

ICP-AES를 이용한 황기 속에 함유된 원소의 성분 분석과 Chemometrics를 이용한 한약재의 원산지 규명

감미라 · 이익희 · 전 형* · 김용성 · 이상천*
경남대학교 정밀화학공학부, *해군사관학교 화학과
(2001. 6. 11 접수)

Elemental Analysis in Astragali Radix by Using ICP-AES and Determination of the Original Agricultural Place of Oriental Medicine by Using a Chemometrics

Mi Ra Kang, Ick Hee Lee, Hyuong Jun*, Yongseong Kim, Sang Chun Lee
Division of Chemistry & Chemical Engineering, Kyungnam University, Masan, 631-701, Korea
* Department of Chemistry, Naval Academy, ROK
(Received June 11, 2001)

요 약 : 본 연구는 한약재 중 우리 나라의 여러 지역에서 재배되고 있는 황기를 선택하여 유도결합 플라즈마 분광분석법(inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy ; ICP-AES)을 이용한 미량성분을 분석하여 principal component analysis(PCA)와 pattern recognition의 원리를 이용한 chemometrics Analysis로 한약재에 함유된 미량 금속 성분 함량에 의한 원산지 판별의 가능성을 조사하였다. 황기와 토양시료는 각각 HNO₃와 H₂O₂ 그리고 HNO₃와 HCl를 첨가하여 microwave oven을 사용하여 전처리 하였다. ICP-AES를 사용하여 황기와 황기를 재배한 토양 속에 들어 있는 미량 금속 성분으로는 Mg, Al, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, and Ba 등이 있으며 그 중 Al과 Fe 그리고 Zn과 Ti의 함량으로 PCA와 pattern recognition을 이용하여 각 재배지의 황기와 토양간의 연계성을 살펴보았다. 그 결과 국내산 황기와 중국산 황기를 PCA 방법으로 원산지 판별이 가능하였으며 구례, 예천, 제천, 그리고 정선의 국내산 황기의 원산지 판별이 가능하였다.

Abstract : We have investigated the trace amount in an oriental medicine in order to determine the geographical origin by using inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry(ICP-AES) and chemometric analysis with principal component analysis(PCA) and pattern recognition. Astragali Radix from several agricultural places in Korea was selected as an example of the oriental medicine and analyzed by ICP-AES. The dried Astragali Radix sample was treated with HNO₃ and H₂O₂, then digested using microwave oven. Elements such as Mg, Al, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, and Ba with different concentrations were found and used for the identification of the origin of agriculture places. Especially, the concentration of Al, Fe, Zn, and Ti were employed to investigate the relationship between Astragali Radix and the agricultural places by PCA and pattern recognition. We have made a program that is based on chemometrics in analytical spectroscopy. The results of the chemometrics analysis indicated that a distinction among Yechon and Chechon, Chungson, Kurye and Chinese Astragali Radix could be made. We believe that principal component analysis(PCA) and pattern recognition is a valuable tool to identify the origin of Astragali Radix in terms of the agricultural place.

Key words : ICP-AES, chemometrics, astragali radix, oriental medicine

1. 서 론

한약재의 경우 국민의 보건위생 문제와 직결된 의약품이라는 점에서 재배나 유통과정에서 발생하는 오염을 줄이기 위해 산지를 반드시 밝히도록 되어 있다. 그러나 최근 급증하는 한약재의 수입으로 원산지를 알 수 없는 약재가 시중에 유통되고 있다. 국내의 한약재 생산과 소비량과 수입량을 비교하여 살펴보면 1980년대 이후 생산에 비해 소비와 수입량이 꾸준히 증가함을 볼 수 있다. 이와 같은 상황에서 정부는 한약재 수급 안정과 국산 한약재의 생산 증대를 위해 수급 조절과 규격화 제도의 실시, 그리고 생산유통지원사업을 추진하고 있다¹. 그러나 값싼 외국산 한약재의 수입이 증가하면서 한약재 재배농가는 가격 불안정 등 여러 가지 어려움을 겪고 있다. 이러한 실정에서 국가는 1996년 강황, 구기자, 길경, 당귀, 독활, 두충, 맥문동, 천궁, 치자, 황기, 등의 29개 한약재를 수급조절대상 한약재로 지정하고 수입품목과 물량의 범위 내에서 '수출입협회'의 추천을 받도록 규정하였다. 그러나 수입한약재가 국산 한약재로 불법 유통되는 경우도 발견되어 국내의 소비자와 생산자 모두가 손해를 보는 경우가 늘고 있다. 또한 수입 한약재에는 중금속 허용기준치를 훨씬 상회하고 있다고 한다. 그러므로 수입한약재에 대한 중금속 검사를 강화하여 국민의 보건위생 문제를 근본적으로 예방할 수 있도록 하여야 할 것이다¹. 이런 이유로 시장에 유통되는 한약재의 원산지 판별은 중요한 의미를 가진다.

본 연구는 수급조절대상 한약재로 지정된 황기를 시료로 하여 ICP-AES로 성분 분석을 하였으며 여기서 얻은 자료로 한약재의 원산지 규명을 연구하였다. 원산지 규명은 기존의 NIR과 FT-IR 등 분자구조 등을 이용하여 통계적으로 처리하는 방법을 사용하여 원산지 규명을 하려고 하는 연구가 추진되고 있지만, 700~2500 nm 영역에서 주로 IR에서 유래되는 C-H, N-H, O-H 등의 작용기의 분자 이동 에너지의 combination과 overtone band로 나타내는 NIR과 FT-IR² 등은 원산지 규명 및 인체에 유해한 중금속을 동시에 분석하지 못하는 어려운 점이 있다. 이러한 문제점을 중금속 함유량 및 원산지를 동시에 알 수 있는 방법으로는 고정

밀 극 미량 무기원소 분석기인 ICP-AES를 이용하여 무기질 성분을 분석하므로 해서 중금속 함유량과 원산지를 동시에 알 수 있도록 하였다. 여기서 얻은 결과로 principal component analysis(PCA)와 Pattern Recognition의 원리를 이용한 chemometrics analysis를 시도하였다^{3,6}.

시료로 선택한 한약재인 황기(Astragali Radix ; *Astragalus membranaceus* Bunge.)는 콩과에 속하는 다년생 초본 약용작물로서 신농본초경에서 이시진의 해설에 따르면 색이 노랑고(黃) 오랫동안 인체를 보한다는 의미에서 보(芪)라는 이름이 붙여졌다고 하다⁷. 황기는 한국 이외에 중국, 내몽고, 일본, 이집트, 불가리아에 분포하며 국내에서 재배되고 있는 종은 중국의 동북, 중화 지방과 우리나라 전지역 등에서 야생하고 있다⁸. 우리 나라에서는 예로부터 황기 뿌리를 인삼 다음의 보기약으로써 민간에서 많이 쓰여졌으며, '본초학정요'에서는 원기를 보호하는 효능은 인삼보다 약하지만 운송하는 효능은 인삼보다 강하다하여 한방에서는 그 약효를 높이 사고 있다⁹. 중부지방 특히 강원도 정선에서 양질의 황기가 재배된다. 주로 강장제, 이뇨제, 지한제 등의 민간약으로 많이 사용되고 있다. 한방에서는 보중익기탕, 황기건중탕, 십전대보탕, 가미대보탕, 팔보회춘탕, 청서익기탕 등 수 백 개 처방에 황기가 포함된다^{9,10}. 황기 뿌리(Astragali Radix)의 유기물 구성성분으로는 astragaloside I~VIII 등의 saponin, isoflavonoid 류와 amino acid 인 γ -aminobutyric acid 등을 함유하고 있다⁷. 황기는 1993년까지 전량 국내산으로 유통됨은 물론이며 수출 품목에 포함되었으나 1994년 이후 국내 소비량 증가와 수입 개방으로 말미암아 한약재의 생산 기반 위축과 중국산 한약재의 수입이 크게 늘어나고 있다¹.

본 연구에서 사용한 ICP-AES는 황기의 원소분석과 토양의 미량 중금속 분석 결과를 보여주었으며 PCA와 pattern recognition을 이용하여 원산지 규명이 가능함을 볼 수 있었다. 특히 NIR이나 FIR, Raman 등으로 판별이 어려운 접경지역의 원산지 규명이 가능하였다.

2. 실험

2.1 기기 및 시료

2.1.1. 기기

유도 결합 플라즈마(ICP-AES)는 Perkin Elmer의 Optima 3000DV ICP-OES를 사용하였으며 실험조건은

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)55-249-2236, Fax : +82+(0)55-249-2793

E-mail : sanglee@kyungnam.ac.kr

Table 1에 정리하였다. 플라즈마의 power는 알카리 금속과 알카리 토금속의 경우 1000 W를 주도록 하였으며 그 외 전이금속과 회토류들은 1300W를 주었다. 실험에 사용한 고차중류수는 Mirea Scientific Corp.에서 제조한 Pure UC 9000II Ultra-combi water system을 통해 증류된 것을 사용하였다. 표준용액은 Aldrich사에서 시판하는 atomic absorption standard solution(AASS)을 고차중류수로 희석하여 사용하였으며 이때 사용한 100 ml pyrex 용량 플라스크의 무게 오차 범위는 ± 0.02 이다. 시료의 주입은 Perkin Elmer autosampler AS-90 Plus를 사용하였다.

Table 1. Operating parameters for ICP-AES

ICP-AES

Model : Optima 3000 DV, Perkin-Elmer, U. S. A
 Frequency : 40MHz, free-running
 Power : 1000, 1300 W
 Plasma gas flows : 15 L/min
 Auxiliary gas flows : 0.5 L/min
 Nebulizer gas flows : 0.8 L/min
 Sample uptake rate : 1 mL/min

Microwave Sample Digestion System

Model : Anton Paar GmbH, Austria

2.1.2. ICP-AES의 원소와 파장선택

식물의 필수 원소(essential elements)는 9개의 주성분 원소(macro elements)인 C, H, O, N, S, P, K, Ca, Mg과 8개의 미량 원소(micro elements)인 Fe, Cl, B, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni로 구성된다. 원소의 선택은 이러한 필수 원소와 지각을 이루는 8대 원소 인 O, Si, Al, Fe, Ca, Na, K, Mg등이 있으며 티타늄(Ti)과 망간(Mn)등이 토양의 주요 성분으로 추가된다¹¹. 그리고 체액의 삼투압과 pH의 유지, 각종 효소의 활성화 등에 매우 중요한 역할을 하는 무기 염류들 그리고 인체에 유해한 중금속 류를 선택하였다. ICP에 사용되어진 파장은 Table 2에 정리되어 있다. 이 중 칼륨(K)과 칼슘(Ca)의 파장은 검출 한계(detection limit ; DL)가 낮기 때문에 검출 한계가 가장 낮은 파장보다 한 단계 낮은 수준의 파장을 선택하여 검출하도록 하였다.

Table 2. Wavelength of each element used in ICP-AES

Element	Wavelength(nm)	Element	Wavelength(nm)
Mg	279.6	Fe	260.0
Ti	337.3	Co	231.4
Al	396.2	Ni	231.6
K	766.5	Cu	324.8
Ca	422.7	Zn	213.9
Cr	267.7	Cd	226.5
Mn	257.6	Ba	413.1

2.1.3. 시료 구입 및 채취

경북 예천군 보문면 여준식에 의해 재배된 황기 뿌리와 충북 제천시 덕산면 문수산 약초영농가공조합집하장에서 재배된 황기뿌리 그리고 강원도 정선군 정선읍 애산리 변진규에 의해 재배된 황기뿌리를 직구입하여 사용하였다. 토양은 각각의 재배 농가에서 수확이 끝난 밭에서 3m 거리의 정사각형 모서리마다 포인트를 정하고 한 가운데까지 다섯 포인트의 토양을 30cm 깊이로 채취하였다. 200mesh의 standard testing sieve로 75 μ m의 입자의 크기로 고르게 하여준 토양은 현재 경남대학교 공동기기센터 전처리실에 보관중이다. 중국산 황기는 경남 창원시에 소재 한약방에서 구입하여 사용하였다.

2.1.4. 시료 전처리.

황기와 토양을 110 $^{\circ}$ C로 vacuum dry oven에 24시간 건조시켜 함수율을¹² 측정된 다음 건조된 황기시료는 강옥 막자 사발로 분쇄하여 시료 0.4g을 0.1mg까지 정확히 잃어서 microwave oven의 TFM-liner에 넣어 각각의 무게를 측정된 한약재 시료에 35 % HNO₃와 30% H₂O₂ 를 가하여 분해하였다. Austria, Anton Paar사의 microwave를 사용한 분해 조건은 pulp 방법을 선택하여 100W에서 5분, 600W에서 15분 그리고 0 W(상온에서 냉각)에서 15분 총 35분으로 주어 황기 분해에 적합하도록 조건을 만들어 주었다. 토양시료는 막자사발로 잘게 부순 후 75 μ m, 200mesh의 standard testing sieve를 사용하여 입자의 크기를 고르게 하였다. 토양시료 0.4g에 35% HNO₃ 4ml와 30%HCl 1ml를 가하여 microwave oven으로 분해한다. Microwave oven의 분해 조건은 400W에서 6분, 900W에서 10분 그리고 0 W(상온에서 냉각)에서 15분 총 31분의 sediment 방법을 선택하였다.

3. 결과 및 고찰

예천, 제천, 정선, 구례 그리고 중국산 황기와 예천, 제천, 정선 지역에서 직접 채취한 토양의 함수율은 모두 1% 미만이었으며 각 지역의 황기와 토양은 그 모양새와 빛깔이 조금씩 달랐다. 특히 중국산 황기는 육안으로도 식별이 가능하였다. 토양은 예천, 제천, 그리고 정선의 국내 재배지 토양 시료만 채취하여 실험하였다. PCA 법은 재배지가 다른 황기의 무기물 성분 중 두 가지를 (1)식에 대입하여 행렬식으로 유도하여 나타내지는 값으로 재배지 간의 상관 관계를 지시해 준다. 마찬가지로 pattern recognition 또한 기본적으로 아래의 식을 이용하여 ICP-AES에서 얻은 각 지역의 황기 및 토양의 무기물 성분의 농도를 대입하여 얻은 값으로 시료간의 거리를 비교할 수 있게 해준다.^{3,13-14}

$$d_{ik} = \sqrt{\sum_{j=1}^m (A_{ij} - A_{kj})^2} \dots\dots\dots(1)$$

$$PC1_i = 0.751A1_i + 0.660A2_i \dots\dots\dots(2)$$

$$PC2_i = -0.660A1_i + 0.751A2_i \dots\dots\dots(3)$$

식(1)의 d_{ik} 는 i 지역과 k 지역의 거리를 나타내며 j 값은 검출된 미량 금속 원소들 중의 하나이며 A_{ij} 는 i 지역 황기의 j 원소 값을 의미한다. 여기서 얻어진 d_{ik} 값으로 행렬식에 대입하여 PC1_i 과 PC2_i 값을 얻어 각기 다른 원소들간의 상관 값을 얻을 수 있다. 이러한 식에서 유도되는 과정을 직접 실험실에서 프로그램으로 작성하여 연산 그래프를 얻었다. ICP-AES에 의해 얻어진 황기와 토양 속의 함유된 무기물 성분의 분석은 Table 3, 4에 나타나 있으며 이는 세 번 반복하여 얻은 평균치이다. Table 2에서 보는 바와 같이 황기에서 검출된 주성분 원소는 Ca, Mg, K 순서로 높은 농도의 함량을 보였으며 미량 원소로는 Fe, Zn, Al, Cu, Mn 순서를 보였다. 그 외 Al, Ti, Ba는 재배지 토양에 높은 농도를 보인 원소도 검출되었다. 여기에서 Al과 Fe의 지역별 농도를 살펴보면 국산 황기와 중국산 황기의 구분되어짐을 볼 수 있다. 이를 PCA법에 대입하여 보면 Fig. 1에서 보는 바와 같이 세 개의 군이 형성된다. 1군은 중국산 황기이며 2군은 국내산 황기이다. 마지막 3군은 국내산 황기 군중에서도 구례와 많은 차이를 나타내는 정선, 제천, 예천이 속하는 군이다. Al과 Fe의 상관 관계를 거리로 나타내 주는

Table 3. Results obtained by ICP-AES analysis of Astragali Radix

Origin Elements	Analyte concentration (μg/mL)				
	Yechon	Checon	Chungson	Kurye	Chinese
Mg	733.5(1.5)	991(0.8)	1074(0.2)	1253(0.2)	1135(0.2)
Al	37.5(2.1)	40.5(1.2)	37.2(1.3)	61.2(1.3)	151(1.4)
K	307(1.5)	291(0.8)	Saturated	Saturated	Saturated
Ca	1285(0.9)	976.5(1.2)	1054.5(1.6)	1096.7(0.8)	1185(0.9)
Ti	1.9(1.6)	0.7(0.8)	ND [†]	1.1(0.9)	5.4(0.9)
Mn	ND	6.3(1.2)	1.34(5.3)	10.7(0.8)	2.4(2.0)
Fe	37.3(2.1)	37.6(0.8)	33(0.9)	50.3(0.7)	174.5(0.5)
Cu	6.3(1.5)	6.2(1.4)	4.4(2.3)	4.3(1.9)	5.6(1.8)
Zn	93.2(1.6)	48.6(0.7)	7.2(0.8)	35(1.0)	1.5(5.4)
Ba	6.3(4.0)	ND	ND	ND	ND

*mean (RSD in %)

†ND(not detected) stands for the concentration that is less than the limit of detection.

Table 4. Results obtained by ICP-AES analysis of soil

Origin Elements	Analyte concentration (μg/mL)		
	Yechon	Checon	Chungson
Mg	2503.3(0.5)	3270(0.3)	2004(0.3)
Ti	508.3(1.1)	464.6(0.5)	296.6(0.9)
Cr	6.94(3.0)	35.48(0.9)	30.6(0.7)
Mn	593.4(0.9)	1782(0.3)	625.2(0.6)
Fe	18883.3(1.0)	17220(0.2)	20420(0.3)
Co	121.96(0.4)	107.38(0.4)	111(0.7)
Ni	1.1985(4.0)	19.54(1.3)	20.32(1.4)
Cu	14.71(3.0)	67.3(1.1)	28.74(1.4)
Zn	117(0.4)	127.8(0.5)	50.18(0.9)
Cd	9.178(1.0)	5.046(0.1)	4.776(2.8)
Ba	166.1(1.0)	122(0.5)	110.4(0.8)

*mean (RSD in %)

pattern recognition으로 계산하면 Fig. 2와 같이 나타난다. 예천과 제천의 거리가 가장 가까우며 그 군에서 다시 정선의 거리가 가깝고 세 가지의 무리에서 구례의 거리가 조금 먼 것을 나타내며 구례를 포함한 무리에서 중국산 황기의 거리가 매우 먼 것으로 보여주

고 있다. 토양에서는 Si, Al, K, Ca이 주성분 원소로써 saturate 되었으며 검출된 주성분 원소는 Fe, Mg, Mn, Ti, Ba, Co 순서로 높은 농도의 함량을 보였으며 미량 원소로는 Zn, Cu, Cr, Ni, Cd 순서를 보였다. 토양은 황기에서 볼 수 없었던 Co, Ni, Cd, Ba가 검출되었다. 황기와 토양에서 saturate 된 주성분 원소를 제외한 나머지 원소의 농도를 비교해 보면 토양에서 대량 검출된 Mn과 Ti는 황기에서 미량으로 검출되었으며 토양에서 적은 함량을 보였던 Zn가 황기에서는 다른 원소들에 비해 상대적으로 높은 검출량을 보였다. 접경지역인 재배지 토양의 판별은 Ti과 Zn의 농도를 PCA법으로 나타내어 보았을 때 Fig. 3과 같이 예천과 제천이 무리 지어지고 그 무리와 정선이 거리를 두고 있음을 알 수 있다. Pattern recognition으로 계산하면 Fig. 4와 같이 나타내어지며 PCA와 같은 결과를 보여준다.

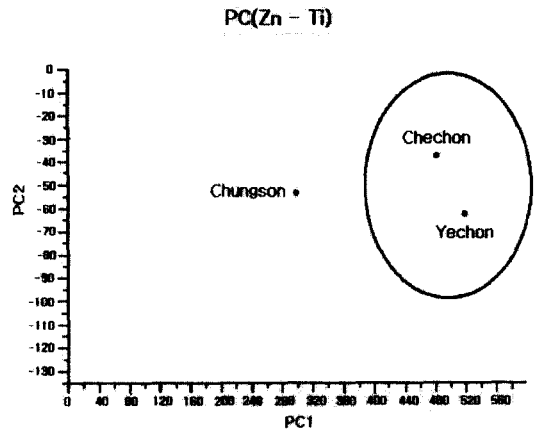


Figure 3. PCA for soil's ICP-AES data at three different agricultural places.

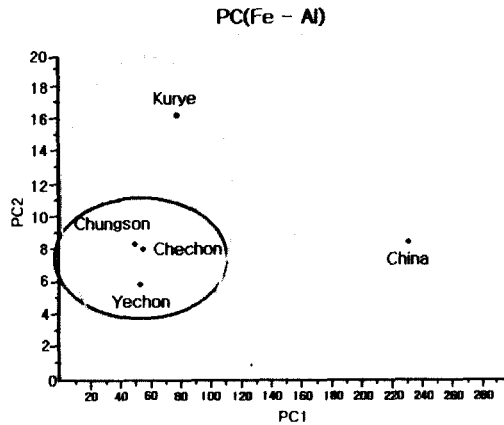


Figure 1. PCA analysis for Astragali Radix's ICP-AES data at five different agricultural places.

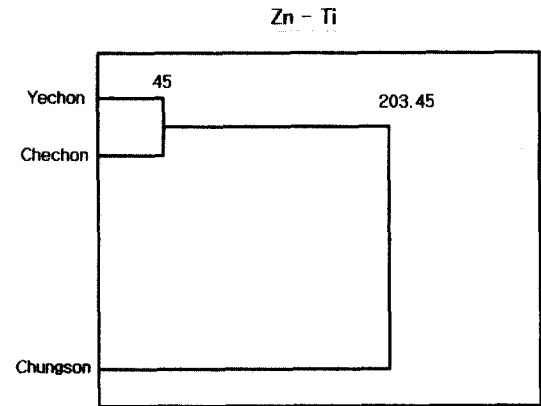


Figure 4. Dendrogram using Zn-Ti data.

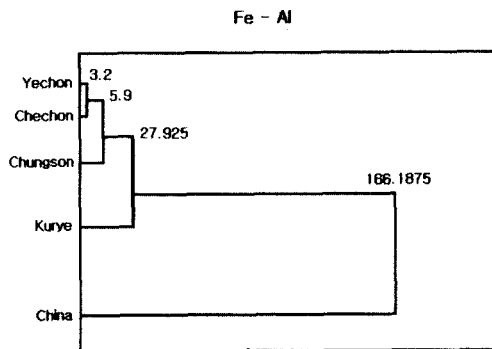


Figure 2. Dendrogram using Fe-Ai data.

4. 결 론

지금까지의 결과로 황기와 재배지 토양의 무기물 성분을 알 수 있었으며 이러한 자료를 이용한 PCA와 pattern recognition 분석법으로 정의한 산지별 황기의 상관관계와 거리가 Fig. 5에서 보는바와 같이 실제 예천, 제천, 정선, 구례의 거리와 일치함을 나타내어준다. 이로써 국내산 황기의 원산지 규명이 가능함을 보였으며 중국산 황기와의 구분은 훨씬 더 용이하였다. ICP-AES로 살펴본 재배지 토양과 황기 속의 원소량을 비교 분석 해 보면 식물이 토양에 존재하는 금속 원소의 농도에 비례하여 모두 흡수하며 성장하는 것은 아니라는 것을 알 수 있으며 Zn과 같은 경우 다른 금

속 원소의 토양에 존재하는 농도에 비해 낮은 함유량을 보이나 황기에서 검출된 양은 상대적으로 높다. 이는 재배지에서 채취한 잡초 뿌리에서는 볼 수 없었던 결과이므로 Zn에 대해서 황기가 선택적으로 흡수하는 것으로 사료되어진다.

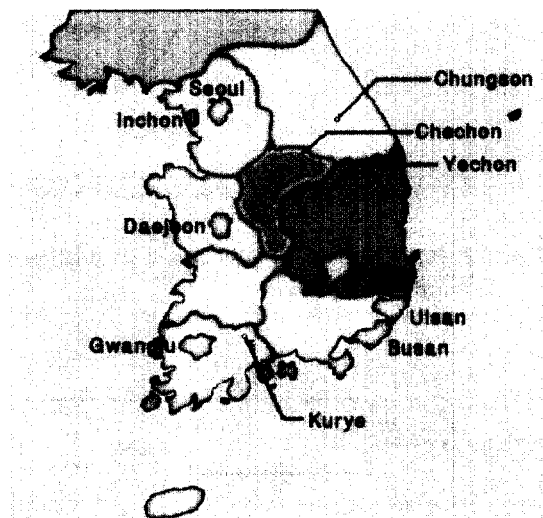


Figure 5. Original agricultural places of Astragali Radix in Korea.

5. 감사의 글

본 연구는 보건복지부의 보건의료기술연구개발사업 (HMP-98-F-1-0002)의 일환으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

Reference

1. 이동필, 이종웅, 한상립, 국내 재배 한약재의 수급 전망과 유통체계 개선 방향, 한국농촌경제연구원, pp80-84, 1998.
2. Yong A. Woo, Chang H. Cho, Hyo Jin Kim, Jung

W. Cho, Kyung K. Cho, Seung S. Chung, Soo J. Kim, and Joong H. Kim, Discrimination of Herbal medicine according to geographical origin(Korea, China) using near infrared reflectance spectroscopy, *Yakhak Hoeji*. 42(4), 359-369(1998)

3. Mike J. Adams, "Chemometrics in Analytical Spectroscopy", The Royal Society of Chemistry, 1995.
4. D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, S.N. Deming, T. Michotte and L. Kaufman, "Chemometrics: a textbook-Data handling in science and technology-Vol. 2", Elsevier science publishing company Inc. 1988.
5. Muhammad A. Sharaf, Deborah L. Illman, Bruce R. Kowalski, "Chemometrics", Wiley, New York, U.S.A., 1986
6. Ana Marcos, Anrew Fisher, Gerry Rea, and Steve J.Hill, Preliminary study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea, *JAAS*, 1998 13(6), pp521-525.
7. 김진숙, 김연태, 김정숙, *생약학회지*, 27(4), pp336-341(1996)
8. 김영국, 손석용, 성낙설, 이봉호, *Korean J. Crop. Sci.*, 45(3), pp171-175(2000)
9. "本草學精要", 사단법인 대한약사회
10. 유자통의 저, 신인교의 역, "향약집성방", 영림사, 1989.
11. 정오진, "환경시료의 화학 분석", 자유아카데미, 1998
12. 해양환경공정시험방법, 해양수산부, 152-153, 1998
13. Trace Elements in Soils and Plants, ed. Kabata-Pendias, A., and Pendias, H., CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1984
14. Toxic Metals in Soil-Plant Systems, ed. Ross, S.M., Wiley, New York, 1994