

벤조피렌 기준 미설정 한약재의 오염도 조사 및 위해도 결정

박영애^{1,2*} · 고숙경¹ · 조석주¹ · 황인숙¹ · 신기영¹ · 문광덕^{2,3}

¹서울시보건환경연구원 강북농수산물검사소

²경북대학교 식품공학과

³경북대학교 식품생물산업연구소

Investigation and Risk Characterization on the Contamination Level of Herbal Medicines Without Legal Benzo(a)pyrene Specification

Young-Ae Park^{1,2*}, Suk-Kyung Ko¹, Seok-Ju Cho¹, In-Sook Hwang¹,
Gi-Young Shin¹, and Kwang-Deog Moon^{2,3}

¹Gangbuk Agro-Fishery Products & Herbal Medicine Inspection Center, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Seoul 02569, Korea

²School of Food Science and Biotechnology, Kyungpook National University, 80, Daehak-ro, Buk-gu, Daegu 41566, Korea

³Food and Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, 80, Daehak-ro, Buk-gu, Daegu 41566, Korea

Abstract – By analysing the benzo(a)pyrene concentration using HPLC-FLD and LC-MS/MS, pollution levels of herbal medicines without permitted benzo(a)pyrene specification were investigated. Average benzo(a)pyrene concentrations were 38.30, 37.46 and 21.22 µg/kg for Amomi Tsao-ko Fructus, Mume Fructus and Coptidis Rhizoma, respectively, which are 4 to 7 times higher than maximum permitted benzo(a)pyrene concentration of Rehmanniae Radix Preparata and Rehmanniae Radix, i.e. 5.0 µg/kg. Proportion of detected samples exceeding 5.0 µg/kg benzo(a)pyrene concentration was 22% for Cimicifugae Rhizoma and Scrophulariae Radix, 44% for Forsythiae Fructus, 67% for Mume Fructus, 100% for Amomi Tsao-ko Fructus and Coptidis Rhizoma, and collectively 29% (36 out of 125 samples) in average. In terms of risk characterization results, human exposure of benzo(a)pyrene were 7.96, 3.49 and 1.61 ng/kg b.w./day and the margin of exposure(MOE) were 1.25×10^4 , 2.86×10^4 and 6.20×10^4 for Mume Fructus, Amomi Tsao-ko Fructus and Coptidis Rhizoma, respectively. MOE banding of those herbal medicines was categorized to ‘low concern’. However, considering that human exposure of benzo(a)pyrene for food is legislated to 1.4–2.5 ng/kg b.w./day, it was urgent to set up the guideline of benzo(a)pyrene in herbal medicines.

Keywords – Benzo(a)pyrene concentration, Risk characterization, Margin of exposure

벤조피렌(Benzo(a)pyrene)은 2개 이상의 벤젠고리가 융합된 유기화합물인 다환방향족탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 중의 하나로, 내분비계 장애를 일으키고 유전독성과 발암성이 강하여 2006년 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC)에서 발암물질(Group 1)로 분류되었다.^{1,2} 벤조피렌의 오염원은 매우 다양하여 공기, 토양 등 환경에 상당량 존재하고 있으며, 식품 중에는 원료의 고온 가열시 탄수화물, 단백질, 지방 등의 불완전연소로 생성되는 것으로 알려져 있다.^{3,4}

한약재 중에서도 열처리 과정을 거친 숙지황, 흑삼에서 벤조피렌이 검출된 연구보고가 있었고,⁵ 유통 한약재 중 벤조피렌의 함량 모니터링,⁶⁻⁸ 유통 한약재 초과 중 벤조피렌 오염실태 조사⁹ 등 한약재 벤조피렌에 관련된 연구가 진행되고 있으며, 식품의약품안전처에서도 벤조피렌 관련 연구 보고서^{10,11}를 지속적으로 발표하고 있다. 벤조피렌의 위해성으로 인해 미국, 캐나다, 유럽 등에서는 벤조피렌 뿐만 아니라 PAHs에 대한 기준을 설정하여 식품을 관리하고 있으며, 우리나라에서도 식용유지 중 벤조피렌 2.0 µg/kg 이하, 훈제어육 및 훈제건조어육 각각 5.0 µg/kg 이하, 10.0 µg/kg 이하, 영유아용 이유식 등 특수용도식품 1.0 µg/kg 이하로 기준을 설정하여 관리하고 있다.^{12,13}

*교신저자(E-mail): youngcim@seoul.go.kr

(Tel): +82-2-940-9813

벤조피렌은 식품 뿐만 아니라 생약에도 기준 설정되어 관리되고 있는데, 우리나라 의약품 품질관리 공정서에 수록되어 있는 식물성 한약재 489종 중 숙지황과 지황 2종에 대해서만 5.0 µg/kg 이하로 기준이 설정되어 있다.¹⁴⁾ 이후 광물성 생약을 제외한 모든 생약으로 그 범위를 확대시킨다는 행정예고¹⁵⁾가 있었으나 현재까지 미 시행되고 있는 실정이다. 식품의약품안전처의 벤조피렌 연구보고서¹⁰⁾ 및 서울시 보건환경연구원의 벤조피렌 모니터링 조사^{6,8)}에서 5.0 µg/kg 이상의 농도로 벤조피렌이 검출된 한약재가 다수 보고되었으나 최근의 연구 자료가 부족한 상황이다.

이에 본 연구에서는 벤조피렌 기준이 설정되어 있지 않은 한약재 중 모니터링 조사에서 5.0 µg/kg 이상의 농도로 검출된 이력이 있는 품목을 대상으로 벤조피렌 오염도를 조사함으로써 한약재 안전성 자료를 확보하고자 하였다. 또한 기존의 보고서는 벤조피렌 함량을 조사하는데 그쳤으나 본 연구에서는, 조사된 벤조피렌 함량을 적용하여 한약재 섭취로 인한 벤조피렌의 인체노출량을 산출하고, 벤조피렌의 발암력을 고려한 Margin Of Exposure(MOE)를 산출하여 한약재 섭취에 따른 벤조피렌의 위해도를 파악하고자 하였다. 이 결과를 토대로, 향후 벤조피렌의 기준이 설정되어 있지 않은 한약재에 대한 벤조피렌 기준 설정 시 중요한 근거자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

재료 - 실험재료는 2020년 서울약령시장에서 유통되고 있는 한약재 중 기존의 보고서^{6,8,10)}에서 벤조피렌 검출이력이 있는 12품목을 선정하여 125건을 대상으로 사용하였다. 수거된 한약재는 서울시 보건환경연구원 강북농수산물검사소 한약재 성장검사 전문위원들에게 기원, 약용부위 등 감별검사를 받은 후 분쇄기(CA338-G, Hanil, Seoul, Korea)로 잘게 분쇄하여 실험에 사용하였고 한약재 125건의 표본은 폴리에틸렌 비닐팩에 넣어 -20°C의 냉동고(GSSD 3123, Liebherr, Postfach, Germany)에 보관하였다. 시료는 한약재감별도감¹⁶⁾에서 명시되어 있는 한약재 약용부위에 따라 Table I과 같이 분류하였다.

표준물질 및 시약 - 한약재 중 벤조피렌을 분석하기 위한 표준물질인 Benzo(a)pyrene과 내부표준물질인 3-methylcholanthrene(3-MC)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였다. 시료 전처리 및 분석용 시약으로 사용한 헥산, 아세토니트릴, 디클로로메탄, N,N-Dimethylformamide(DMF)은 Fisher Scientific(Pittsburgh, PA, USA)사의 HPLC급 제품을 사용하였다.

표준용액의 조제 - 표준물질인 Benzo(a)pyrene의 농도가 3, 5, 10, 20, 40 µg/L 되도록 100 µg/L 농도의 표준원액을 아세토니트릴로 희석하여 표준용액을 조제하였고, 내부표준물

Table I. List of the herbal medicines used for benzo(a)pyrene analysis

Classification by used portion	Herbal medicines	No. of samples
Fructus	Amomi Tsao-ko Fructus	7
	Forsythiae Fructus	9
	Ligustri Fructus	7
	Mume Fructus	9
Rhizoma	Coptidis Rhizoma	15
	Cyperi Rhizoma	14
	Cimicifugae Rhizoma	9
	Curcumae Longae Rhizoma	4
Radix	Rehmanniae Radix Preparata	19
	Rehmanniae Radix	10
	Scrophulariae Radix	9
Semen	Longan Arillus	13
Total		125

질인 3-MC는 벤조피렌 표준용액 안에 각각 50 µg/L가 되도록 아세토니트릴로 희석하여 첨가하였다.

벤조피렌 추출 및 정제 - 시료 중 벤조피렌을 추출하기 위한 전처리 과정은 식품의약품안전처에서 제공하는 한약재 중 벤조피렌 시험법 지침¹⁷⁾을 일부 변형시켜 다음과 같이 실시하였다. 시료 약 5.0 g을 정밀히 취하여 물 100 mL를 넣고 60분간 초음파 발생장치(Branson 8800, Branson Ultrasonics, Brookfield, CT, USA)로 추출하였다. 여기에 헥산 100 mL과 50 µg/L의 내부표준물질(3-MC) 1 mL를 첨가하여 균질기(Omni Macro ES, Omni International, Kennesaw, GA, USA)로 균질화한 후 60분간 초음파 추출하였고, 원심분리기(3,700 g×10 min, MX-301, Tomy Seiko Co. Ltd., Tokyo, Japan)로 헥산층을 분리하여 분액깔때기(I)에 옮겼다. 남은 시료층에 헥산 100 mL을 넣고 30분간 추출기(SR-2DW, Taitec, Koshigaya, Japan)를 이용하여 진탕추출하였으며, 정치한 후 헥산층을 분리하여 분액깔때기(I)에 옮겨 합하였다. 분리된 헥산층에 N,N-Dimethylformamide(DMF)-물(9:1, v/v) 혼합액 50 mL를 넣고 5분간 진탕한 후 DMF층을 분액깔때기(II)에 옮겼다. 이를 3번 반복하여 분액깔때기(II)에 합하여 1% 황산나트륨(Kanto Chemical Co. Inc., Tokyo, Japan) 용액 100 mL과 헥산 50 mL를 넣고 5분간 진탕한 후 헥산층을 분액깔때기(III)에 옮기고 3번 반복하여 합하였다. 헥산층에 물 50 mL를 넣어 세척한 후 물층을 제거하고, 무수황산나트륨(Wako Pure Chemical Corporation,

Osaka, Japan)으로 탈수 여과한 다음 hexan이 약 2 mL 남을 때까지 45°C에서 감압농축기(EYELA SB-1300, Tokyo Rikaikai Co. Ltd., Tokyo, Japan)로 휘발시켰다. 추출용액을 정제하기 위하여 플로리실 카트리지(1 g/20 mL, Bond Elut-FL, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)에 디클로로메탄 10 mL 및 hexan 20 mL를 통과시켜 활성화시키고, 추출액과 hexan-디클로로메탄 혼합액(3:1, v/v) 20 mL를 순서대로 넣고 초당 2-3방울의 속도로 용출시켰다. 용출용액을 질소농축기(N-EVAPTM112, Organomation Inc., Berlin, MA, USA)를 이용하여 35°C 수욕조에서 농축시키고 잔류물을 아세트니트릴 1 mL로 용해한 후 0.2 µm syringe filter(Titan3TM, PTFE hydrophilic, Thermo Scientific, Shanghai, China)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

기기분석 조건 - 벤조피렌을 정량분석하기 위하여 고속액체크로마토그래피(HPLC)인 Thermo UltiMate 3000(Thermo Fisher Scientific Inc., Germering, Germany)을 사용하였고 검출기는 형광검출기(3400RS, Thermo Fisher Scientific Inc., Germering, Germany), 컬럼은 SUPELCOSILTM LC-PAH(250×4.6 mm, 5 µm, Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하여 정량 분석하였다. 벤조피렌이 검출된 시료는 액체크로마토그래프 질량분석기(Vanquish, Thermo Fisher Scientific Inc., Germering, Germany/TSQ ALTIS, Thermo Fisher Scientific Inc., San Jose, USA)를 이용하여 벤조피렌 이온을 확인하였으며, 컬럼은 HypersilTM Green PAH(150×2.1 mm, 3 µm, Thermo Scientific, Graiciuno, Lithuania)를 사용하였다. HPLC의 분석조건은 대한민국 약전의 일반시험법¹⁸⁾을 일부 변형시켜 사용하였고 질량분석기의 분석조건은 관련 연구보고서¹⁹⁻²¹⁾를 참고하였다. 벤조피렌을 분석하기 위한 기

기조건은 Table II, III과 같다.

시험법 유효성 검증 - 본 실험의 유효성을 검증하기 위하여 식품의약품안전평가원의 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인²²⁾과 CODEX CAC/GL-71 가이드라인²³⁾에 따라 직선성(linearity), 검출한계(limit of detection, LOD), 정량한계(limit of quantification, LOQ), 정확성(accuracy) 및 정밀성(precision)을 측정하였다. 직선성은 표준용액의 농도가 3, 5, 10, 20, 40 µg/L, 내부표준물질인 3-MC의 최종농도가 50 µg/L 되도록 아세트니트릴로 희석한 후 형광검출기로 분석한 결과를 검량선으로 나타내었다. 정확성은 공시험 시료에 벤조피렌 2, 5, 10, 15, 20, 40 µg/L를 각각 spiking하여 전처리 과정을 거친 후 회수율을 측정하여 구하였으며, 정밀성은 LOD, LOQ를 3번 반복한 결과를 이용하여 변이계수(coefficient of variation, CV)를 구하여 나타내었다.

위해도 결정 - 한약재 벤조피렌 섭취로 인한 위해도 결정(risk characterization)을 하기 위하여 식품의약품안전평가원의 지침서²⁴⁻²⁶⁾를 토대로 인체노출량 평가(human exposure assessment)를 실시하였다. 인체노출량 평가는 아래 식 (1)과 같이 벤조피렌의 일일섭취량(Daily Dose, DD)을 가장 가혹한 조건인 평생 매일 섭취하였을 때로 가정된 평생평균일일노출량(Lifetime Average Daily Dose, LADD)으로 산출하였다. 한약재의 일일복용량은 식품의약품안전평가원(National Institute of Food and Drug Safety Evaluation)에서 발행한 해설서²⁷⁾를 참고하였고, 평균체중(Body Weight, BW)은 통계청 자료²⁸⁾에 제시된 바와 같이 우리나라 성인 평균체중인 65.82 kg을 적용하였다. 그 외 노출기간(Exposure Time, ET)은 평균기대수명(Averaging Time, AT)인 83.3년,²⁹⁾ 노출빈도(Exposure Frequency, EF) 365일을 적용하여 인체노출량

Table II. The analytical conditions for quantitative analysis of benzo(a)pyrene by HPLC-FLD

Parameter	Analytical Condition		
Instrument	Thermo UltiMate 3000		
Column	SUPELCOSIL TM LC-PAH(250×4.6 mm, 5 µm)		
Mobile phase	A : 100% Acetonitrile B : Distilled Water		
	Time(min)	Mobile Phase	
		A(%)	B(%)
Gradient	0	80	20
	10.5	80	20
	25	90	10
	30	80	20
Flow rate	1.0 mL/min		
Column temperature	37°C		
Injection volume	10 µL		
Detector	Fluorescence Detector		
	Excitation 294 nm/Emission 404 nm		

Table III. The analytical conditions for qualitative analysis of benzo(a)pyrene by LC-MS/MS

Instrument	Parameter	Analytical Condition			
HPLC	Column	Hypersil™ Green PAH (150×2.1 mm, 3 μm)			
	Mobile phase	A : 0.1 mM Ammonium formate + 0.1% Formic acid in D.W. B : 100% Acetonitrile			
		Time(min)	Mobile Phase		
			A(%)	B(%)	
	Gradient		0	50	50
			10	5	95
			15	5	95
			16	50	50
			20	50	50
		Flow rate	0.3 mL/min		
	Column temperature	37°C			
	Injection volume	5 μL			
MS/MS	Ion source	ESI(electro spray ionization) positive			
	Spray voltage	4800V			
	Sheath gas	45Arb			
	Aux gas	10Arb			
	Ion transfer tube temperature	300°C			
	Vaporizer temperature	500°C			
MRM	Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion		
			Confirm ion (m/z)	Collision energy (V)	
	Benzo(a)pyrene	252.05	224.12	55.00	
		252.05	250.12	49.86	

(human exposure)을 산출하였다.

$$LADD (\mu\text{g/kg b.w./day}) = \frac{C \times DD \times ET \times EF}{BW \times AT \times CF} \quad (1)$$

C (Concentration of benzo(a)pyrene) : 시료의 벤조피렌 농도 (μg/kg)

DD (Daily Dose) : 일일복용량(g/day)

ET (Exposure Time) : 노출기간(year)

EF (Exposure Frequency) : 노출빈도(day/year)

BW (Body Weight) : 평균체중(kg)

AT (Averaging Time) : 평균기대수명(year)

CF (Conversion Factor) : 단위환산인자(day/year)

벤조피렌과 같이 비의도적 오염물질이면서 발암성을 가지는 경우 일반적으로 노출안전역(Margin of Exposure, MOE)을 이용하여 위해도 결정을 한다.²⁴⁾ 한약재 벤조피렌의 위해도 결정(risk characterization)을 하기 위하여 아래 식 (2)과 같이 독성기준값(Reference point)인 벤치마크 용량(Benchmark Dose Lower Confidence Limit)(BMDL₁₀)을 평생평균일일노출량(Lifetime Average Daily Dose)(LADD)으로 나눈 값인

MOE를 산출하여 노출안전역을 나타내었다. 독성기준값 BMDL₁₀은 JECFA(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)에서 설정한 100 μg/kg b.w./day을 적용하였다.²⁶⁾

$$MOE = \frac{BMDL_{10}}{LADD} \quad (2)$$

BMDL₁₀(Benchmark Dose Lower Confidence Limit) : Reference point(μg/kg b.w./day)

LADD(Lifetime Average Daily Dose) : Human exposure (μg/kg b.w./day)

통계분석 - 모든 실험분석은 3회 이상 반복 측정하였고, 결과값은 SPSS 24.0(Statistical Package for the Social Sciences, IBM SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 분산분석(1-Way analysis of variance, ANOVA)을 실시하였다. Duncan's multiple range test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 시료 간의 유의적인 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

시험법 유효성 검증 - 벤조피렌의 농도가 3, 5, 10, 20, 40 µg/L 되도록 100 µg/L의 표준원액을 아세트니트릴로 희석하여 표준용액으로 사용하였고, 내부표준물질인 3-MC는 벤조피렌 표준용액 안에 각각 50 µg/L가 되도록 아세트니트릴로 희석하여 첨가한 후 형광검출기로 분석하여 검량선을 작성한 결과는 Table IV와 같다. 벤조피렌의 상관계수(R²)는 0.999 이상으로 양호한 직선성을 나타내었다. 검출한계(LOD)는 3.3×(σ/S), 정량한계(LOQ)는 10×(σ/S) 계산식을 이용하여 측정하였고, σ는 회귀선(regression line)에서 절편의 표준편차이며 S는 검량선 기울기의 평균값을 이용하였다. 검출한계는 0.061 µg/kg, 정량한계는 0.185 µg/kg로 나타났고 변이계수(CV)는 1.8%로 측정되었다. 변이계수가 15% 이하일 때 데이터에 대한 재현성이 양호한 것으로 보고³⁰⁾하고 있으므로 본 연구에서 HPLC-FLD에 의한 벤조피렌의 LOD, LOQ의 재현성은 양호한 것으로 판단된다. 시료에 2, 5, 10, 15 µg/L 농도의 벤조피렌 표준용액을 첨가하고, 오매는 벤조피렌의 검출농도가 현삼, 향부자, 용안육보다 높아 표준

용액을 약 40 µg/L 까지 첨가하여 회수율을 측정하였다. 회수율을 이용하여 정확성을 나타낸 결과는 Table V와 같다. 벤조피렌의 회수율은 88.32~103.00% 범위로 나타났고 CODEX CAC 가이드라인²³⁾에서 회수율 권장범위가 70~110% 인 점을 고려할 때 본 연구에서 벤조피렌의 회수율은 양호한 것으로 판단된다.

벤조피렌 함량 - 한약재 12품목 125건을 대상으로 벤조피렌 함량을 분석한 결과는 Table VI, Fig. 1과 같다. 정량한계 0.185 µg/kg 미만으로 측정된 경우 불검출로 처리하였고 12품목 한약재에서 모두 벤조피렌이 검출되었다. 그 중 한약재 118건에서 0.20~61.83 µg/kg 범위의 벤조피렌이 검출되었고 오매에서 가장 높은 농도인 61.83 µg/kg가 검출되었다. 초과, 오매, 황련의 벤조피렌 평균농도가 각각 38.30, 37.46, 21.22 µg/kg로 나타나 식품의약품안전처에서 제시하고 있는 숙지황, 지황의 벤조피렌 최대허용량인 5.0 µg/kg 보다 약 4~7배 높게 검출되었음을 알 수 있었다(Fig. 1). 벤조피렌 5.0 µg/kg 이상 검출율은 승마 22%(2건), 현삼 22%(2건), 연교 44%(4건), 오매 67%(6건)로 나타났으며 초과 100%(7건), 황련 100%(15건)로 나타났고 전체 125건 중 36건으로 29%의

Table IV. The correlation coefficient, limit of detection(LOD), limit of quantification(LOQ) and coefficient of variation(CV) of benzo(a)pyrene by HPLC-FLD

Compound	Correlation coefficient (R ²)	LOD ¹⁾ (µg/kg)	LOQ ²⁾ (µg/kg)	CV (%)
Benzo(a)pyrene	0.999	0.061	0.185	1.8

¹⁾LOD=3.3×(σ/S), ²⁾LOQ=10×(σ/S)

σ: standard deviation of the response, S: slop of the calibration curve

Table V. Recovery of benzo(a)pyrene by HPLC-FLD in herbal medicines

Herbal medicines	Spiked conc. (µg/kg)	Recovery (%)
Scrophulariae Radix	2	90.9±1.0 ¹⁾
	5	89.7±1.8
	10	96.7±0.7
	15	98.5±0.5
Cyperi Rhizoma	2	100.5±0.5
	5	102.1±0.5
	10	100.0±1.6
	15	103.0±1.8
Longan Arillus	2	98.3±0.7
	5	100.7±0.5
	10	98.1±1.0
	15	100.6±0.4
Mume Fructus	5	95.4±0.3
	10	97.6±0.1
	20	88.3±0.4
	40	99.8±0.1

¹⁾Mean±SD(Standard deviation), n=3

Table VI. Contents of benzo(a)pyrene and detected proportion of herbal medicines exceeding 5.0 µg/kg concentration

Herbal medicines	No. of samples	Benzo(a)pyrene contents (µg/kg)	Detection range (µg/kg)	Detection rate of 5.0 µg/kg ³⁾ exceeding (%)
Amomi Tsao-ko Fructus	7	38.30±9.45 ^{c1)}	24.32~51.12	100
Cimicifugae Rhizoma	9	4.60±4.63 ^{a)}	1.25~14.62	22
Coptidis Rhizoma	15	21.22±5.82 ^{b)}	11.92~30.25	100
Curcumae Longae Rhizoma	4	0.20±0.40 ^{a)}	ND ²⁾ ~0.79	0
Cyperi Rhizoma	14	2.09±0.51 ^{a)}	1.10~2.82	0
Forsythiae Fructus	9	4.27±1.90 ^{a)}	1.80~7.86	44
Ligustri Fructus	7	1.54±0.56 ^{a)}	0.93~2.46	0
Longan Arillus	13	2.45±1.16 ^{a)}	ND~4.64	0
Mume Fructus	9	37.46±25.53 ^{c)}	3.86~61.83	67
Rehmanniae Radix Preparata	19	1.48±1.01 ^{a)}	ND~4.20	0
Rehmanniae Radix	10	0.71±0.82 ^{a)}	ND~2.50	0
Scrophulariae Radix	9	2.78±3.91 ^{a)}	ND~10.63	22

Each group(a to c) has statistically significant difference by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

¹⁾All values are Mean±RSD(Relative Standard Deviation), n=3

²⁾ND : Not detected

³⁾5.0 µg/kg : Officially admitted benzo(a)pyrene content specification of Rehmanniae Radix Preparata and Rehmanniae Radix

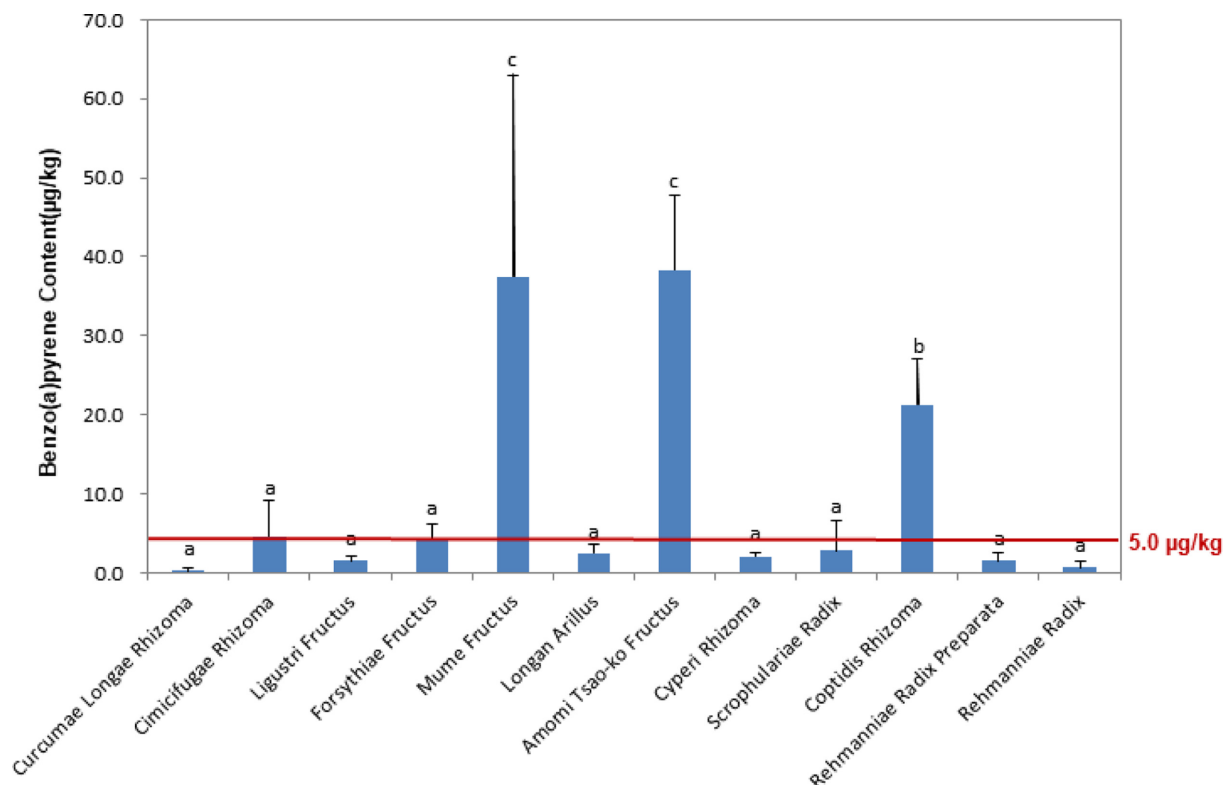


Fig. 1. Contents of benzo(a)pyrene in herbal medicines. Each group (a to c) has statistically significant difference by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$. All values are Mean±RSD(Relative Standard Deviation). 5.0 µg/kg : Officially admitted benzo(a)pyrene content specification of Rehmanniae Radix Preparata and Rehmanniae Radix.

검출율을 나타내었다. 황 등의 연구에서 초과 20건의 벤조 피렌을 검사한 결과 9.2~95.5 µg/kg 농도로 100% 검출되었

고,⁹⁾ 조 등은 초과에서 평균 10.97 µg/kg이 검출되었다고 보고하고 있으며⁶⁾ 이 등의 보고에서도 초과 50%에서 5.0

$\mu\text{g}/\text{kg}$ 이상의 농도로 검출되었다.⁸⁾ 이는 본 연구의 초과에서 벤조피렌이 고농도로 검출된 양상과 일치하였다. 반면 숙지황과 지황의 벤조피렌 함량은 $5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 이하로 검출되어 설정된 기준에 적절하게 관리되고 있음을 알 수 있었다. 이처럼 초과, 오매, 황련에서 벤조피렌이 높은 농도로 검출되고 있는 이유는, 건조가 용이하지 않은 한약재의 열매 및 뿌리부위를 단시간에 건조시키기 위하여 고온처리를 거치는 것으로 알려져 있으며,³¹⁾ 특히 오매의 경우 벗겨낼 때운 재에 섞어 불로 훈증시키는 전통적인 방식으로 건조시키기 때문인 것으로 보인다. 또한 벤조피렌으로 오염된 토양에서 생산된 식물의 벤조피렌 함량이 높은 것으로 보고되고 있다.³²⁻³⁴⁾ 그러므로 한약재를 건조시키는 과정에서 벤조피렌의 생성을 최소화할 수 있도록 60°C 이하의 온도로 건조시키는 등의 효율적인 건조방법을 모색해야 할 것이며³⁵⁾ 벤조피렌의 오염도가 높은 토양에서 식물을 재배하지 않도록 지속적인 관리가 요구된다. 또한 고농도의 벤조피렌이 다수 검출되는 초과, 오매, 황련 등에 대하여는 벤조피렌 기준을 설정하여 엄격한 품질관리를 해야 할 것으로 생각되어진다. 이와 같이 한약재의 벤조피렌 저감화 및 기준설정 등의 제도개선을 통하여 한약재의 품질 안전성을 확보하여야 할 것이다.

벤조피렌의 위해도 결정 - 한약재 섭취로 인한 벤조피렌 위해도 결정을 하기 위하여 평생평균일일노출량(Lifetime Average Daily Dose, LADD) 산출을 통한 인체노출량 평가와 MOE(Margin of Exposure) 산출을 실시하였다(Table VII). 벤조피렌 평균함량이 높고 일일섭취량이 많은 한약재일수록 인체노출량이 높게 나타났고 노출안전역인 MOE 값이 낮

은 결과를 나타내었다. 벤조피렌 함량 $5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 이상인 오매, 초과, 황련 등 3품목의 인체노출량이 각각 7.96, 3.49, $1.61 \text{ ng}/\text{kg b.w./day}$ 로 나타나 오매의 인체노출량이 가장 높게 나타났고, 그 중 오매의 일일섭취량이 14 g 으로 가장 높아 MOE 값이 1.25×10^4 로 가장 낮게 산출되었다. MOE banding이 $<10^4$ 일 때 possible concern, $10^4 \sim 10^5$ 일 때 low concern, $>10^5$ 일 때 negligible concern with action minimizing future exposure, $>10^6$ 일 때 negligible concern으로 분류된다.³⁶⁾ 그러므로 오매, 초과, 황련 모두 low concern으로 분류되어 인체 위해영향은 낮은 것으로 보였으나 오매의 경우 MOE banding의 possible concern 범위인 10^4 에 근접한 값으로 산출되어 한약재 12품목 중에서 벤조피렌의 위해도가 가장 높은 것으로 나타났다. 이에 반해 숙지황의 MOE 값은 1.48×10^5 으로, 숙지황의 일일섭취량이 30 g 으로 가장 높음에도 불구하고 안전하게 관리가 이루어지고 있음을 알 수 있었다. 위 결과를 토대로, 한약재 중 오매의 벤조피렌 저감화가 가장 시급하며 벤조피렌의 기준이 설정될 수 있도록 조속한 제도개선이 이루어져야 할 것이다. EFSA(European Food Safety Authority)가 산출한 식품섭취로 인한 유럽에서의 노출량은 $19.5 \text{ ng}/\text{kg b.w./day}$ 이었고, 식품의약품안전평가원(National Institute of Food and Drug Safety Evaluation)에서 산출한 노출량은 $1.4 \sim 2.5 \text{ ng}/\text{kg b.w./day}$ 로 나타나 우리나라가 유럽보다 낮은 수준으로 조사되어 안전한 수준으로 평가되었다.²⁶⁾ 이처럼 국민이 자주 섭취하는 식품과 의약품을 대상으로 벤조피렌에 대한 지속적인 모니터링 및 위해평가가 이루어져야 할 것이다.

Table VII. The estimated human daily exposure and MOE value of benzo(a)pyrene for risk characterization in herbal medicines

Herbal medicines	Concentration of benzo(a)pyrene ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Daily dose ¹⁾ (g/day)	Estimated human daily exposure of benzo(a)pyrene ²⁾ (ng/kg b.w./day)	MOE ³⁾
Amomi Tsao-ko Fructus	38.30	6	3.49	2.86×10^4
Cimicifugae Rhizoma	4.60	11	0.76	1.30×10^5
Coptidis Rhizoma	21.22	5	1.61	6.20×10^4
Curcumae Longae Rhizoma	0.20	11	0.03	2.99×10^6
Cyperi Rhizoma	2.09	15	0.47	2.09×10^5
Forsythiae Fructus	4.27	19	1.23	8.11×10^4
Ligustri Fructus	1.54	15	0.35	2.84×10^5
Longan Arillus	2.46	19	0.71	1.40×10^5
Mume Fructus	37.46	14	7.96	1.25×10^4
Rehmanniae Radix Preparata	1.48	30	0.67	1.48×10^5
Rehmanniae Radix	0.51	30	0.23	4.30×10^5
Scrophulariae Radix	2.78	15	0.63	1.57×10^5

¹⁾Guideline of National Institute of Food and Drug Safety Evaluation(2018)

²⁾Estimated human daily exposure of benzo(a)pyrene : LADD(lifetime average daily dose)

³⁾MOE : Margin of Exposure = BMDL_{10} (benchmark dose lower confidence limit)/LADD

결 론

숙지황과 지황 및 벤조피렌 기준이 설정되어 있지 않은 한약재 12품목 125건을 대상으로 벤조피렌 함량을 분석하여 오염도를 조사하였다. 시료를 핵산과 N,N-Dimethylformamide (DMF)-물(9:1) 혼합액으로 추출하여 플로리실 카트리지로 정제한 후 HPLC-FLD 및 LC-MS/MS를 이용하여 벤조피렌을 분석하였다. 한약재 118건에서 0.20~61.83 µg/kg 범위의 벤조피렌이 검출되었고 오매에서 가장 높은 농도인 61.83 µg/kg가 검출되었다. 그 중 초과, 오매, 황련의 벤조피렌 평균농도가 각각 38.30, 37.46, 21.22 µg/kg로 나타나 숙지황, 지황의 벤조피렌 최대허용량인 5.0 µg/kg 보다 약 4~7배 높게 검출되었다. 벤조피렌 5 µg/kg 이상 검출율은 승마 22%, 현삼 22%, 연교 44%, 오매 67%, 초과와 황련 100%로 나타났다. 전체 125건 중 36건으로 29%의 검출율을 나타내었다. 벤조피렌 위해도 결정을 실시한 결과, 벤조피렌 함량 5.0 µg/kg 이상인 오매, 초과, 황련 등 3품목의 인체노출량이 각각 7.96, 3.49, 1.61 ng/kg b.w./day로 나타났고 그 중 오매의 MOE 값이 1.25×10^4 로 가장 낮게 산출되었으나 인체 위해 영향은 낮은 것으로 평가되었다. 본 연구를 통하여 알 수 있는 바와 같이 고농도의 벤조피렌이 다수 검출되는 오매, 초과, 황련 등에 대하여는 벤조피렌 저감화 및 기준설정을 통하여 엄격한 품질관리가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 본 연구는 벤조피렌 기준이 설정되어 있지 않은 한약재의 벤조피렌 오염도를 조사하고 위해도 결정을 실시하여 숙지황 및 지황의 벤조피렌 기준과 비교함으로써 품질 안전성을 평가하였고, 향후 벤조피렌 기준을 설정하는데 필요한 근거자료로 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

인용문헌

- IARC (2010) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, overall evaluations of carcinogenicity. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *Supplement*. **92**: 33-814.
- European Commission (EC) (2002) Opinion of the scientific committee on food on the risks to human health of polycyclic aromatic hydrocarbons in food. EU, Brussels, Belgium.
- Hu, S., Woo, G. J. and Choi, D. (2007) Determination of benzo(a)pyrene in olive oil. *J. Anal. Sci. Technol.* **20**: 170-175.
- Lochan, S., Jay, G. V. and Tripti, A. (2016) Polycyclic aromatic hydrocarbons formation and occurrence in processed food. *Food Chem.* **199**: 768-781.
- Cho, Y. H., Song, K. Y., Baek, M. K., Lee, J. H. and Lee, G. W. (2012) Study on extraction condition and analysis methods of benzopyrene in black ginseng. *Yakhak Hoeji* **56**: 145-151.
- Jo, S. A., Kim, S. J., Kim, N. H., Jung, S. J., Kim, H. S., Kim, K. S., Han, K. Y. and Chae, Y. Z. (2011) Analysis of benzo(a)pyrene content in medicinal herbs. *Report of Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment* **47**: 94-102.
- Lee, M. Y., Jung, S. M. and Lee, K. W. (2012) Monitoring of benzo(a)pyrene content in oriental medicine. *The Journal of Digital Policy and Management* **10**: 201-206.
- Lee, S. R., Kim, A. K., Kim, S. D., Lee, H. K., Lee, H. J., Ryu, H. J., Lee, J. M., Yu, I. S. and Jung, K. (2017) Monitoring and risk assessment of benzo(a)pyrene content in medicinal herbs. *Kor. J. Pharmacogn.* **48**: 237-242.
- Wang, K. H., Yeom, M. S., Lee, H. J., Jo, A. R., Choi, E. J., Heo, M. J. and Kwon, M. J. (2020) A Survey on benzo(a)pyrene contamination in Amomum Tsao-ko fruit of medicinal herbs. *Kor. J. Pharmacogn.* **51**: 146-150.
- Baek, W. S. (2009) The monitoring of benzo(a)pyrene's content on the herbal medicines. The report of Korea Food and Drug Administration.
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2019a) Safety inspection of national petitions for cosmetics and herbal medicines. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_99/view.do?seq=43622&srchFr=&srchTo=&srchWord=%EA%B5%AD%EB%AF%BC%EC%B2%AD%EC%9B%90&srchTp=0&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&Data_sts_gubun=C9999&page=1. Accessed 5 December 2019.
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2007) KFDA's Notification NO. 2007-68, Cheongju, Korea.
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2010) KFDA's Notification NO. 2010-51, Cheongju, Korea.
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2009a) KFDA's Notification NO. 2009-13, Cheongju, Korea.
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2009b) KFDA's Notification NO. 2009-302, Cheongju, Korea.
- Zhongzhen, Z. and Hubiao, C. (2018) Chinese medicinal identification, 59-385, Korean Studies Information Co., Ltd., Paju, Gyeonggido, Korea.
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2009) Analysis method of benzo(a)pyrene in herbal medicine. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_218/view.do?seq=33291&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=3. Accessed 3 April 2020.
- Ministry of Food and Drug Safety (2015) The Korean Pharmacopoeia 11th ed., 2164-2165, Shinil books Press, Cheongju.
- Inayat, S., Fazili, Weiwu, J., Lihua, W., Edward, A. F., Tanvir, K., Xavier, C., Robert, B. and Bhagavatula, M. (2010) Persistent induction of cytochrome P4501A1 in human hepatoma cells by 3-methylcholanthrene: Evidence for sustained transcriptional activation of the CYP1A1 promoter. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **333**: 99-109.

20. Michael, S., Kevin, T. and Robert, E. S. (2010) Determination of polycyclic aromatic hydrocarbon(PAHs) in shrimp. *J. Agric. Food Chem.* **58**: 1201-1204.
21. Lien, G. W., Chen, C. Y. and Wu, C. F. (2007) Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons by liquid chromatography/tandem mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ionization or electrospray ionization with tropylium post-column derivatization. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **21**: 3694-3700.
22. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2015) Guidelines for validation of analysis method in pharmaceuticals. Available from: https://www.nifds.go.kr/brd/m_15/down.do?brd_id=167&seq=10029&data_tp=A&file_seq=1. Accessed 23 December 2019.
23. CODEX Alimentarius Commission (2009) Guidelines for the design and implementation of national regulatory food safety assurance programme associated with the use of veterinary drugs in food producing animals, CAC/GL-71, Rome, Italy.
24. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2019) Common guidelines for risk assessment of products applied products. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_210/view.do?seq=14364&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=20. Accessed 13 May 2020.
25. Food and Drug Administration (KFDA) (2011) Genotoxic carcinogen risk assessment guide. Available from: http://www.nifds.go.kr/brd/m_15/view.do?seq=4733&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=90. Accessed 1 February 2020.
26. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2018) Risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in food. Available from: https://www.nifds.go.kr/brd/m_271/view.do?seq=12537&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=1. Accessed 1 February 2020.
27. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2018) Explanation on the determination of residual pesticides not established criteria for medicinal herb. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_210/view.do?seq=14475&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=2. Accessed 15 February 2020.
28. Kosis (2018) Korean statistical information service. Available from: https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=350&tblId=DT_35007_N132. Accessed 7 April 2020.
29. Kosis (2019) Korean statistical information service. Available from: https://www.index.go.kr/potal/main/EachDtlPageDetail.do?idx_cd=2758. Accessed 1 December 2020.
30. Roger, C. (1997) Validation of chromatographic methods in biomedical analysis viewpoint and discussion. *J. Chromatogr.* **689**: 175-180.
31. Kim, H. J. (2009) Herbal medicine standard processing practice. The report of Korea Food and Drug Administration.
32. Fismes, J. and Perrin-Ganier, C. (2002) Empereur Biosoonnet P. Morel JL. Soil to root transfer and trans location of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils. *J. Environ. Qual.* **31**: 1649-1656.
33. Tao, S., Cui, Y. H., Xu, FL., Cao, J., Liu, W. X., Schmitt, G., Wang, X. J., Shen, W. R., Quing, B. P. and Sun, R. (2004) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soil and vegetables. *Sci. Total Environ.* **320**: 11-24.
34. Khan, S., Aijun, L., Zhang, S., Hu, Q. and Zhu, Y. G. (2008) Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in lettuce grown in the soils contaminated with long-term wastewater irrigation. *J. Hazard Mater.* **152**: 506-515.
35. Ahn, T. J. (2013) Study of the new process for the control of benzopyrene formation in herbal products. The report of Rural Development Administration.
36. Committee on carcinogenicity of chemicals in food (2007) Consumer products and the environment. Annual report.

(2021. 9. 23 접수; 2021. 10. 25 심사;
2021. 11. 8 게재확정)