

## 유통 한약재 중의 아황산염류 분석(Ⅱ)

한약재검사팀

이명숙 · 황인숙 · 이찬수 · 최병현 · 김명희

### Determination of Sulfites in crude drugs

*Herb Medicine Inspection Team*

Myung-sook Lee, In-sook Hwang, Chan-soo Lee, Byung-hyun Choi and Myung-hee Kim

#### Abstract

This study was performed to investigate the contents of sulfite in crude drug materials. Sulfites were determined for 10 kinds of crude drug materials by optimized Monier-Williams method(106 case - domestic 72, imported 34) and ion chromatographic method(40 case - domestic 27, imported 13). Experimental materials was purchased at Kyung-Dong market from Feb. to Dec. in 2000.

The results were as follows :

1. Mean recovery of standard soln. was 94.7%(86.5~100.2%) by optimized Monier-Williams method and 101.6%(96.8~107.8%) by IC method and the lineality was 0.9986, 0.9996 respectively.
2. Contents of sulfite ranged 13.1~1684.8ppm (mean 257.1ppm) by optimized Monier-Williams method : domestic samples ranged 22.8~1684.8ppm (mean 180.9ppm) and imported samples ranged 13.1~1320.7ppm (mean 333.2ppm).
3. Sulfites were analyzed in 40 cases by IC method and 28 cases of them were detected 12.0~1860.4ppm (mean 197.4ppm).

#### 緒 論

지난 수세기동안 다양한 형태의 아황산염류가 식품의 변질과 부패 방지, 표백, 갈변 방지 및 항산화 등의 목적으로 식품이나 약품중에 첨가되어 왔다. 최근 들어 이러한 아황산염류의 사용이 급증하면서, 식품중에 잔류하는 아황산염류의 인체에 대한 부작용이 보고되는등 건강상의 문제도 제기되고 있다. 그래서, FAO/WHO에서는 ADI(acceptable daily intake)를 0.7mg/kg(SO<sub>2</sub>로서)으로 제한하고 있으며<sup>1)</sup>, 미국의 경우 10ppm을 넘으

면 반드시 식품포장에 표시하도록 하고 있다.

우리나라에서는 식약청고시 제 1998-95호(1998. 10. 2)에 의거하여 한약재에 대한 표백제로서의 아황산염류를 규제하고 있는데, 최근 외 40종의 한약재를 대상으로 아황산염류가 검출되어서는 안 되며 다만 10ppm 미만은 불검출로 보고 있다.

현재까지 아황산염류의 측정법으로는 여러가지 방법이 보고되고 있으며, AOAC에서 공인된 방법은 Differential Pulsed Polarographic method, Optimized Monier-Williams method, Flow Injection Analysis

method, Ion Exclusion Chromatography method 등이다<sup>2)</sup>. 그러나 대부분 식품이나 음료에 한정되어 있을 뿐 한약재를 대상으로 한 보고는 미미한 실정이다. 현재, 한약재의 표백제시험도 식품공전의 일반시험법 중 아황산, 차아황산 및 그 염류의 정량시험법인 모니어-윌리암스변법에 따르고 있다<sup>3)</sup>.

모니어-윌리암스변법은 아황산염의 검출한계가 10ppm이고 방해물질로 인한 정확도가 떨어지며 분석 시간이 오래 걸리는 단점이 있으나, 현재 가장 널리 쓰이고 있는 방법이다. 또한 이온 크로마토그래피법은 시료에서 아황산염을 추출, 분리한 다음 전기화학적으로 농도를 측정하는 방법으로, 아황산염의 농도를 종류방식의 기준 검출법보다 더 정확하게 측정할 수 있다.

이에 저자들은 유통중인 한약재 중 갈근의 9종을 대상으로, 모니어-윌리암스변법이 포도주, 음료수 등의 액체시료뿐만 아니라 건조된 한약재에도 적용될 수 있는지 검토해보고, 비교적 정확도가 높은 ion exchange column을 이용한 이온 크로마토그래피법과 비교 검토함으로써 향후 한약재의 기준설정에 참고자료를 제공하고자 한다.

## 材料 및 方法

### 1. 실험재료

표백제시험 대상 한약재 41종 중 갈근, 건강, 길경, 반하, 백작약, 백하수오, 산약, 천궁, 행인, 황기 등 10종 106건(국산 72건, 수입산 34건)을 2000년 2월부터 12월까지 경동시장 한약도매상에서 수거하여 시료로 하였다. 각 검체별 건수 및 원산지는 Table 1과 같다.

### 2. 시 약

실험에 사용한 sodium sulfite, hydrogen peroxide(30%), ethanol, hydrochloric acid, methylred, sodium carbonate, sodium bicarbonate 시약은 모두 특급시약을 사용하였으며, 0.01N-sodium hydroxide 표준액은 용량분식용 시약을 사용하였다. 증류수는 water purifier(ELGA사)를 통과한 초순수를 이용하였다.

### 3. 기기 및 장치

모니어-윌리암스변법에 이용된 장치는 AOAC offi-

cial method 990.28<sup>2)</sup>에 나오는 것을 제작하여 사용하였다.

이온 크로마토그래피법에는 DX-500 System (Dionex<sup>®</sup>)을 사용하였으며 분석조건은 Table 2에 명시하였다.

## 4. 실험방법

### 1) 모니어-윌리암스변법

식품공전 일반시험법(보존료시험법)중의 아황산, 차아황산 및 그 염류의 정량시험법 중 모니어-윌리암스변법에 따라 시험하였다<sup>3)</sup>.

각 검체를 분쇄기에 갈아 가루로 한 후 5-10g을 취하여 반응 플라스크에 넣고 증류수 200ml, 4N-HCl

**Table 1.** The producing district of crude drug materials.

crude drug materials	producing district		total
	domestic	imported	
Puerariae Radix (갈근)	10	2	12
Zingiberis Rhizoma (건강)	8	3	11
Platycodi Radix (길경)	2	9	11
Pinelliae Tuber (반하)	3	7	10
Paoniae Radix (백작약)	10	-	10
Polygoni multiflori Radix (백하수오)	9	1	10
Discoreae Rhizoma (산약)	12	-	12
Cnidii Rhizoma (천궁)	10	-	10
Armeniaceae Semen (행인)	-	12	12
Astragali Radix (황기)	8	-	8
total	72	34	106

**Table 2.** Analytical conditions of IC for the determination of sulfites.

Ion Chromatography	DX-500(Dionex <sup>®</sup> )
Column	IonPac <sup>®</sup> AS 4A-SC analytical column
	IonPac <sup>®</sup> AG 4A-SC guard column
Detector	Electrochemical detector (ED40)
Suppressor	ASRS-Ultra 4mm
Eluent	1.7mM NaHCO <sub>3</sub> /1.8mM Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Flow rate	2.0ml/min
Injection volume	50 $\mu$ l
Pump	GP 40
Autosampler	AS 3500

90ml, 5% ethanol 50ml를 가하고 반응장치에 연결하였다. 냉각기에 물을 공급하고 가스 주입관을 통하여 질소가스를 통하여 1시간 45분동안 가열하여 3% 과산화수소용액 30ml에  $H_2SO_4$  형태로 이산화황을 포집하였다. 이 때 3% 과산화수소용액은 반응 직전에 메칠렛3방울을 가하고 0.01N-수산화나트륨 용액으로 황색 종발점이 될 때까지 적정한 후 반응시켰다. 반응 종료 후 0.01N-수산화나트륨 용액으로 20초간 지속되는 황색이 될 때까지 적정하여 이산화황의 양을 산출하였다.

## 2) 이온 크로마토그래피법

모니어-윌리암스변법의 시료 전처리 방법과 동일하게 산 증류시킨 후, 3% 과산화수소용액 30ml에  $H_2SO_4$  형태로 포집된 용액 중 일부를 취하여 autosampler에 넣고 Table 2와 같은 분석조건에 따라 분석하였다.

## 5. 검량선 작성 및 회수율 측정

Sodium sulfite anhydrous를 표준품으로 사용하여  $SO_2$ 로서 30, 100, 300ppm 농도로 조제한 후 모니어-윌리암스변법 및 이온 크로마토그래피법에 따라 실험한 후 이산화황 표준액에 대한 검량선을 작성하고 각각의 회수율을 측정하였다.

## 結果 및 考察

### 1. 검량선 작성 및 회수율 측정 결과

Sodium sulfite anhydrous를 표준액으로 30, 100, 300ppm 농도로 만든 후 회수율을 측정한 결과 모니어-윌리암스변법은 86.5~100.2%를, 이온 크로마토그래피법은 96.8~107.9%를 나타냈다. 평균회수율은 모니어-윌리암스변법이 94.7%, 이온 크로마토그래피법이 101.6%를 나타냈다. 직선성을 나타내는 상관관계계수 ( $r$ )는 모니어-윌리암스변법이 0.9986, 이온 크로마토그래피법이 0.9996로 양호한 편이었고 이들의 검량선은 Fig. 1과 같다.

한편 모니어-윌리암스 증류장치로 산 증류한 후 이온 크로마토그래피법으로 정량한 이산화황의 회수율과, 모니어-윌리암스변법으로 정량한 회수율을 서로 비교한 결과는 Table 3과 같다.

## 2. 유통 한약재 중 이산화황 함량 측정 결과

시료중의 이산화황의 검출은 산 증류로 이산화황 ( $SO_2$ )을 발생시켜  $H_2O_2$ 에 의한  $SO_4^{2-}$ 로의 포집하는 방법과 알칼리(mannitol buffer, pH 9)추출에 의한  $SO_3^{2-}$ 로 포집하는 방법이 있다<sup>2),4)</sup>.

그 중 산 증류에 의한 검출방법인 모니어-윌리암스변법의 측정원리는, 시료중의  $SO_3^{2-}$ 가 4N-HCl에 의해  $SO_2$ 로 전환되고 다시 증류장치를 통해 3%  $H_2O_2$  용액에 포집되며  $SO_2$ 가  $H_2SO_4$ 로 산화되는데, 이 용액을 0.01N-NaOH로 적정해서 이산화황의 양을 산출하는 것이다.

한약재의 이산화황함유에 대한 보고로는, 김진곤 등<sup>5)</sup>이 potentiometric automatic titrator로 아황산염류를 분석한 결과 거의 모든 한약재에서 검출된 반면, ILC 분석결과 158건 중 30건에서 검출되어 19.0%의 검출율을 보고하였다. 또 신태하<sup>6)</sup>는 충청북도에 유통되는 한약재 5종 180건을 대상으로 모니어-윌리암스변법으로 분석한 결과 6.1%의 검출율을 보고하고 있다. 그리고 최옥경 등<sup>7)</sup>은 자동증류장치를 이용한 적정결과 한약재 12종 55건의 시료 중 11건에서 이산화황이 검출되어 20.0%의 검출율을 보고하고 있다.

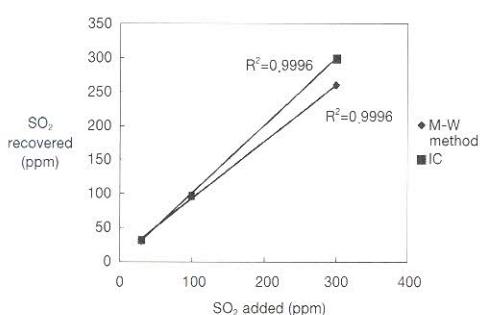


Fig. 1. Standard calibration curve of  $SO_2$  by optimized Monier-Williams method and IC method.

Table 3. Comparison of  $SO_2$  recovery by optimized M-W method and IC method.

$SO_2$ added (ppm)	Optimized Monier-Williams		Ion Chromatography	
	$SO_2$ recovered (ppm)	recovery rate (%)	$SO_2$ recovered (ppm)	recovery rate (%)
30	30.06	100.2	32.37	107.9
100	97.50	97.5	96.82	96.8
300	259.50	86.5	300.60	100.2

Table 4는 모니어-윌리암스법으로 분석한 이산화황의 원산지별 결과이다. 갈근 외 9종 106건 중 국산은 72건으로 이산화황이 22.8~1684.8ppm 검출되었으며 평균치는 180.9ppm이었다. 반면 수입산은 총 34건으로 13.1~1320.7ppm 검출되었고 평균치가 333.2ppm이었으며 106건의 총 평균치는 257.1ppm 이었다. 106건의 분석결과 최고치는 국산 갈근에서 나타났지만, 평균치는 수입산(333.2ppm)이 국산(180.9ppm)보다 약 2배 가량 높게 검출되었다. 또 국산과 수입산을 동시에 분석한 갈근, 건강, 길경, 반하, 백하수오의 경우 갈근을 제외하고는 모두 수입산에서 이산화황의 검출이 높았다. 특히 건강의 경우 수입산의 검체수가 더 적지만 이산화황의 수치는 5배가량 높았다.

한편, 한약재 10종 106건을 대상으로 모니어-윌리암스법으로 이산화황을 측정한 각각의 검출량은 Table 5, Fig. 2, 3과 같다. 각 검체마다 2~4회 반복실험하였으며 그 결과 모든 한약재에서 이산화황이 검출되었다. 평균치로 비교해 볼 때 천궁, 반하, 황기에서 비교적 적게 검출되었고 길경, 갈근, 백작약, 산약 등에서 높게 검출되었다. 그러나 갈근의 경우, 평균치는 두번째로 높지만 4건을 제외하고는 검출량이 모두 50ppm미만이었다. 또한 한약재의 이산화황 농도별 백분율 분포도는 Fig. 4와 같다. 총 106건 중 검출량이 50ppm이하는

31건(29.2%), 51~100ppm인 것은 28건(26.4%)으로 100ppm이하인 검체는 전체 중 55.6%를 차지했다. 반면 1000ppm이 초과된 검체도 5건(4.7%), 500~1000ppm의 검출량을 보인 것도 8건(7.5%)이나 되어 500ppm이상 높게 검출된 검체가 전체의 12.2%나 차지하였다. 1000ppm을 초과한 검체는 국산 갈근 3건, 수입산 길경 2건으로 각각의 검출량은 1300.4, 1467.2, 1684.8, 1161.4, 1320.7ppm이었다.

이와같이 대체적으로 모니어-윌리암스법에 의한 이산화황의 함유량이 높은 것은, 한약재 성분중의 휘발성 유기산이나 황화합물에 의한 false positive response이거나 연탄건조과정 중의 유황성분에 의한 오염일 가능성 이 높다고 생각된다<sup>4,8)</sup>.

그래서 강길준 등<sup>4)</sup>은 이런 오차를 제거하기 위해 알칼리 추출-이온 크로마토그래피법에 의한 분석법을 시도하였다. 그러나 타 방법에서 이산화황이 검출된 시료들이 이 방법에서는 검출되지 않아, 이 방법이 포도주나 음료수 등의 액체식품이나 참치, 스프 등의 반고체 식품에는 적용될 수 있지만, 건조된 한약재나 고체식품에는 적합하지 않은 방법이라고 보고하였다. 또 강길준 등<sup>4)</sup>은 한약재 중의 천연유래 이산화황의 존재근거를 규명하기 위해 사삼, 고본, 마늘 등을 산 증류한 후 GC-MS로 분석하였으며 그 결과 휘발성 유기산과 황화합물을 확인하

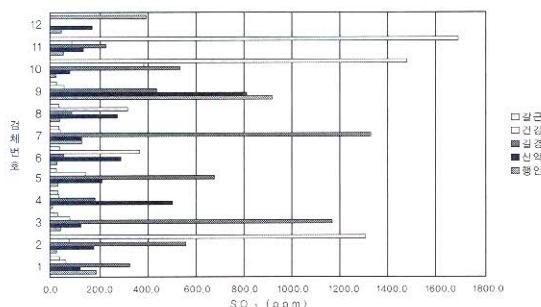
**Table 4.** Comparison of contents of SO<sub>2</sub> in crude drug materials by optimized M-W method.

crude drug materials	domestic			imported			total
	n	contents of SO <sub>2</sub> (ppm)	mean (ppm)	n	contents of SO <sub>2</sub> (ppm)	mean (ppm)	
Puerariae Radix	10	27.1~1684.8	469.9	2	29.5~396.8	213.1	427.1
Zingiberis Rhizoma	8	38.2~145.8	76.8	3	321.3~391.2	361.8	154.5
Platycodi Radix	2	61.0~557.4	309.2	9	88.0~1320.7	552.0	507.8
Pinelliae Tuber	3	22.8~44.3	32.1	7	19.4~142.9	87.1	70.6
Paeoniae Radix	10	55.4~900.6	266.4	-	-	-	266.4
Polygoni multiflori Radix	9	50.1~208.4	96.7	1	656.0	656.0	152.6
Discoreae Rhizoma	12	81.6~813.5	253.9	-	-	-	253.9
Cnidii Rhizoma	10	35.5~67.6	49.9	-	-	-	49.9
Armeniaceae Semen	-	-	-	12	13.1~917.2	129.3	129.3
Astragali Radix	8	41.3~109.8	73.1	-	-	-	73.1
total	72	22.8~1684.8	180.9	34	13.1~1320.7	333.2	257.1

\* n = number of sample

**Table 5.** Contents of SO<sub>2</sub> in crude drug materials by optimized M-W method.

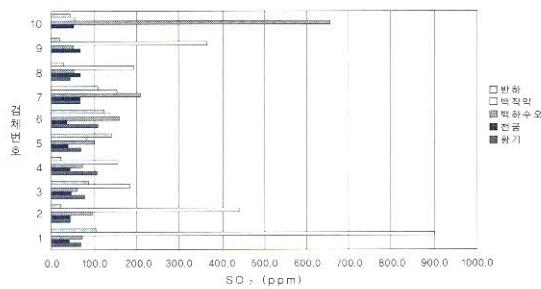
sample	SO <sub>2</sub> , ppm					sample	SO <sub>2</sub> , ppm				
	Puerariae Radix	Zingiberis Rhizoma	Platycodi Radix	Discoreae Rhizoma	Armeniaceae Semen		Pinelliae Tuber	Paeoniae Radix	Polygoni multiflori Radix	Cnidii Rhizoma	Astragali Radix
1	43.4	69.0	329.4	121.0	190.8	1	104.5	900.6	72.6	40.6	68.7
2	1300.4	83.7	557.4	181.3	24.0	2	22.8	440.8	95.0	44.4	45.3
3	30.3	81.7	1161.4	125.1	42.3	3	87.2	183.8	59.1	46.8	76.7
4	32.0	38.2	186.8	504.5	13.1	4	22.7	155.1	72.9	43.1	106.9
5	29.5	145.8	673.7	213.9	34.2	5	142.9	81.4	99.8	37.1	69.7
6	40.1	372.9	61.0	290.6	27.8	6	124.3	136.8	159.0	35.5	96.0
7	37.4	41.6	1320.7	129.4	135.6	7	108.7	152.3	208.4	66.2	66.8
8	36.9	321.3	88.0	276.2	39.8	8	29.2	194.0	53.1	67.1	41.3
9	27.1	62.2	439.2	813.5	917.2	9	19.4	364.2	50.1	67.6	-
10	1467.2	391.2	535.8	81.6	22.6	10	44.3	55.4	636.0	51.1	-
11	1684.8	92.6	232.7	138.3	57.1	mean(ppm)	70.6	266.4	152.6	49.9	73.1
12	396.8	-	-	172.0	47.5						
mean(ppm)	427.1	154.5	507.8	253.9	129.3						



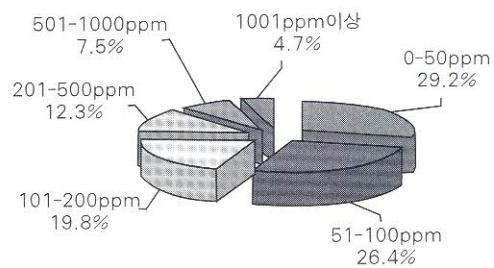
**Fig. 2.** Quantitative analysis of sulfites in Puerariae Radix, Zingiberis Rhizoma, Platycodi Radix, Discoreae Rhizoma, Armeniaceae Semen by optimized M-W method.

였고 이들 성분들이 산 증류시 분해되어 이산화황으로 휘발된다고 보고하고 있다. 따라서 한약재에 존재하는 황화합물의 존재에 의한 한약재의 천연유래 이산화황의 존재도 감안해야 한다.

한편 이온 크로마토그래피법에 의한 이산화황의 정량은, 모니어-윌리암스변법의 증류장치를 사용해서 산 증류한 후 이산화황이 과산화수소수 용액에 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>형태로 포집되어 있는 것을 이온 크로마토그래피-전기화학 검출기를 이용하여 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>로서 검출 정량하였다. 그러나 이 방법도 모니어-윌리암스변법과 마찬가지로 산 증류과정을 거쳤기 때문에 황화합물에 대한 오차는 제거하지 못



**Fig. 3.** Quantitative analysis of sulfites in Pinelliae Tuber, Paeoniae Radix, Polygoni multiflori Radix, Cnidii Rhizoma, Astragali Radix by optimized M-W method.



**Fig. 4.** Distribution of the concentration of SO<sub>2</sub> in crude drug materials by optimized M-W method.

했다.

검체 106건 중 종류별로 3~5건씩 택하여 총 40건을 이온 크로마토그래피법으로 분석하였으며 그 결과는 Table 6과 같고, 크로마토그램은 Fig. 5와 같다. 40건에 대한 이산화황의 평균치는 모니어-윌리암스변법이 246.6ppm(국산 262.6ppm, 수입산 239.0ppm), 이온 크로마토그래피법이 197.4ppm(국산 192.3 ppm, 수입산 199.8ppm)이었다. 두 방법에 의한 결과값은 약간의 차이가 있었으며 이온 크로마토그래피법에서 검출되지 않은 검체도 12건(30.0%)이나 있었다. 이는 유기산에 의한 false positive response로 보여지는데, 모니어-윌리암스변법에서는 sulfate 외에도 NaOH를 소비하는 다른 유기산들이 검출되는 반면 이온 크로마토그래피법은 sulfate만을 선택적으로 분리하여 검출하기 때문이다.

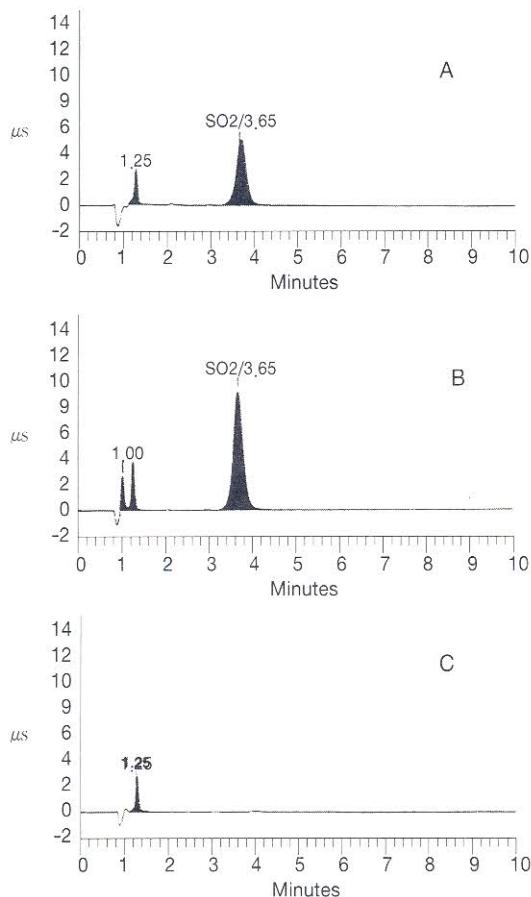


Fig. 5. Chromatogram of  $\text{SO}_4^{2-}$  by Ion Chromatography.

A : standard    B : detected sample    C : not detected sample

이상의 결과로, 모니어-윌리암스변법의 분석만으로는 한약재에서의 이산화황의 검출을 단정하기 어렵고, sulfate만을 선택적으로 검출하는 이온 크로마토그래피법에 의한 분석법의 보완이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

Table 6. Comparison of  $\text{SO}_2$  in crude drug materials by optimized M-W method and IC method.

sample	$\text{SO}_2$ , ppm	
	M-W	IC
Puerariae Radix	5	29.5
	9	27.1
	11	1684.8
	12	396.8
Zingiberis Rhizoma	4	38.2
	7	41.6
	10	391.2
	11	92.6
Platycodi Radix	2	557.4
	3	1161.4
	6	61.0
	8	88.0
	11	138.3
Discoreae Rhizoma	3	125.1
	4	504.5
	6	290.6
	7	129.4
	11	137.2
Cnidii Rhizoma	3	46.8
	5	37.1
	6	35.5
Pinelliae Tuber	4	22.7
	7	108.7
	8	29.2
	9	19.4
	11	12.2
Paeoniae Radix	1	900.6
	6	136.8
	9	364.2
	10	55.4
	11	75.5
Polygoni multiflori Radix	2	95.0
	3	59.1
	5	99.8
	10	656.0
	11	461.7
Armeniaceae Semen	1	190.8
	4	13.1
	9	917.2
	10	22.6
	12	47.5
Astragali Radix	1	68.7
	5	69.7
	6	31.1

## 結 論

경동시장에서 구입한 한약재 갈근, 건강, 길경, 반하, 백자약, 백하수오, 산약, 천궁, 행인, 황기 등 10종 106 건(국내 72건, 수입산 34건)에 대하여 모니어-윌리암스 변법과 이온 크로마토그래피법으로 이산화황을 분석한 결과 아래와 같은 결론을 얻었다.

1. Sodium sulfite anhydrous를 표준액으로 회수율을 측정한 결과 모니어-윌리암스변법은 86.5~100.2%(mean 94.7%), 이온 크로마토그래피법은 96.8~107.9%(mean 101.6%)를 나타냈다. 상관관계 계수( $r$ )는 모니어-윌리암스변법이 0.9986, 이온 크로마토그래피법이 0.9996로 양호한 편이었다.
2. 모니어-윌리암스변법으로 분석한 결과 모든 한약재에서 이산화황이 검출되어 13.1~1684.8ppm의 검출범위를 보였고, 그 중 50ppm이하는 29.2%, 51~100ppm은 26.4%, 500~1000ppm의 높은 검출량을 보인 것도 전체의 7.5%나 되었다. 또 국산 갈근 3건, 수입산 길경 2건에서는 1000ppm을 초과하는 이산화황이 검출(4.7%)되었다.
3. 106건 중 40건을 이온크로마토그래피법으로 분석한 결과 70%의 검출율을 보였고 12.0~

1860.4ppm의 검출범위를 나타냈으며, 국산 길경 1건, 수입산 길경 1건에서는 1000ppm을 초과하는 이산화황이 검출되었다.

## 參 考 文 獻

1. Talor, S. L., Higley, N. A. and Bush, R. K. : Sulfites in Foods, Advances in Food Research. 30 : 1 (1986)
2. AOAC : AOAC Official Methods of Analysis, sec 987.04, 987.28-987.30, 990.28 (1995)
3. 식품공전 : 한국식품공업협회, p1124-1125 (1999)
4. 강길준 외 : 한약재 중 천연유래 이산화황 함유량 및 그 시험법 개선에 관한 연구, 식품의약품안전청연보 3 : 313 (1999)
5. 김진곤 외 : 생약 중의 아황산염류 분석, 서울특별시 보건환경연구원보 34 : 61 (1998)
6. 신대하 : 유통 한약재의 표백제 함유실태에 관한 연구, 충북 보건환경연구원보 8 : 51 (1999)
7. 최옥경 외 : 한약재중의 표백제 사용에 관한 조사연구, 경기도 보건환경연구원보 12 : 17 (1999)
8. 장승엽 외 : 한약재 가공방법에 관한 연구(I), 식품의약품안전청연보 3 : 287 (1999)