



인삼성분 인증표준물질(CRM) 개발과 활용 The Development and Application of Ginsenoside CRM

장진규
KT&G중앙연구원

Chang, Jin Kyu
KT&G Central Research Institute

서론

WTO/TBT 발효로 세계 각 국은 측정데이터의 비교가능성(Comparability)과 소급성(Traceability)을 객관적으로 입증하도록 요구하고 있으며, 이러한 국제보증활동의 일환으로 국제표준화기구에서는 “One Standard, One Test, Accepted Everywhere”를 원칙으로 하여 국제기준에 의한 적합성평가와 상호인정을 활발히 전개하고 있다.

이러한 국제적인 환경에서 적합성평가는 측정, 시험결과의 동등성 확보에 매우 중요한 요소로 대두되고 있다. 규제가 점점 강화되고 있는 있는 식품, 의약품 및 의료, 환경, 안전 분야에서의 인증표준물질(CRM)에 의한 평가의 중요성은 점차 증가되고 있을 뿐만 아니라 필수사항으로 요구되고 있다. 신뢰할 수 없는 시험·분석결과는 국내에서 여러가지 분쟁의 소지를 안고 있지만 국제적으로는 제품 품질보증의 신뢰도 뿐만 아니라 무역에 있어 기술장벽으로 작용하기 때문이다.

이러한 문제점을 최소화하고 측정의 정확도를 높이기 위해 국제

적으로 인증할 수 있는인증표준물질(Certified Reference Material, CRM)의 개발과 사용이 매우 중요하며 선진국 특히 미국과 EU국가에서 특성값의 정확도가 매우 높은 CRM을 개발하여 현재 26,000여종이 보급하고 있다. 이러한 표준물질을 사용하여야만 측정오차를 최소화할 수 있다.

현재, ISO에서는 각국이 개발한 표준물질을 세계 모든 국가가 사용할 수 있도록 국제표준물질 DB(COMAR, Code of Reference Material¹⁾)를 운영하고 있다. COMAR에 등록되는 표준물질은 ISO G 35 요건을 충족시켜야 하기 때문에 국제수준의 신뢰도 입증에 요구되고 있다. 현재, COMAR에는 33개국, 260개 표준물질 생산기관에서 개발한 약 11,000종의 인증표준물질이 등록되어 있다. 우리나라는 국가 1차 표준기관인 한국표준과학연구원이 Coding center로 지정되어 있으며, 2007년 1월 19일 KT&G중앙연구원 에서 생산한 Ginsenoside Rg₁과 Rb₁ 2종이 처음으로 등록되어 있다. 표준물질개발현황을 보면 표 1과 같으며 COMAR에 등록된 현황을 보면 표 2에 나타난바와 같이 미국이 가장 많이 개발하였

Corresponding author : Chang, Jin Kyu,
KT&G Central Research Institute, 305-805 Daejeon, Korea
Tel : 042-866-5326
H · P : 011-454-5326
E-mail : jkchang@ktng.com

1) COMAR(International Database for Certified Reference Material ; 국제인증표준물질 데이터베이스) 각 나라의 표준물질 데이터의 네트워크를 목적으로 ISO/REMCO(ISO Committee on Reference Material ; ISO/REMCO) 산하조직으로 2003년3월부터 인터넷에 의해 COMAR 정보를 제공한다. (<http://www.comar.bam.de>참고)

표 1. 세계 각국의 COMAR 등록 건수 (2007.3월 현재)

구분 \ 국가	호주	오스트리아	벨기에	브라질	불가리아	캐나다	중국	체코	프랑스
품목	151	85	706	101	53	356	1062	338	1056
비율(%)	1.4	0.8	6.6	0.9	0.5	3.3	9.9	3.2	9.9

구분 \ 국가	독일	인도	일본	한국	멕시코	몽고	노르웨이	폴란드	러시아
품목	692	51	1090	52	36	34	12	257	671
비율(%)	6.5	0.5	10.2	0.5	0.3	0.3	0.1	2.4	6.3

구분 \ 국가	남아프리카공화국	스웨덴	스위스	네델란드	영국	미국	슬로베니아	합계
품목	63	51	253	96	2254	1044	123	10687
비율(%)	5.9	0.5	2.4	0.9	21.1	9.8	1.2	100.0

- 기타 국제기관은 WHO(206), IRMM(630), IAEA(93)은 별도 생산하고 있음.

으며, 상용표준물질은 영국, 프랑스, 독일이 주축이된 유럽이 41.4%를 차지하고 아시아에서는 중국과 일본이 9.7%와 8.0%를 차지하고 있다. 미국의 경우는 NIST(National Institute of Standard and Technology)에서 개발하여 SRM으로 판매되고 있으나 독자적인 판매기관을 운영하고 있어 COMAR에 등록되어 있지 않은 물질이 많으며, 유럽 즉 EU국가에서는 ERM 또는 BCR이란 상품명으로 판매되고 있다.

국제교역에서 소급성(용어의 정의 참조) 입증 요구 사례의 예를 보면 유럽연합(EU)에서는 2003년부터 국제 소급성이 유지되지 않는 의약품은 유럽내 판매가 금지되며, 미국 BP사는 대우조선과 \$4억 상당의 유조선 수주 계약시 측정장비에 대해 국제 소급성 입증을 요구한 사례가 있다.

우선 우리나라에서는 표준물질을 KS 기준이나 ISO guide에 따라 생산기관으로 인정받은 예가 없는 실정이다. 다만 한국표준과학연구원과 한국지질연구원에서 생산한 표준물질은 국가표준기본법에 의해 표준연구와 보급을 담당하고 있는 국가 1차 표준기관의 역할을 담당하고 있다. 즉 국제단위(SI, International Unit of Standard)에 소급성 유지를 위한 고리 역할을 담당하고 있으면서 몇가지를 제조하여 보급하고 있다. 현장에서 주로 사용할 수 있는 2차 표준물질이나 작업표준물질(Quality Control Reference Material)을 생산하기 위해 필요한 소급성이 확보된 1차 표준물질이나 최상위 표준물질(Primary Reference Material)을 생산하거나 인정하는 역할을 하고 있다.

이번 KT&G 중앙연구원에서 개발한 인삼의 주요성분인 Ginsenoside Rg₁과 Rb₁은 아직 국제적으로 생산 보급된바 없는 1차 인증표준물질(Primary Reference Material)로써 국내는 물론 국제적으로 인삼 성분분석과 분석방법의 유효화에 기준물질로 사용될 것이다.

본 론

1. 표현되는 용어

표준물질과 관련하여 그 용어를 통일하기 위하여 국제기준인 ISO guide와 KS A ISO 가이드 34, KSA17025 등에서 정한 표준물질의 정의와 주요 용어는 다음과 같다.

· 표준물질(Reference Material, RM) :

측정기기의 교정, 측정방법의 평가 또는 재료에 값을 부여하는 것에 사용하기 위하여 하나 이상의 특성값이 충분히 균일하고 적절하게 확정되어 있는 재료 또는 물질.

예) 순수한 또는 혼합된 기체, 액체 또는 고체의 형태를 가질 수 있는데 점도계 교정을 위한 물, 열량측정에서 열용량 교정에 사용되는 사파이어, 화학분석에 사용되는 용액 등

· 인증표준물질(Certified Reference Material, CRM):

인증서가 붙어 있는 표준물질로 하나 이상의 특성값이 그 특성값을 나타내는 단위의 정확한 표시에 대한 소급성을 확립하는 절차에 따라 인증되고, 각 인증값에는 표기된 신뢰수준에서의 불확



도가 주어진 것

· 1차 표준(primary standard) :

최고의 측정학적 성능을 가진 것으로 선정된 또는 널리 인정된 표준이며, 그 값이 같은 양의 다른 표준을 참조하지 않고 인정된 표준

· 2차 표준(secondary standard) :

그 값이 같은 양의 1차 표준과 비교에 의해 결정된 표준

· 소급성(traceability)

명시된 불확도를 가지고 끊어지지 않은 비교사슬을 통하여 국제 표준은 국가측정표준과 연관되어 질수 있게 하는 측정결과 또는 표준값의 특성

· 인증값(certified value)

인증 표준물질에서 그 소재에 첨부한 인증서에 기재한 값

· 인증값의 불확도(uncertainty of a certified value)

“참값(true value)”이 정해진 신뢰수준에 있다는 것을 실증하는 값의 범위를 나타내는 인증값에 수반되는 추정치

2. 표준물질생산기관 인정제도

표준물질을 생산하고자 하는 기관을 평가하여 국제기준에 적합할 경우 그 능력을 객관적으로 인정해주는 제도로써 국제기준에 대한 적합성 평가를 실시하여 표준물질의 품질을 보장하고, 상업적인 표준물질 생산을 촉진하여 표준물질의 원활한 공급이 되도록 하며, 다양한 표준물질의 개발로 기술변화 및 다양한 표준물질 요구를 충족하고, 표준물질개발자금 지원 및 개발된 표준물질을 홍보하여 표준물질생산기관을 육성하는 것이 그 목적이다.

표준물질생산기관 인정제도의 특징은 표준물질생산기관은 인정 범위 내에서 표준물질을 제조, 인증, 공급하는 업무를 수행할 수 있으며 KOLAS 표준물질생산기관 인정마크를 사용한 인증서 발행이 가능하며, 인정범위내에서 인증표준물질을 생산하고자 할 때에는 제3자에 의한 별도의 표준물질 인증을 받을 필요가 없다. 인증표준물질의 사용자는 사용목적에 적합한 정확도(측정불확도)를 갖는 인증표준물질을 선정하여 활용할 수 있으며, 시험기관이나 학술발표내용의 분석결과는 표준물질을 사용하는 것을 원칙으로 하고 있으며, 인증표준물질을 사용하지 않은 분석은 별도의 유효화(validation)과정을 거쳐야하고 특정국가의 경우는 그 국가에서 인정한 분석기관의 성적서만을 인정할 때도 있다. 즉 인증표준물질(CRM)을 사용하지 않은 분석이나 측정결과는 인정받지 못하는 기술장벽으로 이용되기도 한다.

3. 관련 규정

가. 국내법에서 정한 관련 법률과 규정들을 살펴보면 다음과 같다.

- 국가표준기본법 제15조(표준물질의 인증 및 보급)
- 국가표준기본법시행령 제13조(표준물질의 인증 및 보급)
- 표준물질인증제도운영요령(산업자원부 고시 제1999-110호)
- 표준물질인증제도운영세칙(기술표준원 고시 제1999-346호)
- 인정마크 사용 및 국제공인기관 표시를 위한 지침(KOLAS-G-001:2005)
- 표준물질생산기관의 자격에 대한 일반 요건 KS A ISO 가이드 34 등이 적용
- 교육기관 지정 및 교육과정 운영기준(기술표준원 제2003-1423호)

나. 인정기구에 대하여는 다음과 같이 ISO/IEC guide로 제시되고 있다.

- 인정기구의 운영기준(기술표준원 시험인정과, 계량계측과)에 관한 것으로 ISO/IEC Guide 58(교정및 시험기관의 인정시스템)에서 운영 및 승인을 위한 일반요건이 제시되어 있다.

다. 표준물질의 이용과 생산요건에 대해서는 다음과 같이 ISO/REMCO guide에 제시되고 있다.

- ISO Guide 30(1992) : 표준물질과 관련하여 사용되는 용어 및 정의
 - ISO Guide 31(2000) : 표준물질 - 인증서 및 라벨의 내용
 - ISO Guide 32(1997) : 화학분석에 있어서 교정 및 인증표준물질의 활용
 - ISO Guide 33(2000) : 인증표준물질의 활용
 - ISO Guide 34(2000) : 표준물질생산기관 자격에 대한 일반요건
 - ISO Guide 35(개정중) : 표준물질의 인증-일반적, 통계적 원칙
 - GUM(1995) : 측정불확도 표현지침 (ISO, IEC, BIPM, IFCC, IUPAC, IUPAP and OIML).
- * GUM : Guide to the expression of Uncertainty in Measurement
- ILAC 가이드 12 : 표준물질생산기관의 자격에 대한 ILAC 요건
 - 측정결과의 소급성 유지를 위한 지침

4. Ginsenoside의 CRM 개발

가. 필요성

CRM 개발 비용은 수입하는 것보다 훨씬 높으나 한국형 CRM은 수입할 수 없는 실정으로 그 대표적인 것이 인삼에 관련되는 것이다. 그동안 우리나라가 중주국으로써 품질을 선도하여 왔으나 제품을 국제화하고 수출하는 과정에서 성분함량을 입증하는 시험성적서를 요구하고 있고, 분석에 있어서는 공인된 시험방법과 표준물질을 사용하여 소급성이 입증된 결과를 요구하고 있는 실정이다.

이러한 관점에서 이번 Ginsenoside CRM 개발의 의의를 Fig. 1에 나타난 바와 같이 분석 결과의 신뢰성 확보를 목적으로 하고 있다.

이와 같은 요구는 오히려 품질을 선도하고 있는 우리나라에서 우선적으로 그 기준과 방법을 설정하여 해외의 제품도 우리의 표준을 적용받도록 하는 노력이 필요하다.

이러한 목적으로 국내에서는 인삼제품의 KS화, 건강기능식품으로 인삼(홍삼)제품에 대한 성분규격 중에 Ginsenoside 함량 기준을 정하고 관리하도록 추진하고 있으며, 국제규격화를 위해서 정부에서는 인삼과 인삼제품을 김치에 이어서 국제식품규격인 Codex 규격화 작업을 진행 중에 있는데 이러한 일련의 과정에서 필수적으로 요구되는 것이 성분을 정량하는데 있어 인증표준물질(CRM)의 사용여부가 관건이 된다.

인증표준물질(CRM)의 중요한 사용목적 중의 하나로 시험이나 측정방법의 유효화이다. 즉 사용한 방법이나 장비가 주어진 인증값을 얼마나 정밀하게 재현하는가를 검증하는 수단으로 사용되며, 환경과 조건이 다른 각 실험실에서 생산한 결과 값이 다른 유사한 실험실과 비교하여 어느정도 수준인지 즉 국제적 동등성 평가(비교속련도 시험)의 물질로 사용된다.

이러한 여러 요인으로 CRM을 생산하여 공급하는 것은 국내 측정결과와 국제적 신뢰성 유지는 물론 인증표준물질을 개발보급함으로써 산업현장에서의 교정, 시험 능력이 향상될 수 있다.

나. Ginsenoside CRM의 설계

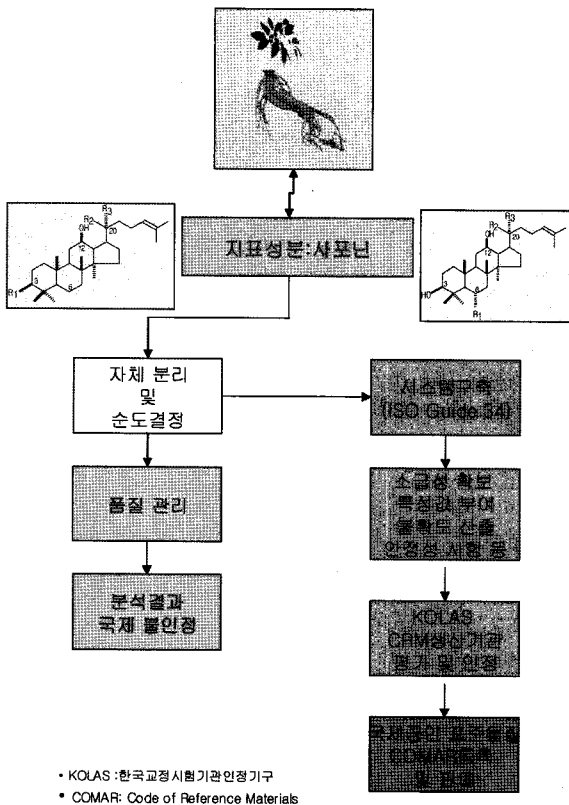
인증표준물질에는 그 용도와 개발목적에 따라 최상위표준물질(1차 표준물질, PRM), 인증표준물질(CRM) 그리고 표준물질(RM) 그리고 최근에는 품질관리 목적의 QRM(Quality control Reference Material)으로 분류되고 있는데 인삼과 관련하여서는 아직 PRM이나 CRM이 없기 때문에 우선 PRM을 개발하여 최상위 물질을 공급하고 이를 근거로 보급용의 2차 CRM과 매트릭스표준물질(Matrix CRM) 즉 홍삼분말이나, 홍삼추출물 표준물질을 생산하여 전세계의 표준물질등록센터인 COMAR(Code of Reference Materials)에 등록하여 공급하고자 한다.

이번에 개발한 Ginsenoside Rg₁과 Rb₁ 용액 CRM은 인삼사포닌중 그 함량이 높으며 기준물질로 많이 이용된 성분이며 농도는 1,000 ug/g 수준으로 HPLC(고속액체크로마토그래피) 분석 조건에 적합한 농도이다.

이번에 개발한 Ginsenoside Rg₁과 Rb₁ 용액 CRM은 다음의 표 2에 나타난바와 같이 최상위 표준물질이다.

다. Ginsenoside Rg₁과 Rb₁의 용액 표준물질제조

분리한 Ginsenoside Rg₁과 Rb₁의 물질순도와 불순물의 함량



• KOLAS : 한국교정시험기관인증기구
• COMAR: Code of Reference Materials

Fig. 1. Ginsenoside CRM 개발의 의의

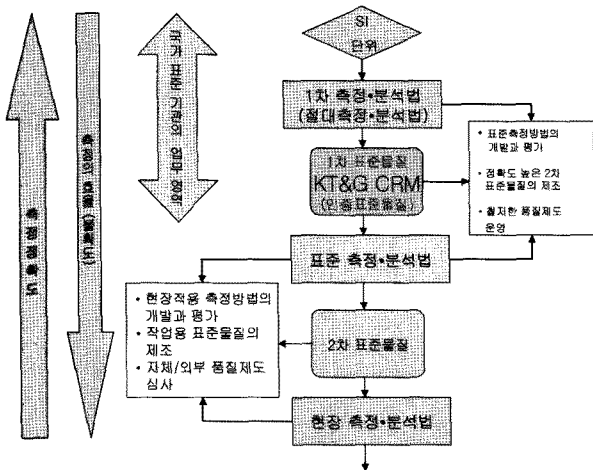


Fig. 2. Ginsenoside Rg₁, Rb₁ 용액 CRM의 등급

을 구하는 것은 분석에 있어서의 간섭(매질효과)이나 측정방법의 선택에 매우 중요하다. 그러나 아주 고순도로 제조할 경우에는 제조수율이 낮아 생산원가가 상승하기 때문에 생산자와 소비자에게 만족을 줄 수 있는 적정수준의 순도를 정하여야 한다.

진세노사이드들의 순도 측정을 위해 사용한 방법들은 HPLC, 건조법, 칼피셔법(KF), 열중량법(TGA), GC/FID법, 회화법, 여과후 중량측정법, LC/MS였다.

아래의 식을 사용하여 최종순도를 계산한 결과 Rg₁은 97.66 ± 0.03 % (k₉₅=2.36), Rb₁은 98.01 ± 0.15 % (k₉₅=4.3)로서 순도의 확장불확도는 순도측정값의 0.03~0.15 %였는데 불순물의 대부분은 수분으로 1.17 %이다.

$$Purity(\%) = P(100 - I_w - I_a - I_s - I)$$

P : Purity % (HPLC)

I_w : Water % (drying and KF)

I_a : Total ash % (heat destruction)

I_s : Solvent residue % (GC/FID)

I : Methanol insoluble matter % (Filtration)

표준물질 생산을 위한 국제기준인 “ISO 가이드 35”에 의하면 CRM 인증값의 소급성이 국가표준기관(NMI)에 있어야 하고 인증값 산출의 불확도를 엄격한 기준에 의해 산출하도록 규정되어 있다. 개발된 CRM이 국제적 기준에 맞으려면 인증값의 소급성

이 있어야 하고 균질도, 단기안정도, 장기안정도, 측정방법 등의 불확도가 과학적 근거에 의해 산출되어야 한다.

본 연구에서는 Ginsenoside Rg₁, Rb₁ 용액CRM을 개발하기 위해 고순도원료물질을 사용하여 Ginsenoside-Rg₁과 -Rb₁ 용액 CRM 후보물질을 각각 제조하였다. (각 1000 µg/g in methanol 1.2 mL x 1200 ampule)

용액 CRM의 인증을 위해 고순도 원료물질의 순도분석연구를 통해 진세노사이드 Rg₁, Rb₁ 고순도 일차표준물질(PRM)을 각각 개발하였다. 따라서 SI단위에 소급성을 가지는 Rg₁, Rb₁ 표준물질 생산이 가능하게 되었고 Rg₁, Rb₁ 표준물질 생산을 위한 ISO가이드의 소급성 관련기준을 충족시킬 수 있게 되었다.

Rg₁, Rb₁ 용액 CRM 후보물질을 12개월간 주기적으로 측정된 결과를 바탕으로 CRM의 균질성, 단기안정도, 장기안정도를 검증하였으며 불확도평가를 통해 최종 인증값을 산출하였다.

Rg₁, Rb₁ 용액 CRM 후보물질의 1개월 단기안정도를 조사한 결과 Rg₁과 Rb₁ CRM은 불확도 범위내에서 30일간 안정함을 확인하였다. Rg₁과 Rb₁ CRM 후보물질의 병간 균질도(u_{bb})는 3.6 µg/g 으로 인증값의 0.4%내 균질도를 보였으며 또한 1.1% 내에서 12개월간 안정하였다.

Rg₁ CRM 후보물질의 최종 인증값은 1121 ± 38 µg/g (k₉₅=2) 그리고 Rb₁ CRM 후보물질의 인증값은 1125 ± 32 µg/g (k₉₅=2)으로서 각각 3.4, 2.9%의 상대확장 불확도를 보였다. 이 인증값은 CRM의 중량법적 제조농도와 KRISS의 측정기준에 불확도 범위 내에서 일치하였다.

이로써 ISO CRM 개발 기준을 충족하는 국내최초의 Rg₁, Rb₁ 상업용 표준용액 CRM 개발을 완료하였다. 앞으로 실제 매트릭스 CRM을 개발하여 제품측정의 품질체계를 한 단계 더 향상시켜야 할 것이다.

전망 및 활용방안

Ginsenoside Rg₁과 Rb₁의 용액 CRM은 최상위 표준물질 (PRM, 1차 표준물질)로써 핵심기술은 물질의 순수분리와 소급성 확보, 특성값 부여, 균질도 측정, 불확도 평가와 단기 및 장기안정성 평가이다.

이러한 평가항목 들은 ISO guide의 요건과 산업자원부 기술표준원에서 정한 각종 고시와 요령을 충족시켜야하는 분석에 있어

서 최첨단 기술의 하나이다.

우리나라에서는 아직 이러한 요건에 의해 표준물질생산기관으로 인정받은 예가 없기 때문에 국내 최초의 인정기관이 되며, 인삼 성분 즉 Ginsenoside 뿐만 아니라 천연의 생약으로부터 단일 물질을 순수분리하여 CRM으로 개발된 사례가 없었다.

이번 표준물질생산기관 인정으로 세계 최초의 천연생약물질을 소재로 한 순수물질의 인증표준물질(CRM)생산기관이 됨에 따라 우리 회사의 기술이 국내는 물론 전세계에 인정받는 계기가 될 것이다.

그동안 축적된 기술을 토대로 이번에 개발된 2종류 외에도 인삼이나 생약의 효능, 효과의 지표성분을 CRM으로 계속 개발하여 전세계에 인정표준물질생산기관으로 위상을 제고하여 나가야 할 것이다.

활용분야는 국내와 국외의 인삼 및 인삼제품 품질규격이 포함된 식품공전, 대한약전, KS, Codex, 유럽약전, 中國藥典, 中國國家標準, 미국 FDA 등에서 인삼성분분석의 지표성분 표준물질로 사용될 전망이다. ●