

## 한약재의 벤조피렌 함량 및 추출물에서의 이행률에 대한 연구

윤혜민\* · 이은주\*\*\* · 임광희\*,\*\*,\*†

\*대구대학교 화학공학과  
38453 경상북도 경산시 진량읍 대구대로 201  
\*\*대구대학교 화학공학과 산업 및 환경폐가스연구소  
38453 경상북도 경산시 진량읍 대구대로 201  
(2018년 10월 29일 접수, 2018년 11월 9일 수정본 접수, 2018년 11월 13일 채택)

## Study on Benzo(a)pyran Content and its Transfer Ratio in Extracts of Medicinal Herbs

Hye-Min Yoon\*, Eun Ju Lee\*\*\* and Kwang-Hee Lim\*,\*\*,\*†

\*Department of Chemical Engineering, Daegu University, 201, Daegudae-ro, Jillyang-eup, Gyeongsangbuk-do, 38453, Korea

\*\*Department of Chemical Engineering, Laboratory of industrial and environmental waste air, Daegu University, 201, Daegudae-ro, Jillyang-eup, Gyeongsangbuk-do, 38453, Korea

(Received 29 October 2018; Received in revised form 9 November 2018; accepted 13 November 2018)

### 요 약

본 연구에서는 건조하기 어려운 원료한약재 5 품목(총 50 건)을 대상으로 벤조피렌 함량 및 물 추출물과 연조엑스 제조단계에서의 벤조피렌의 이행률을 HPLC/FLD로 측정하였다. 벤조피렌의 검량선은 3~40 ng/mL의 농도 범위에서 상관계수( $R^2$ )가 1.000으로서 우수한 상관관계를 나타내었다. 원료한약재의 벤조피렌 검출 범위는 불검출~37.54  $\mu\text{g/kg}$ 이고, 검출평균은 6.73  $\mu\text{g/kg}$ 이었다. 그 중에서 식품의약품안전처의 고시(2009-302호) 기준인 5  $\mu\text{g/kg}$  이상 검출된 시료는 15 건(30%)이었다. 특히 황련의 벤조피렌 함량은 37.54  $\mu\text{g/kg}$ 으로서 가장 높았다. 물 추출물, 연조엑스 및 물 추출 후 찌꺼기에서 벤조피렌의 검출 범위는 각각 불검출~2.31  $\mu\text{g/kg}$ , 불검출~2.28  $\mu\text{g/kg}$  및 2.18~21.91  $\mu\text{g/kg}$ 으로 분석되었다. 물 추출물(탕제)과 연조엑스의 제조에서 벤조피렌은 이행되지 않거나, 특히, 현삼에서 물 추출물과 연조엑스의 경우에 각각 최대 8.9%와 최대 9.8%의 이행률을 보였다. 따라서 원료한약재에 비해 물 추출물 및 연조엑스에서 벤조피렌 함량이 각각 90.0% 이상까지 감소하였다.

**Abstract** – In this study, both of the concentration of benzo(a)pyrene in 5 species (total 50 samples) of medicinal herbs and their transfer ratios in the preparation steps of water extract(decoction) and soft extract, were measured by HPLC/FLD. The calibration curve of benzo(a)pyrene shows excellent correlation over the concentration range of 3~40 ng/mL with the correlation coefficient ( $R^2$ ) of 1.000. The detected benzo(a)pyrene concentrations from the medicinal herbs ranged from non-detection to 37.54  $\mu\text{g/kg}$ , and their average was 6.73  $\mu\text{g/kg}$ . Among the total samples, 15 samples (i.e., 30%) exceeded the limit of herbal medicine benzo(a)pyrene criteria (i.e., 5  $\mu\text{g/kg}$ ) according to the notification No. 2009-302 from Ministry of Food and Drug Safety. In particular, the concentration of benzo(a)pyrene in *Coptidis Rhizome* was turned out to be the highest of 37.54  $\mu\text{g/kg}$ . The detected benzo(a)pyrene concentrations from water extract(decoction), soft extract and remnant after boiling, ranged from non-detection to 2.31  $\mu\text{g/kg}$ , non-detection to 2.28  $\mu\text{g/kg}$ , and 2.18 to 21.91  $\mu\text{g/kg}$ , respectively. In preparation of water extract(decoction) and soft extract, transferred benzo(a)pyrene was not detected or, if transferred, the maximal transfer ratios of benzo(a)pyrene were shown to be 8.9% and 9.8%, respectively. Therefore, the content of benzo(a)pyrene in the samples of herbal medicine used in this study, were reduced by more than 90% in preparation steps of water extract (decoction) and soft extract.

Key words: Medicinal herbs, Benzo(a)pyrene, Transfer ratio, Water extract, Soft extract, HPLC

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: khlim@daegu.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.

## 1. 서 론

생활수준의 향상과 식습관의 변화로 건강에 대한 관심이 증가하고 있으며 한의학은 국민들의 천연품에 대한 선호와 의학을 통한 시료의 한계로 이용도가 높으며 이와 함께 식품, 화장품, 농약 등에서 광범위하게 이용되고 있어 수요가 증가하고 있다. 그 중 한약은 질병을 치료하고 예방하기 위해 우리나라에서 많이 사용되며 한방 약 뿐 아니라 한약제제, 건강기능식품, 천연감미료 및 신약개발의 자원 등으로 그 사용범위가 매우 넓다[1]. 한약은 자연에 존재하는 다양한 식물, 동물, 광물질 등을 천연 그대로 사용하거나 건조 및 수처 등의 일정한 가공을 통해 원재료로 사용되고 있기 때문에[2] 토양과 같은 자연환경을 기반으로 자라는 식물 한약재의 경우 주변 환경오염에 많은 영향을 받으므로 오염된 원료로 만드는 한약제제와 식품 등 안전성 문제가 발생 할 수 있다[3].

최근 들어 외국산 한약재의 수입이 증가되고 있으며 그 중 안전성이 검증되지 않은 값싼 중국산 한약재가 대량으로 수입 유통되고 있는데 이들 수입 한약재와 국내에서 생산되어 유통 한약재의 안전성에 대한 연구실적은 거의 없는 실정이다. 2017년 한국의약품수출입협회의 국가별 한약재 수입현황에 따르면 수입한약재는 대부분 중국산이며 중국의 급격한 산업화로 자연환경의 오염이 계속되고 있어 한약재의 안전한 관리가 더욱 요구되고 있다[4]. 중국산 한약재의 수입과 대량 생산에 따른 농약 등의 오염에 의한 독성문제가 심각한 사회문제로 대두됨에 따라 한약재 중 유해물질에 대한 국민들의 관심과 우려가 증대되고 있다. 유해물질이라 함은 환경 등에 의해 비의도적으로 식품에 존재하거나, 식품 제조과정 중에 생성되는 중금속, 곰팡이독소, 다이옥신, 벤조피렌 등을 말한다[5]. 유해물질 우선순위의 평가대상에는 미생물, 곰팡이 및 곰팡이독소, 기생충, 곤충, 중금속(비소, 카드뮴, 납, 수은 등), 잔류농약(살충제, 제초제, 살균제, 화학약품, 항바이러스제 및 사용금지 잔류농약), 이산화황, 벤조피렌, 보존제, 유기용제 등이 포함된다[6]. 이와 같이 한약재는 환경오염으로 인해 중금속에 오염될 뿐 아니라 건조하거나 제조하는 등의 과정에서도 벤조피렌 등의 발암물질이 생성될 수 있다[7]. 벤조피렌은 내분비계장애물질로 알려진 대표적인 다환 방향족 탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) 화합물 중 하나로서 1급 발암물질[8]이며, 미국 EPA에서는 B2, 즉 유력한 인체발암물질로 분류되고 있다[9]. 벤조피렌은 다환 방향족 탄화수소 그룹에 속하는 황색의 결정성 고체이며, 300~600 °C 사이 온도에서 불완전연소 시에 생성되기 때문에 그 오염원은 매우 다양하다. 자연 발생원에는 원유, 화산 및 숲의 화재 등이 있다. 식품에서는 굵기·튀기기·볶기 등의 조리·가공 과정에 의한 탄수화물, 지방 및 단백질의 탄화에 의해 생성[10]되며 농산물 등 조리·가공하지 않은 식품(raw food)에도 존재한다[11]. 한편 벤조피렌의 인위적 발생원으로는 경유와 휘발유 등의 화석연료를 사용하는 자동차의 배출가스, 석탄연소 배출물, 자동차 폐오일과 담배연기 등이 있으며, 이러한 인위적 발생원으로 인한 오염이 훨씬 더 심각하다.

최근에 생약의 사용 부위별 분류(8 분류)와 매질별 분류(3 분류)로 모든 생약에 적용 가능한 매질별로 특성화된 벤조피렌 시험법이 개발됨으로써, 생약의 벤조피렌 저감화 방안으로서 생약 채취 및 제조방법 등이 제시되고 있다[12]. 이에 따라 우리나라에서도 식품의약품안전처에서 2011년부터 수행된 다환 방향족 탄화수소의 모니터링 및 위해평가를 통해, 생약의 벤조피렌 기준 및 시험방법(식품

의약품안전처 고시 제2009-13호)[13]이 설정 되었고, 광물성 생약을 제외한 모든 한약재에 벤조피렌 기준을 “5 µg/kg 이하”로 규정하는 고시(식품의약품안전처 고시 제2009-302호)[14]를 행정예고 하였지만 이후 행정조치가 이루어지지 않은 상태이다. 이에 현재까지 한약재 중에서는 지황과 숙지황만이 “5 µg/kg 이하”로 관리되고 있으며, 이와 관련한 시험법은 핵산을 이용하여 생약의 벤조피렌을 추출하여 High pressure liquid chromatography(HPLC)로 분석하는 방법이다(식품의약품안전처 고시 제2017-63호)[5]. HPLC는 벤조피렌과 같은 비극성 물질을 분석하기 용이한 분석기기이다[15,16]. 한편 추출조건의 최적화는 천연물 추출과 HPLC 분석에서 필요한 실험방법으로서 반응표면분석법이 자주 사용된다[17-19]. 이러한 배경을 바탕으로 지황과 숙지황뿐만 아니라 다른 한약재 및 가공 제품에 대해서도 벤조피렌 모니터링 및 연구가 이루어지고 있다[20-22].

한약은 최종 소비단계에서 치료 목적과 관행에 따라 탕제, 환제 및 산제 등 기타 여러 형태로 사용된다[4,23,24]. 이중 탕제는 한약을 물로 달여 찌꺼기는 버리고 추출된 한약의 성분을 복용하는 방법이며, 환제는 한약을 가루로 만들어 한약의 형태만 변화시켜 그대로 복용하는 것으로 최종소비단계에서 복용하는 약의 종류에 따라 크게 차이가 있다. Baek *et al.*[25]이 실시한 한약재와 제형별의 벤조피렌 함량조사 결과에서, 한약재는 불검출~62.81 µg/kg이었으며, 환제는 불검출~5.8 µg/kg 이었고, 탕제는 검출되지 않은 것으로 보고되었다. Jo *et al.*[3]의 한약제제(액제)의 안전성 평가에서는 숙지황이 함유된 한약제제 10건과 음료 6건 모두 벤조피렌이 검출되지 않았다고 보고되었다. 한편 Lee *et al.*[26]은 한약재를 주원료로 한 환제에 대한 벤조피렌의 함량을 분석한 결과로서 벤조피렌의 평균함량은 8.94 µg/kg 이었다고 보고하였다. Lee *et al.*[27]의 연구에서는 탕제로 달인 후가 달이기 전에 비해 벤조피렌이 72.9~100.0%까지 제거되었고, 필수 금속인 Al, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, Zn 등도 탕제로 달이기 전과 후의 탕액 중 금속농도가 74.8~100.0%까지 감소하여서 비슷한 경향을 나타내었다. 또한 Kim *et al.*[28]에 의하면 이러한 현상은 일반적으로 한약은 그대로 복용하기 보다는 대부분 물로 끓여서 그 침출액만 복용하고 잔사나 침전물은 복용하지 않으므로, 불용성 또는 난용성의 무기염들은 용출되지 않고 그대로 제거될 수 있다고 하였다. 이와 같이 한약재의 복용은 주로 한약재를 원료로 한 물 추출물(탕제)의 형태이므로, 원료 한약재와 물 추출물의 벤조피렌 함유량의 차이에 따른 식품 안전성에 대한 차이가 있을 것으로 판단된다.

본 논문에서는 신뢰성이 있는 안전한 생약 공급에 기여하기 위한 벤조피렌의 합리적인 관리체도를 설정하기 위하여, 한약재를 추출물 제조공정을 통하여 천연물 의약품으로 가공 시에 제조공정별 벤조피렌 생성량을 파악하여 벤조피렌의 저감화를 위한 향후 방향을 제시하고자 한다. 구체적으로는 한약재의 복용형태인 물 추출물과, 제조과정 중에 고온으로 농축 및 건조되어 탄화가 진행될 것으로 예상되는 생약제제인 연조엑스를 제조하는 단계에서 벤조피렌이 이행되는 정도를 조사하고, 물 추출과 연조엑스 제조 후에 남은 한약재 찌꺼기에서의 벤조피렌 잔류량을 조사 및 분석하였다.

## 2. 실험

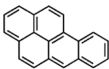
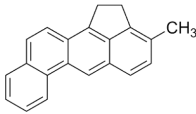
### 2-1. 재료

본 연구에 사용된 한약재는 국내 유통 한약재 5 품목(승마

**Table 1. Medicinal herbs used in this study**

Medicinal herbs	Country of Origin (Number of Samples)
Cimicifugae Rhizom	China (10)
Asparagi Tuber	China (10)
Cyperi Rhizoma	China (10)
Scrophulariae Radix	Korea (4), China (6)
Coptidis Rhizoma	China (10)

**Table 2. Chemical structure and properties of Benzo(a)pyrene and 3-Methylcholanthrene**

Description	Benzo(a)pyrene	3-Methylcholanthrene
Structure		
Molecular formula	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	C <sub>21</sub> H <sub>16</sub>
Molecular weight (g/mol)	252.32	268.35
Density (g/cm <sup>3</sup> at 25 °C)	1.24	1.28
Melting point (°C)	176~177	176.5~177.5
Boiling point (°C)	310~312	280

(*Cimicifugae Rhizom*), 천문동(*Asparagi Tuber*), 향부자(*Cyperi Rhizoma*), 현삼(*Scrophulariae Radix*) 및 황련(*Coptidis Rhizoma*) 50 건(sample)을 대상으로 하였고, 이 중에서 국내산은 4 건이고 수입산은 46 건이었다(Table 1). 본 연구에 사용된 한약재는 종류 및 원산지에 따른 구입처를 달리하지 않고 시중에 유통되는 판매처를 중심으로 구입하였다. 한약재 5 품목(species)의 각 건(sample)당 500 g을 골고루 섞은 후에 시료(specimen)를 무작위로 취하여 분쇄기(Hanil HMF-3100S, Korea)로 분쇄하고 mesh 크기가 850  $\mu$ m인 18호 체로 여과하여 사용하였다.

## 2-2. 시약 및 기기

표준물질 벤조피렌(Benzo(a)pyrene)(96%, Sigma-Aldrich, USA)과 내부표준물질 3-메틸콜란트렌(3-methylcholanthrene) (98%, Sigma-Aldrich, USA)를 구입하여 사용하였다(Table 2). 분석용 용매 및 시약은 메탄올(Methanol), 디클로로메탄(Dichloromethane, DCM), n-헥산(Hexane) 및 아세토니트릴(Acetonitrile, ACN)(HPLC grade, Merck)을 사용하였다. 시료를 균질화하기 위한 믹서기는 HMF-3150S (Hanil, Korea)을 사용하였고, 시료와 표준용액의 무게 측정은 Mettler balance (XS204, USA)를 이용하였다. 시료에서 벤조피렌 추출을 위해 ultrasonicator (JAC-4020, Korea)를 사용하였으며, 정제를 위하여 플로리실 카트리지(1 g, 6 mL, Merck)를 사용하였다. 회전식 감압농축기(R-215V, Buchi)를 사용하였으며, 용매를 제거할 때 사용한 질소농축기는 Nitrogen Evaporator (Turbo Vap II, Caliper LS, U.S.A.)를 사용하였으며, 벤조피렌 분석은 HPLC-FLD (Shimadzu LC-20AT, Japan)를 사용하였다.

## 2-3. 표준용액 및 검량선

벤조피렌 표준물질 10 mg을 취해서 아세토니트릴에 녹여 100 mL로 한 액에서 100  $\mu$ L를 취하고 아세토니트릴 100 mL로 다시 희석하여 표준원액(100 ng/mL)으로 조제하였다. 또한 내부표준물질인 3-메틸콜란트렌 10 mg을 취해 아세토니트릴에 녹여 100 mL로 한 액에서 100  $\mu$ L를 취하고 아세토니트릴 10 mL로 다시 희석하여 내

부표준원액(1  $\mu$ g/mL)을 조제하였다. 검량선 표준용액은 벤조피렌 표준원액과 내부표준원액을 조합하여, 50 ng/mL의 내부표준물질을 함유하는 5개의 농도별(3, 5, 10, 20 및 40 ng/mL) 벤조피렌 표준용액(standard solution)을 조제하였다. 각 농도별 표준용액에 대하여 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적 비를 y축으로 하고 벤조피렌 농도를 x축으로 하여 검량선(standard curve)을 구축하였다. 구축된 검량선으로부터 직선성의 상관계수를 구하여 상관관계를 검토하였다.

## 2-4. 추출 및 정제

시료의 처리 과정은 식품의약품안전처고시 2017-63호인 ‘생약의 벤조피렌 시험방법’에 따라 다음과 같이 실험하였다[5]. 분쇄 및 18호 체로 여과된 한약재를 균질하게 혼합하여, 시료 5.0 g을 취하여 물 100 mL에 넣어서 90 분간 초음파로 추출하였다. 여기에 헥산 100 mL 및 3-메틸콜란트렌이 50 ng/mL의 농도로 포함된 내부표준용액 1 mL를 넣어 균질하게 섞은 다음에 추가적으로 30 분간 초음파 추출하였다. 헥산 층을 분액깔대기에 옮기고, 다시 물 층에 헥산 50 mL을 넣고 2회 반복하여 진탕 추출한 후 헥산 층을 취하여 분액깔대기에 추가하였다. 합쳐진 헥산층에 물 50 mL를 넣어 세척하고, 이 헥산 층을 무수황산나트륨을 넣은 여과지를 사용하여 탈수 여과한 다음에, 45 °C 수욕에서 감압(약 700 mbar)하여 헥산이 약 2 mL가 될 때까지 농축하였다. 한편 벤조피렌을 제외한 불순물을 제거하기 위하여 다음과 같이 정제하였다. 플로리실 카트리지는 미리 디클로로메탄 10 mL를 초 당 2~3 방울의 속도로 용출시킨 후, 같은 속도로 헥산 20 mL를 사용하여 디클로로메탄을 제거하여 활성화시킨 후에 사용하였다. 활성화된 카트리지에 추출용액을 넣어 헥산과 디클로로메탄의 혼합액(헥산:디클로로메탄=3:1) 20 mL를 초 당 2~3 방울의 속도로 용출시킨 후, 이 용출된 액을 35 °C 이하의 수욕상에서 질소가스로 건조시킨 후에 잔류물을 아세토니트릴 1.0 mL에 녹인 다음 이를 공경 0.45  $\mu$ m 이하의 멤브레인 필터로 여과하여 기기분석에 사용하는 검액(test solution)으로 하였다[29,30]. 본 실험에서는 한약재 종류 별로 10개의 건이 있고, 각 건당 시료 3개를 채취하여 각각 분석실험을 하여 평균값을 구하였다.

## 2-5. 한약재의 물 추출물과 연조엑스 제조 및 물 추출 후 한약재 찌꺼기

분쇄 및 18호 체로 여과된 한약재 분말 50 g에 증류수 500 mL를 넣고 가압멸균기를 사용하여 압력 0.5 bar 조건으로 3시간 가열하였다. 물 추출물을 충분히 식힌 뒤 감압여과 장치를 사용하여 여과한 후 메스실린더에 물 추출물을 넣고 500 mL로 정용하여 물 추출물 시험용액 10 mL/g의 비율로 시료 5 g에 해당하는 50 mL를 물 추출물 시료로 사용하였다. 연조엑스 제조는 대한민국의약품(생약)규격집[31]의 연·건조엑스 제법 및 식품의약품안전처 자료 생약(한약)제제의 제조방법 상세기재요령[32]를 참고하였다. 한약재의 물 추출조건과 동일한 방법으로 가압가열한 물 추출물을 제조한 후에 시료 5 g에 해당하는 50 mL를 60 °C 이하에서 감압·농축하여 연조엑스 시료로 사용하였으며, 물 추출 후 남은 한약재 찌꺼기를 60 °C 이하에서 건조하여 한약재 찌꺼기 시료로 사용하였다. 이와 같은 Fig. 1의 공정으로 제조한 물 추출물 시료, 연조엑스 시료 및 한약재 찌꺼기 시료를 전술한 ‘2-4. 추출 및 정제’와 같은 과정을 통하여 기기분석에 사용하였다.

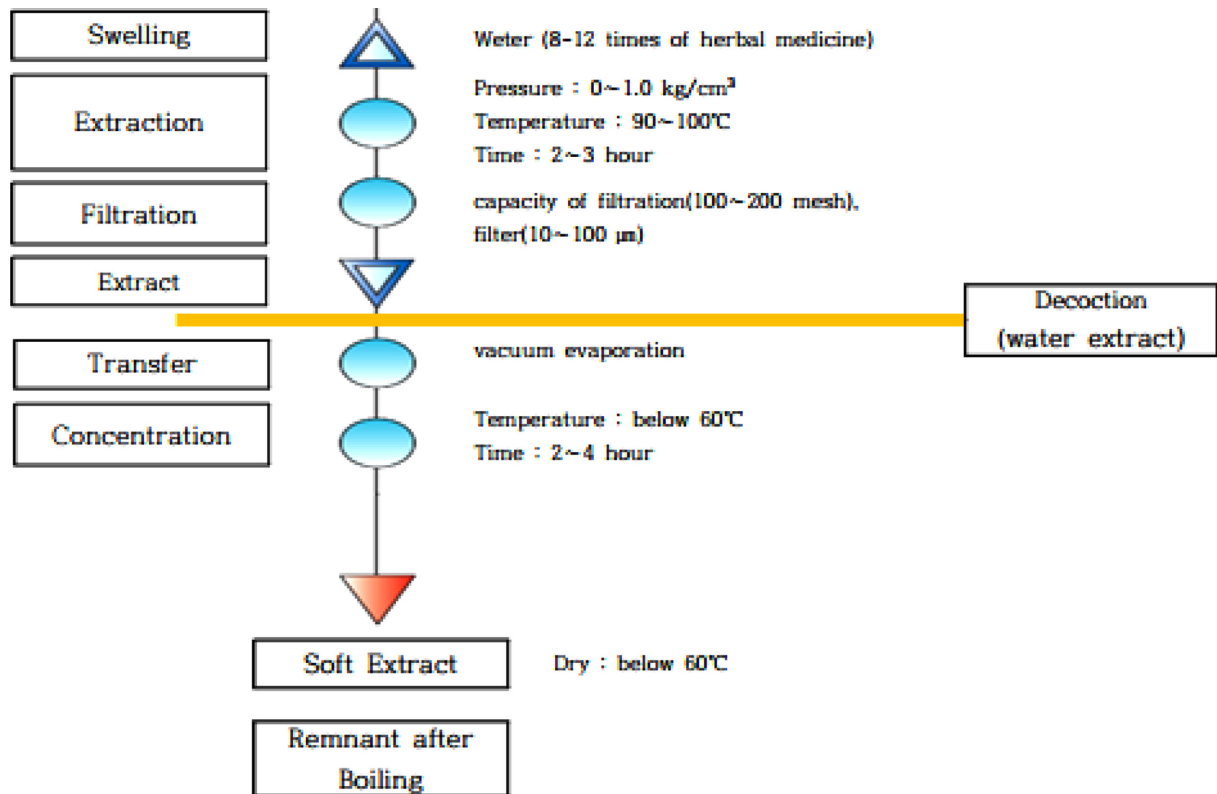


Fig. 1. Method of preparing extracts for transfer ratio surveys.

## 2-6. HPLC 분석조건

벤조피렌은 형광 검출기(Shimazu RF-10AXL, Japan)가 내장된 HPLC/FLD (Shimazu LC-20AT, Japan)를 사용하여 분석하였다. 칼럼은 Waters PAH C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)을 사용하였다. 여기파장과 형광파장은 각각 294 및 404 nm로 선정하고, 이동상은 아세토니트릴과 물의 혼합액(8:2)을 사용하였다. HPLC 분석에서 시험 용액은 10 μL로 하고, 유속은 1.0 mL/min의 조건으로 분석하였다.

## 2-7. 유효성 검증

직선성(Linearity), 정확성(Accuracy), 정밀성(Precision), 검출한계((Limit of Detection, LOD) 및 정량한계(Limit of Quantitation, LOQ)를 본 실험의 유효성 검증을 위해 분석하였다. 구축된 검량선으로부터 직선성의 상관계수를 구하여 상관관계를 분석하였다. 또한 정확성과 정밀성 검증을 위하여, 벤조피렌이 검출되지 않은 시료에 표준 벤조피렌용액 5 ng/mL과 내부표준물질 50 ng/mL이 되도록 첨가하여 회수율을 측정하였다. 한편 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)는 ICH Q2B 가이드라인[33]에 따라 각각 다음과 같은 식으로 산출하였다.

$$\text{LOD} = 3.3 \times \sigma/S \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \sigma/S \quad (2)$$

여기서  $\sigma$  및  $S$ 는 각각 표준편차(standard deviation of the response)와 검량선 기울기(slope of the calibration curve)이다.

## 2-8. 벤조피렌 함량의 정량

검액(test solution) 10 μL를 형광 검출기가 내장된 HPLC/FLD

(Shimazu LC-20AT, Japan)에 주입하고, 아세토니트릴과 물의 혼합액(8:2)을 이동상으로 하여 1.0 mL/min의 속도로 검출기 파장 294 nm, 형광파장 404 nm에서 분석하였다. Fig. 2와 같이 구축한 검량선에, 검액의 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적 비를 y축에 대입하여 검액의 벤조피렌의 농도를 구하였다. 구하여진 벤조피렌의 농도의 단위는 ng/mL로서, 총 검액 부피(total volume of test solution)는 1 mL이고 검체량(mass of tested sample)은 5 g이며, 검체의 단위질량당 함유된 벤조피렌의 양은 다음과 같이 나타내어진다.

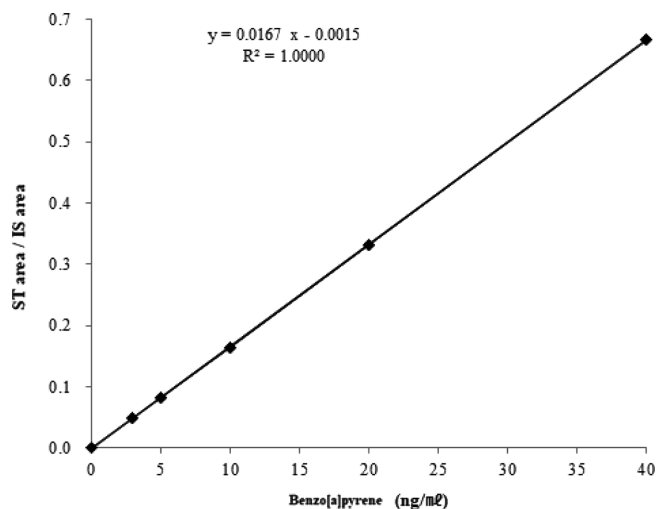


Fig. 2. Standard curve of benzo(a)pyrene for the analysis by HPLC.

$$\begin{aligned} & \text{Benzo(a)pyrene concentration of tested sample } (\mu\text{g/kg}) \\ &= \text{Benzo(a)pyrene concentration of test solution } (\text{ng/mL}) \\ &\times \frac{\text{Total volume of test solution (mL)}}{\text{Mass of tested sample (g)}} \end{aligned} \quad (3)$$

### 3. 결과 및 고찰

#### 3-1. 유효성 검증

본 실험의 유효성 검증에 대한 결과는 Table 3와 같다. 한편 검량선 작성을 위하여 표준용액으로서 벤조피렌을 3, 5, 10, 20 및 40 ng/mL로 조제하여 사용하였으며, 내부표준물질인 3-메틸콜란트렌이 각각 50 ng/mL가 되도록 첨가한 후 분석기에 주입하여 얻어진 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적 비로부터 Fig. 2와 같은 검량선을 작성하였고, 벤조피렌 표준용액을 내부표준법으로 검량선을 작성한 결과로서 상관계수( $R^2$ )는 1.000인 상관관계를 나타내었다. 검출한계와 정량한계는 각각 0.03 및 0.10 ng/mL이었으며, 벤조피렌이 검출되지 않은 시료를 통해 얻어진 회수율은 95.6 ( $\pm 0.03$ )%이었다. 직선성이 확인된 농도구간 중 10 ng/mL를 기준으로 6회 반복 측정된 결과 상대표준편차(Relative Standard Deviation, RSD)가 1% 이내로 정밀성 검증에 만족할 만한 수준이어서 본 실험이 한약재의 벤조피렌 분석에 적합함을 나타내었다. 한편 본 실험에서 검액의 벤조피렌 분석농도가 Fig. 2와 같은 검량선의 범위를 초과하거나 미달되는 경우에는, 별도의 검량선을 도출하여 해당 검액의 벤조피렌 농도분석에 사용하였다.

Fig. 3는 5 ng/mL의 벤조피렌 표준물질, 벤조피렌 불검출 시료, 벤조피렌 불검출 시료에 50 ng/mL로 스팅킹(spiking)한 표준물질의 크로마토그램으로 다른 방해물질이 없다는 것을 확인할 수 있었다. 벤조피렌 표준물질의 경우 약 18.136분에 피크를 보여 벤조피렌 표준물질만 HPLC로 분석하였을 때 보인 결과와 동일 시간대에 나타났으며, 벤조피렌을 임의로 오염시켜 추출한 생약에서도 벤

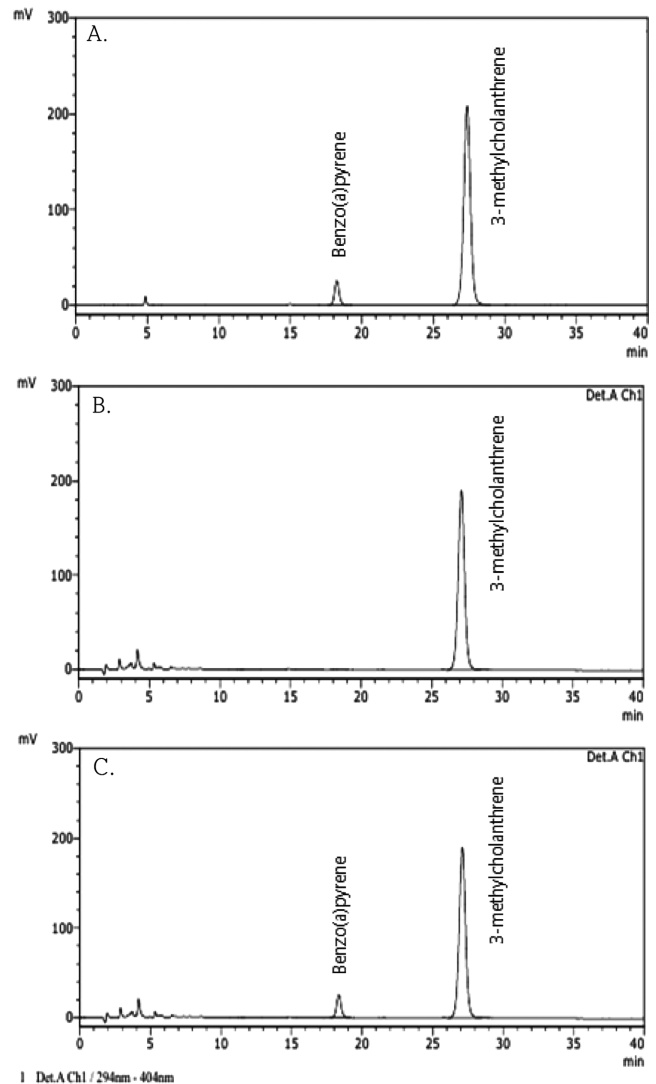


Fig. 3. Chromatograms of Benzo(a)pyrene: A. Benzo(a)pyrene standard of 5 ng/mL; B. Benzo(a)pyrene negative sample; C. Benzo(a)pyrene 50 ng/mL-spiked negative sample.

조피렌 표준물질을 선택적으로 분석할 수 있음을 확인하였다.

#### 3-2. 원료 한약재의 벤조피렌 함량

유통 한약재 5품목(승마(*Cimicifugae Rhizom*), 천문동(*Asparagi Tuber*), 향부자(*Cyper Rhizoma*), 현삼(*Scrophulariae Radix*), 및 황련(*Coptidis Rhizoma*))의 50건을 대상으로 벤조피렌을 분석한 결과를 Table 4와 Fig. 4에 나타내었다. 정량한계인 0.1 ng/mL 미만의 수치

Table 3. Results of LOD, LOQ, Linearity and Recovery by HPLC-FLD

Benzo(a)pyrene	Mean (Range)
Range (ng/mL)	3~40
Correlation coefficient ( $R^2$ )	1.000
LOD <sup>a</sup> (ng/mL)	0.03
LOQ <sup>b</sup> (ng/mL)	0.10
Recovery $\pm$ SD <sup>c</sup> (%)	95.6 $\pm$ 0.03
RSD <sup>d</sup> (%)	0.10

<sup>a</sup>LOD : limits of detection.

<sup>b</sup>LOQ : limits of quantitation.

<sup>c</sup>SD : standard deviation.

<sup>d</sup>RSD : relative standard deviation.

Table 4. Benzo(a)pyrene concentration in medicinal herbs in this study

Medicinal herbs	Number of Samples	Number of detected Samples	Detection <sup>a</sup> (ng/mL)	Detection <sup>b</sup> ( $\mu$ g/kg)	Median ( $\mu$ g/kg)	Detected range ( $\mu$ g/kg)	
						Min	Max
Cimicifugae Rhizom	10	10	21.35 $\pm$ 0.55	4.27 $\pm$ 0.11	2.47	0.72	12.46
Asparagi Tuber	10	10	6.25 $\pm$ 0.65	1.25 $\pm$ 0.13	0.91	0.21	4.65
Cyper Rhizoma	10	10	15.85 $\pm$ 0.30	3.17 $\pm$ 0.06	1.78	0.17	10.25
Scrophulariae Radix	10	9	9.65 $\pm$ 0.25	1.93 $\pm$ 0.05	0.21	0.16	12.10
Coptidis Rhizoma	10	10	115.7 $\pm$ 6.75	23.14 $\pm$ 1.35	21.93	7.43	37.54

<sup>a</sup>Detection : Mean concentration of test solution.

<sup>b</sup>Detection: Mean concentration of tested sample.

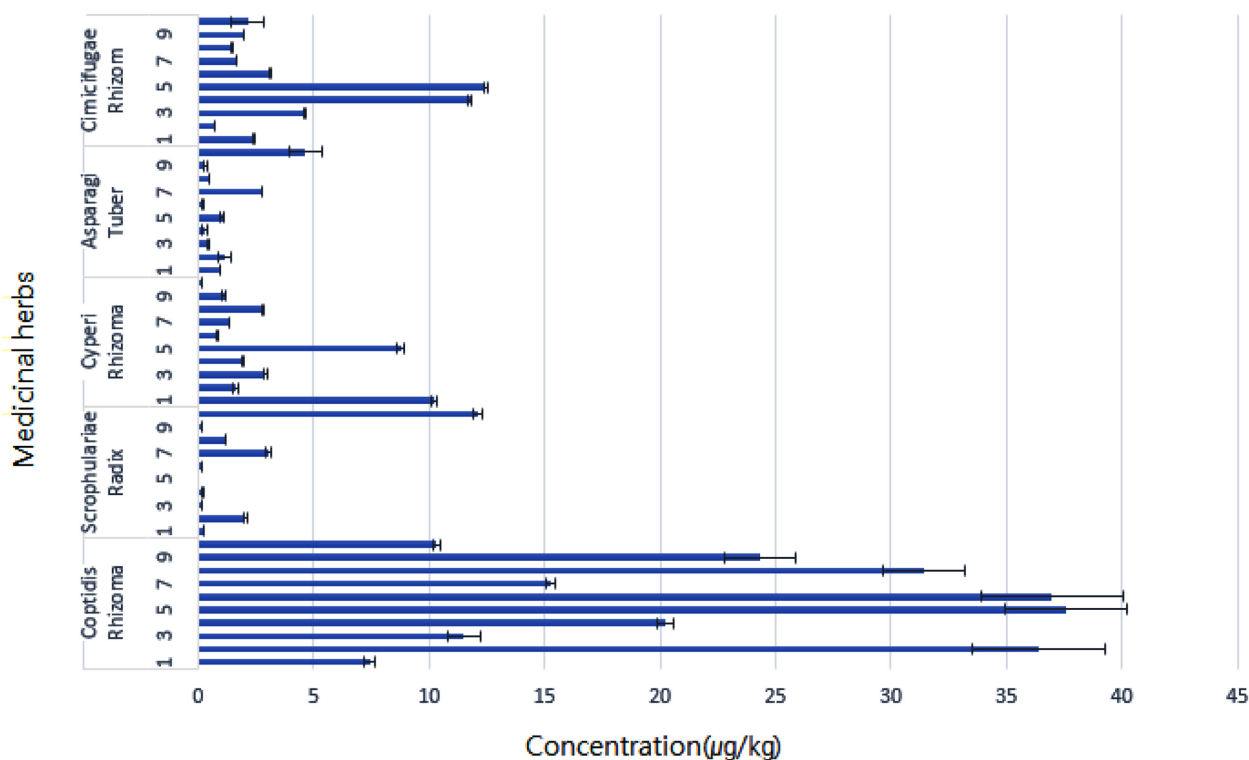


Fig. 4. Benzo(a)pyrene concentration of 10 samples, from each which three specimen of 5 g were randomly collected, out of each species of medicinal herbs in this study.

인 경우 불검출처리 하였으며, 검출된 값만을 이용하여 평균값을 구하였다. 5 품목(50 건)의 한약재에 대한 벤조피렌은 현삼 1건을 제외한 49건의 한약재에서 검출되었음을 확인하였으며 검출범위는 불검출~37.54 µg/kg이고, 평균함량은 6.73 µg/kg으로서 대한민국 약전의 생약 중 지황과 숙지황에 대한 기준규격인 5.0 µg/kg을 초과하는 것으로 조사되었다. 한약재별 평균 벤조피렌 함량을 확인한 결과로서, 황련(23.14 µg/kg), 승마(4.27 µg/kg), 향부자(3.17 µg/kg), 현삼(1.93 µg/kg) 및 천문동(1.25 µg/kg) 순으로 벤조피렌이 검출되었다. 기준규격인 5 µg/kg 이하(식품의약품안전처 고시, 2009-302 호[14])를 초과한 한약재로는 승마, 향부자, 현삼 및 황련이고, 건수는 각각 2건(20%), 2건(20%), 1건(10%) 및 10건(100%)이었다. 이러한 결과를 바탕으로 산출한 유통 한약재의 벤조피렌함량은, 황련이 다른 한약재에 비하여 고농도로 검출되었다. 이와 같은 한약재에서 검출된 벤조피렌의 투입경로에 대하여 다음과 같이 보고되고 있다. Fismes *et al.*[34]은 고분자량의 벤조피렌의 경우에 뿌리에서의 흡착을 식물체 조직에서 벤조피렌의 주요 경로로 간주하였다. Tao *et al.*[35]은 오염지역 토양에서 뿌리가 토양과 직접 접촉하는 근원의 벤조피렌 농도는 전체 토양보다 벤조피렌의 농도가 높은 것으로 보고하였다. Khan *et al.*[36]은 식물의 벤조피렌 함량이 잎 표면의 먼지와 오염된 토양 입자의 침적 및 잎에 의한 휘발성 화합물의 흡착을 통하여 축적될 수 있고, 뿌리는 토양에서 지상부로 이동하는 주요 경로로 작용하며, 토양의 벤조피렌농도는 식물체의 벤조피렌 농도에 직접적인 영향을 미쳤다고 보고하였다. 따라서 토양 등의 환경오염이 심한 지역에서 자란 식물들은 뿌리를 통해 벤조피렌에 오염될 수 있음을 보여주었다[37].

Back *et al.*[25]의 연구보고서에 의하면 여정실, 연교, 초과, 향부자,

현삼, 황금, 후박에서 10 µg/kg가 넘는 벤조피렌이 검출되었다고 보고하였으며, Jo *et al.*[37]의 연구결과에 따르면 수입 또는 국산 한약재 41품목(235건)에 대해 벤조피렌 함량을 조사한 결과 46.8%가 벤조피렌이 검출되었고 후박에서 89.27 µg/kg, 현삼 14.08 µg/kg, 향부자 11.78 µg/kg이 검출되었다고 보고하였다. Lee *et al.*[38]은 8 품목(87건)의 한약재 모두에서 벤조피렌이 검출되었으며 검출범위는 불검출~28.1 µg/kg이었고, 평균함량은 3.6 µg/kg이며, 초과와 후박에서 각각 3건과 1건이 대한민국약전의 벤조피렌 기준규격인 5 µg/kg을 초과하였다고 보고하였다. 이와 유사하게, 본 연구에서의 최대 검출농도는, 천문동을 제외한 황련, 승마, 현삼 및 향부자에서 각각 37.54 µg/kg, 12.46 µg/kg, 12.10 µg/kg 및 10.25 µg/kg으로서 벤조피렌 기준규격인 5 µg/kg을 초과하였다. Lee *et al.*[39]의 연구결과에서도, 황련, 산수유 및 오미자에서의 검출된 벤조피렌 함량은 각각 3.80±2.17, 1.99±1.64 및 1.69±2.06 µg/kg로 분석되어, 본 연구에서와 같이 황련이 다른 한약재에 비해 평균적으로 높게 조사되었다.

### 3-3. 물 추출물, 연조엑스 및 물 추출 후 한약재 찌꺼기의 벤조피렌 함량

물 추출 전 한약재의 벤조피렌 함량 조사에서, 승마(*Cimicifugae Rhizom*), 천문동(*Asparagi Tuber*), 향부자(*Cyperi Rhizoma*), 현삼(*Scrophulariae Radix*), 및 황련(*Coptidis Rhizoma*)의 시료에서 벤조피렌 함량이 가장 높게 검출된 각 품목당 2건을 대상으로 하였을 때에, 물 추출물(탕제(decoction))로의 벤조피렌의 이행되는 정도는 Table 5에서와 같이 불검출~2.31 µg/kg 농도로 검출되었다. 또한 물 추출 전 원료한약재(crude drug)의 벤조피렌 함량과 비교했을 때 Table 6와 같이 이행되지 않거나 현삼에서 최대 8.9%만큼 이행되는

**Table 5. Transferred amounts of benzopyrene in decoction, soft extract, remnant after boiling for the samples of the highest and 2<sup>nd</sup> highest benzo(a)pyrene concentration, in triplicates**

Medicinal herbs	Crude Drug ( $\mu\text{g/kg}$ )	Decoction ( $\mu\text{g/kg}$ )	Soft Extract ( $\mu\text{g/kg}$ )	Remnant after Boiling ( $\mu\text{g/kg}$ )
Cimicifugae Rhizom	$12.46 \pm 0.05$	$0.73 \pm 0.01$	$0.77 \pm 0.02$	$7.70 \pm 0.11$
	$11.77 \pm 0.04$	N.D. <sup>a</sup>	N.D. <sup>a</sup>	$6.46 \pm 0.02$
Asparagi Tuber	$4.65 \pm 0.11$	$0.12 \pm 0.01$	$0.14 \pm 0.03$	$3.85 \pm 0.01$
	$2.73 \pm 0.01$	$0.07 \pm 0.01$	$0.07 \pm 0.01$	$2.18 \pm 0.01$
Cyperi Rhizoma	$10.25 \pm 0.06$	$0.51 \pm 0.01$	$0.39 \pm 0.01$	$6.13 \pm 0.01$
	$8.78 \pm 0.07$	$0.60 \pm 0.01$	$0.43 \pm 0.02$	$5.20 \pm 0.02$
Scrophulariae Radix	$12.10 \pm 0.10$	$1.06 \pm 0.01$	$1.08 \pm 0.01$	$9.21 \pm 0.05$
	$3.05 \pm 0.05$	$0.27 \pm 0.02$	$0.30 \pm 0.01$	$2.35 \pm 0.04$
Coptidis Rhizoma	$37.54 \pm 1.24$	$2.31 \pm 0.02$	$2.28 \pm 0.04$	$21.91 \pm 0.09$
	$31.42 \pm 0.83$	$2.22 \pm 0.03$	$1.90 \pm 0.02$	$19.57 \pm 0.08$

<sup>a</sup>N.D.: Not Detected.**Table 6. Transfer ratios<sup>a</sup> of benzopyrene in Decoction, Soft Extract, Remnant after Boiling**

Medicinal herbs	Crude Drug ( $\mu\text{g/kg}$ )	Decoction (%)	Soft Extract (%)	Remnant after Boiling (%)
Cimicifugae Rhizom	$12.46 \pm 0.05$	5.9	6.2	61.8
	$11.77 \pm 0.04$	0.0	0.0	54.9
Asparagi Tuber	$4.65 \pm 0.11$	2.6	3.0	82.8
	$2.73 \pm 0.01$	0.0	0.0	79.9
Cyperi Rhizoma	$10.25 \pm 0.06$	5.0	3.8	59.8
	$8.78 \pm 0.07$	6.8	4.9	59.2
Scrophulariae Radix	$12.10 \pm 0.10$	8.8	8.9	76.1
	$3.05 \pm 0.05$	8.9	9.8	77.0
Coptidis Rhizoma	$37.54 \pm 1.24$	6.2	6.1	58.4
	$31.42 \pm 0.83$	7.1	6.0	62.3

<sup>a</sup>Transfer ratio(%) = Benzopyrene amount in each drug preparation-stage (e.g., decoction, soft extract or remnant after boiling)÷Benzopyrene amount in crude drug  $\times 100$ 

것을 확인하였다. 한편 물 추출물을 제조한 후 60 °C 이하에서 감압 농축하여 제조된 연조엑스(soft extract)의 경우는, 불검출~2.28  $\mu\text{g/kg}$  농도로 검출되었으며, 물 추출 전 벤조피렌 함량과 비교했을 때 이행되지 않거나 현상에서 최대 9.8%만큼 이행되었다. 물 추출 후 60 °C 이하에서 건조한 한약재 찌꺼기(Remnant after boiling)를 분석에 사용한 결과로서 2.18~21.91  $\mu\text{g/kg}$  농도로 검출되었으며, 물 추출 전 벤조피렌 함량과 비교했을 때 승마에서 54.9%로 가장 낮게, 천문동에서 82.8%로 가장 높게 Tables 5와 6과 같이 한약재 찌꺼기에 잔류하였다. 따라서 본 연구에서는 Tables 5와 6과 같이 물 추출물과 연조엑스와 다르게 대부분 찌꺼기에서 벤조피렌이 다량으로 검출되었으며, 원료한약재에 비해 물 추출 후의 탕제에서 벤조피렌 함량이 90.0% 이상까지 감소되었다. 이러한 연구결과는, 천연물의약품 제조에 원료로 사용하는 한약재에 함유된 벤조피렌이 제조과정 단계에서 추출용매에 의해 이행됨을 확인한 Kim[40]의 연구결과를 고려하였을 때에, 추출용매에 의한 벤조피렌의 이행률은 한약재에 따라 다소 차이가 있으며, 또한 추출용매에 함유한 지용성 성분이 벤조피렌의 이행률을 증가시키는 것을 보여주었다.

한편, 대한민국의약품(생약)규격집[31] 총칙 제10조에서, 생약은 따로 규정이 없는 한 60 °C 이하로 건조할 것을 권고하고 있다. 한약재 건조 중 발생하는 벤조피렌의 원인 구명을 위해 국립원예특작과학원에서 실시한 벤조피렌 생성 억제제를 위한 한약재 제조 공정 개선 연구[41]에 의하면 일정 수준의 고온이 가해지지 않는 이상 벤조피렌의 생성량은 허용기준치(5  $\mu\text{g/kg}$ ) 이상으로 생성되지

않는다고 보고하였다. 상세하게는 생약 중 오매를 대상으로 연기노출과 같은 인위적 벤조피렌 생성조건을 유발하여 오염 가능성을 조사한 결과로서 인위적 벤조피렌 생성조건 순서는 14.62  $\mu\text{g/kg}$  (직화로 태움) > 14.30  $\mu\text{g/kg}$  (고온에 의해 태움) > 5.18  $\mu\text{g/kg}$  (연탄 연기노출) > 1.74  $\mu\text{g/kg}$  (60 °C 건조기 건조, 짚 연기노출)이었고, 벤조피렌은 고온에 의해 타거나 화석연료의 불완전 연소를 통해 발생하는 연기오염 시에 허용기준치(5  $\mu\text{g/kg}$ )보다 과다 생성됨을 규명하였다. 이와 같이 벤조피렌은 직접 불에 쪼여 말리거나 300 °C 이상의 고온으로 가열할 때 유기물이 불완전 연소하여 생성되는 물질[34] 이므로 본 연구의 제조과정에서는 발생가능성이 거의 없었다. 그러나 본 연구대상이 아닌 일부 품목(지황 등)은 60 °C 이하 건조에서도 벤조피렌이 검출되고 있다[20,26,38]. 본 연구에서 선정된 5 품목의 벤조피렌 함량은 Table 5와 같이 각각 원료한약재에서 가장 높게 나타나서 물 추출(decoction) 및 연조엑스(soft extract)로의 농축건조 과정에서 벤조피렌의 생성 또는 투입이 없음을 간접적으로 나타내었다.

본 연구의 결과로서, 천연물의약품 제조 시 사용되는 추출용매가 수용성인 경우는 벤조피렌의 이행률이 Table 6과 같이 낮았다. 함유량이 높은 시료의 경우에 있어서도, 실제 섭취하는 형태로 제조된 물 추출물(decoction)과 연조엑스(soft extract)의 벤조피렌의 잔류함량이 원료 한약재의 벤조피렌 함량보다 큰 폭으로 감소하였다. 이에 따라서 본 연구의 모든 품목에서, 원료한약재로부터 물 추출물(decoction)과 연조엑스(soft extract)로의 벤조피렌 이행함량이



Table 5와 같이 고시(식품의약품안전처, 2009-302호)[14]의 현행 기준(허용기준치)인 5 µg/kg 이하보다 각각 낮아서 그 기준을 만족시켰다.

#### 4. 결 론

본 연구는 국내에서 유통되고 있는 국내산 및 수입산 한약재의 안전성을 검토하고자, 건조하기 어려운 한약재 승마, 천문동, 향부자, 현삼 및 황련의 5 품목(50건)의 한약재에 대해서 한약재의 일반적인 복용형태인 원료한약재인 추출 전 한약재(환제), 물 추출물(탕제), 연조엑스(물 추출 후 농축) 및 추출 후 찌꺼기와 같은 한약제 조단계별로 한약재 내 벤조피렌 이행함량 및 이행률을 조사 및 분석하였다. 원료한약재의 벤조피렌 검출 범위는 불검출~37.54 µg/kg로서, 평균 6.73 µg/kg이었고, 5 µg/kg 이상 검출된 시료는 15건(30%)이었다. 벤조피렌의 검출 범위는, 물 추출물, 연조엑스 및 물 추출 후 찌꺼기에서 각각 불검출~2.31 µg/kg, 불검출~2.28 µg/kg, 및 2.18~21.91 µg/kg의 범위로 확인되었다. 이와 같은 물 추출물(탕제)과 연조엑스의 벤조피렌 검출 농도는, 물 추출 전 원료한약재의 벤조피렌 함량과 비교했을 때에, 복용을 위하여 가공된 한약재로 이행되지 않거나, 현삼에서 물 추출물과 연조엑스의 경우에 각각 최대 8.9%와 최대 9.8% 이행된 결과이다. 그러므로 물 추출물 및 연조엑스의 벤조피렌 함량은 원료한약재보다 각각 90.0% 이상까지 감소하였다.

#### References

1. Park, H. M., Choi, K. H., Jung, J. Y. and Lee, S. D., "Metal Exposure Through Consumption of Herbal Medicine, and Estimation of Health Risk Among Korean Population," *Kor. J. Env. Health*, **32**(2), 186-191(2006).
2. Park, M. K., Kim, S. Y. and Hwang, H. U., "A Study on the Heavy Metal Contents in Herbal Medicines: Cultivated Herbal Medicines at North Gyeongbuk Area," *J. Environ. Sci.*, **13**(2), 1117-1122(2004).
3. Jo, H. Y., Jeon, J. S., Kim, B. H., Cho, S. H., Park, S. H., Kim, Y. S. and Yoon, M. H., "Safety Assessment of Liquid-Type Herbal Preparations," *J. Food Hyg. Saf.*, **26**(3), 266-272(2011).
4. <http://www.kpta.or.kr/information/import01.asp>.
5. Korean pharmacopoeia, 11<sup>th</sup> edition, Notification No. 2017-63, Ministry of Food and Drug Safety, Korea(2017).
6. Kim, J. S., Lee, N. H., Lee, Y. S. and Yun, S., "Pre-planning study for the Risk Assessment of Herbal Medicines," Korea Institute for Health and Social Affairs, Korea(2014).
7. Mumtaz, M. and George, J., "Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)," Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U. S. Department of health and human services (1995).
8. Arey, J. and Beland, F. A. in J. Mitchell(Ed.). Some Non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures, IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, **92**, International Agency for Research on Cancer, France(2010).
9. <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/polycycl.html>.
10. Guillen, M. D., "Polycyclic aromatic compounds: extraction and determination in food," *Food Additives & Contaminants*, **11**(6), 669-684(1994).
11. Djinojic, J., Popovic, A. and Jira, W., "Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Different Types of Smoked Meat Products from Serbia," *Meat Science*, **80**(2), 449-456(2008).
12. Guideline on the use of the CTD format in the preparation of a registration application for traditional herbal medicinal product, Biopharmaceuticals and Herbal Medicine Bureau of Ministry of Food and Drug Safety, Korea(2016).
13. Herbal medicine benzo(a)pyrene criteria and its analysis method, Notification No. 2009-13, Ministry of Food and Drug Safety, Korea(2009).
14. Herbal medicine benzo(a)pyrene criteria and its analysis method, Notification No. 2009-302, Ministry of Food and Drug Safety, Korea(2009).
15. Wilsom, R. L., Chromatography, Wiley Press, New York(2011).
16. Jung, I. K., Cho, D. Y. and Row, K. H., "Separation of Whey Proteins by Anion-exchange Membranes," *Korean J. Chem. Eng.*, **20**(3), 538-541(2003).
17. Park, S. M., Ko, K. Y. and Kim, I. H., "Optimization of d-limonene Extraction from Tangerine Peel in Various Solvents by Using Soxhlet Extractor," *Korean J. Chem. Eng.*, **53**(6), 717-722(2015).
18. Yoon, C. W., Bok, H. S., Choi, D. K. and Row, K. H., "Optimization Condition of Astaxanthin Extract from Shrimp Waste Using Response Surface Methodology," *Korean J. Chem. Eng.*, **50**(3), 545-550(2012).
19. Lee, K. J., Cho, D. Y. and Row, K. H., "Extraction and Purification of Isoflavones from Korean Soybean and Soybean Paste," *Korean Chem. Eng. Res.*, **41**(5), 612-616(2003).
20. Cho, Y. H., Song, K. Y., Baek, M. K., Lee, J. W. and Lee, G. W., "Study on Extraction Condition and Analysis Methods of Benzo(a)pyrene in Black Ginseng," *Yakhak Hoeji*, **56**(3), 145-151(2012).
21. Hu, S. J., Jin, S. H. and Choi, D. M., "Analysis of Benzo(a) Pyrene in Red Ginseng Beverage," *J. Food Hyg. Saf.*, **23**(1), 26-30(2008).
22. Kim, Y. K., Park, W. H., Kim, E. H., Lee, C. Y., Jeong, H. J., Han, E. J., Kim, J. G., Jeong, Y. K. and Kim, J. H., "Analysis and Risk Assessment of Benzo[a]pyrene in Herbal Medicinal Pills," *Report of S.I.H.E.*, **51**, 127-135(2015).
23. Kim, T., Nho, H. J., Jun, S. H., Kim, K. B. and Kim, D., "Anti-oxidation and Anti-atopic Dermatitis Effect of Herbal Wood Vinegar," *Korean Chem. Eng. Res.*, **48**(6), 690-694(2010).
24. Park, C.-E. and Park, C.-H., "Ursolic Acid Isolated from Mume Fructus Inhibits Urease Activity of *Helicobacter pylori*," *Korean Chem. Eng. Res.*, **51**(5), 591-596(2013).
25. Baek, W. S., Kim, K. H., Shin, S. H. and Lee, J., "The Monitoring of Benzo(a)pyrene's Content on the Herbal Medicines," Report 1475004098, Ministry of Food and Drug Safety, Korea(2009).
26. Lee, S. D., Lee, Y. K., Kim, M. S., Park, S. K., Kim, Y. S. and Chae, Y. Z., "The Content and Risk Assessment of Heavy Metals in Herbal Pills," *J. Food Hyg. Saf.*, **27**(4), 375-387(2012).
27. Lee, S. D., Park, H. M., Lee, J. C. and Kook, Y. B., "Concentration of Metal in Herbal Drugs: In crude, Remnant After Boiling and Decoction of Herbal Drugs," *J. Korean Oriental Med.*, **24**(2), 59-65(2003).
28. Kim, N. J., Sim, S. B., Ryu, J. W., Kim, J. W. and Hong, N. D., "Studies on Contents and Elution of Metals from Crude Drugs,"



- Journal of Kyung Hee University*, **12**(2), 158-166(1996).
29. Choi, J. G., "Research of Benzo(a)pyrene Analysis Method Verification and Improvement by Herbal Medicine," Report 1475005600, Ministry of Food and Drug Safety, Korea(2010).
  30. Kim, D. H., Park, J. Y., Kim, E. K., Cho, C. H., Kim, J. Y., Lee, J. H., Hyeon, S. Y., Kim, S. H., Lee, D. J. and Lee, Y. J. in D. S. Kim(Ed.), Handbook of analysis of benzo(a)pyrene in herbal medicine, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Korea(2010).
  31. National standard of traditional medicinal(herbal and botanical) materials, Notification No. 2009-85, Ministry of Food and Drug Safety, Korea(2017).
  32. Kang, S. J., Lee, J. P., Kang, I. H., Kim, Y. H., Yoon, C. Y., Baek, J. H., Oh, S. W., Lee, H. Y., Kim, J. S., Lee, P. H., Ki, H. A. and Lee, E. P. in S. Y. Jang(Ed.), How to describe details of the preparation method of herbal medicine, Ministry of Food and Drug Safety, Korea(2009).
  33. Therapeutic products programme guideline (Q2B), "Validation of analytical procedures: Methodology," International conference on harmonisation of technical requirements for the registration of pharmaceuticals for human use(ICH), Ottawa, Ontario, Canada (1999).
  34. Fismes, J., Perrin-Ganier, C., Empereur-Biosoonnet, P. and Morel, J. L., "Soil-to-root Transfer and Translocation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Vegetables Grown on Industrial Contaminated Soils," *J. Environ. Qual.*, **31**(5), 1649-1656(2002).
  35. Tao, S., Cui, Y. H., Xu, F. L., Cao, J., Liu, W. X., Schmitt, G., Wang, X. J., Shen, W. R., Quing, B. P. and Sun, R., "Polycyclic Aromatic Hydrocarbons(PAHs) in Agricultural Soil and Vegetables from Tianjin," *Sci. Total Environ.*, **320**(1), 11-24(2004).
  36. Khan, S., Aijun, L., Zhang, S., Hu, Q. and Zhu, Y. G., "Accumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Heavy Metals in Lettuce Grown in the Soils Contaminated with Long-term Wastewater Irrigation," *J. Hazard. Mater.*, **152**(2), 506-515(2008).
  37. Jo, S. A., Kim, S. J., Kim, N. H., Jung, S. J., Kim, H. S., Kim, K. S., Han, K. Y. and Chae, Y. J., "Analysis of Benzo(a)pyrene Content in Medicinal Herbs," *Report of S. I. H. E.*, **47**, 94-102(2011).
  38. 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., "Monitoring and Risk Assessment of Benzo(a)pyrene Content in Medicinal Herbs," *Kor. J. Pharmacogn.*, **48**(3), 237-242(2017).
  39. Lee, M. Y., Jung, S. M. and Lee, G. W., "Monitoring on Benzo(a)pyrene Content in Oriental Medicine," *Journal of Digital Convergence*, **10**(7), 201-206(2012).
  40. Kim, G. Y., "A Research of the Manufacturing Process of Herbal Medicine," Report 1475007560, Ministry of Food and Drug Safety, Korea(2014).
  41. Ahn, T. J., Ahn, Y. S., Hur, M., Park, C. G. and Kim, Y. G., "Study on the New Process for the Control of Benzopyrene Formation in Herbal Products," Report PJ007594, Rural Development Administration, Korea(2013).