에서의 분리도 및 머무름 시간을 확인한 결과 동일한 위치에 코엔자임Q10 단일피크가 특이적으로 측정되었다. 또한 코엔자임Q10을 함유하지 않는 음성대조군을 선정하여 분석한 결과 크로마토그램 및 질량 스펙트럼에서 방해피크 등이 없음을 확인하였다(Fig. 1). 직선성(linearity)을 확인하기 위하여 시료에서 코엔자임Q10이 검출되는 농도범위를 중간값으로 설정하여 총 5개의 표준용액 농도; 62.5, 125, 200, 400, 600 μ g/L에 대한 직선성을 검토하였다. 실험과정에서 나타날 수 있는 오차범위를 확인하기 위하여 각 농도에 대해서 3반복으로 수행하였으며, 실험결과 검량선의 상관계수(R^2)는 0.999이상의 높은 유의수준을 보였다. 이는 AOAC 가이드라인에서 제시하는 기준($R^2 > 0.99$)을 만족시켰다.²³⁾

검출한계 및 정량한계

직선성을 구하기 위하여 사용한 검량선을 3회 반복측정하여 기울기의 평균값(S)과 y절편의 표준편차(σ)를 이용하

**Fig. 1.** Representative MRM chromatograms of coenzyme Q10.

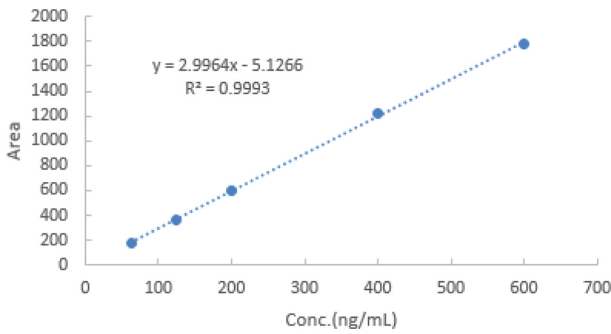


Fig. 2. Calibration curve of coenzyme Q10.

여 구하였다(Fig. 2). $3.3 \sigma/S$ 를 검출한계(LOD)로 $10 \sigma/S$ 를 정량한계(LOQ)로 산출하였고, 그 결과 각각 26.0, 78.9 $\mu\text{g/L}$ 이었다.

정확도 및 정밀도

정확도를 확인하기 위하여 코엔자임Q10을 함유하지 않은 기질바탕시료에 표준물질을 150, 300, 450 ng/mL이 되도록 첨가하였다. 그 결과 평균회수율은 98.6-107.0%, 상대표준편차는 모두 3.0%이하로 관찰되었다(Table 4).

반복성 시험에서는 코엔자임Q10으로서 10 mg, 20 mg, 30 mg을 함유하도록 검체를 취하여 5회 반복 측정하였다. 그 결과 각 농도의 상대표준편차는 각각 일내 4.0, 2.6, 1.5%이었고 일간에서는 2.3, 2.0, 1.9%이었다(Table 5).

Table 4. Validation results (accuracy) of analytical method for the determination of coenzyme Q10 (n=5)

Applied concentration ($\mu\text{g/L}$)	Recovery (%)	RSD (%)
150	98.6	3.0
300	107.0	2.8
450	102.2	2.0

Table 5. Validation results (repeatability) of analytical method for the determination of coenzyme Q10 (n=5)

Sample (mg)	Measured mean(mg/g) \pm RSD(%)	(Day to Day)
		Measured mean(mg/g) \pm RSD(%)
50	203.5 \pm 4.0	208.2 \pm 2.3
100	202.0 \pm 2.6	205.2 \pm 2.0
150	200.3 \pm 1.5	204.3 \pm 1.9

Table 6. Inter-laboratory validation results (reproducibility) of analytical method for the determination of coenzyme Q10 (n=5)

LAB 1		LAB 2		Measured mean (mg/g)	RSD(%)
Measured mean(mg/g) \pm RSD(%)		Measured mean(mg/g) \pm RSD(%)			
328.2 \pm 1.0		325.6 \pm 3.5		326.9	2.4

각 분석물에 대한 정확도 및 정밀도는 AOAC 가이드라인에서 제시하는 기준(분석물 농도 1 $\mu\text{g/g}$ 일 때 회수율 범위 75-120%, 상대표준편차 8%)에 모두 부합하였을 뿐만 아니라 높은 정확도와 정밀도를 확인할 수 있었다.

실험실간 교차검증

분석법의 유효성 확인을 위하여 실험실간 교차검증을 실시하였으며 코엔자임Q10 함량분석에 대한 상대표준편차는 2.4%로 나타났다. 이는 AOAC 가이드라인에서 제시하는 기준(분석물 농도 1 $\mu\text{g/g}$ 일 때 상대표준편차 16%)에 적합한 결과로서 분석법의 일관성을 확인할 수 있었다(Table 6).

건강기능식품 제품에 대한 적용성 검토

코엔자임Q10함유 건강기능식품 14건에 대하여 확립된 LC-MS/MS 분석법을 이용하여 실험한 결과, 검체는 표시 함량 대비 84.0-118.7%로 현행 기준 80.0-120.0%에 모두 적합하였다(Table 7). 이로써 본 시험법을 건강기능식품 제품의 품질관리에 적용 가능한 것으로 나타났다.

Table 7. The contents of coenzyme Q10 for circulated products by LC-MS/MS

No	Coenzyme Q10 contents (%)	Other compounds
1	117.0	Vitamin C, Se
2	85.5	Omega 3, β -carotene, Vitamin C, E, B ₁ , B ₂ , D, Folic acid, Zn
3	99.7	Collagen peptide
4	104.4	Vitamin A, E, C, B ₁ , B ₂ , B ₆
5	118.7	Omega 3
6	84.0	-
7	86.1	Vitamin E, B ₆
8	117.8	-
9	117.9	-
10	94.5	Vitamin C, E, Se, Mn, Zn
11	118.6	Vitamin E
12	85.5	Vitamin A, E, C
13	106.3	-
14	116.7	Vitamin A, D, E, Zn

본 연구를 통하여 LC-MS/MS를 이용하여 건강기능식품 중 정성·정량가능한 코엔자임Q10 분석법을 확립하고 유효성을 검증하였다. 이와 같은 신뢰성을 확보한 시험법은 원료 및 단일제품과 함께 농도가 낮은 복합제품의 품질관리에도 적용할 수 있을 것으로 사료된다.

국문요약

건강기능식품의 경우 단성분보다는 복합제품 개발이 우선시되고, 12가지 기본제형이외에도 일반식품형태의 제품으로 범위가 확대되고 있다. 이러한 제품에서 기능성(지표)성분을 효율적으로 분석할 수 있는 방법에 대한 연구가 필요한 실정이다. 복합제품 등에서 정성·정량 가능한 코엔자임Q10을 효과적으로 분석할 수 방법을 확립하기 위하여 본 연구를 수행하였다. 액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS)를 이용하여 건강기능식품 중 코엔자임Q10의 정성·정량시험법을 확립하였다. 확립된 시험법에 대해 특이성, 검출한계, 정량한계, 정확도, 정밀도에 대한 검증을 통하여 유효성을 확인하였다. 또한 시중 유통검체 14건을 확보하여 시험의 적용가능성도 검토하였다. 직선성에서는 $R^2 > 0.999$ 이상임을 확인하였고, 검출한계 및 정량한계는 각각 26.0 및 78.9 $\mu\text{g/L}$ 이었다. 또한 평균 회수율은 98.6-107.0%로 나타났으며, 반복정밀도는 상대표준편차 4.0%이하, 실험실간 재현성은 2.4%로 나타나 정확성, 재현성이 우수하였으며 이는 AOAC 가이드라인에서 제시한 기준에 모두 적합한 수준이었다. 시중 유통 제품에 대하여 실험한 결과 84.0-118.7%로 모두 적합하였다. 따라서 본 연구에서 개발된 분석법은 건강기능식품 중 코엔자임Q10의 정성·정량분석에 이용될 수 있으며, 우수한 품질의 건강기능식품유통에 기여할 것으로 판단된다.

Acknowledgement

본 연구는 2017년도 식품의약품안전처 연구개발사업의 연구비 지원(17161미래식057)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Health Functional Food Code, 2018, Ministry of Food and Drug Safety(MFDS) Notice 2018-12, Korea. pp. 50-181.
2. 2017 Food & Drug Statistical Yearbook, 2017, Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), Korea. pp. 41.
3. Crane, F.L., Hatefi, Y., Lester, R.L. and Widmer, C., Isolation of a quinone from beef heart mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta.*, **25**, 220-221 (1957).
4. Wolf, D.E., Hoffmann, C.H., Trenner, N.R., Anson, D.H., Shunk, C.H., Linn, B.O., McPherson, J.F. & Folkers, K. Coenzyme Q. Structural studies coenzyme Q group. *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 47-52 (1958).
5. Alleva, R., Scaraarmucci, A., Manera, F., Bompandre, S., Leoni, L., Linarro, G.P., The protective role of ubiquinol-10 against formation of lipid hydroperoxides in human seminal fluids. *Mol. Asp. Med.*, **18**, 221-228 (1997).
6. Raitakari, O.T., McCredie, R.J., Witting, P., Griffiths K.A., Letter, J., Sullivan, D., Stocker, R., Celermajer, D.S., Coenzyme Q improves LDL resistance to ex vivo oxidation but does not enhance endothelial function in hypercholesterolemic young adults. *Free Radic. Biol. Med.*, **28**(7), 1100-1105 (2000).
7. Langsjoen, P., Langsjoen, A., Willis, R., Folkers, K., Treatment of essential hypertension with Coenzyme Q10, *Mole Aspect Med.* **15**, 265-272 (1994).
8. Rozen, T.R., Oshinsky, M.L., Gebeline, C.A., Bradely, K., Young, W.B., Silberstein, S.D., Open label trial of Coenzyme Q10 as a migraine preventive. *Cephalalgia*, **22**(2), 137-141 (2002).
9. Muller, T., Buttner, T., Gholipour, A.F., Kuhn, W., Coenzyme Q10 supplementation provides mild symptomatic benefit in patients with Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*. **34**, 201-204 (2003).
10. Kendler, B.S., Recent nutritional approaches to prevention and therapy of cardiovascular disease. *Prog. Cardiovasc. Nurs.* **12**(3), 3-23 (1997).
11. Tang, P.H., Miles, M.V., deGrauw, T., Steele, P.E., Hershey, A., Schroer, L., Chuck, G., Jones, J., Pesce, A., Simple and rapid HPLC method with coulometric detection of Coenzyme Q10 in human plasma and CSF., *Clin. Chem.*, **47**, 256-265 (2001).
12. No, K.M., Leem, D., Kim, M., Park, K.S., Yoon, T., Hong, J., Park, S., Jeong, J., Analysis of Coenzyme Q10 in dietary supplement by HPLC, *J. Fd Hyg. Safety*, **23**(1), 12-15 (2011).
13. Standards for health functional food of Korea. Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea (2018).
14. Standards for health functional food of Korea(Test method). Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea (2018).
15. Korean Pharmacopoeia, 2018, Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) Notice 2017-21, Korea. pp. 490-491.
16. The United State pharmacopoeia, 2005, USP32-NF27, America, p. 1080.
17. European Pharmacopoeia 6.0, 2008, EU, p3163.
18. Giacomo, L.V., Lara, M., Chiara, R., Vittorio, G., Gabriella, R., Giorgio, M., Veniero, G., Determination by UPLC/MS-MS of CoenzymeQ10 (CoQ10) in plasma of healthy volunteers before and after oral intake of food supplements containing CoQ10. *J. Anal. Bioanal. Tech.*, **S13**, 1-5 (2015).
19. Ruiz-Jimenez, J., Priego-Capote, F., Mata-Granados, J.M., Quesada, J.M., Luque de Castro, M.D., Determination of the ubiquinol-10 and ubiquinone-10 (coenzyme Q10) in human serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry to evaluate the oxidative stress. *J. Chromatography A.*, **1175**, 242-248 (2007).

20. Yuangang, Z., Chunjian, Z., Chunying, L., Lin, Z., A rapid and sensitive LC-MS/MS method for determination of coenzyme Q10 in tobacco(*Nicotiana tabacum* L.) leaves. *J. Sep. Sci.*, **29**, 1607-1612 (2006).
21. Monika, s., Maja, fir, Alenka, G.W, Luka, M. and Mirko, P., Quantitative determination of Coenzyme Q10 by liquid chromatography and liquid chromatography/mass spectrometry in dairy products., *J. AOAC INT.*, **88**, 1020-1027 (2005).
22. Teshima, K., Kondo, T., Analytical method for ubiquinone-9 and ubiquinone-10 in rat tissues by liquid chromatography/turbo ion spray tandem mass spectrometry 1-alkylamine as an additive to the mobile phase., *Anal. Biochem.*, **338**, 12-19 (2005).
23. AOAC official method 2016.39, Official methods of analysis of AOAC INTERNATIONAL 20th Ed. AOAC International, Gaithersburg, MD (2016).