

한약재중 중금속 분석의 정도관리에 관한 연구

황병훈¹ · 전인철² · 강호철³ · 서용찬^{1†}

¹상지대학교 환경공학과, ²인천재능대학교 화장품과, ³한국화학연구원 융합화학연구본부

Quality Control for the Analysis of Heavy Metals in Herbal Medicine

Byeong-Hun Hwang¹, Inchul Jun², Ho-Cheol Kang³, and Yong-chan Seo^{1†}

¹Department of Environmental Engineering, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

²Department of Cosmetics, Jeju University, Incheon 401-714, Korea

³Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea

Received December 14, 2012/Revised December 21, 2012/Accepted December 26, 2012

Control measures for the analysis of toxic compounds such as metals, and sulfur dioxide should be developed to assure the safety of herbal medicines. Various herbal medicine was properly selected and analysed by KFDA and other methods. Samples either prepared by microwave or hot plate digestions were analysed by AA (either flame or furnace), ICP, and/or ICP-MS. Method detection limits for various metals and methods were reviewed based on applicability of these methods on the equivalency of KFDA methods. Proper quality control criteria for matrix spike recoveries (accuracy indicator) will be 70~130% for metal analysis in herbal medicine. Relative errors expressed in relative percent difference for duplicate analysis (precision indicator) will be 15% for the same analysis. Laboratories for herbal medicine analysis can produce and report reliable data by implementing proper standardized quality control (QC) measures.

Key words: Quality control, herbal medicine, heavy metal

1. 서 론

한약재의 소비가 늘어나면서, 질병치료 목적으로 사용되는 한약재의 오염(수확, 수집, 가공, 운반 등)으로 인한 중금속오염 등이 한의학계 및 국민건강에 상당한 문제로 대두되고 있다.^{1,2)}

현재 많은 오염 매개체들로 인하여 재배되는 채소 및 약재들이 여러 중금속에 많이 노출되어 있다. 한약재(식물한약재)는 그 특성상 토양 같은 자연환경을 기반으로 자라기 때문에 주변 환경오염에 많은 영향을 받을 수밖에 없다. 실제로 교통량이 과밀한 도로나 고속도로 근처 토양과 가로수, 채소는 금속 오염수준이 높은 등 주변 환경에 영향을 받는 것으로 보고된다.^{3,4)} 따라서 중금속에 많이 노출 될 수밖에 없는 환경에 있다. 기본적으로 농산물의 중금속 축적도 토양내의 중금

속이 흡수되어 발생하는 것이므로⁵⁾ 한약재도 간과하여서는 안 된다.

이러한 한약재를 안전하게 복용하기 위해서는 약재를 정확하게 분석하여 사람들이 복용하는데 있어서 안정성을 높일 필요가 있다. 이에 한약재 분석기관은 과학적으로 타당하며 법적으로 변호 받을 수 있는 체계적이며 표준화 된 정도관리(quality control, QC)를 통해 신뢰성 있는 분석 결과를 생산, 보고하여야 한다. 분석의 정도관리의 목적은 대표성 있는 시료를 확보하고 그 시료를 분석할 때 품질의 지표라고 할 수 있는 정밀도(precision)와 정확도(accuracy)를 분명히 파악하여 문제가 있을 때 적절한 대응책(corrective action)을 마련 누구나 신뢰할 수 있는 자료를 계속적으로 생산하는 데 있다.⁶⁻⁸⁾

국내외적으로 한약재의 중금속 함량에 관한 연구는

[†]To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-33-730-0446, Fax: +82-33-730-0444, E-mail: ycseo@sangji.ac.kr

많아지고 있다. 수중한약재를 대상으로 유해금속, 유전 독성이 있는 납, 카드뮴, 비소, 수은의 중금속의 함량을 조사한 연구⁹⁾와 약용식물과 그 재배토양의 토성별 중금속함량 분포와 상관성 연구¹⁰⁾ 등 여러 연구결과가 보고되고 있다. 그러나 지금까지의 연구는 한약재에 대한 몇 가지 중금속의 오염정도를 측정하였으며, 일부 약재나 전처리방법의 차이등 결과의 대표성에 문제점이 있었다. 이런 것들을 예방하기 위해서 분석보장이 필수적이다. 다양한 분석정도관리(Analytical Quality Control, AQC)는 분석결과에 대한 분석의 책임을 나타내기에, 결과를 이용하는 모든 사람들에게 신뢰감을 준다.¹¹⁾ 국제적으로도 GLP (good laboratory practice), GMP (good manufacturing practice), 환경 분석의 QA/QC, ISO 17025 등 분석정도관리 방안을 도입하여 검사기관의 인증(certification) 등을 통한 분석의 신뢰성을 확보해 나가는 것이 국제적인 추세이다. 특히 한약재는 치료, 보약 및 건강보조식품의 개념으로 광범위하게 사용되고 있으며 때로는 병약자에게 사용되고 있어 안전한 한약재의 확보는 국민의 건강 증진을 위해 필수적이다. 현재 대한약전, 식약청고시 등에는 분석의 신뢰성을 확보하기 위한 제도적 장치가 미비하여 분석의 신뢰성을 확보하는 것이 중요하기 때문에 분석 회수율과 정밀도에 대한 QC criteria 설정이 필요하다.

2. 실험방법

2.1. 재료

근경류의 감초(*Glycyrrhizae Radix*), 산약(*Dioscoreae Rhizoma*), 황기(*Astragali Radix*), 인삼(*Ginseng Radix*), 반하(*Pinelliae Tuber*), 향부자(*Cyperi Rhizoma*), 원지(*Polygalae Radix*) 종자류의 치자(*Gardeniae Fructus*), 백자인(*Thujae Semen*) 피류의 두충(*Eucommiae Cortex*), 그리고 전초류의 인진호(*Artemisiae Capillaris Herba*) 총 11종으로 실험을 실시하였다.

2.2. 전처리 방법

2.2.1. Microwave digestion

Vessel에 시료 0.5 g을 넣고 질산 12 mL를 주입한 후 15분간 환류 시킨 후 Microwave로 전 처리한다. Microwave 모델은 Mars XP-1500으로 CEM에서 제조한 것으로 분석 조건은 다음과 같다. 10분 동안 160°C까지 상승시킨 후 160°C에서 15분간 머물고 다시 10분 동안 170°C까지 온도를 다시 상승시켜 15분

간 머문 후 실험을 종료하며, 식힌 후 꺼낸다. 식힌 시료를 filter paper(Watman 41)에 거른 후 최종 부피는 100 mL로 한다.¹¹⁾

2.2.2 습식 분해

테프론 비커에 시료 0.5~1.0 g을 넣고 질산을 20 mL 주입한 후에 하룻밤 방치한 후에 90°C ± 5°C에서 가열시킨다.¹²⁾

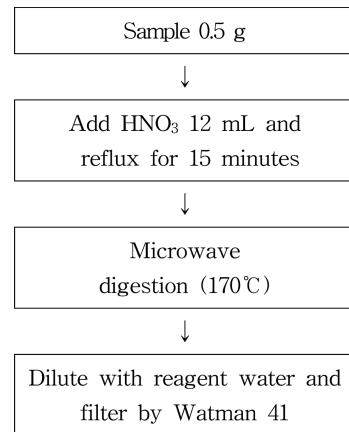


Fig. 1. Diagram of microwave digestion.

1시간 후 갈색연기가 생기면 질산을 다시 넣어주며 이 과정은 갈색연기가 나지 않을 때까지 반복한다. 갈색연기가 나지 않으면 2시간 동안 환류 시켜주고 시료가 식어 완전히 반응이 끝났을 때 증류수 2 mL와 과산화수소 1 mL를 각각 첨가한다. 이때 과산화수소의

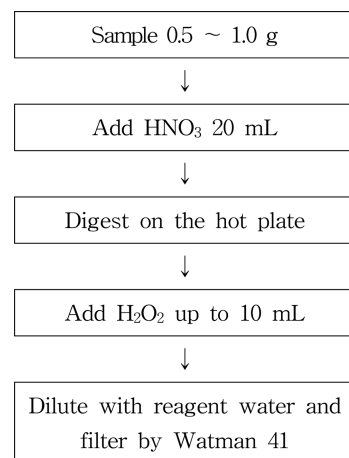


Fig. 2. Diagram of hot plate acid digestion.

양은 10 mL 이상 넣지 말아야 하며 다 식은 시료를 filter paper(Watman 41)에 거른 후 최종 부피는 100 mL로 한다.

2.3. 기기 분석

위와 같이 전 처리한 시료를 ICP(Varian, Vista MPX), ICP-MS(Varian, 820-MS) 그리고 AA(Varian, AA 240Z)로 분석하였으며, 분석 조건은 각각 Table 1, 2, 3에 제시하였다.

Table 1. ICP operating conditions for metal analysis

Instrument Parameters	Setting range for Normal Sensitivity
- Plasma flow (L/min)	15.0
- Auxiliary flow (L/min)	2.25
- Nebulizer pressure (kPa)	200
- Sample uptake delay (s)	20
- Power (kW)	1.00
- Pump rate (rpm)	20
- Instrument stabilization delay (s)	20
- Rinse time (s)	20
- Replicates	3
- Replicate read time (s)	5

Table 2. ICP-MS operating conditions for metal analysis

Instrument Parameters	Setting range for Normal Sensitivity
Gas flow (L/min)	
- Plasma flow	17.5
- Auxiliary flow	1.50
- Sheath Gas	0.15
- Nebulizer flow	1.01
- RF Power (kW)	1.35
Sample Instruction	
- Sampling Depth (mm)	5.5
- Pump rate (rpm)	6
Ion Optics (volts)	
- First extraction Lens	-1
- Second extraction Lens	-173
- Third extraction Lens	-211
- Corner Lens	-243
- Mirror Lens Left	62
- Mirror Lens Right	31
- Mirror Lens Bottom	30
- Entrance Lens	-2
- Fringe Bias	-2.4
- Entrance Plate	-32
- Pole Bias	0.0

Table 3. GF/AAS operating conditions for metal analysis

	As	Cd	Pb
Instrument Type	Furnace		
Conc. Units	ug/L		
Sampling Mode	AutoMix		
Calibration Mode	Concentration		
Measurement Mode	Peak Height		
Expansion Factor	1.0		
Minimum Reading	Disabled		
Smoothing	7 point		
Conc. Dec. Places	2	3	2
Wavelength	193.7 nm	228.8 nm	283.3 nm
Slit Width	0.5R nm	0.5 nm	0.5 nm
Lamp Current	10.0 mA	4.0 mA	10.0 mA
Lamp Position	1		
Background Correction	BC Off		

3. 결과 및 고찰

문헌상으로 얻을 수 있는 낮은 농도의 검출한계 수준으로 중금속을 증류수에 spike한 후 분석 절차와 같은 방법으로 전 처리하여 각각의 분석 장비를 이용하여 MDL을 계산하였으며 7개 시료의 표준편차에 3.14를 곱하여 나타냈다. 이 분석에 앞서, 검량선 작성 후 공인시료를 측정하여 검량확인(calibration check)을 실시하였고 매 20개 시료를 측정한 후에 공인시료를 다시 측정하여 기기의 안정성을 주기적으로 검토하였다. Fig. 3은 7개의 증류수에 카드뮴을 spike한 후 식약청 고시에 따라 microwave로 분해한 후 ICP, GFAA, ICP-MS로 분석한 결과를 바탕으로 MDL을 계산한 것을 보여준다. 카드뮴의 MDL은 ICP는 0.17 mg/kg, GFAA는 0.044 mg/kg 그리고 ICP-MS는 0.003 mg/kg으로 ICP-MS가 가장 낮은 MDL 값을 나타내었다.

Table 3은 각 전처리 방법과 기기에 따라 실험에 의해 얻어진 MDL 또는 물 시료 등의 MDL로부터 추산하여 얻은 MDL 값들을 정리한 것이다. 대부분 금속의 MDL은 ICP>GFAA>ICP-MS의 순서로 나타나 ICP-MS가 가장 낮은 양호한 검출한계를 갖는 것으로 나타났다.

그리고 현재와 같이 0.5 g 정도의 시료를 습식 또는 microwave로 분해한 후 최종 부피를 100 mL로 맞춘 경우에는 ICP 또는 flame AA로는 As, Cd, Pb 등의 유해물질을 낮은 농도에서 측정하는 것은 현실적으로 어려운 실정이다. 예를 들어 한약재의 카드뮴 기준이

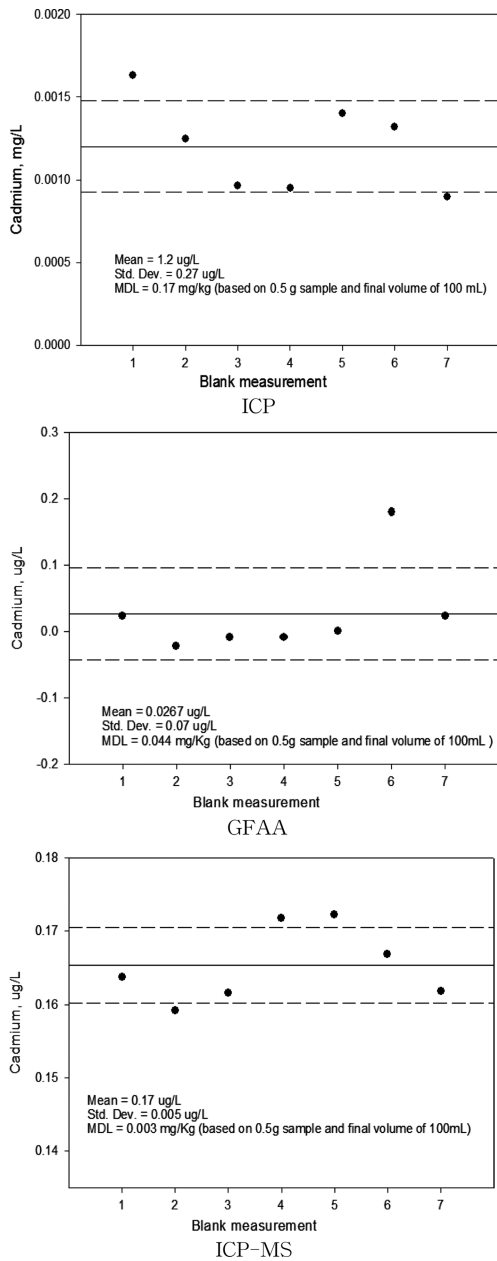


Fig. 3. Calculation of method detection limit for cadmium analysis.

0.3 mg/kg일 경우에도 ICP 또는 flame AA의 약 0.5 g의 시료를 분해하여 최종 부피를 현재와 같이 100 mL로 할 경우 현 기준의 준수 여부를 결정하는데 어려움이 있어 최종 부피를 20 mL로 하여 희석 효과를 상쇄하는 방향으로 분명하게 시험법에서 규정해야 할 필요가 있으며 향후 기준이 더 강화될 경우 농축배수를 늘이거나 더욱 감도가 좋은 ICP-MS 또는 흑연로 원자

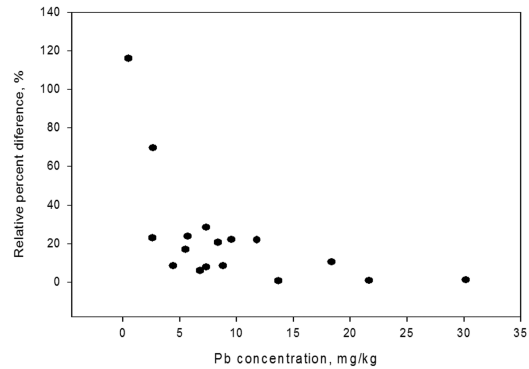


Fig. 4. Relationship between relative percent difference and lead concentration - ICP.

흡광광도계(graphite furnace atomic absorption spectrometer)와 같은 장비의 사용이 반드시 필요하다.

Fig. 4는 microwave digestion 후 ICP로 납을 분석 하였을 때 이중시료에 대한 상대오차(relative percent difference, RPD)와 납의 농도의 상관관계를 표시한 것으로 낮은 농도에서 측정값의 상대적인 신뢰성이 떨어 짐을 볼 수 있다. 즉 MDL과 비슷한 수준에서는 분석 값의 정밀도가 떨어지나 MDL의 10배 이상의 경우에는 RPD가 10% 이내로 안정적인 정밀도를 보여준다.

이런 경향은 모든 분석에서 비슷한 형태를 보이고 따라서 어떤 유해성 기준을 설정할 때 정밀도를 고려한 다면 시험검출한계는 기준보다 최소한 10배 이하 낮은 값을 가져야 한다. 따라서 기준이 낮은 경우에는 검출 한계가 낮은 분석법인 GFAA 또는 ICP-MS 방법을 채택해야하며 실험결과도 이런 기기를 사용할 경우 상대적으로 낮은 농도에서도 안정적인 정밀도를 보여주고 있어 기준이 강화될 경우 이런 기기의 사용이 필수적 일 것으로 판단된다. 또 EPA 등에서 정밀도의 평가 기준을 MDL의 20배를 기준으로 평가기준을 달리하는 것도 동일한 이유이며(중금속 분석시, 측정농도 <math> < 20 \times MDL </math>의 경우 RPD 25% 이하, 측정농도 >math> > 20 \times MDL </math>의 경우 RPD 10% 이하) 우리도 QC criteria를 정할 때 이런 점을 고려해야 한다. 정밀도(precision)를 분석 하기 위하여 모든 시료에 대해 이중시료 분석을 실시 하였으며 Fig. 5는 납을 ICP로 분석한 결과를 비교한 것으로 낮은 농도의 경우 상대적으로 오차가 크게 나타났다. Table 5는 각 원소에 대한 정밀도를 보여주고 있으며 기기별로 큰 차이는 나타나지 않았다.

분석의 정확도를 위하여 같은 시료를 두 개씩 취하여 각각에 기지(既知) 농도의 중금속을 spike하여 (MS/

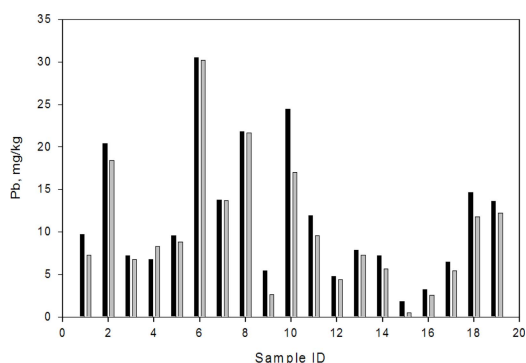


Fig. 5. Comparison of duplicate analysis (Lead) - microwave digestion/ICP.

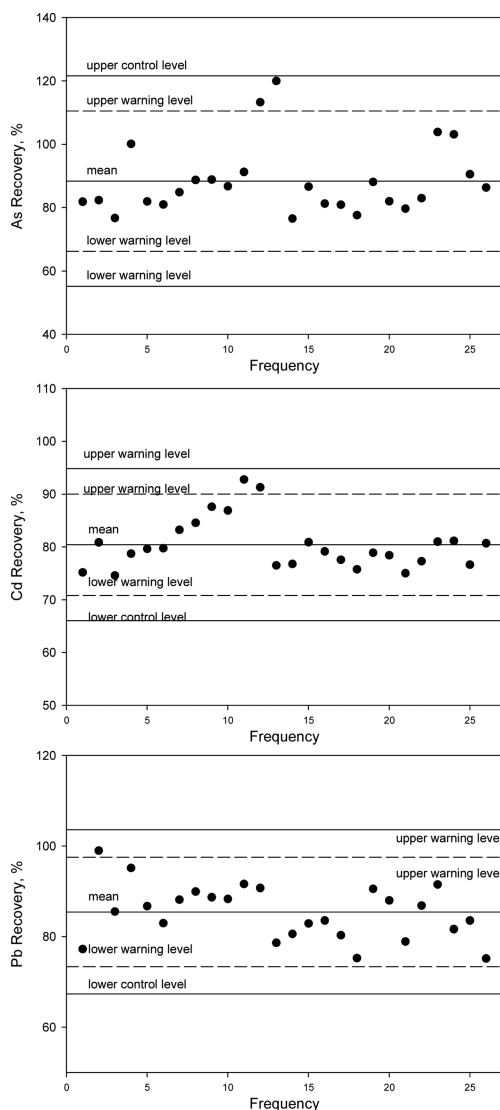


Fig. 6. Arsenic, cadmium and lead recovery for herbal medicine analysis - Microwave digestion/ICP-MS.

Table 4. Method detection limit by instrument

unit: mg/kg

Element	ICP	GFAA	ICP-MS
	Measured (Estimated)	Measured (Estimated)	Measured (Estimated)
Ag	0.33 (0.4)	(0.1)	0.17 (0.02)
Al	30 (4)	(0.6)	3.6 (0.2)
As	4.2 (1.6)	0.054 (0.2)	0.2 (0.28)
Ba	1.4 (0.2)	(0.4)	1.9 (0.16)
Be	0.058 (0.06)	(0.4)	0.10 (0.06)
Ca	27 (2)	-	-
Cd	0.17 (0.2)	0.044 (0.01)	0.087 (0.1)
Co	0.31 (0.4)	(0.2)	1.5 (0.018)
Cr	0.3 (0.8)	(0.4)	1.4 (0.18)
Cu	3.9 (0.6)	(0.2)	0.44 (0.1)
Fe	160 (6)	(0.2)	-
K	19 (60)	-	-
Mg	8.5 (4)	-	-
Mn	0.47 (0.2)	(0.04)	0.19 (0.02)
Mo	0.75 (0.8)	(0.2)	3.7 (0.06)
Na	66 (6)	-	-
Ni	0.85 (1)	(0.2)	1.2 (0.1)
Pb	1.4 (2)	0.27 (0.2)	0.16 (0.12)
Sb	8.9 (1.6)	(0.6)	0.22 (0.08)
Se	7.6 (4)	(0.4)	0.86 (1.58)
Sr	0.63 (0.06)	-	0.023
Tl	26 (0.2)	-	0.20 (0.06)
V	0.068 (0.6)	-	0.23 (0.5)
Zn	4.3 (0.6)	-	1.7 (0.36)
Hg	-	0.64(CVAA)	(0.09)

MSD) 회수율을 검토하였다. Fig. 6은 주요 규제 대상 물질인 ICP로 분석한 비소, 카드뮴, 납에 대한 회수율을 나타낸 것으로 모두 80% 이상의 양호한 회수율을 나타내었고 다른 금속의 경우에도 ICP와 ICP-MS 분석에 대한 회수율이 양호하였으나(은, 철 제외) GFAA의 회수율은 조금 낮게 나타났으며(Table 4), 두 시료(MS와 MSD)간의 정밀도는 대부분 양호하게 나타났다(Table 4).

4. 결 론

현행 방법으로 주로 사용되는 microwave와 hot plate digestion(습식 분석)과 ICP 또는 Flame AA를 사용하는 경우 시험검출 한계가 높아 한약재 안전성 기준 평가에 문제가 발생할 수 있다. 따라서 GFAA 또는 ICP-MS 법을 도입하거나 시료를 농축하여야 할 것이

Table 5. Precision and accuracy by duplicate and spike recovery test

Element	MS/MSD RPD			Recovery, %			Sample RPD		
	ICP	GFAA	ICP/MS	ICP	GFAA	ICP/MS	ICP	GFAA	ICP/MS
Al	20.8±23.2	-	10.6±10.4	91.7±29.4	-	92.8±27.0	12.4±9.3	-	16.2±10.6
As	5.0±4.2	5.7±6.0	12.4±15.1	90.6±6.0	71.6±7.1	87.8±12.0	-	50.7±19.5	16.5±8.4
Ba	9.7±18.9	-	5.9±3.5	97.6±5.1	-	98.5±9.7	11.6±11.7	-	14.7±16.2
Be	2.2±2.5	-	3.8±1.9	87.6±5.3	-	87.1±7.4	9.51±6.13	-	20.7±16.7
Cd	2.2±2.3	7.0±3.1	2.4±2.4	84.2±5.0	79.9±5.9	81.2±5.4	13.2±9.5	24.0±11.5	4.45±4.55
Co	2.4±2.5	-	2.2±1.5	84.5±5.5	-	82.7±82.6	17.5±13.1	-	11.1±14.1
Cr	2.8±2.5	-	3.4±5.1	84.8±5.3	-	80.4±5.7	17.8±14.1	-	19.2±16.5
Cu	3.1±2.4	-	5.0±4.8	180.9±10.6	-	89.8±6.7	9.5±7.9	-	10.1±8.0
Fe	34.2±44.0	-	5.0±11.0	139.3±111.4	-	94.0±9.3	12.3±8.6	-	13.8±13.4
Mn	10.7±25.4	-	6.1±3.9	88.4±11.7	-	112.3±14.2	8.4±9.5	-	13.4±18.8
Mo	2.3±2.5	-	4.9±4.2	91.3±5.9	-	83.5±7.2	-	-	-
Ni	3.1±2.8	-	5.6±4.9	87.6±5.7	-	80.6±6.6	8.7±8.4	-	13.4±12.1
Pb	3.3±2.2	4.6±3.8	5.9±7.8	85.0±6.0	45.7±5.0	85.8±6.3	18.6±10.6	11.7±13.3	15.4±12.9
Sb	6.4±3.5	-	-	91.6±9.2	-	-	22.4±16.6	-	-
Se	-	-	1.5±1.6	-	-	83.5±3.0	-	-	-
Sr	5.2±5.3	-	4.5±3.4	88.7±9.0	-	110.2±21.6	6.7±6.3	-	5.3±5.6
V	2.4±2.5	-	4.0±4.5	91.1±91.8	-	87.3±5.5	2.2±2.6	-	12.7±11.9
Zn	5.3±5.1	-	13.1±11.5	80.1±6.3	-	103.7±18.8	16.0±9.4	-	13.5±9.0

며 모든 분석기관은 사용하는 분석법에 대한 시험검출 한계를 정기적(최소 1년에 1회 이상 또는 기기 등 분석법이 달라졌을 경우)으로 검토할 것을 QC의 의무 사항으로 설정해야 할 것이다. ICP-MS의 실제 시료에 대한 matrix spike recovery는 일부 항목에 대해 낮게 나타났으나 안정성 평가 대상 항목 중 비소는 76~119%, 카드뮴은 74~92%를 그리고 납은 75~98%의 회수율을 얻었다. 현재 수질오염공정시험기준에 의한 회수율은 75~125%를 제시하고 있으며¹⁴⁾, 토양오염공정시험 기준에서는 회수율 70~130%를 제시하고 있다.¹⁵⁾ 이에 한약재의 안전성을 고려하여 비소 카드뮴 및 납 분석 회수율에 대한 QC criteria로 70~130% 정도로 제시하는 것이 합당할 것으로 판단된다.

이 값은 미국 EPA에서 유기물 등 방해물질이 거의 없는 토양을 분석할 때도 대부분의 중금속에 대해 75~125%의 회수율을 QC criteria로 사용하는 것을 고려하면 적절하다고 판단된다. 본 연구에서 이중시료, 또는 MS/MSD 분석을 통해 얻은 이중시료 분석에 대한 RPD(%)는 GFAA로 분석한 비소를 제외하고 20% 내였으며 이중분석에 이용된 시료들이 비교적 낮은 농도로 존재하기 때문에 안전성을 고려하여 30%의 RPD를 QC기준으로 사용할 수 있을 것으로 판단된다. 수질 오염공정시험기준과 토양오염공정시험기준에 의한 RPD

는 각각 25%와 30%를 나타내고 있고,^{14,15)} 비교적 방해물질이 없는 토양의 중금속 분석 시에도 측정농도 <20×MDL의 경우 RPD 25% 이하의 값을 criteria로 사용하고 있는 미국 EPA와 비교해도 이 기준은 별로 손색없는 기준으로 평가된다.

감사의 글

본 연구는 식품의약품안전청의 “한약재 분석기관 정 도관리 표준화 기법 연구(과제번호 07092생약안306)”와 “한약재 분석기관 유해물질 정 도관리 연구(과제번호 08112생약안218)” 과제의 지원을 받아 수행되었습니다. 이에 감사한다.

참고문헌

1. 이근주, 코메디닷컴, http://www.kormedi.com/news/news/orient_medi/1183134_2904.html, 2007.
2. 노의근, 보건신문, <http://www.bokuennews.com/news/article.html?no=20563>, 2007.
3. 박기학, 교통량 과밀 도로주변의 토양과 가로수, 대기 중 Pb, Cu, Zn 중금속 농도와 그 상관성에 관한 연구. *한국환경보건학회지*, 18(2), 19-25, 1992.
4. 홍사오, 박승희, 토양 및 채소중의 중금속오염에 관한

- 연구. *한국환경보건학회지*, 10(1), 33-45, **1984**.
5. HQ Air Force Center for Environmental Excellence, "Quality Assurance Project Plan", version 3.1, **1998**.
 6. 김기동, 유기농 및 비유기농 채소류 중 중금속 함량 분석. *한국환경분석학회지*, 13(1), 21-25, **2010**.
 7. U. S. EPA, Requirements for Quality Assurance Project Plans (QA/R-5), EPA/240/B-01/003, Office of Environmental Information, **2001**.
 8. ANSI/ASQC E4-1994, Specifications and Guidelines for Quality Systems for Environmental Data Collection and Environmental Technology Programs.. American Society for Quality. Milwaukee, Wisconsin, **1994**.
 9. 박춘혁. 수종약재중의 중금속 및 잔류농약에 관한 연구, 경희대학교 대학원 석사학위논문, **1987**.
 10. 정구복, 김복영, 김규식, 이종식, 유인수. 약용식물과 그 재배토양의 토성별 중금속 함량 분포. *한국토양비료학회지*, **1996**, 29(2), 158-164.
 11. 서용찬, 김기동, 유진열, ICP-MS를 이용한 수계 중 미량중금속 분석의 정도관리, *한국환경분석학회지*, 2(1), **1999**.
 12. 식품의약품안전청, 생약등의 중금속 허용기준 및 시험방법, **2005**.
 13. U.S. Acid Digestion of sediments, sludges, and soils, EPA 3050B.
 14. 환경부, 수질오염공정시험기준, **2009**.
 15. 환경부, 토양오염공정시험기준, **2009**.