
유통 한약재 중 벤조피렌 함유량에 관한 모니터링

이미영*, 정상미*, 이계원**

Monitoring on Benzo(a)pyrene Content in Oriental medicine

Mi-Yeong Lee*, Sang-Mi Jung*, Gye-Won Lee**

요 약 벤조피렌은 IARC에 의해 그룹 1로 분류된 다환 방향족 탄화수소 유기물로서 불완전 연소 시 부산물로 발생되며 유전독성과 발암성이 강한 것으로 알려져 있다. 벤조피렌의 오염원은 매우 다양하여 환경오염 등으로 인해 조리 또는 가공과정에서 열분해 되어 생성되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 유통 중인 45종의 한약재에 있어 벤조피렌의 함유량에 대한 모니터링을 HPLC/FLD로 측정하였다. 벤조피렌의 검량선은 0.5~40 ng/mL의 농도 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다 ($r^2=0.999$). 벤조피렌의 검출한계 (LOD)와 정량한계 (LOQ)는 0.04와 0.10 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 모니터링 품목 총 45건 중 벤조피렌이 검출되지 않은 시료는 3건 (6.7%), 0.1 ~ 0.5, 0.5 ~ 1.0, 1.0 ~ 5.0 및 5.0 $\mu\text{g/kg}$ 이상 검출된 시료는 각각 26건 (57.7%), 8건 (17.8%), 7건 (15.6%) 및 1건 (2.2%)이었다. 특히 황련의 벤조피렌의 함유량이 가장 높았다 (5.97 $\mu\text{g/mL}$).

결론적으로 이들 결과는 한약재 중 벤조피렌 함유량을 감소시키기 위한 건조 조건에 대한 기초연구와 가이드라인으로서 적용되어질 수 있다.

주제어 : 벤조피렌, 한약재, 검출한계, 정량한계, 건조 조건

Abstract Benzo(a)pyrene is a polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) whose metabolites are mutagenic and highly carcinogenic and is listed as a Group 1 carcinogen by the IARC. It has been found at variable concentrations in several foods and is associated with several factors during the process including contaminated raw materials, exposure of environment, and procedure of process or cooking. In this study, benzo(a)pyrene in 45 oriental medicines were determined by HPLC/FLD. The calibration curves of benzo(a)pyrene was linear over the concentration range of 0.5~40 ng/mL with correlation coefficient of above 0.999. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) of benzo(a)pyrene were 0.04 and 0.10 $\mu\text{g/kg}$. Benzo(a)pyrene in 3 samples out of 45 samples was not detected. The level of benzo(a)pyrene in 26 (57.7%), 8 (17.8%) and 7 (15.6%) samples was 0.1~0.5, 0.5~1.0 and 1.0~5.0 $\mu\text{g/kg}$, respectively. Especially, content of benzo(a)pyrene in Coptis Rhizome is the highest (5.97 $\mu\text{g/kg}$).

In conclusion, these results suggest that could be applied to fundamental study and guideline on drying condition to decrease content of benzo(a)pyrene in oriental medicine.

Key Words : Benzo(a)pyrene, Oriental medicine, LOD and LOQ, Drying condition

1. 서론

다환 방향족 탄화수소 (Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)는 2개 이상의 벤젠고리를 가지고 있는 물질로서 유기물의 불완전연소 시 부산물로 발생하

는 물질이다[1][2]. 200 여종의 유도체 화합물이 알려져 있으며, 현재 내분비계장애물질이면서 이들의 발암성이 밝혀진 바 있다[3]. 특히 PAHs 그룹에 속하는 벤조피렌 (Benzo(a)pyrene, B(a)P; 3,4-benzopyrene ; 1,2 - benzopyrene)은 황색의 결정성 고체로 300 ~ 600 $^{\circ}\text{C}$ 의

*본 논문은 2010년 충청남도 보건환경연구원의 조사연구사업에 의하여 지원되었음

*충청남도 보건 환경 연구원 미생물검사와 보건 연구관, 의약품 분석과 보건 연구사

**건양대학교 제약공학과 교수 (교신저자)

논문접수: 2012년 7월 18일, 1차 수정을 거쳐, 심사완료: 2012년 8월 20일

온도에서 불완전연소 시 생성되어 유전독성과 발암성이 강한 것으로 알려져 최근 국제암연구소 (IARC : International Agency for Research on Cancer)는 그룹 1(발암물질)로 분류하였다[4]. 벤조피렌의 오염원은 매우 다양하여 환경오염 등으로 인해 조리·가공하지 않은 농산물 및 수산물 등의 식품뿐만 아니라 조리·가공할 때 식품의 주성분인 탄수화물, 단백질, 지방 등이 열분해 되어 생성되는 것으로 알려져 있다[2].

PAHs는 대부분의 모니터링 자료가 환경 분야에 집중되어 식품 및 의약품에서의 자료는 찾아보기가 힘들었다. 그러나 최근 식품 중에서도 이러한 유해물질이 발견되는 사례가 증가하면서 발암성에 근거하여 캐나다 (8종) 및 미국 EPA (16종) 등에서는 PAHs 그룹 중 우선순위대상을 선정하여 식품 중 PAHs를 모니터링을 하고 있으며 EU 등에서는 기준을 설정하여 관리하고 있다[5]. 우리나라에서도 열처리하는 숙지황이나 흑삼과 같은 한약재에서 벤조피렌이 검출되어 사회적인 이슈로 대두되면서 국민들의 관심이 증가되고 있어 식품의약품안전청에서도 2001년부터 식품 중의 PAHs 모니터링 및 위해평가를 수행하여 벤조피렌에 대한 기준이 설정되었다. 식용유지 중 벤조피렌은 2 µg/kg이하 (식품의약품안전청 고시 제 2007-71호), 훈제어육과 훈제건조어육 중 벤조피렌은 각각 5 µg/kg이하, 10 µg/kg이하 (식품의약품안전청 고시 제2009-227호)로 기준을 설정하고 있다. 생약은 지황과 숙지황에 대해 벤조피렌은 5 µg/kg이하 (식품의약품안전청 고시 제2009-13호)로 기준이 설정되어 있다.

따라서 본 연구에서는 2010년 3월에서 11월 말까지 충남 도내에 유통 중인 국산 및 수입산 (태국, 중국) 한약재 중 건조하기 어려운 15 품목에 대한 벤조피렌 함유량에 대한 모니터링을 실시하여 보고하고자 하였다.

2. 본론

2.1 시약 및 기기

대상 시료는 시중에 유통되고 있는 수입 및 국산 한약재 중 건조하기 어려운 한약재 15 품목 총 45 건을 구입하여 사용하였다 (표 1). 핵산, 디클로로메탄, 아세토니트릴 등은 HPLC급이나 잔류농약용을 사용하였다. 표준물질인 벤조피렌 (CAS No.: 50-32-8)은 Supelco사 (U.S.A.)에서, 내부표준물질인 3-메틸콜란트렌 (CAS No.:

56-49-5)은 Sigma사 (U.S.A.)에서 그리고 플로리실 카트리지는 Waters사 (Ireland)에서 구매하여 사용하였다.

이 때 표준물질과 배부표준물질의 구조식과 물리·화학적 성질은 <표 2>에 나타내었다.

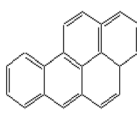
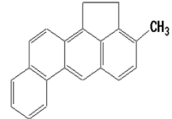
2.2 표준 검량선 작성

벤조피렌 표준품 10 mg을 정밀히 취하여 아세토니트릴에 녹여 10 mL로 한 액을 표준원액 (1000 µg/mL)으로 하여 이를 아세토니트릴로 희석하여 표준용액 (100 ng/mL)으로 조제하고, 따로 내부표준원액 (50 µg/mL)을 아세토니트릴로 희석하여 내부표준용액 (1 µg/mL)을 조제하였다. 검량곡선 표준용액은 일정한 농도 (50 ng/mL)의 내부 표준 물질을 함유하는 7개의 농도별 벤조피렌 표준 용액 (0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20 및 40 ng/mL)을 조제하여 각 농도별 표준액에 대하여 분석조건에 의한 피크 면적비를 구하여 검량선을 작성하였다. 작성된 검량선으로부터 직선성의 상관계수를 구하여 직선성을 검토하였다 [6][7].

<표 1> Sample type of the experiment

Korean Name	Latin Name	Country of Origin (No. of samples)
길경	Platy codon Root	Korea (3)
황련	Coptis Rhizome	China (3)
맥문동	Liriope Tuber	Korea (2), China (1)
부자	Prepared Aconite	China (3)
천문동	Asparagus Tuber	China (3)
오미자	Schisandra Fruit	Korea (3)
용안육	Longan Arillus	Thiland (3)
대추	Jujube	Korea (3)
산수유	Cornus Fruit	Korea (3)
황기	Astragalus Root	Korea (1), China (2)
육종용	Cistanchis Herba	China (3)
산사	Hawthorn Fruit	China (3)
진피	Citrus Unshiu Peel	Korea (3)
백지	Angelica Dahurica Root	China (3)
강활	Ostericum Root	Korea (2), China (1)
Total		Korea (20), China (22), Thiland (3)

<표 2> Chemical structure and properties of benzo(a)pyrene and 3-methylcholanthrene

Item	Benzo(a)pyrene	3-Methylcholanthrene
Structure		
Molecular formula	C ₂₀ H ₁₂	C ₂₁ H ₁₆
Molecular weight	252.32	268.35
Melting point (°C)	176 ~ 177	179 ~ 180
Boiling point (°C)	Bp ₁₀ 310 ~ 312	Bp ₈₀ 280

2.3 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)

공시험 검체를 분석하여 noise signal의 3배와 10배가 되는 signal에 해당되는 농도가 포함되는 직선성 범위가 좋은 부분을 이용하여 검량선을 작성하여 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)를 산출하였다[8].

검출한계 = $3.3 \times \sigma/S$

정량한계 = $10 \times \sigma/S$

이 때 σ 는 반응의 평균표준편차며, S는 기울기의 평균을 의미한다.

2.4 시료의 전처리

식품의약품안전청고시 제 2009-13호의 생약의 벤조피렌 시험법에 따라 전처리를 시행하였다. 즉 검체 500 ~ 600 g을 분쇄하거나 잘게 잘라 균질하게 혼합하여 약 5 g을 달아 물 100 mL를 넣어 90분간 초음파추출 하였다. 이 혼합액에 헥산 100 mL 및 내부표준액 1 mL (50 ng/mL)을 넣어 호모게나이저로 5분간 균질하게 섞은 다음 30분간 초음파 추출하였다. 헥산 층을 분액 깔대기에 옮기고 다시 물 층에 헥산 50 mL씩을 넣고 2회 반복하여 진탕 추출한 후 헥산 층을 취하여 분액 깔대기에 합하였다. 합한 헥산 층에 물 50 mL를 넣어 세척하고, 이 헥산 층을 무수황산나트륨을 넣은 여과지를 사용하여 탈수 여과한 다음 45 °C의 수욕 상에서 감압하여 헥산 약 2 mL가 될 때까지 농축하였다. 플로리실 카트리지는 미리 디클로로 메탄 10 mL를 초당 2 ~ 3 방울의 속도로 유출시킨 후 같은 속도로 헥산 20 mL를 사용하여 디클로로메탄을 제거하여 활성화시킨 후, 사용하였다. 카트리지에 추출용액을 넣어준 후, 헥산 5 mL, 헥산/디클로로메탄 (3:1)

20 mL의 순으로 용출시킨 후, 이 용출액을 40 °C 이하의 수욕 상에서 질소 가스 하에 감압 농축하여 잔류물을 아세트니트릴 1 mL 에 녹인 다음 이를 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 하였다.

2.5 HPLC 분석 조건

벤조피렌은 형광 검출기가 내장된 HPLC (shiseido, Japan)를 이용하여 분석하였다. 이 때 칼럼은 LC-PAH column (25 cm × 4.6 mm, 5 μm)를, 여기와 형광과장은 각각 294와 404 nm에서, 이동상은 아세트니트릴과 물의 혼합액 (8:2)을, 시험용액은 10 μL 그리고 유속은 1.0 mL/min으로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

공시험 검체를 분석하여 noise signal의 3배와 10배가 되는 signal에 해당되는 농도가 포함되도록 7개의 벤조피렌 표준용액을 제조하여 작성한 검량선의 상관계수 $r^2 = 0.999$ 이었으며 검출한계와 정량한계는 각각 0.04와 0.10 μg/kg이었다.

2010년 3월에서 11월말까지 충청남도내에서 유통되고 있는 한약재 중 15 품목 45건을 채취하여 검증된 분석 조건에 따라 벤조피렌의 함량을 측정된 결과를 <표 3>에 나타내었다. 검체에 벤조피렌을 spiking하여 시험방법을 진행하였을 때 전체적인 회수율은 90%이상이었다. 고시된 방법에 따라 전처리 할 때 한약재의 기질 (산수유, 산사, 진피 등)에 따라 에멀전이 생성되는 경우가 발생되어 층 분리 시 방치하는 시간이 오래 걸려 어려움이 생기는 경우가 있어 메탄올을 15 mL 정도 넣어 에멀전 층을 없애 준 다음 실험 과정을 진행하였다. 한약재의 특성과 전처리 시 여러 단계를 수행함으로써 발생하는 손실을 고려하기 위해 고시된 시험방법에는 벤조피렌과 유사한 구조를 가진 3-메틸콜란트렌을 내부표준물질로 사용하여 보정하도록 되어 있다. 즉 실험과정에서 검액의 내부표준물질이 표준품의 내부표준물질에 비해 너무 적게 나오거나 일정하게 나오지 않는 경우에는 검체에서 내부표준물질의 양만큼 벤조피렌의 양도 적게 추출된 것과 같으므로 회수율은 내부표준액 사용에 의해 보정되는 것으로 하였다. 일반적으로 추출 과정에서 에멀전이 형성되면 회수율에 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있으므로

[9], 한약재의 특성에 맞는 전처리 방법을 개발하여 벤조피렌의 모니터링에 이용해야 할 것으로 사료되어진다.

〈표 3〉 Contents of Benzo(a)pyrene in 45 oriental medicines

Contents (µg/kg)	No. of samples (%)
N.D.	3 (6.7)
0.1 ~ 0.5	26 (57.7)
0.5 ~ 1.0	8 (17.8)
1.0 ~ 5.0	7 (15.6)
> 5.0	1 (2.2)

N.D.: Not Detected

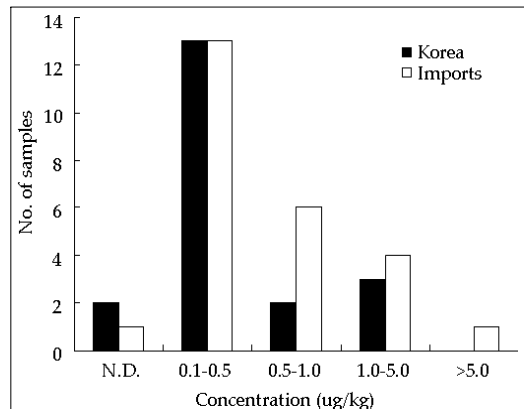
15품목 45건 한약재에 대한 벤조피렌의 전체 평균 함량은 $0.77 \pm 0.53 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 생약 중 지황과 숙지황에 대한 기준인 $5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 이하로 조사되었으며, 특히 백문동, 육종용 및 진피 총 3건 (6.7%)에서는 벤조피렌이 검출되지 않았다. 0.1 ~ 0.5, 0.5 ~ 1.0, 1.0 ~ 5.0 및 $5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 이상으로 검출된 시료는 각각 26건 (57.7%), 8건 (17.8%), 7건(15.6%) 및 1건 (황련, 2.2%)이었다.

한약재별 벤조피렌의 평균 함량은 다른 한약재들에서는 모두 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 미만의 낮은 수치로 검출되었으나 황련, 산수유 및 오미자에서 각각 3.80 ± 2.17 , 1.99 ± 1.64 및 $1.69 \pm 2.06 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 평균적으로 높게 검출되었다. 이러한 결과는 황련, 오미자 및 산수유 중 원산지에 따라 각각 5.97 , 4.04 및 $3.86 \mu\text{g}/\text{kg}$ 까지 검출되는 검체가 있어 다른 한약재에 비해 건조나 유통 과정에 따라 벤조피렌의 편차가 크게 나타난 것으로 판단되어진다 (표 4).

원산지별로 벤조피렌을 비교 검토한 결과 국내산과 수입산 모두 $0.1 \sim 0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 의 양에서 가장 많은 비율로 검출되었으며 수입산에 비해 국내산에서 조금 더 낮은 비율로 검출되었다. 즉 국내산에서 불검출, $0.1 \sim 0.5$, $0.5 \sim 1.0$ 및 $1.0 \sim 5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 의 함유량별 비율은 각각 2건 (4.4%), 13 건 (28.9%), 2건 (4.4%) 및 3건 (6.7%)이었고 $5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 이상으로 검출된 시료는 없는 것으로 조사되었다. 수입산 한약재에서도 국내산과 큰 차이 없이 각각 1건 (2.2%), 13건 (28.9%), 6건 (13.3%) 및 1건 (2.2%)이었으나 $5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 이상으로 검출된 시료는 1건 (2.2%)이 있는 것으로 조사되어 수입되어질 때 벤조피렌에 대한 규제 조항을 강화할 필요성이 있을 것으로 사료되어진다 (그림 1).

〈표 4〉 Contents of Benzo(a)pyrene in each oriental medicine(Mean±S.D).

Korean Name	Latin Name	Concentration(µg/kg)
길경	Platy codon Root	0.30 ± 0.15
황련	Coptis Rhizome	3.80 ± 2.17
백문동	Liriope Tuber	0.29 ± 0.31
부자	Prepared Aconite	0.39 ± 0.17
천문동	Asparagus Tuber	0.74 ± 0.36
오미자	Schisandra Fruit	1.69 ± 2.06
용안육	Longan Arillus	0.18 ± 0.05
대추	Jujube	0.21 ± 0.08
산수유	Cornus Fruit	1.99 ± 1.64
황기	Astragalus Root	0.33 ± 0.08
육종용	Cistanchis Herba	0.31 ± 0.35
산사	Hawthorn Fruit	0.75 ± 0.22
진피	Citrus Unshiu Peel	0.18 ± 0.16
백지	Angelica Dahurica Root	0.24 ± 0.08
강활	Ostericum Root	0.19 ± 0.02
Total		0.77 ± 0.53



〔그림 1〕 Contents of Benzo(a)pyrene in oriental medicines to country of origin

일반적으로 PAHs는 $400 \sim 1000 \text{ }^\circ\text{C}$ 에서 불완전 연소 시 생성되는 화합물[10] 한약재에서 벤조피렌이 검출되는 것은 건조과정 중에 시간과 비용을 절감하기 위해 불을 직접 쬐거나 고온에서 급격하게 처리하면 생성되는 것으로 「대한 약전」 통칙 또는 「대한약전외한약 (생약) 규격집」 충칙에 따라 적절한 온도에서 건조할 경우에는 벤조피렌이 생성되지 않는 것으로 알려져 있어 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 이하에서 건조하는 것으로 표기되어 있다. 유통 한약재 중

벤조피렌이 검출되지 않거나 낮게 검출되는 경우에는 공정서에 따라 비교적 낮은 온도에서 건조하였다고 할 수 있으나 높게 검출된 경우에는 시간과 비용의 문제로 인해 건조 조건을 정확히 지키지 않아 발생되어지는 것으로 사료되어진다. 본 연구에서는 건조가 쉽지 않은 15 품목에 한정해서 모니터링 한 결과를 나타낸 것이므로 다른 한약재에 대한 모니터링도 꾸준히 이루어져야 하며 특히 벤조피렌 함량이 높게 검출되었던 황련, 오미자 및 산수유에 대해서는 지속적인 관리를 해야 할 것으로 사료되어진다.

따라서 한약제조업체와 식약청에서는 한약재를 60℃ 이하의 적절한 온도로 건조 가공을 하여 벤조피렌 저감화 노력을 지속적으로 기울여 한약재의 우수성을 널리 알릴 수 있도록 해야 할 것이다.

4. 결론

2010년 3월에서 11월 말 까지 충남 도내에 유통 중인 국산 및 수입산 (태국, 중국) 한약재 중 건조하기 어려운 15 품목에 대한 벤조피렌 함유량에 관한 모니터링을 수행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

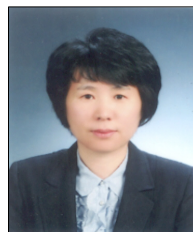
1. 모니터링 품목 총 45건 중 벤조피렌이 검출되지 않은 시료는 3건 (6.7%), 0.1 ~ 0.5, 0.5 ~ 1.0, 1.0 ~ 5.0 및 5.0 µg/kg 이상 검출된 시료는 각각 26건 (57.7%), 8건 (17.8%), 7건 (15.6%) 및 1건 (2.2%)이었다.
2. 한약재 별 벤조피렌의 평균 함량은 황련, 오미자 및 산수유에서 각각 3.80 ± 2.17 , 1.99 ± 1.64 및 1.69 ± 2.06 µg/kg으로 다른 한약재보다 높게 검출되었다.
3. 원산지별 벤조피렌의 함량은 국내산과 수입산 모두 0.1 ~ 0.5 µg/kg의 양에서 가장 많은 비율로 검출되었다.

이상의 결과를 바탕으로 한약제조업체와 식약청에서는 한약재의 건조과정에 대한 지속적인 모니터링을 통하여 벤조피렌 저감화 노력을 지속적으로 기울여야 할 것으로 사료되어진다.

참고 문헌

- [1] U.S. EPA METHOD (1999). 610-Polycyclic Aromatic Hydrocarbons : Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial waste water.
- [2] 식품의약품안전평가원 : 생약의 벤조피렌 시험법 해설서
- [3] Shubik, P. and Hartwell, J.L. (1957). Survey of compounds which have been tested for carcinogenic activity. Publ. No. 149, US Public Health Service, Washington, DC.
- [4] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) : Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs), U. S. Department of health and human service, public health service (1995).
- [5] IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans (2006). 92.
- [6] U. S. Pharmacopeia National Formulary, USP 26-NF 21, 3th Ed., Mack Printing Company (2003). 2439-2445.
- [7] Beuving, G. (2001). Validation of analytical Methods. Validation Seminar, Istanbul, 31 May-01 June.
- [8] Reiley, C. M. and Fell, F. (1996). Development and validation of analytical methods, Prog. Pharm. Biomed. Anal., 3, 20-22.
- [9] 허수정, 우건조, 최동미 (2007). 올리브유 중 벤조피렌 분석, 분석과학회지, 20(2), 170-175
- [10] P. Šimko (2002). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and flavoring food additives. *J. of Chromatography*, 770.

이 미 영(Mi-Young Lee)



- 1985년 2월 : 충남대학교 농과대학 농학사
- 1995년 8월 : 충남대학교 산업대학 공학석사
- 2002년 6월 ~ 현재 : 충청남도보건 환경연구원 보건연구관

<관심분야> : 기능성유지 합성, 식품화학

정 상 미(Sang-Mi Jung)



- 1997년 2월 : 중앙대학교 생물공학과 이학사
- 2000년 8월 : 중앙대학교 생물공학과 공학석사
- 2005년 8월 : 중앙대학교 약학대학 약학박사(위생약학)
- 2004년 2월 ~ 현재 : 충청남도보건

환경연구원 보건연구사

<관심분야> : Method validation development, 독성학

이 계 원(Gye-Won Lee)



- 1989년 2월 : 충남대학교 약학대학 약학사
- 1992년 2월 : 충남대학교 약학대학 약학석사(약제학)
- 1995년 8월 : 충남대학교 약학대학 약학박사(약제학)
- 2002년 3월 ~ 현재 : 건양대학교 제

약공학과 부교수

<관심분야> : 약물 전달 시스템(DDS), NLC, 약물의 가용화 및 나노제제 기술 Method validation development