

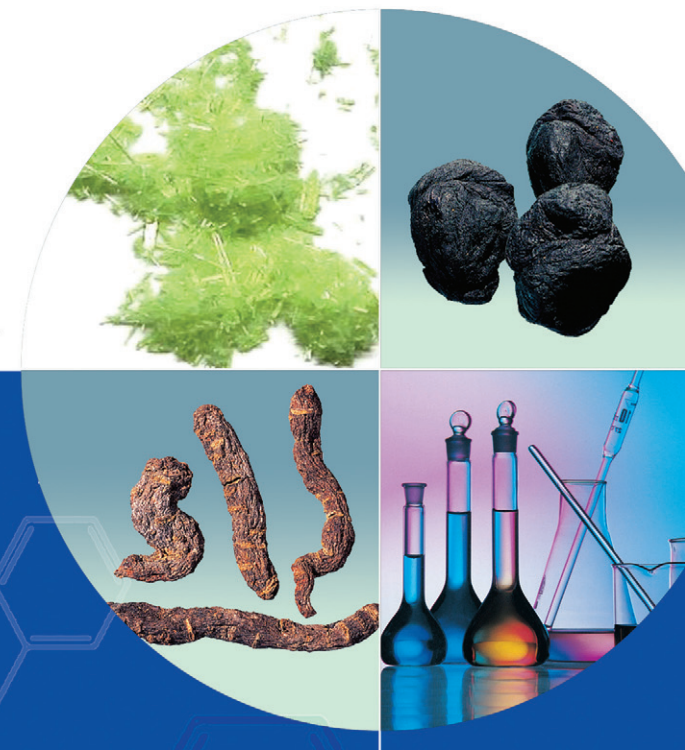
생약의 벤조피렌 분석법 핸드북

KFDA 식품의약품안전청
Korea Food & Drug Administration

NiFDS 식품의약품안전평가원
National Institute of Food and Drug Safety Evaluation

www.nifds.go.kr

서울특별시 은평구 통일로 194번지
식품의약품안전평가원 의료제품연구부 생약연구과
Tel. 02)380-1892 Fax. 02)385-0297 <http://www.nifds.go.kr>



NiFDS 식품의약품안전평가원
National Institute of Food and Drug Safety Evaluation



목 차

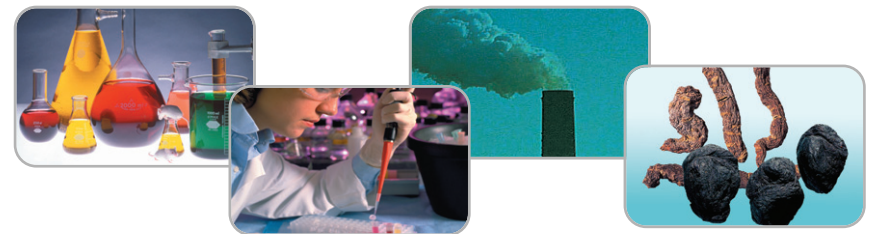
I. 개요	3
□ 벤조피렌	
□ 생약과 벤조피렌	
□ 벤조피렌의 물리·화학적 특징	
II. 벤조피렌 시험법	5
□ 검액 제조	
□ 표준액 제조	
□ 분석방법	
III. 크로마토그램 사례	8
□ 표준액	
□ 지황	
□ 숙지황	
참고 : 생약의 벤조피렌 기준 및 시험방법	11



I. 개요

● 벤조피렌

- 벤조피렌(Benzo[a]pyrene, $C_{20}H_{12}$)은 다환방향족탄화수소(PAHs¹⁾) 그룹에 속하는 녹·황색의 결정성 고체이며, 300-600 °C 온도에서 불완전연소로 생성되기 때문에 오염원은 매우 다양하다.
- 주로 콜타르, 자동차 배출가스(특히 디젤엔진), 담배연기 등에 벤조피렌이 존재하고, 환경오염 등으로 인해 농산물, 어패류 등 조리·가공하지 않은 식품에도 존재하며, 식품의 조리·가공 시 직접 가열처리하거나 훈제 공정 중에서 탄수화물, 단백질, 지질 등이 분해되어 생성되기도 한다
- 벤조피렌은 내분비계장애물질이면서 발암가능물질로 Codex 및 JECFA²⁾에서 위해성 평가를 위한 우선순위 목록에 포함되어 있는 물질이고, 국제암연구소(IARC)는 2006년에 벤조피렌을 Group 1의 인체발암물질(carcinogenic to humans)로 분류하였다.



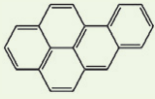
1) PAHs: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

2) JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

● 생약과 벤조피렌

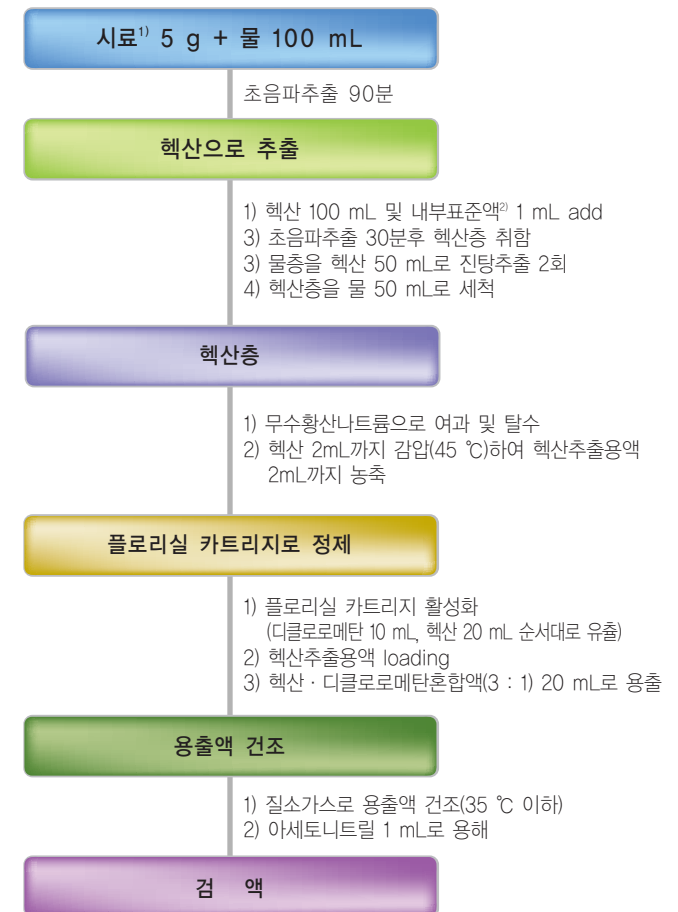
- 벤조피렌은 생약을 건조할 때 불을 직접 쪼거나 밀폐된 공간에서 고온을 가하는 경우 생성될 수 있다. 그러나, 적절한 온도에서 건조할 경우에는 생성되지 않으므로, 생약의 건조시 60 °C 이하의 적절한 온도를 유지하고, 온도를 가할 때 충분한 환기와 배기가 되도록 한다. 특히, 과실류 및 정유를 함유한 생약의 경우 건조가 잘 되지 않으므로 더욱 주의가 필요하다.
- 현재 벤조피렌은 지황과 숙지황에서 “5 µg/kg 이하”로 기준이 설정되어 있다(「생약의 벤조피렌 기준 및 시험방법」 식약청고시 제2009-13호, '09.4.13).

● 벤조피렌의 물리·화학적 특성 (출처 : 한국산업안전공단 MSDS)

항 목	내 용
화학명	Benzo[a]pyrene
화학구조	
CAS No.	50-32-8
화학적식	C ₂₀ H ₁₂
분자량	252.32
물리적 성상	녹 · 황색의 결정성 고체
녹는점	176-177 °C
끓는점	310-312 °C
물 용해도	0.00162 mg/L at 25°C
옥탄올/물 분배계수	6.13
용매 가용성	가용성 : 벤젠, 톨루엔, 자일렌 약 용해성 : 알코올
비 중	1.35 (water=1)
반응성	상온 상압에서 안정함

II. 벤조피렌 시험법

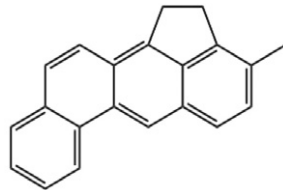
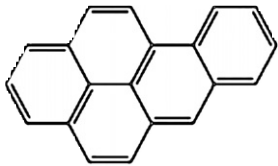
● 검액 제조



1) 시료 500 ~ 600 g을 분쇄하거나 잘게 잘라 균질하게 혼합하여 사용한다.
2) 내부표준액 : 3-메틸콜란트렌의 아세토니트릴 용액(50 µg/L)

표준액 제조

표준원액 및 내부표준원액 제조



벤조피렌 표준액 제조

벤조피렌 표준원액 (0.1 μ g/mL)	내부표준원액(1 μ g/mL)	아세토니트릴	벤조피렌 표준액 최종농도
300 μ L	500 μ L	9.2 mL	3 μ g/L
500 μ L	500 μ L	9.0 mL	5 μ g/L
1000 μ L	500 μ L	8.5 mL	10 μ g/L
2000 μ L	500 μ L	7.5 mL	20 μ g/L
4000 μ L	500 μ L	5.5 mL	40 μ g/L

분석방법

1) 확인시험

정량법에 따라 시험할 때 검액은 표준액 중 벤조피렌 피크의 유지시간과 같다 ($\pm 0.2\%$ 이내)

2) 정량법

검액 및 표준액 10 μ L를 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험한다. 각 표준액에서 얻은 내부표준물질의 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비를 Y축으로, 벤조피렌의 농도(μ g/L)를 X축으로 하여 검량선을 작성한다. 검액에서 얻은 내부표준물질의 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비를 구하여 검량선으로부터 검액 중의 벤조피렌 농도 A(μ g/L)를 구하고 다음 식에 따라 벤조피렌의 양(μ g/kg)을 계산한다.

$$\text{벤조피렌 (C}_{20}\text{H}_{12})\text{의 양}(\mu\text{g/kg}) = A \times \frac{V}{B}$$

B : 검액 제조에 사용한 이 약의 채취량 (g)

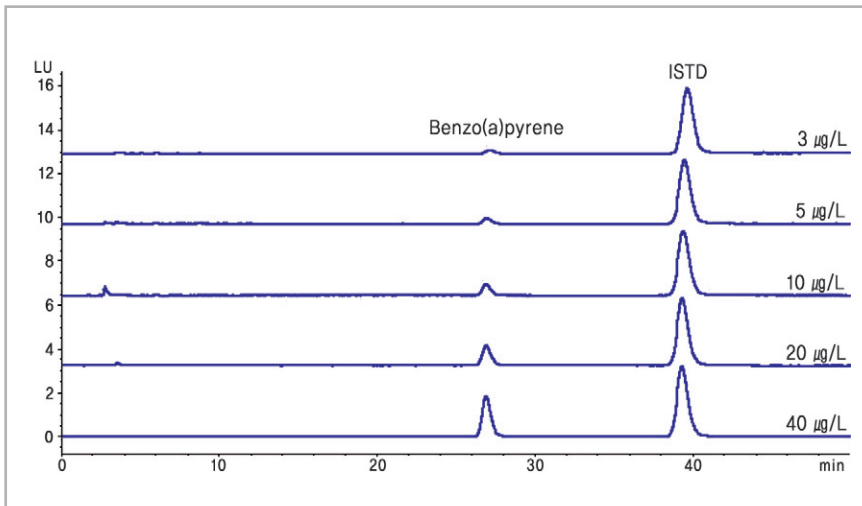
V : 검액의 전체 부피 (mL) (여기서 V=1.0 임)

조작조건

검출기	형광광도계(여기파장 294 nm, 형광파장 404 nm)
칼럼	Supelcosil LC-PAH (4.6 $\times$ 250 mm, 5 μ m) 또는 이와 동등한 것
칼럼온도	37 $^{\circ}$ C
이동상	아세토니트릴 · 물혼합액(8 : 2)
유량	1.0 mL/min

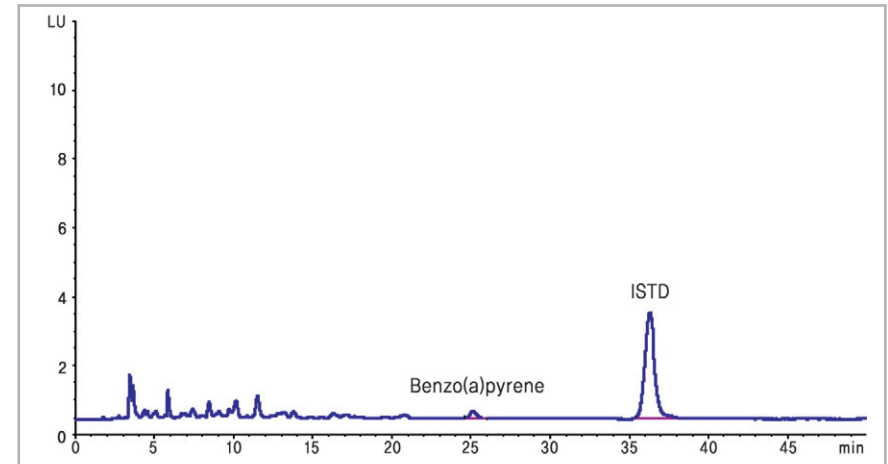
Ⅲ. 크로마토그램 사례

● 표준액 (농도 3, 5, 10, 20, 40 $\mu\text{g/L}$)

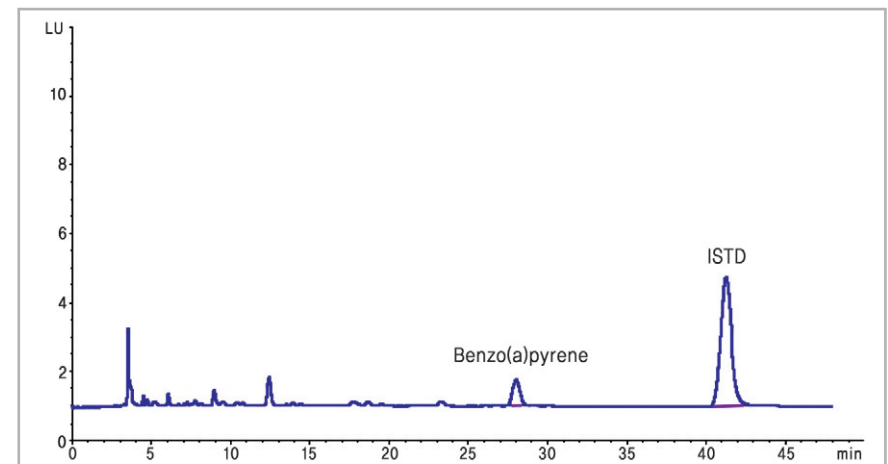


● 지황

– 벤조피렌 0.8 $\mu\text{g/L}$ 검출

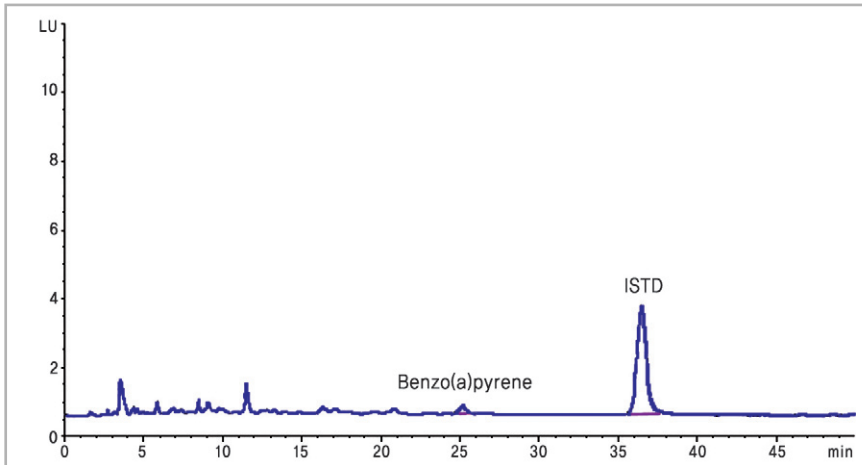


– 벤조피렌 2.3 $\mu\text{g/L}$ 검출

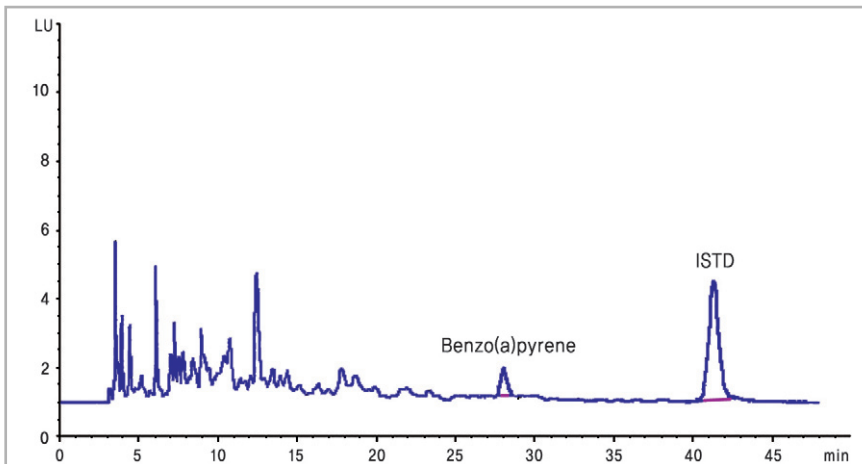


● 숙지황

– 벤조피렌 0.6 $\mu\text{g/L}$ 검출



– 벤조피렌 2.8 $\mu\text{g/L}$ 검출



참고 : 생약의 벤조피렌 기준 및 시험방법

식품의약품안전청 고시 제2009-13호(2009. 4. 13)

생약의 벤조피렌 기준 및 시험방법

1. 적용범위 : 지황, 숙지황

2. 허용기준 : 벤조피렌[Benzo(a)pyrene]으로서 5 $\mu\text{g/kg}$ 이하

3. 시험방법

이 약 500~600g을 분쇄하거나 잘게 잘라 균질하게 혼합하여 약 5.0g을 정밀하게 달아 물 100mL를 넣어 90분간 초음파 추출한다. 여기에 헥산 약 100mL 및 내부표준액 1mL을 넣어 호모게나이저로 5분간 균질하게 섞은 다음 30분간 초음파 추출한다. 헥산층을 분액깔대기에 옮기고 다시 물층에 헥산 약 50mL씩을 넣고 2회 반복하여 진탕 추출한 후 헥산층을 취하여 분액깔대기에 합한다. 합한 헥산층에 물 약 50mL를 넣어 세척하고, 이 헥산층을 무수황산나트륨을 넣은 여과지를 사용하여 탈수 여과한 다음 45℃의 수욕상에서 감압(약 700mbar)하여 헥산 약 2mL가 될 때까지 농축한다. 플로리실카트리지는 미리 디클로로메탄 10mL 및 헥산 20mL를 순서대로 초당 2~3 방울의 속도로 유출시켜 활성화시킨 후 사용한다. 활성화된 카트리지에 위의 추출용액을 넣어 헥산·디클로로메탄혼합액(3 : 1) 20mL를 초당 2~3방울의 속도로 유출시킨다. 이 유출된 액을 35℃이하의 수욕상에서 질소가스 하에 날려 보낸 후 잔류물을 아세토니트릴 1mL에 녹인 다음 공경 0.45 μm 이하의 멤브레인필터로 여과하여 검액으로 한다. 따로 벤조피렌표준품 및 3-메틸콜란트렌표준품 적당량을 정밀하게 달아 각각 아세토니트릴에 녹여 mL당 1 μg 을 함유하는 표준원액 및 내부표준원액을 만든다. 이 표준원액 및 내부표준원액은 5~15℃에서 저장하며 30일 이내에 쓴다. 이 표준원액과 내부표준원액 적당량을 정확하게 취하여 아세토니트릴로 mL 당 3, 5, 10, 20 및 40ng의 벤조피렌과 각각 50ng의 내부표준물질이 함유되도록 희석하여 표준액으로 한다. 이때 검액의 검출 농도가 검량선의 범위를 벗어나면 표준액의 농도가 검량선의 범위에 들어오도록 농도

[illegible]

MEMO



MEMO

Handwriting practice paper with 15 sets of horizontal dashed lines for tracing and writing. The word "MEMO" is written in purple at the bottom right, next to a small yellow house icon with a blue roof and green leaves.

Handwriting practice lines (dashed lines) for the word "MEMO".

MEMO

생약의 벤조피렌 분석법 핸드북

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2010년 9월

발 행 인 : 김승희

편집위원장 : 김동섭

편집위원 : 김도훈, 박주영, 김은경, 조창희, 김지연
이종화, 현성예, 김선호, 이동진, 이윤정

문 의 처 : 122-704

서울시 은평구 통일로 194(녹번동 5번지)

식품의약품안전평가원 생약연구과

전 화 : 02)380-1892

팩 스 : 02)385-0297