

Analytical trends on screening of illegal adulterants in supplementary diets

Eunhee Kim, Youngsang Yoon, Joohee Lee, Youngjoo Heo, Minwoo Kwon,
Na Hyun Park, and Jongki Hong★

College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

(Received October 13, 2017; Revised December 6, 2017; Accepted December 9, 2017)

건강기능성 식품의 부정유해물질 혼입 스크리닝 분석동향

김은희 · 윤영상 · 이주희 · 허영주 · 권민우 · 박나현 · 홍종기★

경희대학교 약학대학

(2017. 10. 13. 접수, 2017. 12. 6. 수정, 2017. 12. 9. 승인)

1. 서 론

최근 들어 삶의 질 향상과 웰빙에 대한 관심이 증대함에 따라 건강기능성 제품에 대한 관심도 크게 증가하는 추세이다. 건강기능성 식품은 단순히 질병을 치료하기 위해서 섭취하는 것이 아니라, 건강 혹은 미용의 목적 등을 위하여 건강기능식품의 소비가 꾸준히 증가하고 있다. 그러나 건강기능식품 생산자들은 제품의 효능을 증가시키기 위해 식품에 불법적으로 의약품을 빈번하게 혼입하는 사례가 발생되고 있다.^{1,2} 건강기능식품은 일반 의약품과 달리 판매 전 승인을 필요로 하지 않으므로 식품에 불법적 의약품 혼입 행위는 빈번하게 발생하게 되었다. 불법의약품 혼입 건강기능성 식품을 장기 복용 시 체내에서 심각한 부작용을 일으켜 건강을 위협한 사례연구가 보고되었다.^{3,4} 현재 불법의약품이 첨가된 건강기능식품은 전자상거래, 통신판매, 해외 인터넷 사이트 등의 여러 경로를 통하여 유통되고 있다. 식품의약품 안전처에서는 불법의약품 혼입 건강기능성식품의 유통을 막기 위해 다방면으로 노력하고 있지만 생산업자는 불법적 혼입을 속이기 위하여 식품의 첨가물 내용을 기재하지 않

며 더 나아가 검사를 피하기 위하여 의약품의 화학적 구조를 일부 변형시킨 위품을 첨가시킨 사례도 종종 보고되고 있다.^{5,6} 불법의약품 혼입에 대한 부작용, 임상 시험 등이 이뤄지지 않았기 때문에 그 위험성은 의약품의 첨가보다 더욱 크게 영향을 미칠 수 있다. 식품 의약품 안전처는 원료 진위 판별법 조사, 시험법 개발 등의 노력을 해왔지만 수거 시료에 대한 검사한 비율은 10%수준으로 유통제품에 대한 안전관리가 여전히 미흡한 실정이다. 또한, 정부에서도 불법건강기능식품의 규제를 강화하기 위해 처벌을 강화시키는 개정안을 내놓았지만 여전히 의약품이 불법 첨가된 건강기능식품의 유통이 만연하다.² 따라서 건강기능성 식품의 불법 의약품 혼입을 신속히 스크리닝할 수 있는 기술개발은 소비자들의 건강 유해물질의 선제적 관리 측면에서 매우 중요한 의미를 가지고 있다.

본 연구고찰은 식품에 불법적 의약품 및 의약위품 혼입의 스크리닝법에 대한 기술동향을 소개하였다. 또한 건강기능성식품의 불법의약품 혼입에 대한 부작용 및 사고사례를 보고하였다. 식품에 불법적으로 첨가되는 주요 의약품인 PDE-5 저해제, 항당뇨성 치료제, 이뇨제, 및 스테로이드제에 대한 정량, 정성적 분석기

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-961-9255 Fax : +82-(0)2-961-0357

E-mail : jhong@khu.ac.kr

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

법에 대하여 정리하였으며 향후 나아가야 될 방향 및 최신 분석 기법에 대하여 소개하였다.

2. 부작용 사례

성기능 향상을 목적으로 하는 PDE-5 (phosphodiesterase type 5 enzyme) 저해제는 두통, 발진, 코막힘, 시야흐림, 시력감퇴, 요통 등의 부작용이 보고되었다.⁷ nitrate나 alpha blocker와 병용 시에 심각한 저혈압이나 실신을 야기한다.^{7,9} 이러한 PDE-5 저해제가 불법적으로 첨가된 건강기능식품의 복용과 약물의 병용과 관련하여 22건의 사망사례가 보고되었다. 이중 9건은 PDE-5 저해제 함유 건강기능식품과 glibenclamide (당뇨치료제)의 병용이 원인이었다.^{10,11} 이러한 환자들의 대부분은 죽기 전 심각한 저혈당증과 의식불명 상태이었다. 홍콩에서는 28세의 건강한 남성이 acetildenafil 성분이 함유된 건강기능식품의 복용으로 불안정한 걸음과 잦은 넘어짐을 경험하였다. 문제는 이러한 불법적인 건강기능식품의 종류가 증가하고 식품과 에너지 음료에 걸쳐 점진적으로 확장되고 있다.^{12,13}

혈액 내 당을 낮추는 항당뇨치료제는 저혈당, 혈액학적 변화, 위장관 장애, 알리지 반응, 트랜스아미나제의 상승, 부종, 체중증가, 빈혈 등의 부작용을 가져올 수 있다.¹⁴ 또한 홍콩에서 실시된 불법첨가 의약품 부작용 보고서에 따르면, 항당뇨약이 불법 첨가된 건강기능식품으로 인해 27명의 환자 중 17명이 부작용을 경험했고 17명중에 2명은 심한 저혈당과 젖산 산증이 나타난 것으로 보고되었다. 주요 항당뇨제의 첨가물은 glibenclamide, phenformin, metformin, rosiglitazone이 보고되었다.⁴ 인도네시아에서는 2형 당뇨병인 남성이 한방약을 먹고 현기증, 흉통, 저혈당을 경험했다. 조사에 따르면, 한방약에 불법 첨가된 sulfonylurea로 인해서 환자가 독성을 나타나게 된 것임이 드러났다.

다이어트 목적의 건강기능식품에 thiazide 계열의 이뇨제 약물이 불법적으로 함유되어 있는 경우, 성인에게서 식욕상실, 가려움, 몽롱함, 두통, 위쓰림이 발생하고 몇몇 사람들에게는 섭취 초기 몇 일 동안 어지러움이 발생 할 수 있다.^{1,2,15} Loop 계열 약물이 불법적으로 함유되어있는 경우에는 체내 K⁺ 및 다른 전해질 균형이 붕괴되고, 이러한 약물이 고칼륨혈증을 일으키게 되면, 불규칙적 심박동, 피곤감 및 호흡곤란을 느끼게 된다고 한다.¹² 천연물 기반의 혈압강화치료제 함유 건강기능식품을 섭취 시, 불법적으로 함유되어 있는 β -blocker나 이뇨제 약물들로 인하여 뇌졸

중이나 심장관련 질환으로 사망할 위험성이 증가되며, 고혈압 치료를 받아 약을 섭취 중인 환자의 경우에는 혈압약을 과복용하면 기립성 저혈압 같은 부작용이 발생할 수 있다고 보고되었다.¹⁶

피부질환이나 관절염개선을 목적으로 하는 건강기능식품에 스테로이드가 함유된 경우, 질환의 특성상 장기 복용할 가능성이 크다. 스테로이드를 장기 복용 시 공격성의 상승, 화, 성격 장애 및 감염취약성, 시상하부-뇌하수체-부신 축 억제, 폐렴, 헤르페스 각막염 등을 일으킬 수 있으며 특히 부작용으로 쿠싱 증후군이 많이 발생한다.¹⁷⁻¹⁹ 대표적 예로, 벨기에에서 관절염과 고혈압을 가진 75세 여성이 자가진단으로 한방약을 먹고 쿠싱 증후군을 보였다. 한방약에 다량의 스테로이드가 첨가되었고 이로 인해 환자에게 독성이 나타나게 된 것임이 드러났다.²⁰ 이처럼 건강식품 내의 불법첨가 의약품은 환자들에게 많은 부작용을 일으키며 건강기능식품의 안전성에 대한 믿음이 환자를 더욱 위험으로 몰아가고 있다. 또한 더욱더 교묘한 방법으로 건강기능식품에 의약품을 첨가하고 있기 때문에 빠른 시일 내에 분석기법의 정립이 필요하다.

3. 불법 첨가 의약품 및 유사체 현황

성기능 향상을 위해 합법적으로 현재 승인된 의약품은 sildenafil, vardenafil, tadalafil을 포함하여 총 7개이며, 이들의 구조는 Fig. 1(A)에 정리하였다. 하지만 최근 건강기능식품에 불법적으로 허가되지 않은 PDE-5 저해제나 그 유사체가 첨가되는 사례가 가장 빈번하게 보고되었다. 특히 sildenafil의 유사체가 빈번하게 검출되는데 이는 sildenafil이 다른 PDE-5 저해제에 비해 저비용으로 쉽게 합성, 변형이 가능하기 때문이다.^{5,6} sildenafil보다 vardenafil, tadalafil의 합성이 더 쉽고 vardenafil은 sildenafil보다 onset이 빠르다는 장점, tadalafil의 경우 sildenafil보다 작용시간이 더 길다는 장점이 있지만 이 구조들은 piperonal에서 합성되는데 이 구조에 대한 당국의 monitoring이 매우 엄격히 되고 있기 때문에 piperonal 유래 PDE-5 저해제의 첨가나 변형은 드물다.²¹ sildenafil의 구조 변형 유사체는 구조 변형 위치에 따라 5분류로 나뉘며 약 43가지가 검출된 바 있다. Tadalafil 유사체는 10 가지, vardenafil 유사체는 약 7종이 보고되었다.²²⁻²⁷ 이러한 유사체 대부분은 안전성 검사나 약동학적 연구가 진행되지 않기 때문에 불법적으로 첨가된 건강기능식품을 소비자가 인지하지 못하고 복용하였을 때 발생하는 위험은 매우 높다. sildenafil

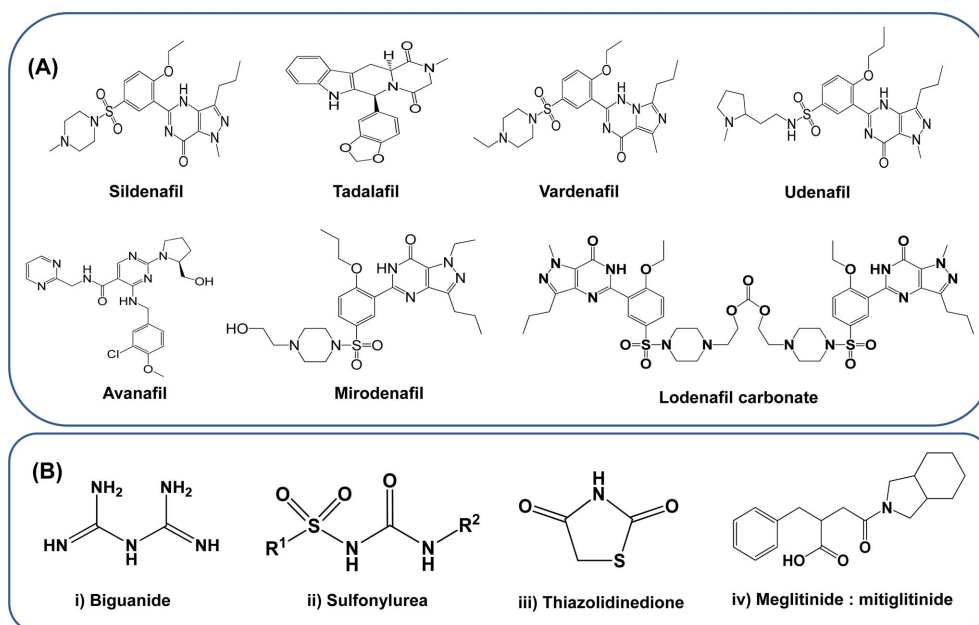


Fig. 1. Chemical structures of (A) approved PDE-5 inhibitors, and (B) anti-diabetics.

의 유사체인 propoxyphenyl thiohydroxyhomosildenafil의 경우 기존 PDE-5 저해제보다 10 배~200 배 높은 억제 효과를 나타내지만 두통, 요통, 호흡곤란, 현기증 등의 심각한 부작용을 발생시킨다.²⁷⁻³⁰

혈액 내 포도당을 낮추는 항당뇨제는 크게 i) biguanide계열, ii) sulfonylurea계열, iii) thiazolidinedione 계열, iv) meglitinide계열 4 가지로 구분되어 있다. 각각의 계열은 Fig. 1(B)와 같은 기본구조를 가지며, iv) 는 대표 meglitinide계열인 mitiglitinide의 구조이다. Biguanide계열은 당뇨치료제로 가장 많이 쓰이고 metformin, phenformin이 대표적 약물이다. Biguanide 계열은 젖산산증위험이 있는데 특히 phenformin이 이러한 위험성으로 인해 1977년에 미국 및 유럽시장에서 퇴출당했다. 현재 한국에서는 시판되고 있지만 만성신장질환 환자에게는 엄격히 사용을 제한하고 있다. Sulfonylurea계열은 일반적으로 가격이 저렴하여 널리 처방되고 훌륭한 치료효과를 보인다. 대표적으로 chlorpropamide, tolbutamide, glibenclamide, glipizide, gliclazide, gliquidone, glimepiride 등의 약물이 있으며 부작용으로 저혈당이 일반적으로 나타난다. 이들 약물 중 glibenclamide가 가장 저렴하여 불법첨가물로써 자주 건강기능식품에서 검출되었다.³¹⁻³⁴ Thiazolidinedione 계열은 가장 효과적으로 당화혈색소를 낮추며 초기 당뇨병환자에게 많이 쓰였다. 이에 해당하는 약물로는

pioglitazone과 rosiglitazone이 있다. rosiglitazone은 2007년 FDA에서 심혈관계 질환 발병을 높인다는 판정으로 현재 생산 및 사용금지 약물로 규정되었다. Meglitinide계열은 식후 혈당을 낮추는 항당뇨제로서 benzoic acid 유도체인 repaglinide, d-phenylalanine 유도체인 nateglinide, mitiglitinide가 이에 해당한다.^{35,36} Meglitinide 계열은 다른 혈당 강하제에 비해 부작용은 비교적 적은 편으로 다른 약제에 비해 신속히 제거되므로 장기간의 고인슐린 혈증을 유발하지 않아 저혈당 발생이 적고, 불규칙한 식사습관을 가진 환자에게 유용하다.

이노제의 경우 약물의 작용에 따른 여러 기전 별로 구분할 수 있으며, 대표적인 예로는, calcium-channel blocker, loop계열, thiazide 계열, K⁺-sparing 계열로 나눌 수 있다. 대표적 약물로는 loop 계열 약물의 furosemide, torsemide, ethacrynic acid, bumetamide, thiazide 계열 약물의 hydrochlorothiazide, chlorthalidone, chlorothiazide, trichlormethiazide, bendroflumethiazide, K⁺-sparing 계열 약물의 triamterene, spironolactone와 ESC (Epithelial sodium channel) blocker 작용을 하는 amiloride가 있다. 이 외에도, calcium-channel blocker 계열 약물의 amlodipin, nifedipine, diltiazem 등이 있다. 위에 언급한 이노제들이 주로 건강기능식품에 함유된 불법약물 규제대상이고, Fig. 2(A)은 이노제의 대표적 약물들의

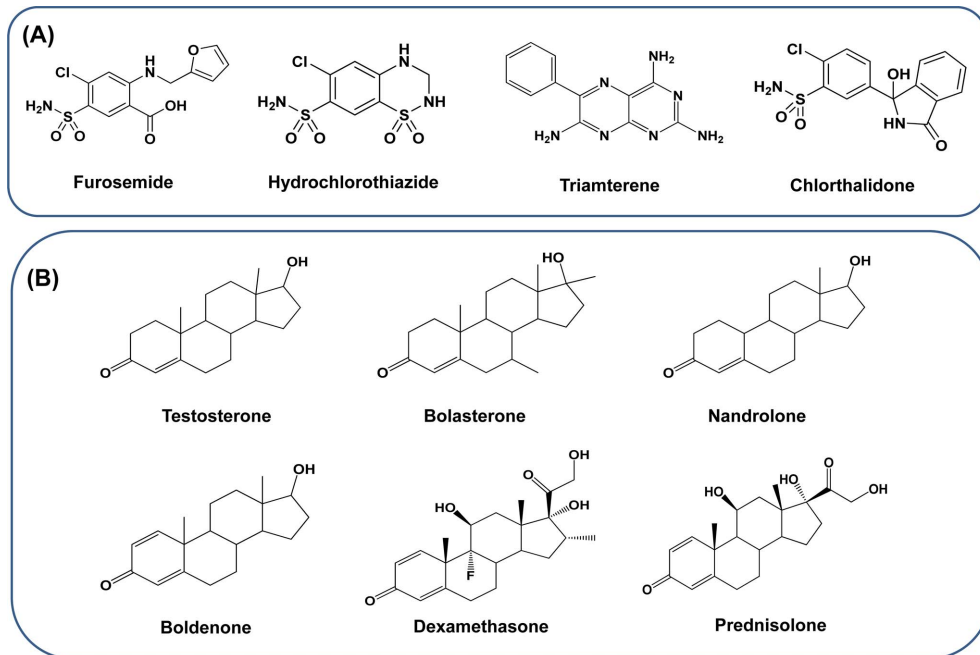


Fig. 2. Typical chemical structures of (A) diuretics, and (B) steroids.

구조이다.

운동능력을 향상시키기 위한 운동보조식품이나 다이어트 보조 약물 등에 단백동화 스테로이드(anabolic androgenic steroid, AAS)가 불법적으로 첨가되어 판매되는 사례가 빈번하게 발생하고 있다.^{39,40} 이러한 AAS 불법 첨가 제품들은 현재 온라인 쇼핑몰이나 피트니스 클럽 등을 통해 소비자들이 쉽게 구입할 수 있기 때문에 이들 제품에 대한 부정유해물질 스크리닝법의 개발이 중요한 이슈가 되고 있다. AAS를 과다 및 장기 복용할 경우 나타날 수 있는 부작용으로 심리적인 악영향을 미칠 수 있다.^{41,42} 예를 들어, 공격성이 높아지게 하고, 화를 잘 내게 하고, 성격 장애를 일으킬 수 있어 주의가 필요하다. 지금까지 검출되고 있는 AAS는 그 종류가 매우 많은데 그 중 대표적으로 testosterone 계열, boldenone, nandrolone 등이 있다.¹⁷ Anabolic steroid 이외에도 corticosteroid도 불법적으로 첨가되어 오고 있다. Corticosteroid는 관절통에 효과가 있다고 광고하고 있는 한약제제에 불법적으로 혼입되고 있다. 한약제제에 불법 첨가되고 있는 corticosteroid의 대표 성분으로는 dexamethasone과 prednisolone이 있다. Dexamethasone은 항염증 효능 및 진신 흥반 루푸스에 대해 면역 억제 효능을 갖는 약물로 사용되고 있다. 처방전을 통하지 않고 무분별하게 섭취할 경우,

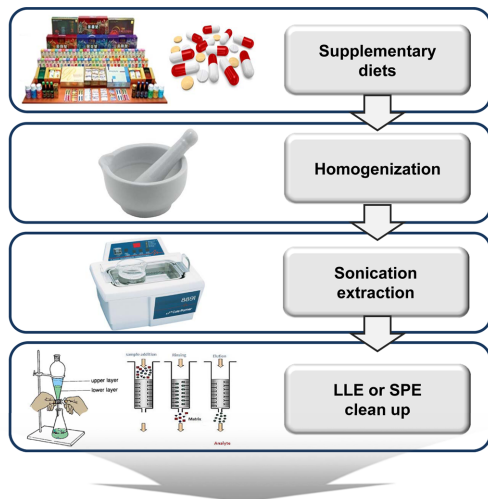
감염에 걸리기 쉽고, 부신 축 조절이 어려워지며, 쿠싱 증후군, 폐렴, 헤르페스 각막염 등과 같은 질병에 걸리기 쉽게 된다.¹⁷⁻¹⁹ 빈번하게 검출되고 있는 스테로이드 구조는 Fig. 2(B)에 정리하였다.

4. 불법 첨가 의약품 및 유사체 검출 및 확인 기법

건강기능 식품 속 불법 의약품 성분 분석 절차는 일반적으로 5단계로 나뉜다. 1단계 불균일한 전체 시료에서 분석할 가치가 있는 대표성 시료를 채취, 2단계는 시료 전처리 과정 (분석대상 성분을 방해물질로부터 선택적으로 분리, 정제, 농축 그리고 열 안정성과 검출성이 큰 화합물로 유도체화 하는 모든 조작)이며, 3단계는 GC (Gas chromatography), HPLC (High performance liquid chromatography), SFC (Supercritical fluid chromatography), CZE (Capillary electrophoresis), MEKC (Micellar electrokinetic chromatography)법과 같은 크로마토그래피에 의해서 단일 성분으로 분리시키는 과정이다. 4단계는 각 분리된 단일 성분의 화학구조는 IR (Infrared spectroscopy), NMR (Nuclear magnetic resonance spectroscopy), X-ray crystallography 등을 이용한 분광학법 및 GC-MS (Gas chromatography-

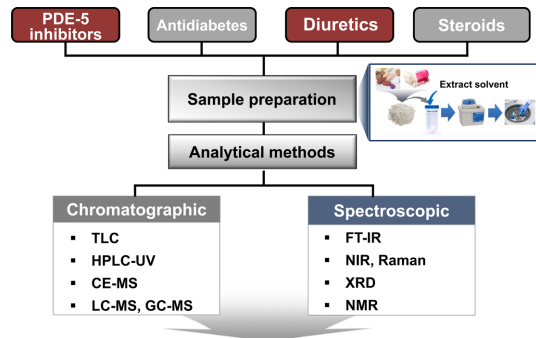
Mass Spectrometry), LC-MS (Liquid chromatography-Mass Spectrometry, CE-MS (Capillary electrophoresis-mass spectrometry), tandem-MS 등의 질량분석기에 의해 규명하는 과정이며, 마지막 5단계인 컴퓨터 프로그램에 의한 분석자료 처리과정에 의해서 정량 및 정성 자료가 산출된다.

건강기능식품의 불법 첨가제 분석을 위한 시료 전처리 과정은 다음과 같다. 구매한 건강기능성식품의 시료를 가루 제형으로 만들기 위하여, 환이나 알약은 막대와 사발을 이용하여 잘게 부수고 캡슐의 경우는 내용물과 껍질을 따로 분리하여 내용물을 잘게 부순다. 시료의 무게를 잰 후, 실험 조건에 맞는 용량의 플라스크에 담는다. 샘플이 담긴 플라스크에 추출용매를 첨가하여 잘 흔든 후, 초음파추출기를 이용하여 수 분간 추출한다. 추출이 끝나면 수 분간 원심분리하고 그 중 상층액을 0.22 μm의 PVDF membrane 시린지 필터를 통해 여과한다. 이때, 희석이 필요한 경우는 메탄올을 주로 사용한다. 시료 전처리된 샘플을 분석 장비를 이용하여 목적성분을 분석한다. 앞서 설명한 순서를 간단히 Fig. 3에 나타내었다. 최근에는 시료 전처리 과정을 간단히 수행하면서 다성분 부정유효물질을 동시에 분석할 수 있는 QuEChERS(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) 기술을 적용되었으며, 그 과정은 다음과 같다. 원심분리 tube에 아세토 나이트릴(acetonitrile, ACN) 과 샘플을 넣은 후, 10초



Instrumental analysis (LC, GC, LC-MS, GC-MS)

Fig. 3. Sample pretreatment of illegal adulterants in supplementary diets.



Instrumental analysis of adulterants in dietary supplements

Fig. 4. Analytical protocol of illegal adulterants in dietary supplements.

간 세계 흔들어 섞고 NaCl과 무수 황산마그네슘을 첨가하고, 1분간 vortexing 한 후, 5분간 원심분리한다. 상층액을 microcentrifuge tube로 옮기고 PSA (primary secondary amine exchange materials), 황산마그네슘과 GCB (graphitized carbon black)가 들어있는 혼합제를 섞은 후, 다시 5분간 원심분리한다. 얻어진 추출물은 0.45 μm 나이론 필터를 이용하여 여과한다.

이와 같은 방법으로 전처리가 끝난 시료에서 불법 첨가제 또는 유사체의 검출 및 확인을 위하여 다양한 분석장비들을 사용한다. Chromatographic 방법으로 박층크로마토그래피, 액체크로마토그래피와 질량분석기 등이 있으며, 분광학적 방법으로 핵자기공명분광법, UV/VIS 분광법과 적외선분광법 등이 있다. 전체적인 분석절차의 모식도를 Fig. 4에 나타내었다.

4.1. Thin Layer Chromatography (TLC, 박층크로마토그래피)

식물이나 식물 표준추출물 검출에 주요 사용되는 TLC는 간단하고 저렴하지만 감도가 떨어져 기존에 알려진 방법으로 PDE-5 저해제 물질만 빠르게 검출 가능하고 그 외 유사체의 검출은 어렵다는 단점이 있다.^{43,44} chloroform, ethyl acetate, methanol, water가 혼합된 전개용매로 UV 검출시 승인된 PDE-5 저해제 7 가지에 대한 빠른 확인이 가능하다.⁴⁴ 특히 PDE 5 inhibitor는 질소를 포함하므로 Dragendorff 시약과 iodeplatinate 또는 황산을 분사해야 검출이 가능하다. 최근에 자동화된 장비가 개발되어 향상된 감도로써 정확성, 재현성이 확보된 실험이 가능하게 되었다.^{45,46}

그 중 TLC-SER (surface-enhanced Raman spectroscopy)

Table 1. Analytical methods of pharmaceutical adulterants in supplement diets by TLC technique

Class	Analytes	Technique	Chromatographic conditions	ref.
PDE-5 inhibitors	sildenafil, hongdenafil, homosildenafil, hydroxyhomosildenafil, vardenafil, pseudo-vardenafil, tadalafil, aminotadalafil	TLC	mobile phase : chloroform-ethyl acetate-MeOH-water (40:40:15:11, v/v/v/v)	43
	avanafil		mobile phase : toluene-MeOH (9:1 v/v)	44
	phentolamine, sildenafil	TLC-SERS	mobile phase : chloroform-ammonia solution(28)-MeOH (70:5:3, lower layer) and chloroform-diethylamide-MeOH (15:3:2,v/v), Dragendorff's reagent	46
	cotinine, trans-3'-hydroxycotinine		mobile phase : methane-dichloromethane (8:1, v/v)	47
Anti-diabetics	phenformin hydrochloride, metformin hydrochloride, rosiglitazone maleate, pioglitazone hydrochloride	TLC-SERS with 2DCOS	mobile phase : n-butanol0acetic acid-water (11:2:2, v/v), dichloromethane-MeOH-water (8:2:0.2),dichloromethane-cyclohexane-MeOH-acetic acid (8:8:0.5:125)	48
Anti-diabetics	pioglitazone hydrochloride, rosiglitazone maleate	TLC-SERS with 2DCOS	mobile phase : dichloromethane-MeOH-water (8:2:0.2, v/v)	49
Steroid	dexamethasone, prednisolone	TLC (electrospun cellulose acetate nanofiber)	mobile phase : acetone/ N,N-dimethylacetamide (2:1, v/v), 0.2% tetrazolium blue and 2% sodium hydroxide in MeOH vapors (visualizing agent)	50

결합 기법이 다양한 복잡한 시스템에 사용되고 있는데 건강기능식품 중의 항당뇨제를 검출하기 위해서 SER 기법을 사용하여 각각의 스폿 (spot)을 세세히 스캔하면 TLC의 부분적인 겹침을 해결할 수 있다.^{47,48} 여기에 2D-TLC에 적용시키면 겹침이 발생하는 스폿의 해상도를 높여서 구조적으로 유사한 pioglitazone과 rosiglitazone의 분리를 가능하게 했다.⁴⁹ 또한, 일부 스테로이드 성분은 TLC로 분석이 가능하다. Corticosteroid 계열의 스테로이드인 dexamethasone과 prednisolone를 TLC로 쉽게 검출해 낼 수 있다. 분리 성능이 좋은 나노섬유를 적용한 TLC를 통해 값싸고 효율적으로 스테로이드 성분을 검출해내는 것이 가능하게 되었다.⁵⁰ TLC를 이용하여 분석된 건강기능식품 내 불법함유 의약품의 검출사례는 Table 1에 정리하였다.

4.2. High performance liquid chromatography (HPLC)

의약품 분석에 가장 많이 쓰이는 분석장비로서 HPLC-UV를 이용한 검출법이 가장 많이 사용된다. 건강기능식품 중 다성분 부정 의약품의 신속한 검출을 위하여 빠르고 간단하게 동시 스크리닝법에 다양한 LC 방법이 적용되었다.⁵¹⁻⁵⁵ PDE-5 저해제의 구조 유사체들은 기존에 알려진 PDE-5 저해제 성분들의

머무름 시간 (retention time, RT)과 스펙트럼을 가지고 상대머무름 시간과 UV-스펙트럼을 비교하여 library를 생성한다. 이러한 과정을 통해 건강기능식품 내 부정 첨가물 및 유해물질을 확인하고, library와의 일치도를 점수화하여 화합물의 구조적 정보를 얻을 수 있다. 대표적 예로서 파우더 형태의 건강기능성 식품에서 acetildenafil의 유사체인 hydroxyactildenafil을 HPLC-DAD분석에 의해 적발된 사례이다. Hydroxyactildenafil은 acetildenafil과 UV spectrum은 같지만 RT값이 다르기 때문에, 구조 유사체의 존재를 확인할 수 있었다.⁵¹ 최근에는 UHPLC (ultra-high performance liquid chromatography)는 컬럼의 직경과 크기 조절, 정지상의 화학적 성질의 선택 등으로 분석시간을 크게 줄이고 피이크 분해능을 높여 분리효율과 분리속도를 향상시킬 수 있는 장점으로 식품 중 부정유해물질 분석에 널리 사용되고 있다. UHPLC-UV를 통하여 허가된 3종의 PDE-5 저해제와 6종의 유사체를 5분 이내에 스크리닝이 가능하게 되었다.⁵⁶ 그러나 UHPLC 가격이 기존 HPLC에 비해 비싸다는 한계점을 갖고 있기 때문에 현재는 HPLC 기법으로 새로운 유사체보다는 유사한 구조의 불법 첨가제 검출에 유용하게 사용하고 있다. 예를 들어 항당뇨제 계열인 merformin, glibenclamide, glimepiride, glipizide, gliclazide 성분들을 UHPLC-DAD

Table 2. Analytical methods of pharmaceutical adulterants in supplement diets by HPLC technique

Class	Analytes	Technique	Chromatographic conditions	ref.
PDE-5 inhibitors	acetildenafil, hydroxyacetildenafil	HPLC	Agilent Eclipse XDB C18 (250 × 4.6 mm, 5 μm) A) MeOH, B) 0.1M Ammonium formate	51
	sildenafil, vardenafil, tadalafil, homosildenafil, hydroxyl-homosildenafil, and pseudo-vardenafil		C18 (250 × 4.6 mm, 5 μm), A) 0.1 % sodium-1-hexane-sulfonate, B) 0.1 % H ₃ PO ₄ :95 % ACN	52
	propoxyphenyl linked sildenafil and thiosildenafil analogues	HPLC	Hypersil BDS C18 (200 × 4.6 mm, 5 μm), A) 25 mM NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O (pH 3.2) and B) ACN	53
	new sildenafil analogue		Zorbax SB-C18 (250 × 9.4 mm, 5 μm), A) water, B) ACN both containing 0.1 % formic acid	55
	sildenafil, tadalafil, vardenafil and 5 analogues and impurities	UHPLC	BEH Shield RP18 (100 × 2.1 mm, 1.7 μm) A) 10 mM ammonium formate buffer (pH 3.5), B) ACN	56
Anti-diabetics	metformin, pioglitazone, sitagliptin, repaglinide, glibenclamide and gliclazide	HPLC	Kromasil 100 C18 (300 × 4 mm, 10 μm), A) ACN, B) 0.05M Potassium dihydrogen phosphate and 0.01M sodium octane sulphonate (pH 3.55)	58
	ephedrine, norephedrine, caffeine, furosemide	CE	fused-silica column (600 × 5.0 mm, 375 μm), sodium tetraborate buffer 20 mM, pH 9.2	59
Steroids	metandienone, narandrostenedione, stanozol		Phenomenex Prodigy ODS 3 column (150 × 4.6 mm, 5 μm) A) water, B) MeOH	62
	9 steroids (triamcinolone, prednisolone, hydrocortisone, methylprednisolone, betamethasone, dexamethasone, beclomethasone, fludrocortisone acetate, cortisone acetate)	HPLC	Hypersil BDS C18 column (300 × 4.6 mm, 5 μm) A) water, B) ACN	39
	betamethasone, prednisolone, cortisone acetate		ODS-Zorbax (250 × 4.6 mm, A) ACN, B) MeOH and C) 1 % H ₃ PO ₄ in water	40

기법으로 검출하였고,⁵⁷⁻⁶⁰ 조사결과 가장 빈번하게 검출되는 항당뇨제는 glibenclamide로 나타났다.^{58,59} 스테로이드 성분인 testosterone, androsterone, stanozol을 HPLC 분석방법으로 검출한 사례가 보고되었다.^{61,62} HPLC를 이용하여 분석된 건강기능식품 내 불법함유 의약품의 검출사례는 Table 2에 정리하였다.

4.3. Mass spectrometry (MS, 질량분석법)

MS는 불법 마약류의 검출, 약물 대사연구, 임상연구, 신약개발, 환경오염물질 검출 및 생체고분자 물질의 구조 규명 등 다양한 연구 분야에 널리 적용되고 있는 극미량 분석방법 중 하나이다. 특히 부정유해물질 구조는 정확한 분자량 측정 및 tandem 질량스펙트럼의 해석을 통해 미지물질의 구조규명에 유용하게 사용된다. 이들 분자량 검출에 있어서 사용하는 분석관으로 single quadrupole, triple quadrupole, linear trap, time of flight (TOF), orbitrap Fourier transform mass spectrometry (FTMS) 등이 있다.⁶³⁻⁶⁷ 이를 통해 다른 분광학적 측정 과정없이 MS만으로도 불법 첨가제 유사체의 구조를 정확히 밝힐 수 있는 장점이 있다.^{68,69}

또한 MS의 이온화 기술의 발전, 질량분석 분해능의

향상, 2 개 이상의 분석관이 결합된 tandem 질량분석법으로, 이미 알려진 불법 첨가제의 질량이론 분해 스펙트럼의 패턴을 해석함으로써, 미지 유사체의 질량이온들의 조개집 패턴을 해석하여 구조적 특성 간의 유사성을 제공하여 그 구조 예측에 유용하다.^{70,71} 예를 들어 고분해능 질량분석관인 TOF는 이온의 정확한 질량값 측정이 가능하고, 정량의 정확성이 높아져 화합물의 분자구조, 화학적 조성 및 함량 분석을 수행할 수 있게 되었다. 예를 들어 허가된 PDE-5 저해제인 sildenafil과 그 유사체 hydroxyacetildenafil, piperidinoacetildenafil의 이온 절편패턴 유사성을 기반으로 고분해능장비를 활용으로 구조 유추분석이 가능하게 되었다.⁴³ 최근에는 분석관을 하이브리드하여 동위원소이온 비와 특징이온 비를 통하여 데이터베이스를 구축하여 보다 더 정확한 구조 유추분석이 가능하게 되었다.⁷² 기존에 알려진 electron spray ionization (ESI) 방식 이외에 probe로부터 뜨거운 질소가스에 노출시켜 증기화된 시료를 이온화 소스로 주입하는 방법인 atmospheric solids analysis probe (ASAP)와, desorption corona beam ionisation (DCBI)인 대기압조건에서 뜨거운 헬륨빔을 이용하여 탈착시킨 시료를 에너지 입자에 의해 이온화 시키는 방법들로 전

Table 3. Analytical methods of pharmaceutical adulterants in supplement diets by GC-MS technique

Class	Analytes	Technique	Chromatographic conditions	ref.
PDE-5 inhibitors	sildenafil, tadalafil, vardenafil	GC-MS	ZB-5HT (15 m × 0.25 mm, 0.25 μm)	76
	sildenafil and its analogues	GC-MS/MS	BPX5 (10 m × 0.25 mm, 0.1 μm)	78
	5 synthetic PDE 5 inhibitors (sildenafil, tadalafil, vardenafil, mirodenafil, and udenafil) and 13 analogues	GC-MS	HP-5MS (15 m × 0.25 mm, 0.25 μm)	79
Steroids (AAS)	Testosterone, Metandienone, Boldenone, Norandrostenedione, Estrone, Stanozol	GC-MS	HP-5MS (16.5 m × 0.25 mm, 0.25 μm)	62
	nandrolone, boldenone, methyltestosterone, fluoxymesterolone, cocaine, Benzoyecgonine	GC-MS/MS	CP-SIL 8CB-MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)	81
	14 AAS (prasterone, testosterone, methandrostenolone, oxandrolone, drostanolone propionate, testosterone propionate, stanozolol, testosterone isocaproate, testosterone enanthate, testosterone cypionate, nandrolone decanoate, nandrolone phenylpropionate, testosterone phenylpropionate, boldenone undecylenate)	GC-MS	HP5-MS (25 m × 0.2 mm, 0.33 μm)	82
	methylstenbolone	GC-MS/MS	Ultra-1 (17 m × 0.2 mm, 0.11 m)	85
	25 Steroids	GCxGC-TOF-MS	DB5-MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm) BPX-50 (2 m × 0.1 mm, 0.1 μm)	86

처리 과정없이 분석이 가능하게 되었다.⁷³⁻⁷⁵ 그러나 이런 방법들은 정량이나 분석물 구조 결정에는 제한적이다. 현재 질량분석법의 급격한 발전으로 크미량 및 고난이도 분석이 질량분석기로 가능해 지면서 HRGC/HRMS등 질량분석의 중요성이 크게 인식되고 있다.

4.3.1. Gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS)

휘발성, 온도안정성이 있는 시료에 대하여 GC-MS를 효율적으로 수행할 수 있으며, LC-MS보다 가격이 저렴하며 물질 분리에 있어 매우 탁월하다. 그러나 고분자량의 비휘성 성분들의 분석에는 적합하지 않고 극성이 높은 화합물의 경우 유도체화 방법을 도입해야 하는 단점이 있다. 대부분의 PDE-5 저해제 경우 열에 불안정하고 실릴화 유도체화 반응을 도입하기 어렵기 때문에 GC-MS를 통한 분석은 잘 시행되지 않지만, 비교적 비극성 화합물인 sildenafil, vardenafil, tadalafil의 경우 GC-MS를 사용하여 분석이 가능하다.^{76,77} 유도체화 과정이나 화학적 반응 후 GC-MS를 통해서 구조를 규명하기도 한다.^{78,79} 보다 정확한 분석을 위해서는 GC-MS는 단독 분석법으로 분석 수행보다는 LC-MS와 상호보완적으로 부정유효물질의 유사체의 구조 규명에 사용한다.^{80,81} 특히 스테로이드 계열의 의약품들을 분석할 경우, GC-MS를 많이 이용한다.⁸²⁻⁸⁵ 이는 일반적으로 스테로이드는 비극성의 구조를 가지고 있어 LC/

MS에서 주로 사용되는 ESI 이온화방법으로는 낮은 감도를 보이기 때문이다. 최근에는 수산화기를 가진 스테로이드에 대해서 trimethylsilylation (TMS) 유도체 방법을 도입한 후 분석하는 방법들을 도입하고 있다.⁶² 최근에는 DART-MS(direct analysis in real time ionization coupled with a time-of-flight mass spectrometry)라는 방법으로 전처리 없이 바로 주입하여 분석이 가능하게 되었다.⁸⁶ GC-MS기법에 의한 건강기능식품 내 부정유효 의약품의 검출사례는 Table 3에 정리하였다.

4.3.2. Liquid chromatography - mass spectrometry (LC-MS)

HPLC의 경우에는 간단하고 신뢰성 높은 정량결과를 제공할 수 있으나, 종종 혼합물로 되어 있는 경우 분리가 제대로 이루어지지 않으면 정확한 분석이 어려운 경우도 있다. 따라서 이러한 경우 정확한 성분 확인을 위한 방법으로 LC-MS/MS 기법을 주로 사용한다. LC-MS는 복잡한 전처리 과정을 거치지 않고 간단한 추출 정제과정을 거친 후 분석이 가능한 장점이 있으며, 높은 감도 및 선택성으로 분리가 잘 되지 않는 화합물과 새로운 유사체의 구조 규명에 널리 사용되는 방법이다.^{63,65} online DAD 검출기와 연계하여 UV chromatogram과 질량분석스펙트럼을 동시에 얻어 정량과 정성분석을 수행할 수도 있다.^{87,88} LC-MS/MS MRM(Multi reaction monitoring)기법으로 분석하면 때

트릭스의 영향을 최대한 줄이면서 정확하게 분석물질을 검출, 확인하는데 매우 유용하다.^{26,89} 예를 들어 불법으로 판매되는 성능 강화제에서 구조를 변형한 발기부전치료제인 aildenafil이라는 새로운 물질이 검출하였다.⁹⁰ 최근에는 156 성분의 부정유해물질을 UHPLC컬럼을 사용하여 15분 내에 스크리닝을 하고, 검출된 성분을 보다 정확한 확인을 위하여 HR 질량 분석기를 이용하여 부정유해물질의 고정밀 질량측정 및 각 성분의 MS/MS 스펙트럼을 제시하였다. 또한 mass tolerance window 값을 5 ppm까지 낮추는 기법으로 측정 오류를 크게 낮추고 분석 신뢰성을 높일 수 있다.⁶⁹ 예로서 UPLC-Q-ToF MS의 chromatogram과 MS 측정 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 최근에는 데이터와 정보를 수집하는 기술이 효율적으로 개선되면서 정보를 획득하기 위해 여러 번 주입할 필요 없이 다중 질량 결합 트리거 (Information Dependent Acquisition, IDA)를 적용하여 다성분 스크리닝이 가능하게 되었다.^{91,92} 실제로 IDA와 MRM법을 적용하여 22종류의 PDE-5 저해제를 스크리닝하였고, MS/MS로 생성된 이온 조각들의 특정마커로 미지의 유사체를 확인하였다.⁹¹ 예를 들어 sildenafil 유사체들은

m/z 377, 311, 283, tadalafil 유사체는 m/z 269, 262, 250, vardenafil 유사체는 m/z 461, 377, 299 값을 나타낸다.^{93,94} 그러나 충돌 가스의 종류(He, Ar, N₂ 등)에 따라 이러한 특징이온 마커의 이온값은 달라질 수 있다.

항당뇨제 계열 역시 LC-MS/MS MRM기법을 이용해 캡슐제형의 건강기능식품 껍질에서 첨가제를 검출했고, 또 다른 시료에서는 glibenclamide와 rosiglitazone 이 하루 최대 복용량을 초과 첨가된 사례도 적발되었다.^{35,95} 또한 건강보충제나 한약제에서 LC-MS/MS를 기법을 이용하여 여러 계열의 항당뇨제를 검출해 내기도 했다.⁹⁶⁻⁹⁸

이노제의 정확한 성분 확인을 위한 방법으로 LC-MS/MS 기법이 주로 사용되며, LC-ESI-MS/MS의 이노제를 스크리닝하였고,^{99,100} LC-ESI-MS/MS로 anti-hypertension 치료로 사용되는 tradition chinese medicine (TCM)안에 이노제 성분을 스크리닝 하였다.¹⁰¹ 검출 가능한 AAS성분들을 HPLC-MS/MS를 통하여 분석할 경우 빠른 시간 내 검출할 수 있고,¹⁰²⁻¹⁰⁴ corticosteroids 성분 중 이성질체인 betamethasone과 dexamethasone, 그 외 esterification된 화합물을 동시에 HPLC-MS/MS

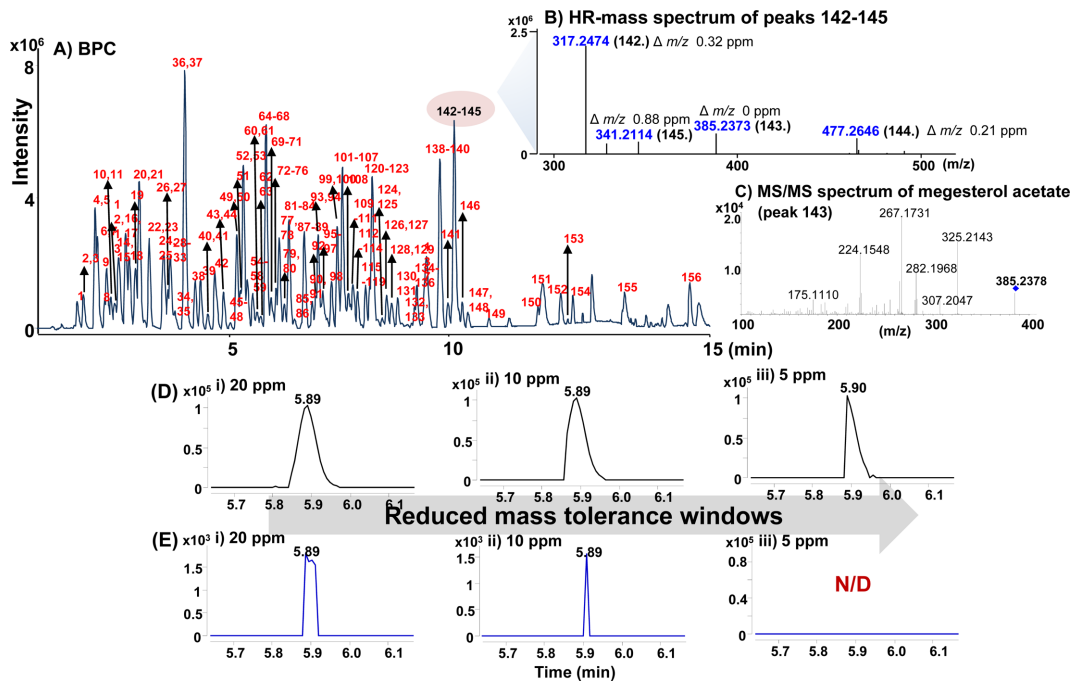


Fig. 5. A) BPC of 156 illegal adulterants by UPLC-Q/TOF-MS in the positive mode. B) HR-mass spectrum of overlapped peaks and C) MS/MS spectrum of megestrol acetate. ECICs of m/z 321.1849 for triamcinolone diacetate (D) spiked pill sample at 200 ng/mL and (E) unspiked pill sample obtained with different mass tolerances of 20, 10, and 5 ppm.

Table 4. Analytical methods of pharmaceutical adulterants in supplement diets by LC-MS technique

Class	Analytes	Technique	Chromatographic conditions	ref.
PDE-5 inhibitors	benzamidenafil		Direct injection	74
	osthole, propoxyphenyl-thiohydroxyhomosildenafil, tetrahydropalmatine, thiosildenafil, sildenafil	LC-MS/MS	BEH C18 (50 × 2.1 mm, 1.7 μm) A) water, B) ACN both containing 0.1 % TFA	31
	acetildenafil (hongdenafil), hydroxyhomosildenafil, nor-acetildenafil		Hypersil BDS C18 (200 × 4.6 mm, 5 μm) A) NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O (pH 3.2), B) ACN	68
	156 illegal drugs (58 erectile dysfunction drugs, 49 synthetic steroids, 26 anabolic steroids, and 23 anti-histamine drugs)	UHPLC-Q/TOF-MS	BEH C18 (150 × 2.1 mm, 1.7 μm), A) water, B) ACN both containing 0.1 % formic acid	69
	aildenafil	LC-MS/MS	XTerra MS C18 (100 × 2.1 mm, 3.5 mm), A) MeOH, B) acidified water/MeOH	90
Anti diabetics	14 synthetic anti-diabetic drugs	UHPLC-MS/MS	Acquity BEH C18 (50 × 2.1 mm, 1.7 μm), A) ACN, B) 0.1 % formic acid in water	35
	26 anti-diabetic	UPLC	Acquity BEH C18 (150 × 2.1 mm, 1.7 μm), A) 0.5 mM sodium 1-hexanesulfonate in 0.1 % phosphoric acid, B) 95 % (v/v) ACN in water	95
	phenformin, rosiglitazone, glibenclamide, glimepiride, sildenafil	HPLC-MS	Spherigel C18 (200 × 4.6 mm, 5 mm) A) ACN, B) 0.05 % (v/v) formic acid and 0.02M ammonium acetate	96
Diuretics	17 diuretics	HPLC LC-MS/MS	HSS-T3 (100 × 2.1 mm, 1.8 μm) A) water and B) ACN	1
	18 diuretics (acetazolamide, hydrochlorothiazide, amiloride, diclofenamide, triamterene, chlorthalidone, trichloromethiazide, clopamide, furosemide, indapamide, torasemide, bendroflumethiazide, piretanide, spironolactone, xipamide, bumetanide, ethacrynic acid, canrenone)	HPLC-MS	Nucleosil C18 (100 × 3.0 mm, 5 μm), A) 1% acetic acid, B) ACN	99
	18 anti-hypertension drugs (diuretics, calcium antagonists, angiotensin-converting enzyme inhibitors)	HPLC-MS	Xtimate C18 (250 × 4.6 mm, 5 μm), A) MeOH, B) 20 mM ammonium formate buffer	101
Steroids	49 steroids	LC-MS/MS	Symmetry C18 (150 × 2.1 mm, 5 μm) MeOH/water (65:35 v/v) containing 0.3 % formic acid (Positive ionization mode) MeOH/water (70/30 v/v) containing 0.3 % formic acid (Negative ionization mode)	102
	32 steroids		ACQUITY BEH C18 (100 × 2.1 mm, 1.7 μm), A) 0.1 % formic acid in water, B) ACN	17
	82 steroids (estrogens, androgens, progestagens, steroid esters)	UHPLC-MS/MS	BEH C ₁₈ (50 × 2.1 mm, 1.7 μm) (A) methanol/water (10:90, v/v), (B) methanol (0.1 % formic acid for the detection of androgens gestagens and steroid esters)	104
	betamethasone, dexamethasone, dexamethasone 21-acetate, dexamethasone 21-phosphate, betamethasone 17-valerate, betamethasone 21-valerate, betamethasone 17,21-dipropionate	HPLC-MS/MS	Luna C8 (150 × 4.6 mm, 3 μm), A) 0.05M ammonium acetate in water, B) ACN	105

분석 방법으로 검출한 사례가 보고되었다.¹⁰⁵ Table 4는 LC-MS 기법으로 건강기능식품 내 불법함유 의약품의 검출사례들을 요약하였다.

4.4. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR, 핵자기공명 분광법)

NMR은 강력한 자장 내에서 라디오파와 원자핵과

의 상호작용으로부터 얻어지는 정보를 유기화합물의 분자구조분석에 활용하는 분광학적 방법이다. 분자를 이루는 원자의 핵에 대한 다양한 정보를 기반으로 부정유해물질의 구조를 유추할 수 있다. NMR 분석에 사용되는 기법에는 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, 1D (DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), NOE (Nuclear Overhauser Effect)), 2D homonuclear COSY (Correlation Spectroscopy), NOESY (Nuclear Overhauser Effect spectroscopy), HMQC (Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation), HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation) 등이 있으며 이 방법을 통하여 새롭게 발견된 부정유해물질의 구조를 유추할 수 있다.^{31,87,106} NMR은 전처리 과정이 단순하고 시료의 회수에 대한 장점을 가지고 있지만, 여러 가지 성분을 동시에 분석할 수 있는 GC, LC 보다 감도가 떨어지고 낮은 감도로 인해 많은 시료량이 필요하다는 단점을 가지고 있다.^{65,93} 그러나 최근 복잡한 혼합물에서 미지의 부정유해물질을 다변량 지문검색이라는 방법으로 확인할 수 있는 NMR법이 제안되고 있다.^{107,108}

4.5. Vibrational Spectroscopy (진동 분광학)

IR, Near IR, Raman 등의 진동분광학법도 이미 알려진 의약품의 구조와 유사체 혹은 위조 의약품 스크리닝에 널리 사용되고 있다. 특정 진동수에서 진동 에너지 차에 따라 의약품의 분자 운동(진동, 회전)을 일으키고 이에 따른 IR에서의 다른 흡수, Raman 분광법에서 다른 빛의 산란을 관측을 근거로 구조분석에 활용되고 있다. IR과 Raman은 상호 보완적으로 알려지지 않은 유사체 및 위조 의약품이 가지고 있는 다양한 기능을 확인할 수 있게 한다.^{49,87} 무엇보다 비파괴적인 방법으로 적은 양의 시료를 최소화된 전처리 과정으로 빠르게 분석할 수 있는 장점이다. Attenuated Total Reflectance (ATR) 전처리 기술과 IR을 접합시켜 시료의 형태에 상관없이 전처리과정 없이 바로 분석이 가능하다.¹⁰⁹ 최근에는 ATR 전처리 기술과 FTIR library를 사용하여 두 개의 새로운 PDE-5 저해제 유사체인 propoxyphenyl aildenafil과 propoxyphenyl thioaildenafil의 구조규명을 하였다.⁵³ 이러한 진동 분광학법과 화학적 분리분석법을 함께 사용 시 위조품, 진품 간의 구별에 도움이 되는 chromatographic fingerprint를 만들 수 있다.^{110,111} 따라서 위조품 분석에 있어서 진동분광학법을 선호하기도 한다. 그러나 새로운 의약품 유사체의 구조규명에는 참고 물질의 데이터베이스화가 필요하다는 단점이 있다.

5. 한계점 및 고찰

최근에는 식품 중 승인 되지 않은 의약품들의 불법 혼입이 증가하고 있으며, 규제당국의 검사를 피하기 위하여 혼입되는 의약품의 구조 변형이 점점 다양해지고 있기 때문에 부정유해물질의 혼입을 스크리닝하고 확인하는데 많은 문제점들을 가지고 있다. 또한 소비자의 구매를 유혹하는 건강에 무해하다고 가장한 천연물 제품에 성기능 향상제 및 다이어트제의 불법적 혼입도 종종 발생하고 있다. 이러한 불법의약품들은 낮은 가격에 효과적인 성능을 나타내고, 최근에는 인터넷 등으로 구입하여 이들의 유통 경로를 파악하기 어렵기 때문에 이러한 불법 약품들이 심각한 부작용을 일으킬 수 있음에도 불구하고 유통 판매가 증가하고 있다. 또한 많은 식품의 경우, 함유성분의 정보가 부족하여 일반 소비자들은 어떤 부정 유해성분이 들어있는지 인지하지 못하고 복용하게 된다. 특히 천연물기반의 건강기능성식품은 제품의 함유성분을 의 목적으로 고시해야 하는 사항이 법으로 규정되어 있지 않기 때문에 불법으로 혼입되어 있는 의약품들을 규제할 수 있는 방안마련이 시급하다. 이러한 제도적인 문제 외에도 실제 검사현장에서는 매일 수많은 시료들이 있고 이를 빠르게 검출해야 되기 때문에 시간이 오래 걸리고 비용이 많이 드는 검출법을 사용하기에 한계가 있다. 아직까지 다양한 타입의 제형에서 수많은 부정유해물질과 유사체들의 모든 성분을 검출할 수 있는 고효율 스크리닝 방법이 널리 개발되지 못한 실정이다.

불법 식품에 대한 규제와 관련 법률 개정이 불법적인 의약품의 혼입을 줄이는데 기여할 것이라 보이지만, 부작용 사례는 감소하지 않을 것으로 전망된다. 이는 불법 유사체의 혼입으로 인한 위험성과 사고사례에 대한 보고에도 불구하고, 쉬운 구매, 저렴한 가격 등의 이유로 건강기능식품의 구매를 원하는 소비자의 수요가 여전히 증가하기 때문이다. 실제로 부작용 사례는 전체 2~3% 정도만 신고되었다고 한다. 그 이외에도 생산업자들은 스크리닝 시험법으로부터 피하기 위해 이전까지와는 다르게 캡슐의 경우 내용물이 아닌 캡슐 껍질에 혼입하는 등의 예상치 못한 곳에 의약품을 첨가하기도 한다. 건강기능성 식품을 원하는 소비자가 존재하는 한, 불법 의약품 혼입과 구조 변형의 유사체들의 개발과 시험방법을 피하기 위한 방법은 지속적으로 달라질 것이다. 따라서 이를 방지하기 위하여 일반인들에게 불법 건강기능식품에 의해

발생할 수 있는 부작용과 위험성을 적극 홍보하고 신뢰성 있고 효율적인 다성분 부정유해물질 동시 스크리닝법의 개발이 필요하다.

6. 결 론

건강기능성 식품의 불법 의약품 혼입은 소비자와 관련 정부부처에 주요한 우려 사항이 되었다. 불법 혼입 건강기능성 식품에 대한 수요와 생산은 증가하고 있으며 불법 첨가물에 대한 엄격한 규제를 피하기 위해 해당 물질이 검출되지 않도록 유사체를 사용하는 등의 교묘한 방법을 찾아가고 있다. 따라서 이를 극복하기 위한 전략으로, 미지의 불법 유사체 구조 규명과 정보 공유가 우선적으로 필요하고 또한 높은 선택성, 감응성, 정확성, 낮은 비용 및 빠른 분석시간 등등을 갖춘 이상적 분석법 개발이 시급히 필요하다. 최근 불법첨가물의 확인에 HPLC, LC-MS, GC-MS, MS, CE, TLC, NMR 등이 사용되고, 그 중 HPLC와 LC-MS가 가장 높은 빈도로 사용되었다.

분석기법의 개발과 함께 소비자들의 불법 건강기능성 식품에 대한 인식과 신고 등의 다양한 방안을 고려해야 한다. 첫째로 소비자들에게 일반 의약품과 달리 건강기능식품도 위험할 수 있다는 인식을 심어주어야 하며 두 번째로 환자의 경우 주치의와 상담 하에 건강기능식품을 복용하도록 권고되어야 한다. 세 번째로 건강기능성식품에 불법적인 부정유해물질의 첨가를 막기 위해서라도 강력한 규제법안을 마련해야 한다. 결국, 규제자와 건강기능 식품 관련 연구진, 학자 그리고 관련 산업 관계자, 더 나아가 불법 건강기능성 식품의 위해성에 대한 다양한 언론 홍보를 통하여 건강기능성 식품의 불법 첨가를 막고 안전한 건강기능 식품의 품질을 확보할 수 있다. 이러한 노력과 함께 고효율 스크리닝을 수행할 수 있는 분석기법의 개발을 통하여 건강기능식품에 대한 지속적 관리, 감독하면 불법 의약품의 혼입의 선제적 관리가 될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 2015년도 식품의약품안전처의 연구개발비(15162MFDS081)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

I. H. Woo, J. W. Kim, K. M. Han, J. H. Lee, I. S. Hwang,

- J. H. Lee, J. Kim, S. J. Kweon, S. Cho, K. R. Chae, S. Y. Han and J. Kim, *Food Addit. Contam.*, **30**, 209-217 (2013).
2. T. Rocha, J. S. Amaral and M. B. P. P. Oliveira, *Compr. Rev. Food Sci. F.*, **15**, 43-62 (2016).
3. E. Ernst, *J. Intern. Med.*, **2**, 107-113 (2002).
4. C. K. Ching, Y. H. Lam, Albert Y. W. C. and T. W. L. Mak, *Br J. Clin. Pharmacol.*, **73**(5), 795-800 (2012).
5. B. J. Venhuis and D. Kaste, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **69**, 196-208 (2012).
6. M. Y. Low, Y. Zeng, L. Li, X. W. Ge, R. Lee, B. C. Bloodworth and H. L. Koh, *Drug Saf.*, **32**, 1141-1146 (2009).
7. S. Gur, P. J. Kadowitz, A. Gokce, S. C. Sikka, U. Lokman and W. J. Hellstrom, *Curr. Drug Metab.*, **14**, 265-269 (2013).
8. Robert A. Kloner, *Am. J. Cardiol.*, **96**, 42-46 (2005).
9. A. Rashid, *Clin. Cornerstone*, **7**, 47-55 (2005).
10. D. N. Patel, W. L. Low, L. L. Tan, M. M. Tan, Q. Zhang, M. Y. Low, C. L. Chan and H. L. Koh, *Clin. Toxicol.*, **50**, 481-489 (2012).
11. A. Taher and A. Setiawati, *Acta Med. Indones.*, **45**, 290-294 (2013).
12. W. T. Poon, Y. H. Lam, C. K. Lai, A. Y. Chan and T. W. Mak, *Hong Kong Med. J.*, **13**, 359-363 (2007).
13. B. J. Venhuis, B. T. Leonore and D. d. Kaste, *Forensic Sci. Int.*, **177**, e25-e27 (2008).
14. A. M. Goudie and J. M. Kaye, *Med. J. Aust.*, **175**, 257 (2001).
15. N. Ashraf, R. Locksley and A. I. Arieff, *Am. J. Med.*, **70**, 1163-1168 (1981).
16. A. P. L. Moreira, L. A. Gobo, C. Viena and L. M. de Carvalho, *Anal. Methods*, **8**, 1881-1888 (2016).
17. H. J. Park, S. H. Cho, J. H. Lee, I. S. Hwang, K. M. Han, C. Y. Yoon, S. Cho and W. S. Kim, *J. Forensic Sci.*, **61**, (2016).
18. A. Kleiman and J. P. Tuckermann, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **275**, 98-108 (2007).
19. K. Heimdal, H. Hirschberg, H. Slettebø, K. Watne and O. Nome, *J. Neurooncol.*, **12**, 141-144 (1992).
20. B. V. Stricht, O. E. Parvais, R. J. Vanhaelen-Fastré and M. H. Vanhaelen, *BMJ.*, **308**, 1162 (1994).
21. M. M. van Deursen, E. R. Lock and A. J. Poortman-van der Meere, *Sci. Justice*, **46**, 135-152 (2006).

22. T. Hasegawa, M. Saijo, T. Ishii, T. Nagata, Y. Haishima, N. Kawahara and Y. Goda, *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, **49**, 311-315 (2008).
23. C. L. Kee, X. Ge, H. L. Koh and M. Y. Low, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **27**, 1380-1384 (2013).
24. X. Ge, L. Li, H. L. Koh and M. Y. Low, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **56**, 491-496 (2011).
25. G. Hakan, C. Maksut and A. Mehmet, *Turk. J. Chem.*, **34**, 157-163 (2010).
26. V. M. Toomey, J. J. Litzau and C. L. Flurer, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **59**, 50-57 (2011).
27. H. Kurita, K. Mizuno, K. Kuromi, N. Suzuki, C. Ueno and M. Kamimura, *J. Health Sci.*, **54**, 310-314 (2008).
28. D. Kim, J. Lee, N. Lee, D. Ryu, J. Kim, S. Lee, J. Choi, J. Ryu, N. Kim, G. Im, W. Choi and T. Kim, *Bioorganic Med. Chem.*, **9**, 3013-3021 (2001).
29. U. Gresser and C. H. Gleiter, *Eur. J. Med. Res.*, **7**, 435-446 (2002).
30. M. Alp, M. Coskun and H. Goker, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **72**, 155-158 (2013).
31. S. Balayssac, V. Gilard, C. Zedde, R. Martino and M. Malet-Martino, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **63**, 135-150 (2012).
32. W. Pang, H. Yang, Z. Wu, M. Huang and J. Hu, *Chromatogr.*, **70**, 1353-1359 (2009).
33. C. Viana, M. Ferreira, C. S. Romero, M. R. Bortoluzzi, F. O. Lima, C. M. B. Rolim and L. M. de Carvalho, *Anal. Methods*, **5**, 2126-2133 (2013).
34. D. Li, L. Qu, W. Zhai, J. Xue and J. S. Fossey, *Environ. Sci. Technol.*, **45**, 4046-4052 (2011).
35. N. Li, M. Cui, X. M. Lu, F. Qin, K. Jiang and F. M. Li, *Biomed. Chromatogr.*, **24**, 1255-1261 (2010).
36. M. Cui, N. Li, F. Qin, F. Li and Z. Xiong, *Chromatogr.*, **72**, 1189-1194 (2010).
37. J. B. Puschett, *Cardiology*, **84**, 4-13 (1994).
38. S. H. Kim, J. Lee, T. Yoon, J. Choi, D. Choi, D. Kim and S. W. Kwon, *Biomed. Chromatogr.*, **23**, 1259-1265 (2009).
39. N. Klinsunthorna, A. Petsoma and T. Nhujak, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **55**, 1175-1178 (2011).
40. S. Ahmed and M. Riaz, *Chomatogr.*, **31**, 67-70 (1991).
41. I. Thiblin and T. Pärklö, *Acta Psychiatr. Scand.*, **106**, 125-128 (2002).
42. G. Kanayama, J. I. Hudson and H. G. Pope Jr, *Drug Alcohol Depend.*, **98**, 1-12 (2008).
43. Y. Cai, T. G. Cai, Y. Shi, X. L. Cheng, L. Y. Ma, S. C. Ma, R. C. Lin and W. Feng, *J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol.*, **33**, 1287-1306 (2010).
44. H. H. Chaudgari, D. J. Sen and C. N. Patel, *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, **4**, 1566-1575 (2015).
45. T. Moriyasu, S. Shigeoka, K. Kishimoto, F. Ishikawa, J. Nakajima, H. Kamimura and I. Yasuda, *Yakugaku Zasshi*, **121**, 765-769 (2001).
46. E. Mikami, T. Ohno and H. Matsumoto, *Forensic Sci Int.*, **130**, 140-146 (2002).
47. R. Huang, S. Han and X. S. Li, *Anal. Bioanal. Chem.*, **405**, 6815-6822 (2013).
48. Q. X. Zhu, Y. B. Cao, Y. Y. Cao, F. Lu and Y. F. Chai, *Anal. Bioanal. Chem.*, **406**, 1877-1884 (2014).
49. H. Li, Q. X. Zhu, T. S. Chwee, L. Wuc, Y. F. Chai, F. Lu and Y. F. Yuan, *Anal. Chim. Acta.*, **883**, 22-31 (2015).
50. T. Rojanarata, S. Plianwong, K. Su-uta, P. Opanasopit and T. Ngawhirunpat, *Talanta*, **115**, 208-213 (2013).
51. P. Hou, P. Zou, M. Y. Low, E. Chan and H. L. Koh, *Food Addit. Contam.*, **23**, 870-875 (2006).
52. M. Chang, T. Yoon, M. Hong and D. Choi, *Anal. Sci. Technol.*, **20**, 78-83 (2007).
53. C. L. Kee, X. Ge, H. L. Koh and M. Y. Low, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **70**, 265-272 (2012).
54. D. M. Choi, S. Park, T. H. Yoon, H. K. Jeong, J. S. Pyo, J. Park, D. Kim and S. W. Kwon, *J. AOAC Int.*, **91**, 580-588 (2008).
55. L. Li, M. Y. Low, X. Ge, B. C. Bloodworth and H. L. Koh, *Anal. Bioanal. Chem.*, (July) (2012).
56. P. Y. Sacré, E. Deconinck, P. Chiap, J. Croommen, F. Mansion, E. Rozet, P. Courselle and J. O. De Beer, *J. Chromatogr. A.*, **1218**, 6439-6447 (2011).
57. K. S. Lakshmi and T. Rajesh, *ISRN Pharm.*, 2011, 1-7 (2011).
58. V. Cianchino, G. Acosta, C. Ortega, L. D. Martínez and M. R. Gomez, *Anal. Methods*, **108**, 1075-1081 (2008).
59. E. F. Elkady, A. A. El-Zaher, H. M. Elwy and M. A. Saleh, *J. Anal. Bioanal. Tech.*, **13**, S13-S20 (2015).
60. C. Guo, F. Shi, S. Jiang, L. Gong, Y. Zhao, J. Zhang and S. Zeng, *J. Chromatogr. B*, **967**, 174-182 (2014).
61. K. J. S. De Cock, F. T. Delbeke, P. V. Eenoo, N. Desmet,

- K. Roels, and P. D. Backer, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **25**, 843-852 (2001).
62. M. K. Parr, H. Geyer, B. Hoffmann, K. Köhler, U. Mareck and W. Schänzer, *Biomed. Chromatogr.*, **21**, 164-168 (2007).
63. B. J. A. Berendsen, T. Meijer, H. G. J., Mol, L. v. Ginkel and M. W. F. Nielen, *Anal. Chim. Acta.*, **962**, 60-72 (2017).
64. H. J. Kim, J. H. Park, S. H. Cho, S. Cho and W. S. Kim, *Food Addit. Contam.*, **31**, 777-783 (2014).
65. S. Singh, T. Handa, M. Narayanam, A. Sahu, M. Junwal and R. P. Shah, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **69**, 148-173 (2012).
66. B. Guo, M. Wang, Y. Liu, J. Zhou, H. Dai, Z. Huang, Q. Zhang and B. Chen, *J. Agric. Food Chem.*, **63**, 6954-6967 (2015).
67. H. L. Koh, W. P. Yau, P. S. Ong and A. Hegde, *Drug Discov. Today*, **8**, 889-897 (2003).
68. C. L. Kee, H. L. Koh, B. C. Bloodworth, Y. Zeng, K. H. Kiang, M. Y. Low and X. Ge, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **98**, 153-159 (2014).
69. E. H. Kim, H. S. Seo, N. Y. Ki, N. H. Park, W. Lee, J. A. Do, S. Park, S. Y. Baek, B. Moon, H. B. Oh and J. Hong, *J. Chromatogr. A*, **1491**, 43-56 (2016).
70. J. A. Do, E. Noh, S. B. Yoon, H. J. Park, S. Cho, S. K. Park and C. Y. Yoon, *Anal. Sci. Technol.*, **28**, 278-287 (2015).
71. J. A. Do, E. Noh, S. B. Yoon, H. J. Park, S. Cho, S. K. Park and S. G. Lee, *Anal. Sci. Technol.*, **30**, 10-19 (2017).
72. Y. Li, J. Zhang, Y. Jin, L. Wang, W. Zhao, W. Zhang, L. Zhai, Y. Zhang, Y. Zhang and J. Zhou, *J. Chromatogr. A*, **1429**, 119-126 (2016).
73. M. Twohig, St. J. Skilton, G. Fujimoto, N. Ellor and R. S. Plumb, *Drug Test. Anal.*, **2**, 45-50 (2010).
74. M. Doué, G. D. ervilly-Pinel, A. Gicquiau, K. Pouponneau, F. Monteau and B. L. Bizec, *Anal. Chem.*, **86**, 5649-5655 (2014).
75. H. Wang, Y. Wu, Y. Zhao, W. Sun, L. Ding, B. Guo and B. Chen, *Food Addit. Contam.*, **29**, 1119-1201 (2012).
76. Y. D. Jeong, S. Suh, J. Y. Kim, M. K. In and K. J. Paeng, *Chromatographia*, **79**, 1671-1678 (2016).
77. S. U. Mokhtar, S. T. Chin, C. L. Kee, M. Y. Low, O. H. Drummer and P. J. Marriott, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **121**, 188-196 (2016).
78. S. Strano-Rossi, L. Anzillotti, X. D. L. Torre and F. Botré, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **24**, 1697-1706 (2010).
79. J. Pyo, H. Lee, Y. Park, J. Jo, Y. Park, S. Choe, M. Leem and J. Lee, *Mass spectrometry Letters*, **3**, 15-17 (2012).
80. M. Hansen, N. W. Jacobsen, F. K. Nielsen, E. Björklund, B. Styrihave and B. t. Halling-Sørensen, *Anal. Bioanal. Chem.*, **400**, 3409-3417 (2011).
81. C. Gambelunghe, M. Sommovilla, C. Ferranti, R. Rossi, K. Aroni, N. Manes and M. Bacci, *Biomed. Chromatogr.*, **21**, 369-375 (2007).
82. D. B. d. J. Neves and E. D. Caldas, *Forensic Sci. Int.*, **275**, 272-281 (2017).
83. O. Krug, A. Thomas, K. Xalpurgis, T. Piper, G. Sigmund, W. Schänzer, T. Laussmann and M. Thevis, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **70**, 1303-1311 (2014).
84. M. Pellegrini, M. C. Rotolo, R. D. Giovannadrea, R. Pacifici and S. Pichini, *Ann. Toxicol. Anal.*, **24**, 67-72 (2012).
85. G. D. A. Cavalcanti, F. D. Leal, B. C. Garrido, M. C. Padilha and F. R. D. A. Neto, *Steroids*, **78**, 228-233 (2013).
86. E. A. Prokudina, J. Prchalová, E. Vyšatová, M. Kuchař, A. Rajchl and O. Lapcikaa, *Int. J. Mass Spectrom.*, **392**, 28-33 (2015).
87. D. Choi, *Anal. Sci. Technol.*, **21**, 65-83 (2008).
88. J. Suh, J. Choi, K. Park, S. Hu, T. Yoon, E. Kim, S. Han, S. Kim, K. Lee, S. Kwan and D. Kim, *Anal. Sci. Technol.*, **22**, 345-353 (2009).
89. E. Chambers, D. M. Wagrowski-Diehl, Z. Lu and J. R. Mazzeo, *J. Chromatogr. A.*, **852**, 22-36 (2007).
90. B. J. Venhuis, G. Zomer, M. Hamzink, H. D. Meiring, Y. Aubin and D. d. Kaste, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **54**, 735-741 (2011).
91. H. M. Lee and B. J. Lee, *Food Addit. Contam.*, **28**, 396-407 (2011).
92. J. D. Egertson, A. Kuehn, G. E. Merrihew, N. W. Bateman, B. X. Maclean, Y. S. Ting, J. D. Canterbury, D. M. Marsh, M. Kellmann, V. Zabrouskov, C.C. Wu and M. J. MacCoss, *Nat. Methods*, **10**, 744-748 (2013).
93. D. N. Patel, L. Li, C. L. Kee, X. Ge, M. Y. Low and H. L. Koh, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **87**, 176-190 (2014).

94. S. Ahn, J. Y. Hong, M. K. Hong, Y. P. Jang, M. S. Oh, J. H. Jung and J. Hong, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **23**, 3158-3166 (2009).
95. <http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2017.1332429>, Assessed 11 Oct 2017.
96. J. Wang, D. Yang, Z. Wang, B. Chen and S. Yao, *Food Chem.*, **113**, 227-232 (2009).
97. X. Wu, B. Zhu, L. Lu, W. Huang and D. Pang, *Food chem.*, **133**, 482-488 (2012).
98. S. H. Kim, J. Lee, T. Yoon, J. Choi, D. Choi, D. Kim and S.W. Kwon, *Biomed. Chromatogr.*, **23**, 1259-1265 (2009).
99. K. Deventer, F. T. Delbeke, K. Roels and P. V. Eenoo, *Biomed. Chromatogr.*, **16**, 529-535 (2002).
100. B. J. Venhuis, M. V. Vredenburg, N. Kaun, J. K. Maurin, Z. Fijalek and D. d. Kaste, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **54**, 21-26 (2011).
101. Y. L. Lu, N. L. Zhou, S. Y. Liao, N. Su, D. X. He, Q. Q. Tian, B. Chen and S. Z. Yao, *Food Addit. Contam.*, **27**, 893-902 (2010).
102. C. V. Poucke, C. Detavernier, R. V. Cauwenberghe and C. V., Peteghem, *Anal. Chim. Acta.*, **586**, 35-42 (2007).
103. C. H. F. Wong, D. K. K. Leung, F. P. W. Tang, J. K. Y. Wong, N. H. Yu and T. S. M. Wan, *J. Chromatogr. A.*, **1232**, 257-265 (2012).
104. I. Becue, C. V. Poucke and C. V. Peteghem, *J. Mass Spectrom.*, **46**, 327-335 (2011).
105. K. E. Arthur, J. C. Wolff and D. J. Carrier, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **18**, 678-684 (2004).
106. S. Trefi, C. Routaboul, S. Hamieh, V. Gilard, M. Malet-Martino and R. Martino, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **47**, 103-113 (2008).
107. S. Trefi, V. Gilard, S. Balayssac, M. Malet-Martino and R. Martino, *Magn. Reson. Chem.*, **47**, S163-S173 (2009).
108. S. Balayssac, S. Trefi, V. Gilard, M. Malet-Martino, R. Martino and M. A. Delsuc, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **50**, 602-612 (2009).
109. E. Deconinck, T. Cauwenbergh, J. L. Bothy, D. Custers, P. Courselle and J. O. De Beer, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **100**, 279-283 (2014).
110. Y. Liu, G. Sun, J. Luan, J. Ling, J. Zhang and F. Yang, *RSC Adv.*, **6**, 366-375 (2016).
111. S. Esslinger, J. Riedl and C. Faulh-Hassek, *Food Res. Int.*, **60**, 189-204 (2014).