

Application News

No. SSK-ICPMS-2001

ICP-MS

Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer

ICPMS-2030을 이용한 ICH Q3D 가이드라인 규제 금속불순물 동시 분석

(Analysis of ICH Q3D Guideline for Elemental Impurities in Pharmaceutical Products Using ICPMS-2030)

■ 시험개요

의약품 중 금속불순물은 종류 및 혼입경로 등에 따라 위해 요소가 달라질 수 있음에도 불구하고, 기존에는 주로 총 중금속을 기준으로 설정하고 관리해 왔다.¹⁾ 그러나, 분석기술의 발달 및 품질관리의 확대 추세에 따라 개별 금속으로의 관리 필요성이 제기되었고, 국제의약품규제조화위원회(이하 ICH)에서는 ICH 회원국들이 참여한 전문가회의를 통해 금속불순물 가이드라인(Guideline for elemental impurities, Q3D)²⁾을 제정하여 공개하였다. 이에 따라, 미국은 미국약전(The United States Pharmacopeia, 이하 USP)³⁾에서 중금속 총량을 시험하는 “USP <231> HEAVY METAL”을 삭제하고, “USP <232> ELEMENTAL IMPURITIES-LIMITS”, “USP <233> ELEMENTAL IMPURITIES-PROCEDURES”을 새롭게 제정하여 2018년 1월부터 개별 금속불순물에 대해 규제하고 있으며, 국내에서도 대한민국약전(이하 대한약전) 제12개정판(식품의약품안전처고시 제2019-102호)을 통해 2020년 3월부터 금속불순물 시험법을 적용하고 있다.⁴⁾

상기 시험법에서 규제하는 대표적인 24종의 원소는 위해성과 존재 가능성에 따라 몇 개의 그룹(Class 1, 2A, 2B, 3)으로 나뉘며, 투여경로와 혼입가능성 등을 고려하여 관리가 요구되는 금속불순물을 분석 대상으로 선정하게 된다. 이렇게 선정된 금속불순물은 미량까지 동시분석이 가능한 ICP-OES(Inductively coupled plasma optical emission spectrometer, 이하 ICP-OES) 또는 ICP-MS(Inductively coupled plasma mass spectrometer, 이하 ICP-MS)를 사용하도록 규정하고 있다.

의약품 시료는 여러가지 형태의 유·무기화합물을 포함하고 있기 때문에 ICP-OES 및 ICP-MS 분석에 가장 적합한 시험용액을 준비하기 위해서는 마이크로웨이브를 이용한 전처리가 권장된다. 하지만, 이러한 시료 전처리와 기기 분석(특히, ICP-MS에서 2종 이상의 원소를 동시 분석하는 경우)의 과정에서 다음과 같은 문제가 발생할 수 있기 때문에 주의가 필요하다.

첫째, 개별 표준용액을 이용하여 혼합 표준용액 조제 시 각 성분들의 화학반응 및 시료 전처리 시 시약, 온도, 시료의 특성에 따른 침전, 휘발 등에 의한 손실 둘째, 기기분석 시 주입되는 용액 내 원소 간의 상호작용에 의한 이온화 간섭, 질량 간섭 등

이에 본 뉴스레터에서는 24종의 원소를 동시 분석하는 경우에 발생할 수 있는 대표적인 문제점을 소개하고 이에 대한 해결방안을 제시하고자 하며, 개선된 시험방법에 대한 밸리데이션(Method validation) 결과를 소개하고자 한다.

■ 문제점 1: 24종 원소 혼합 표준용액 내 간섭

ICH Q3D에서는 주요 24종 원소에 대해 아래 <표 1>과 같이 Class를 구분하여 1일 노출허용량(PDE: Permissible daily exposures, 이하 PDE)을 제시하고 있으며, 완제의약품 시험용액 내 각 원소의 기준 농도(J-Value)는 이 PDE값으로부터 산출된다.^{3), 4)}

Class 1은 매우 유해하다고 알려진 중금속으로 적은 양의 PDE값이 설정되어 있는 반면, Class 3은 비교적 많은 양을 허용하고 있기 때문에, 24종 원소를 동시에 혼합하여 분석하는 경우, PDE 값이 높은 Class 3의 원소들에 의해 상대적으로 PDE 값이 낮은 Class 1, 2의 원소들이 간섭을 받지 않는지 확인해 보고자 하였다. 또한, 많은 금속 원소 표준용액들이 질산수용액으로 제조되고 있지만, Class 2B의 일부 원소는 염산수용액에서 안정하기 때문에 표준용액 또한 염산수용액으로 제조된 경우가 많다. 이로 인해 다른 종류의 용액을 혼합하여 24종 원소를 모두 포함한 표준용액을 조제하는 경우에 나타날 수 있는 화학반응의 영향도 함께 고려해 보았다.

〈표 1〉 ICH Q3D 금속불순물에 대한 1일 노출허용량(PDE)

Class	원소	1 일 노출허용량 (PDE, µg/day)			Class	원소	1 일 노출허용량 (PDE, µg/day)		
		경구	비경구	흡입			경구	비경구	흡입
1	Cd	5	2	3	2B	Rh	100	10	1
	Pb	5	5	5		Ru	100	10	1
	As	15	15	2		Pt	150	80	130
	Hg	30	3	1		Ag	150	10	7
2A	Co	50	5	3	Se	100	10	1	
	V	100	10	1	3	Li	550	250	25
	Ni	200	20	5		Sb	1 200	90	20
2B	Tl	8	8	8		Ba	1 400	700	300
	Au	100	100	100		Mo	3 000	1 500	10
	Pd	100	10	10		Cu	3 000	300	30
	Ir	100	10	10		Sn	6 000	600	60
	Os	100	10	10	Cr	11 000	1 100	3	

1. 시험기기 및 조건

각 원소별 특성과 표준용액 시판품을 고려하여 24 중 원소를 6 개 그룹으로 나누었으며, 각 그룹 별로 총 6 개의 검정곡선을 작성하여 그룹 간의 질량 간섭을 확인하였다. 이때, 측정 농도는 1 일 최대섭취량을 10 g/day로 하고 전처리에 따른 최종 희석배수를 250 배로 가정해서 산출한 J-value를 기준으로 하였으며, 시험기기 및 세부 분석조건은 〈그림 1〉, 〈표 2〉와 같다.



〈그림 1〉 ICP-MS System

Instrument	ICPMS-2030
RF power	1.20 kW
Sampling depth	5.0 mm
Plasma gas flow	8.0 L/min
Auxiliary gas flow	1.10 L/min
Quantification method	Internal Standard Correction Method Inter Element Correction (On/Off)
Carrier gas flow	0.70 L/min
Cell gas (He) flow	6.0 mL/min
Torch type	Mini torch
Number of scan	10 times
Repetition	3 times

〈표 2〉 ICP-MS 분석 조건

2. 시험 결과

〈표 3〉은 24종 혼합용액 분석에 있어서 각 그룹 간의 간섭 정도를 확인한 것으로, 그룹별 표준용액으로 작성된 검정곡선을 이용하여 각 그룹별 용액과 24종 혼합용액에 대해 정량 분석한 결과를 나타낸 것이다. 〈표 3〉에서 24종 혼합용액의 결과(우측 마지막 열)를 보면 대부분의 원소들은 타 그룹 원소로부터의 질량 간섭에 의한 증감율이 5% 이내인 것을 확인할 수 있으나, ¹¹¹Cd(Cadmium, 이하 Cd)의 경우에는 Group 5에 포함되고 농도의 Mo(Molybdenum, 이하 Mo)에 의해 생성된 ⁹⁵Mo¹⁶O⁺의 영향으로 30%의 증가를 보이는 것을 확인할 수 있다. 이러한 문제는 Collision cell의 조건 변경, 보정 수식의 사용, 간섭원소보정법(Inter Element Correction, 이하 IEC) 등을 통해 해결이 가능하다. 본 시험에서는 이 중 IEC법을 적용하여 ¹¹¹Cd(IEC) 항목의 증감율에서 보는 바와 같이 Mo의 간섭이 배제된 결과를 확인할 수 있었다. 또한, Group 3의 은(Ag)과 Group 4의 염산(HCl)수용액의 혼합과정에서 생성될 수 있는 염화은(AgCl) 침전의 영향도 거의 없었음을 확인할 수 있었다.

〈표 3〉 각 원소 그룹별 용액 및 24종 혼합용액 분석 결과에 따른 간섭 확인

원소 그룹별 검정곡선 작성 구분		각 원소 그룹별 용액 측정 결과 (µg/L)								24종 혼합 용액 측정결과(µg/L)	
		J Value	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5	Group 6	결과	증감율	
Class 1	Group 1	¹¹¹ Cd	2	1.94	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.562	<LOQ	2.54	30.0 %
		¹¹¹ Cd (IEC)	2	1.94	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.94	-
		²⁰⁸ Pb	2	2.01	<LOQ	<LOQ	0.016	<LOQ	<LOQ	2.01	-
		⁷⁵ As	6	5.75	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.043	<LOQ	5.91	2.7 %
		²⁰² Hg	12	11.9	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	11.9	-
Class 2A	Group 2	⁵⁹ Co	20	<LOQ	19.5	<LOQ	<LOQ	0.125	<LOQ	20.1	3.0 %
		⁵¹ V	40	<LOQ	39.6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	39.1	1.3 %
		⁶⁰ Ni	80	<LOQ	77.9	<LOQ	<LOQ	0.576	<LOQ	80.3	3.0 %
Class 2B	Group 3	²⁰⁵ Tl	3.2	<LOQ	<LOQ	3.17	0.017	<LOQ	<LOQ	3.16	0.3 %
		¹⁰⁷ Ag	60	<LOQ	<LOQ	59.3	0.004	<LOQ	<LOQ	61.8	4.2 %
		⁷⁸ Se	60	<LOQ	<LOQ	61.4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	59.8	2.7 %
	Group 4	¹⁹⁷ Au	40	<LOQ	<LOQ	<LOQ	38.6	<LOQ	<LOQ	39.6	2.5 %
		¹⁰⁵ Pd	40	<LOQ	<LOQ	<LOQ	39.4	<LOQ	<LOQ	41.2	4.5 %
		¹⁹³ Ir	40	<LOQ	<LOQ	<LOQ	39.8	0.020	0.010	41.1	3.3 %
		¹⁸⁹ Os	40	<LOQ	<LOQ	<LOQ	39.4	0.109	0.036	40.3	2.3 %
		¹⁰³ Rh	40	<LOQ	<LOQ	<LOQ	39.5	0.008	0.004	41.2	4.3 %
		¹⁰¹ Ru	40	<LOQ	<LOQ	<LOQ	39.4	0.002	<LOQ	41.2	4.5 %
		¹⁹⁵ Pt	40	<LOQ	<LOQ	<LOQ	38.9	<LOQ	<LOQ	39.8	2.3 %
Class 3	Group 5	¹²¹ Sb	480	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	499	<LOQ	508	1.9 %
		⁹⁵ Mo	1200	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1210	0.060	1240	2.5 %
		¹¹⁸ Sn	2400	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2490	<LOQ	2500	0.4 %
	Group 6	⁷ Li	220	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.070	<LOQ	228	219	4.1 %
		¹³⁷ Ba	560	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.165	0.201	567	563	0.7 %
		⁶³ Cu	1200	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.440	<LOQ	1198	1208	0.8 %
		⁵² Cr	4400	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.210	<LOQ	4450	4420	0.7 %

* LOQ(Limit of quantitation, 정량한계): Calibration blank를 10회 반복 측정된 표준편차에 의해 산출

USP 및 대한약전의 Method Validation 항목에는 정확성 및 정밀성 검증을 위해 첨가회수율 시험을 요구하고 있다. 하지만, 검정곡선의 작성 뿐만 아니라 회수율 시험을 위한 첨가 표준용액 또한 24 종의 원소를 혼합하여 사용한다면, 두 경우 모두 Mo의 함량이 높은 조건에서 Cd의 분석이 진행되기 때문에 정확성 및 정밀성에는 크게 문제가 없는 것처럼 인식될 수 있는데, 이 경우 첨가 회수율 시험이 아닌 실제 제품 시험에서는 시험용액 내 Mo의 함량에 따라 시료의 Cd 함량이 실제와 다른 결과로 정량 분석되는 오류를 범할 수 있다. 따라서, 2 종 이상의 원소를 동시에 분석하는 경우 이와 같은 별도의 시험을 통해 분석 원소 간의 질량간섭 여부를 확인하는 과정이 선행되어야 할 필요가 있다.

■ 문제점 2: 오스뮴(Osmium, 이하 Os)의 특성과 첨가회수율 시험의 오류

1. 문제점

질산 및 염산을 이용한 통상적인 마이크로웨이브 법으로 전처리한 후, ICP-MS 분석을 수행할 경우에 Class 2B 원소 중 Os의 첨가회수율이 아래 <표 4>에서 보는 것과 같이 300 % 이상 나타나는 문제가 발생할 수 있다.

<표 4> Os 첨가회수율 시험 오류

원소	첨가농도 (µg/L)	Microwave 첨가시약 1 (HNO ₃ 6 mL)					Microwave 첨가시약 2 (HNO ₃ 6 mL + HCl 1 mL)	
		시료	시료 + Group 4 표준용액		시료 + Os 단일표준용액		시료 + Group 4 표준용액	
		측정값 (µg/L)	측정값 (µg/L)	회수율	측정값 (µg/L)	회수율	측정값 (µg/L)	회수율
Au	20	<LOQ	22.0	110 %	-	-	22.6	113 %
Pd	20	<LOQ	20.6	103 %	-	-	19.2	96 %
Ir	20	0.154	22.7	113 %	-	-	22.6	112 %
Os	20	1.06	67.0	330 %	68.0	335 %	69.2	341 %
Rh	20	<LOQ	20.9	105 %	-	-	19.2	96 %
Ru	20	<LOQ	20.7	104 %	-	-	19.0	95 %
Pt	20	<LOQ	22.2	111 %	-	-	22.2	111 %

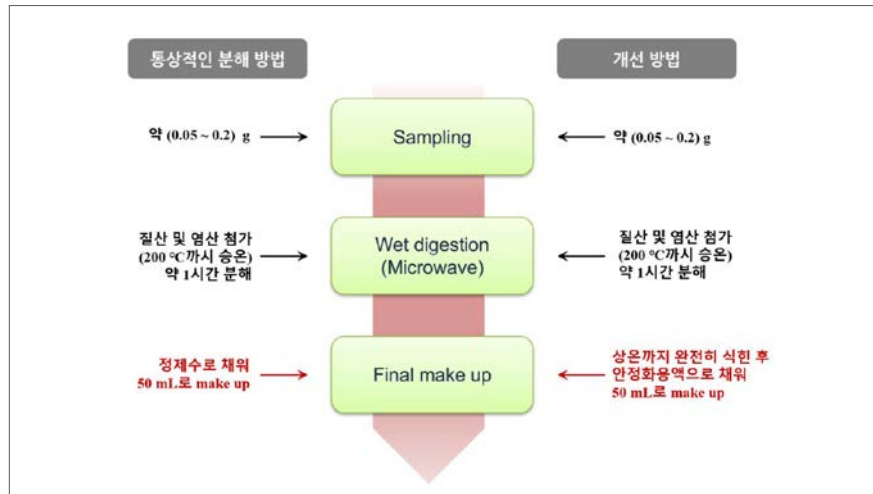
이와 같이 원소 분석에 있어서 첨가 회수율에 영향을 주는 원인으로는 크게 3가지 ① 휘발, 침전에 따른 손실, ② 매질 간섭에 의한 상승, ③ 오염에 따른 문제로 생각할 수 있다.

Os은 원소 특성상 산화성 조건에서 가열처리 할 때, 맹독성의 사산화오스뮴(Osmium tetroxide, 이하 OsO₄) 증기를 쉽게 생성하기 때문에, 일반적으로 ①과 같은 원인에 의해 분석 결과에 손실을 주는 것으로 알려져 있지만, <표 4>에서는 이와 반대로 오히려 증가한 회수율을 보여주고 있다. 이러한 비정상적인 결과는 산화성 조건에서 마이크로웨이브로 처리된 시험용액이 ICP-MS로 도입되어 네블라이저(Nebulizer)에서 분무가 될 때 OsO₄가스가 다량으로 생성되어 토치(Torch)로 유입되기 때문인 것으로 알려져 있다.⁷⁾

이에 본 실험에서는 이러한 회수율 문제를 해결하기 위해 안정화제를 이용한 방법을 적용하였다.^{5), 6)}

2. 시료의 전처리 및 분석 조건

산화억제를 위해 Ascorbic acid와 Thiourea 일정량을 정제수에 용해하여 안정화 용액을 준비하였으며, 시료의 전처리는 아래 <그림 2>와 같은 방식으로 개선하였다. 회수율 시험을 위한 표준용액은 시료 분취 즉시 첨가하였으며, 기기 분석 조건은 앞서 진행한 <표 2>와 같다.



〈그림 2〉 오스뮴 첨가회수율 시험 시료 전처리 방법

3. 시험 결과

개선된 시료 전처리 방법을 적용하여, Os이 포함된 그룹에 대한 첨가 회수율 시험을 진행한 결과, 〈표 5〉에서와 같이 (90 ~ 106) %의 회수율을 얻을 수 있었다.

〈표 5〉 오스뮴 첨가회수율 시험 방법 변경 후 결과

원소	첨가 농도 (µg/L)	안정화 용액(Thiourea, Ascorbic acid) 사용 결과		
		시료	시료 + Group 4 표준용액	
		측정값 (µg/L)	측정값 (µg/L)	회수율
Au	10	0.13	9.49	94 %
Pd	10	< LOQ	10.3	103 %
Ir	10	< LOQ	10.6	106 %
Os	10	0.134	9.17	90 %
Rh	10	< LOQ	10.3	103 %
Ru	10	< LOQ	10.4	104 %
Pt	10	0.102	9.93	98 %

■ 24종 금속불순물 동시 분석을 위한 시험방법 밸리데이션 (Method validation)

앞서 진행된 시험 결과를 토대로 『USP <233> ELEMENTAL IMPURITIES—PROCEDURES』에 준하여 시험방법 밸리데이션 요구사항 중 정확성 (Accuracy) 및 정밀성 (Precision) 시험을 진행하였고, 추가로 시험 결과에 대한 시스템 적합성 (System suitability)도 확인하였다. 다만, 본 시험에서는 USP <233>에서 요구하는 정량 범위인 (50 ~ 150) %를 확장하여 다음과 같이 적용하였다.

- 1) 검정곡선: 기준농도 (J-value)의 (20 ~ 200) % 범위에서 5 Level.
- 2) 정확성 시험: 기준농도 (J-value)의 30 %, 100 %, 150 % 농도.

대상 시료는 나트륨 성분이 포함된 향생물질제제로 하였으며, 시료의 전처리는 〈그림 2〉의 방법으로 시료량은 0.2 g, 분해 시약은 질산 6 mL, 염산 1 mL를 사용하였다. 산출된 기준농도 (J-value)와 원소별 분석 조건은 다음 〈표 6〉과 같다.

〈표 6〉 금속불순물(24종) 분석 시험 설계

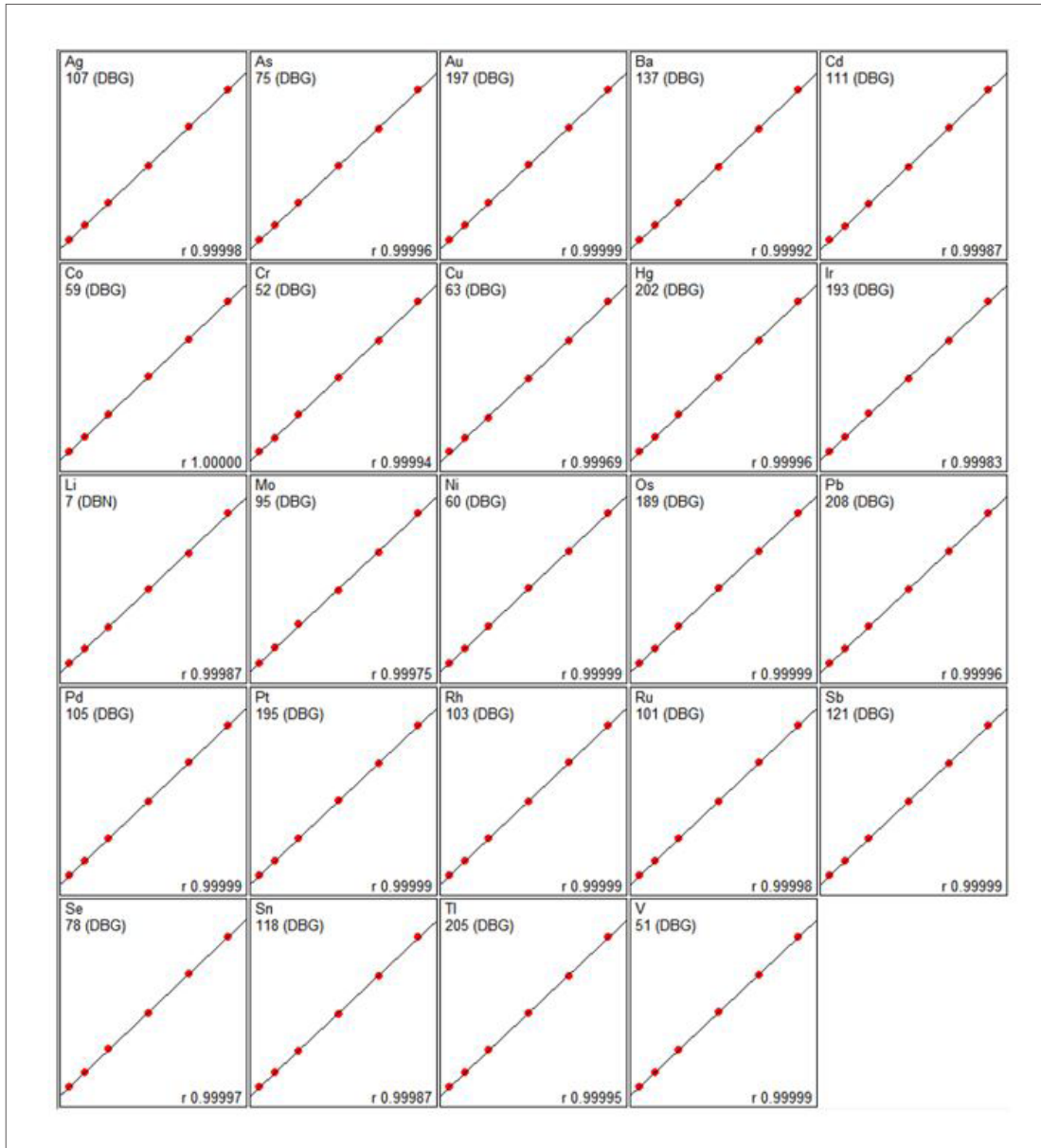
제제의 1일 섭취량 (g)			10	전처리 시료 분취량 (g)	0.2	시험용액의 최종 부피 (mL)					50	
분류	원소	경구 PDE (µg/day)	1일 투여량에 따른 최대 허용 농도 (µg/g)	시료 전처리에 따른 시험용액의 기준 농도 J (µg/L)	검정곡선 작성용 표준용액의 농도 (µg/L)					질량수	Collision 모드	내부 표준원소
					STD_1 (0.2J)	STD_2 (0.5J)	STD_3 (1.0J)	STD_4 (1.5J)	STD_5 (2.0J)			
1	Cd	5	0.5	2.0	0.4	1.0	2.0	3.0	4.0	111	ON	Te(128)
	Pb	5	0.5	2.0	0.4	1.0	2.0	3.0	4.0	208	ON	Ta(181)
	As	15	1.5	6.0	1.2	3.0	6.0	9.0	12.0	75	ON	Ga(71)
	Hg	30	3	12.0	2.4	6.0	12.0	18.0	24.0	202	ON	Ta(181)
2A	Co	50	5	20	4	10	20	30	40	59	ON	Ga(71)
	V	100	10	40	8	20	40	60	80	51	ON	Ga(71)
	Ni	200	20	80	16	40	80	120	160	60	ON	Ga(71)
2B	Tl	8	0.8	3.2	0.6	1.6	3.2	4.8	6.4	205	ON	Ta(181)
	Au	100	10	40	8	20	40	60	80	197	ON	Ta(181)
	Pd	100	10	40	8	20	40	60	80	105	ON	Y(89)
	Ir	100	10	40	8	20	40	60	80	193	ON	Ta(181)
	Os	100	10	40	8	20	40	60	80	189	ON	Ta(181)
	Rh	100	10	40	8	20	40	60	80	103	ON	Y(89)
	Ru	100	10	40	8	20	40	60	80	101	ON	Y(89)
	Pt	100	10	40	8	20	40	60	80	195	ON	Ta(181)
	Ag	150	15	60	12	30	60	90	120	107	ON	Y(89)
3	Se	150	15	60	12	30	60	90	120	78	ON	Ga(71)
	Li	550	55	220	44	110	220	330	440	7	OFF	Be(9)
	Sb	1200	120	480	96	240	480	720	960	121	ON	Te(128)
	Ba	1400	140	560	112	280	560	840	1120	137	ON	Te(128)
	Mo	3000	300	1200	240	600	1200	1800	2400	95	ON	Y(89)
	Cu	3000	300	1200	240	600	1200	1800	2400	63	ON	Ga(71)
	Sn	6000	600	2400	480	1200	2400	3600	4800	118	ON	Te(128)
	Cr	11000	1100	4400	880	2200	4400	6600	8800	52	ON	Ga(71)

1. 분석 조건

ICP-MS 기기 분석 조건은 <표 2>와 같으며, $^{95}\text{Mo}^{16}\text{O}^+$ 에 의한 간섭 보정을 위해 ^{111}Cd 분석에 IEC 보정을 적용하였다.

2. 검정곡선의 작성

상기 조건에 따라 작성된 검정곡선의 상관계수(Correlation coefficient, R^2)는 <그림 3>에서 보는 것과 같이 24종 모든 원소에 대해서 0.999 이상의 직선성을 보였다.



<그림 3> 24종 원소의 검정곡선

3. 정확성(Accuracy)

기준농도(J-value)의 30 %, 100 %, 150 %에 해당하는 3개 농도를 첨가하여 회수율 시험을 진행한 결과를 <표 7>에 나타내었다. 24 종 원소 모두 USP <233> 및 대한약전의 허용 범위인 (70 ~ 150) %의 회수율을 보였다.

<표 7> 정확성 시험 결과

원소	시험 결과 (µg/L)									
	대상 시료	30 % of J-Value			100 % of J-Value			150 % of J-Value		
		첨가농도	측정값	회수율 (정확성)	첨가농도	측정값	회수율 (정확성)	첨가농도	측정값	회수율 (정확성)
Cd	< LOQ	0.6	0.533	89 %	2	1.73	86 %	3	2.56	85 %
Pb	< LOQ	0.6	0.576	96 %	2	1.85	93 %	3	2.77	92 %
As	< LOQ	1.8	1.95	108 %	6	6.31	105 %	9	9.80	109 %
Hg	0.248	3.6	3.56	92 %	12	11.37	93 %	18	17.1	94 %
Co	< LOQ	6	5.67	94 %	20	18.83	94 %	30	28.5	95 %
V	< LOQ	12	12.1	101 %	40	40.20	101 %	60	60.7	101 %
Ni	0.121	24	22.2	92 %	80	73.73	92 %	120	111	93 %
Tl	< LOQ	0.96	0.918	96 %	3.2	3.01	94 %	4.8	4.49	94 %
Ag	< LOQ	18	15.1	84 %	60	50.57	84 %	90	76.9	85 %
Se	< LOQ	18	20.3	113 %	60	68.93	115 %	90	103	114 %
Au	< LOQ	12	11.6	97 %	40	37.67	94 %	60	56.1	93 %
Pd	0.575	12	10.8	85 %	40	35.00	86 %	60	53.2	88 %
Ir	< LOQ	12	12.1	101 %	40	39.30	98 %	60	62.4	104 %
Os	< LOQ	12	10.3	86 %	40	33.57	84 %	60	51.9	87 %
Rh	0.162	12	10.6	87 %	40	35.43	88 %	60	54.1	90 %
Ru	< LOQ	12	10.8	90 %	40	36.03	90 %	60	55.1	92 %
Pt	< LOQ	12	11.4	95 %	40	37.20	93 %	60	55.4	92 %
Sb	< LOQ	144	129	89 %	480	424	88 %	720	638	89 %
Mo	< LOQ	360	354	98 %	1200	1170	98 %	1800	1860	103 %
Sn	< LOQ	720	665	92 %	2400	2200	92 %	3600	3460	96 %
Li	< LOQ	66	71.2	108 %	220	240	109 %	330	359	109 %
Ba	4.60	168	152	88 %	560	498	88 %	840	753	89 %
Cu	< LOQ	360	321	89 %	1200	1150	96 %	1800	1800	100 %
Cr	< LOQ	1320	1360	103 %	4400	4480	102 %	6600	6960	105 %

* LOQ(Limit of quantitation): Calibration blank를 10 회 반복 측정된 표준편차에 의해 산출
* 측정값은 첨가 농도별로 3 회 측정의 평균값임.

4.정밀성(Precision) - 반복성(Repeatability)

기준농도(J-value)에 해당하는 첨가시료를 6 회 시험한 결과를 <표 8>에 나타내었다. 전체 24 종의 원소의 상대표준편차(Relative Standard Deviation, 이하RSD)가 (0.7 ~ 3.8) % 수준으로 USP <233> 및 대한약전의 허용범위인 20 % 이내에 분포하고 있다.

<표 8> 정밀성 시험 결과

원소	시험 결과 (µg/L)							상대표준편차 (RSD)
	첨가농도	1회	2회	3회	4회	5회	6회	
Cd	2	1.70	1.75	1.73	1.73	1.74	1.71	1.1%
Pb	2	1.85	1.86	1.85	1.82	1.86	1.83	0.9%
As	6	6.39	6.29	6.24	6.30	6.22	6.34	1.0%
Hg	12	11.3	11.4	11.4	11.3	11.5	11.4	0.7%
Co	20	19.0	18.9	18.6	18.8	18.4	18.6	1.2%
V	40	40.6	40.2	39.8	40.1	39.2	39.6	1.2%
Ni	80	74.5	73.8	72.9	73.3	71.7	72.6	1.3%
Tl	3.2	3.00	3.02	3.00	2.95	3.00	2.95	1.0%
Ag	60	50.9	50.5	50.3	50.6	49.9	50.5	0.7%
Se	60	68.3	69.6	68.9	68.7	68.0	68.7	0.8%
Au	40	37.7	37.7	37.6	37.2	37.7	37.2	0.7%
Pd	40	35.3	34.9	34.8	35.0	34.5	35.0	0.8%
Ir	40	39.3	39.4	39.2	38.7	39.3	38.7	0.8%
Os	40	33.6	33.6	33.5	33.0	33.5	33.0	0.9%
Rh	40	35.7	35.3	35.3	35.5	34.9	35.4	0.8%
Ru	40	36.3	35.9	35.9	36.0	35.5	36.0	0.7%
Pt	40	37.2	37.3	37.1	36.6	37.2	36.6	0.9%
Sb	480	419	430	422	421	431	421	1.2%
Mo	1200	1170	1170	1170	1190	1170	1190	0.9%
Sn	2400	2160	2230	2200	2210	2270	2220	1.6%
Li	220	238	241	240	220	232	224	3.8%
Ba	560	493	504	496	495	504	490	1.2%
Cu	1200	1160	1150	1150	1160	1140	1160	0.7%
Cr	4400	4500	4490	4450	4500	4420	4490	0.7%

5. 시스템 적합성(System suitability)

시스템 적합성 평가를 위한 시료 분석 전, 후의 감도 변화(Drift)는 아래 <표 9>와 같이 전체 24 종의 원소가 초기값의 (0.2 ~ 8.3) % 수준으로 USP <233> 및 대한약전의 허용 범위인 20 % 미만의 결과를 보였다.

<표 9> 시스템 적합성 시험 결과

원소	측정값 (µg/L)		변동율 (Drift rate)	원소	측정값 (µg/L)		변동율 (Drift rate)
	초기	최종			초기	최종	
Cd	2.94	2.86	-2.7 %	Ir	59.9	64.9	8.3 %
Pb	3.01	3.00	-0.3 %	Os	59.7	59.6	-0.2 %
As	8.88	8.69	-2.1 %	Rh	59.2	56.8	-4.1 %
Hg	18.1	17.8	-1.7 %	Ru	58.9	56.9	-3.4 %
Co	29.3	28.5	-2.7 %	Pt	59.5	58.2	-2.2 %
V	58.5	58.1	-0.7 %	Sb	715	708	-1.0 %
Ni	117	113	-3.4 %	Mo	1780	1880	5.6 %
Tl	4.80	4.76	-0.8 %	Sn	3570	3870	8.4 %
Ag	88.9	84.8	-4.6 %	Li	323	345	6.8 %
Se	90.4	91.7	1.4 %	Ba	833	830	-0.4 %
Au	59.8	58.3	-2.5 %	Cu	1790	1870	4.5 %
Pd	59.2	56.6	-4.4 %	Cr	6520	6880	5.5 %

■ 결론

ICH Q3D 가이드라인에 준하여 개정된 USP42-NF37 및 대한약전 제 12 개정에서 규제하는 24 종의 금속 불순물은 투여경로 및 원료, 공정 등의 혼입가능성을 판단하여 전부 또는 일부를 관리하도록 되어 있다. 이를 위한 시험에 사용되는 ICP-OES와 ICP-MS는 70 여종의 원소를 동시에 분석할 수 있는 기기로 알려져 있지만, 시료에 포함된 성분과 분석 원소수가 증가함에 따라 시료 전처리, 분석 조건 등의 제한 사항들로 인해 동시 분석이 불가능한 경우도 있다.

이에 본 뉴스레터에서는 ICP-MS를 이용하여 24 종의 원소를 분석하는 경우에 발생할 수 있는 문제점을 점검하였고, 이를 개선하여 동시 분석에서도 정확하고, 정밀한 분석이 가능함을 확인하였다.

■ 참고 문헌

1. 김은경, 지정은, 박인숙, 김은정, 이선희, 의약품 중 금속불순물 관리의 국제조화: ICH Q3D 가이드라인, FDC 법제연구, 10(1), 63-73, 2015
2. ICH(The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) Q3D(R1) Guideline for Elemental Impurities, Step 4, 2019.03.22
3. USP42-NF37 <232> ELEMENTAL IMPURITIES—LIMITS, <233> ELEMENTAL IMPURITIES—PROCEDURES, 2019.08.12
4. 대한민국 약전 제12개정, 식품의약품안전처 고시 제2019-102호, 2019.11.06
5. Cornel Venzago, Maximilian Popp, Jessica Kovac and Andrea Kunkel, Pharmacopeial requirements for elemental impurities: a novel approach to the trace determination of osmium by oxidative pressure vessel sample digestion and measurement using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after complexation and stabilization, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2013, 28, 1125-1129
6. Matthias H. M. Klose, Michaela Hejl, Petra Heffeter, Michael A. Jakupec, Samuel M. Meier-Menches, Walter Berger, and Bernhard K. Keppler, Post-digestion stabilization of osmium enables quantification by ICP-MS in cell culture and tissue, Analyst - The Royal Society of Chemistry, 2017, 142, 2327-2332
7. Paul Gaines, Ph.D., Sample containing Ruthenium and Osmium, Inorganic ventures, <https://www.inorganicventures.com/samples-containing-ruthenium-and-osmium>