

UV-Vis를 이용한 의약품 분석: USP 챕터 <857> 및 유럽 약전(Ph. Eur. 챕터 2.2.25) 준수

Agilent Cary 3500 UV-Vis를 이용해
전 세계의 약전 요건 충족



서론

UV-Vis 분광법은 품질 보장/품질 관리(QA/QC) 및 의약품 연구에서 널리 사용되는 분석 기법입니다. 이러한 환경에 있는 모든 실험실에 있어 실험실 액세스를 적절하게 통제하고 시스템 적합성 테스트(SST) 및 표준 작업 절차서(SOP)를 포함한 우수의약품제조관리기준(GMP) 문서의 가용성과 준수 여부를 확인하는 것이 매우 중요합니다. 미국 약전(USP) 및 유럽 약전(Ph. Eur.) 지침은 UV-Vis 분광 광도계의 분석 성능이 의도한 분석 운용 범위에 적합한지를 검증하는 방법에 대해 설명합니다.

Cary 3500용 Cary UV Workstation 소프트웨어 내에서 다양한 시스템 검증 테스트를 이용하고 자동화할 수 있습니다. 이러한 테스트는 약전 요건에 부합할 뿐만 아니라 유연성을 발휘해 제한적인 사용자 정의 테스트 목록을 포함할 수도 있습니다. USP 일반 챕터 <857> 및 Ph. Eur. 챕터 2.2.25는 UV-Vis 분광법에

대한 기기 운영 적격성 프로토콜을 안내합니다. 표 1 및 2는 이러한 시스템 검증 테스트와 함께 간략한 설명을 제공합니다. 시스템 검증 테스트는 모든 테스트를 성공적으로 통과하면 해당 기기가 USP 및 Ph. Eur. 사양에 따라 작동함을 보장하도록 설계되었습니다.

표 1. Cary 3500 UV-Vis 시스템에 권장되는 미국 약전(USP) 시스템 검증 테스트

테스트 카테고리	USP 테스트 설명 및 한계	
파장 제어 분석법	최소 6회 반복 측정을 통해 각 분석 파장의 평균 및 표준편차 보고	
파장 제어 권장 표준물질	Holmium in perchloric acid solution	200 ~ 400nm ± 1nm 400 ~ 780nm ± 2nm ≤ 0.5nm 표준편차
	Cerium sulfate solution	200 ~ 400nm ± 1nm ≤ 0.5nm 표준편차
	Didymium solution	400~900nm ± 2nm ≤ 0.5nm 표준편차
	Holmium oxide 유리 필터	200 ~ 400nm ± 1nm 400 ~ 780nm ± 2nm ≤ 0.5nm 표준편차
Xenon 램프	권장 원자선, 260.6nm	
흡광도 제어 분석법	최소 6회 반복 측정, 각 분석 파장의 표준편차 보고	
흡광도 제어 권장 표준물질	Potassium dichromate(K ₂ Cr ₂ O ₇) solutions	UV(200 ~ 400nm) < 1 Abs, 20 ~ 60mg/L 사용 정확도: < ±0.01 Abs 정밀도: < ±0.005 Abs > 1 Abs, 80 ~ 200mg/L 사용 정확도: < ±1% Abs 정밀도: < ±0.5% Abs VIS(400 ~ 780nm) < 1 Abs, 600mg/L 정확도: < ±0.01 Abs 정밀도: < ±0.005 Abs
	NIST neutral density standards	VIS(400 ~ 780nm) 정확도: < 1 Abs, < ±0.008 Abs > 1 Abs, < ±0.8% Abs 정밀도: < 1 Abs, < ±0.005 Abs > 1 Abs, < ±0.5% Abs

표 1. 계속. Cary 3500 UV-Vis 시스템에 권장되는 미국 약전(USP) 시스템 검증 테스트

테스트 카테고리	USP 테스트 설명 및 한계	
광도 제어 직선성 분석법	필요한 운용 범위를 포함하는 최소 3가지의 서로 다른 적절한 흡광도 레벨 측정	
광도 직선성 제어 권장 표준물질	적합한 인증 표준물질 예: Potassium Dichromate(K ₂ Cr ₂ O ₇) solutions	UV 200 ~ 400nm, 모든 농도는 흡광도 허용 기준의 정확도를 충족해야 합니다.
미광 분석법	Procedure A: 동일한 필터 용액으로 채운 10mm 셀의 5mm 경로 길이 셀에서 생성된 스펙트럼 차감을 통해 미분 스펙트럼 생성	
	Procedure B: 적절한 표준물질로 채운 10mm 셀에 맞게 지정된 컷오프 용액 필터의 흡광도 측정 및 권장 파장에서 최대 흡광도 값(A) 또는 최소 % 투과율(%T) 기록	
미광 권장 표준물질	198nm에서 %T, 190 ~ 210nm 보고	Aqueous potassium chloride(12g/L), Procedure A: sλ ≤ 0.01 또는 Aλ ≥ 0.7 A Procedure B: Amax ≥ 2.0 A 또는 %Tmin < 1%T
	220nm에서 %T, 210 ~ 270nm 보고	Aqueous sodium iodide(10g/L), Procedure A: sλ ≤ 0.01 또는 Aλ ≥ 0.7 A Procedure B: Amax ≥ 2.0 A 또는 %Tmin < 1%T
	320nm에서 %T, 250~330nm 보고	Acetone, Procedure A: sλ ≤ 0.01 또는 Aλ ≥ 0.7 A Procedure B: Amax ≥ 2.0 A 또는 %Tmin < 1%T
	370nm에서 %T, 300 ~ 400nm 보고	Aqueous sodium nitrite(50g/L), Procedure A: sλ ≤ 0.01 또는 Aλ ≥ 0.7 A Procedure B: Amax ≥ 2.0 A 또는 %Tmin < 1%T
분리능 분석법 및 한계	269 및 266nm에서 흡광도 비율	Toluene in hexane, 0.02% v/v

표 2. Cary 3500 UV-Vis 시스템에 권장되는 유럽 약전(Ph. Eur.) 시스템 검증 테스트

테스트 카테고리	Ph. Eur. 테스트 설명 및 한계	
파장 제어 분석법	하나 이상의 인증 표준물질을 사용해 의도한 스펙트럼 범위를 포괄하는 최소 2가지의 파장을 테스트하는 것이 좋습니다.	
파장 제어 권장 표준물질	Holmium in perchloric acid solution	200 ~ 400nm ± 1nm 400 ~ 700nm ± 3nm
	Cerium Sulfate solution	200 ~ 400nm ± 1nm
	Didymium solution	400 ~ 700nm ± 3nm
	Holmium oxide 유리 필터	200 ~ 400nm ± 1nm 400 ~ 700nm ± 3nm
	Xenon 램프	200 ~ 400nm ± 1nm 400 ~ 700nm ± 3nm
흡광도 제어 분석법	분광계로 측정된 흡광도가 의도한 파장에서 측정된 필터의 알려진 흡광도와 일치하는지 확인하기 위해 의도한 스펙트럼 범위 내에서 적절한 고체 또는 액체 필터를 사용하는 적절한 수의 파장. 다양한 흡광도 레벨에서 여러 필터를 사용해 동일한 파장에서 흡광도 정확도를 테스트하는 것이 좋습니다.	
흡광도 제어 권장 표준물질	Potassium dichromate solutions	235nm 124.5(특정 흡광도) 122.9 ~ 126.2 max. tol. 257nm 144.5(특정 흡광도) 142.8 ~ 146.2 max. tol. 313nm 48.6(특정 흡광도) 47.0 ~ 50.3 max. tol. 350nm 107.3(특정 흡광도) 105.6 ~ 109.0 max. tol. 430nm 15.9(특정 흡광도) 15.7 ~ 16.1 max. tol. 평가한 각 파장 및 흡광도 조합에서 필터의 측정 흡광도와 인증 흡광도 간 차이 ≤ 0.010입니다 (흡광도 값이 2.0을 넘지 않는 경우 유효). 더 높은 흡광도 값에 대한 허용오차는 위험 평가에 기반해 정의해야 합니다.
광도 직선성 제어 분석법 및 한계	적절한 인증 표준물질을 사용할 때 결정 계수(R²)가 0.999 이상인 경우에만 광도 직선성이 허용 가능합니다.	
미광 분석법	미광은 적절한 고체 또는 액체 필터나 자체적으로 준비한 용액을 사용해 적절한 파장에서 확인합니다.	
미광 권장 표준물질	Abs, 198nm에서 보고	Aqueous potassium chloride(12g/L), 허용오차 ≥ 2.0 A
	Abs, 220nm에서 보고	Aqueous sodium iodide(10g/L), 허용오차 ≥ 3.0 A
	Abs, 250nm에서 보고	Aqueous potassium iodide(10g/L), 허용오차 ≥ 3.0 A
	Abs, 340 및 370nm에서 보고	Aqueous sodium nitrite(50g/L), 허용오차 ≥ 3.0 A
분리능 분석법 및 한계	269 및 266nm에서 흡광도 비율	Toluene in Hexane, 0.02% v/v

Cary 3500의 멀티셀 모듈에는 움직이는 부품이 없습니다. 이 덕분에 8개의 큐벳 위치에서 한 개의 표준물질과 최대 7개의 시료를 동시에 측정할 수 있습니다. 이 설계는 동시 측정이 가능하다는 점 외에도, 수행하는 측정 유형에 맞게 샘플링 모듈을 최적화할 수 있다는 장점이 있습니다. 기존 분광 광도계와 비교해 Cary 3500 멀티셀 모듈과 엔진(그림 1 참조) 설계의 차이점은 기기 운영 적격성 평가(QC)의 원리에 다음과 같은 2가지 기본적인 방법으로 영향을 준다는 점입니다. 엔진과 멀티셀 모듈이 분리되어 있으며, 멀티셀 모듈에는 각 큐벳 위치에 맞는 중복 광학 및 전자장치가 포함되어 있습니다. 이러한 차이점은 테스트 맥락에서 고려할 수 있으며, 아래에서 논의합니다.



그림 1. Cary 3500 Multicell 분광 광도계는 엔진(그림 오른쪽)과 멀티셀 모듈(그림 왼쪽)로 구성됩니다. 이 두 가지 부품을 연결해 완전한 분광 광도계를 만들 수 있습니다.

파장 제어

파장 정확도

파장 정확도 테스트는 의도한 운용 범위 전반에서 UV-Vis 스펙트럼의 파장 축이 정확(허용 가능 범위 내)한지 확인하는 데 사용됩니다. 파장 정확도 확인은 xenon 또는 deuterium 광원의 원자선 스펙트럼을 사용해 테스트하는 것을 권장합니다. UV-Vis 분광 광도계 파장 판독값과 공개된 값의 비교가 가능한, 특성을 명확하게 규명할 수 있는 흡수대를 생성하는 희토류 산화물을 사용할 수도 있습니다. 희토류 산화물 용액, holmium oxide in perchloric acid(200 ~ 600nm), didymium(700 ~ 860nm) 및 cerium sulfate solution(200 ~ 300nm)은 잘 확립되어 있으며 인증 표준물질(CRM)로 광범위하게 사용할 수 있습니다. 이러한 용액은 UV-Vis 스펙트럼 범위 전반에서 특성을 명확하게 규명할 수 있는 피크(그림 2A)를 생성합니다.

또는 holmium과 같은 희토류를 기본 유리 매트릭스에 용융해 만드는 유리 필터를 파장 검증 테스트에 사용할 수도 있습니다. 파장 정확도를 평가하기 위해 Cary 3500 UV-Vis 분광 광도계는 각 물질에 대한 관련 범위 전반에서 파장 스캔을 수행하고 해당 최대 피크에 대한 파장 위치(그림 2, 3, 4, 5 및 6)를 파악합니다. 그다음 피크 위치를 해당 표준물질(또는 방출선)에 대한 인증 데이터와 대조할 수 있습니다. USP 일반 철편 <857>에는 스펙트럼의 UV와 가시 영역의 정확도가 각각 $\pm 1\text{nm}$ 및 $\pm 2\text{nm}$ 가 되어야 한다고 규정되어 있습니다.

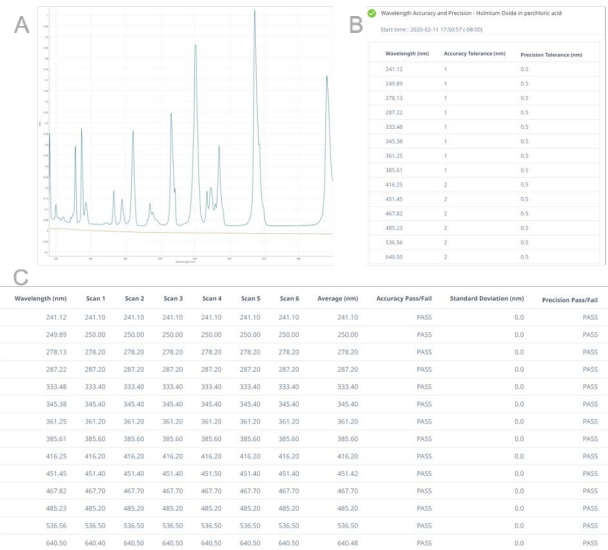


그림 2. Holmium oxide in perchloric acid에 대한 파장 정확도 테스트 결과. (A) holmium oxide in perchloric acid의 6회 반복 파장 스캔, (B) 피크 위치 및 적용 허용오차, (C) 각 개별 스캔에 대한 원래 피크 위치와 표로 작성한 평균, 표준편차 및 합격/불합격 결과

엔진에는 빛의 파장을 파악하는 모든 기기 구성품이 갖춰져 있습니다. 이는 큐벳 위치 중 하나를 사용해 기기의 파장 정확도를 확인할 수 있도록 설계되었음을 의미합니다. 모듈에는 빛의 파장을 변경할 수 있는 기능이 없기 때문에 모듈의 큐벳 위치 하나만 테스트하면 됩니다.

파장 정밀도

파장 정밀도는 흡광도 피크를 최소 6회 반복 측정된 결과의 표준편차를 계산해 테스트합니다(그림 2, 3, 4, 5 및 6). USP <857>에는 UV-Vis 기기의 정밀도가 기기 운용 범위 전반에서 0.5nm 이상이 되어야 한다고 규정되어 있습니다. 파장 정밀도 테스트는 파장 범위 내 각 특정 파장에서 스캐닝 UV-Vis 분광 광도계가 얼마나 재현성 있는 측정이 가능한지를 평가합니다.

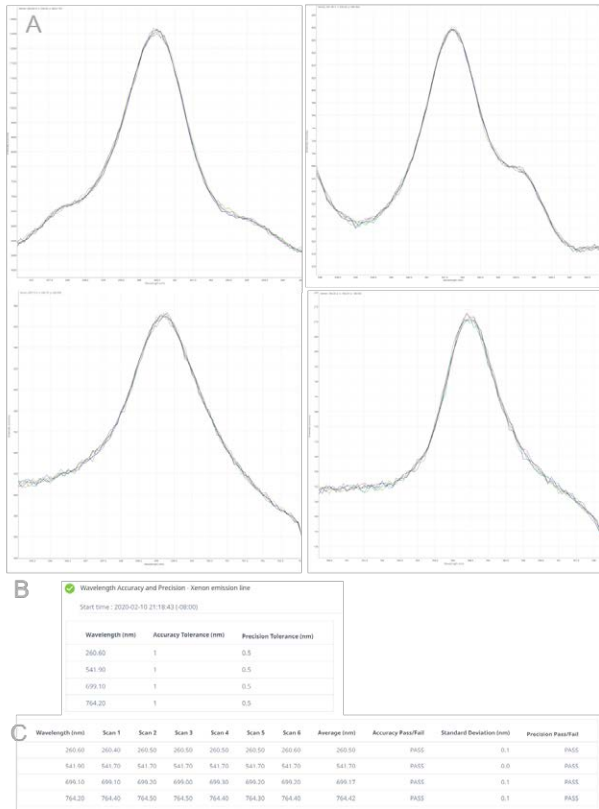


그림 3. 파장 정확도에 대한 Xenon 방출선 테스트 결과. (A) 4개의 지정된 파장에 대한 강도(counts)를 플롯팅하는 xenon 램프의 6회 반복 파장 스캔, (B) 피크 위치 및 허용오차, (C) 각 개별 스캔에 대한 원래 피크 위치와 표로 작성한 평균, 표준편차 및 합격/불합격 결과

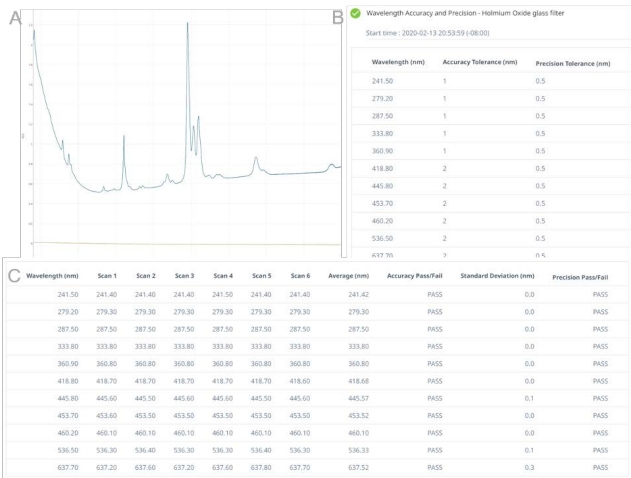


그림 4. Holmium oxide 유리 필터에 대한 파장 정확도 테스트 결과. (A) holmium oxide 유리 필터의 6회 반복 파장 스캔, (B) 피크 위치 및 허용오차, (C) 각 개별 스캔에 대한 원래 피크 위치와 표로 작성한 평균, 표준편차 및 합격/불합격 결과



그림 5. Didymium 필터에 대한 파장 정확도 테스트 결과. (A) didymium의 6회 파장 스캔, (B) 피크 위치 및 허용오차, (C) 각 개별 스캔에 대한 원래 피크 위치와 표로 작성한 평균, 표준편차 및 합격/불합격 결과

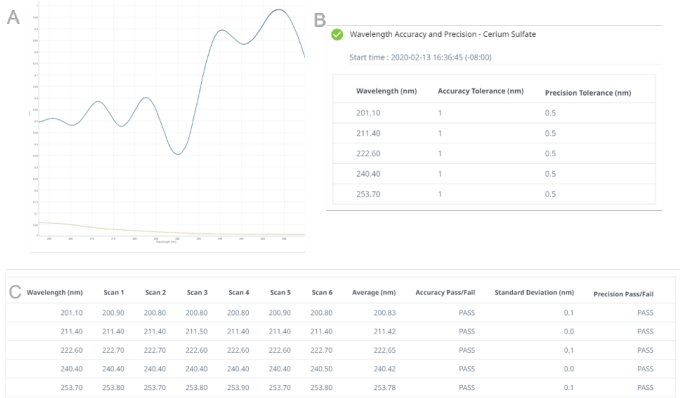


그림 6. Cerium sulfate 필터에 대한 파장 정확도 테스트 결과. (A) cerium sulfate의 6회 파장 스캔, (B) 피크 위치 및 허용오차, (C) 각 개별 스캔에 대한 원래 피크 위치와 표로 작성한 평균, 표준편차 및 합격/불합격 결과

흡광도 제어

광도 정확도

광도 정확도 및 정밀도 테스트는 기기의 운용 흡광도 범위 전반에서 UV-Vis 분광 광도계의 광도 성능을 확인하는 데 사용됩니다. 이러한 테스트를 사용해 UV-Vis 분광 광도계가 신뢰할 수 있는 정량 측정 결과를 생성하는지를 확인합니다. 이러한 매개변수에 대한 모든 테스트는 Beer-Lambert 법칙을 바탕으로 하며, 이 법칙은 흡광도와 시료 농도 사이에 선형 관계가 있다고 주장합니다. USP <857>에 대한 테스트는 potassium dichromate의 CRM을 사용해 수행되었으며, 이 물질은 스펙트럼의 UV 영역에서 흡광도 피크를 나타냅니다. National Institute of Standards and Technology(NIST) 추적 가능 필터(930E)도 스펙트럼의 가시 영역에 대해 비슷하게 사용할 수 있습니다.

USP <857>에 따라 스펙트럼 UV 영역의 광도 정확도를 테스트하기 위해 dilute perchloric acid에서 potassium dichromate($K_2Cr_2O_7$) solution을 측정하고, 235nm, 257nm, 313nm 및 350nm에서 흡광도 세기를 확인했습니다(그림 7). 또한, 430nm에서 600mg/L 용액의 흡광도를 확인했습니다(그림 8). Cary 3500을 사용하는 경우 최대 3가지의 potassium dichromate solution 농도를 측정할 수 있습니다(그림 7). 1 Abs 미만에서 흡광도 정확도는 ± 0.01 Abs가 되어야 하고 1 Abs 이상에서 흡광도 정확도는 $\pm 1\%$ 로 측정되어야 합니다.

USP <857>에 따라 스펙트럼 가시 영역에서의 광도 정확도는 440~635nm에서 흡수되는 NIST-추적 가능 필터를 사용해 측정합니다. Cary UV Workstation 시스템 검증 테스트 응용을 사용하면 최대 3가지의 NIST 추적 가능 필터를 자동으로 측정할 수 있을 뿐만 아니라 사용자는 예상 흡광도, 정확도 및 정밀도를 입력할 수 있습니다(그림 9).

A

K ₂ Cr ₂ O ₇ 40mg/L										
Wavelength (nm)	Read 1	Read 2	Read 3	Read 4	Read 5	Read 6	Accuracy	Pass/Fail	Precision	Pass/Fail
235.00	0.490	0.490	0.490	0.490	0.490	0.490	0.490	Pass	0.000	Pass
257.00	0.568	0.568	0.568	0.568	0.568	0.568	0.568	Pass	0.000	Pass
313.00	0.190	0.190	0.190	0.190	0.190	0.190	0.190	Pass	0.000	Pass
350.00	0.423	0.423	0.423	0.423	0.423	0.423	0.423	Pass	0.000	Pass

K ₂ Cr ₂ O ₇ 60mg/L										
Wavelength (nm)	Read 1	Read 2	Read 3	Read 4	Read 5	Read 6	Accuracy	Pass/Fail	Precision	Pass/Fail
235.00	0.746	0.746	0.746	0.746	0.746	0.746	0.746	Pass	0.000	Pass
257.00	0.865	0.865	0.865	0.865	0.865	0.865	0.865	Pass	0.000	Pass
313.00	0.292	0.292	0.292	0.292	0.292	0.292	0.292	Pass	0.000	Pass
350.00	0.643	0.643	0.643	0.643	0.643	0.643	0.643	Pass	0.000	Pass

K ₂ Cr ₂ O ₇ 120mg/L										
Wavelength (nm)	Read 1	Read 2	Read 3	Read 4	Read 5	Read 6	Accuracy	Pass/Fail	Precision	Pass/Fail
235.00	1.491	1.491	1.491	1.491	1.491	1.491	1.491	Pass	0.007	Pass
257.00	1.728	1.728	1.728	1.729	1.729	1.729	1.728	Pass	0.010	Pass
313.00	0.574	0.574	0.574	0.574	0.574	0.574	0.574	Pass	0.000	Pass
350.00	1.271	1.271	1.272	1.272	1.272	1.272	1.272	Pass	0.026	Pass

B Linearity ($r^2 \geq 0.999$)

Wavelength (nm)	K ₂ Cr ₂ O ₇ 40mg/L	K ₂ Cr ₂ O ₇ 60mg/L	K ₂ Cr ₂ O ₇ 120mg/L	r^2	Pass/Fail
235.00	0.490	0.746	1.491	1.000	Pass
257.00	0.568	0.865	1.728	1.000	Pass
313.00	0.190	0.292	0.574	1.000	Pass
350.00	0.423	0.643	1.272	1.000	Pass

그림 7. (A) 40, 60 및 120mg/L 표준물질에서 Potassium dichromate 광도 정확도 및 정밀도 결과. 측정 파장, 정확도 및 정밀도에 대한 허용오차와 원래 흡광도 데이터, 평균, 표준 편차 및 합격/불합격 결과를 모두 제공합니다. (B) 3가지 다른 농도와 4가지 파장에서 계산한 Potassium dichromate 광도 직선성(R^2) 및 합격/불합격 결과

Photometric Accuracy and Precision - Potassium Dichromate 600 mg/L

Start time : 2020-02-12 16:09:53 (+11:00)

Wavelength (nm)	Abs	Accuracy Tolerance (Abs)	Precision Tolerance (Abs)
430.000	0.9564	0.010	0.005

K ₂ Cr ₂ O ₇ 600mg/L										
Wavelength (nm)	Read 1	Read 2	Read 3	Read 4	Read 5	Read 6	Accuracy	Pass/Fail	Precision	Pass/Fail
430.00	0.954	0.954	0.954	0.954	0.954	0.954	0.954	Pass	0.000	Pass

그림 8. 430nm에서 600mg/L 표준물질에 대한 Potassium dichromate 광도 정확도 및 정밀도 결과. 측정 파장, 정확도 및 정밀도에 대한 허용오차와 원래 흡광도 데이터, 평균, 표준 편차 및 합격/불합격 결과를 모두 제공합니다.

A

Filter 1 - NIST glass filter										
Wavelength (nm)	Read 1	Read 2	Read 3	Read 4	Read 5	Read 6	Accuracy	Pass/Fail	Precision	Pass/Fail
440.00	1.050	1.051	1.051	1.051	1.051	1.051	1.051	Pass	0.009	Pass
465.00	0.969	0.969	0.969	0.969	0.969	0.969	0.969	Pass	0.000	Pass
546.10	0.979	0.980	0.980	0.980	0.980	0.980	0.980	Pass	0.000	Pass
590.00	1.018	1.019	1.019	1.019	1.019	1.020	1.019	Pass	0.031	Pass
635.00	0.973	0.973	0.973	0.973	0.973	0.974	0.973	Pass	0.000	Pass

Filter 2 - NIST glass filter										
Wavelength (nm)	Read 1	Read 2	Read 3	Read 4	Read 5	Read 6	Accuracy	Pass/Fail	Precision	Pass/Fail
440.00	0.729	0.730	0.730	0.730	0.730	0.730	0.730	Pass	0.000	Pass
465.00	0.674	0.674	0.674	0.674	0.674	0.674	0.674	Pass	0.000	Pass
546.10	0.684	0.684	0.684	0.684	0.684	0.684	0.684	Pass	0.000	Pass
590.00	0.713	0.713	0.713	0.713	0.713	0.713	0.713	Pass	0.000	Pass
635.00	0.682	0.682	0.682	0.682	0.682	0.682	0.682	Pass	0.000	Pass

Filter 3 - NIST glass filter										
Wavelength (nm)	Read 1	Read 2	Read 3	Read 4	Read 5	Read 6	Accuracy	Pass/Fail	Precision	Pass/Fail
440.00	0.549	0.549	0.549	0.549	0.549	0.549	0.549	Pass	0.000	Pass
465.00	0.499	0.499	0.499	0.499	0.499	0.499	0.499	Pass	0.000	Pass
546.10	0.514	0.514	0.514	0.514	0.514	0.514	0.514	Pass	0.000	Pass
590.00	0.543	0.543	0.543	0.543	0.543	0.543	0.543	Pass	0.000	Pass
635.00	0.528	0.528	0.528	0.529	0.529	0.529	0.528	Pass	0.000	Pass

B Linearity ($r^2 \geq 0.999$)

Wavelength (nm)	Filter 1 - NIST glass filter	Filter 2 - NIST glass filter	Filter 3 - NIST glass filter	r^2	Pass/Fail
440.00	1.051	0.730	0.549	1.000	Pass
465.00	0.969	0.674	0.499	1.000	Pass
546.10	0.980	0.684	0.514	1.000	Pass
590.00	1.019	0.713	0.543	1.000	Pass
635.00	0.973	0.682	0.528	1.000	Pass

그림 9. (A) 측정 파장을 표시하는 NIST 유리 필터에 대한 광도 정확도 및 정밀도 결과, 정확도 및 정밀도에 대한 허용오차와 원래 흡광도 데이터, 평균, 표준편차 및 합격/불합격 결과. 흡광도는 기기 검출기를 사용해 측정하며, 모든 큐벳 위치에 검출기가 있습니다. (B) 3가지 다른 농도와 5가지 파장에서 계산한 NIST 유리 필터 광도 직선성(R^2) 및 합격/불합격 결과

광도 정밀도

시스템의 광도 정밀도는 파장 정밀도 테스트와 비슷한 방식으로 확인합니다. 6회 반복 측정 결과가 필요하며 UV-Vis가 광도 흡광도를 얼마나 재현성 있게 측정하는지를 평가합니다. 결과는 그림 7, 8 및 9와 같습니다.

이 때문에 모든 큐벳 위치에 대한 의도된 운용 범위에 따라 흡광도 정확도, 정밀도, 직선성을 확인해야 합니다.

최근에 USP 및 Ph. Eur.은 광도 정확도 검증에 메탈 온 쿼츠 (metal-on-quartz) 필터 사용에 대해 설명했습니다. Cary 3500 시료 모듈(CTM 및 MCM)이 액체 시료 분석을 처리하도록 설계되어 내부 반사 때문에 Cary 3500에서는 이 필터를 사용하는 것이 적합하지 않기 때문입니다.

광도 직선성

광도 직선성은 광학 밀도 또는 농도가 증가할 때 기기가 흡광도를 얼마나 정확하게 측정하는지에 영향을 미칩니다. 광도 직선성이 낮으면 결과가 부정확하고 검량의 직선성이 손실될 수 있습니다. Ph. Eur.에 따라 광도 직선성을 테스트하기 위해 광도 정확도 테스트에 권장되는 필터를 사용할 수 있습니다. 최소 3가지 농도를 측정해야 하고 결정 계수(R^2)는 0.999 이상이어야 합니다. Cary 3500 및 Cary UV Workstation 시스템 검증 응용을 사용하는 경우 광도 직선성은 전 세계의 약전에서 권장하는 대로 3가지의 다른 용액 또는 필터(그림 7B 및 9B) 농도를 사용해 자동으로 계산할 수 있습니다.

미광의 한계

미광에 대한 테스트는 UV-Vis 분광 광도계에서 검출되는 빛을 정량화합니다. 이는 검출기에 도달하는 선택한 파장을 제외한 파장에서 검출되는 빛입니다. 기기의 검출기가 측정하는 빛의 유형을 구별할 수 없기 때문에 모든 입사광이 측정됩니다. 이는 검출되는 미광이 정량 분석에서 부정확과 여러 문제를 야기할 수 있음을 의미합니다. 미광이 광도 선택성을 낮추고 비선형 광도 감응을 야기할 수 있기 때문입니다(Beer-Lambert 법칙 관계 훼손). 미광 테스트는 지정된 파장 범위 내에서 전달되지 않는 용액을 사용해 검출기에 도달하는 모든 빛이 미광의 존재를 표시하도록 합니다. 표 1에서 확인할 수 있는 것처럼 약전 테스트에서는 기기의 미광 레벨을 정량화하기 위해 4가지 컷오프 필터(potassium chloride(KCl), sodium iodide(NaI), sodium nitrite(NaNO_2) 및 acetone)를 측정할 것을 요구합니다. 그림 10은 각 미광 테스트 용액의 스캔 결과를 보여줍니다. 미광의 한계 측정을 위한 USP 챕터 <857>에 명시된 다른 절차는 동일한 필터 용액(예: KCl, NaI, NaNO_2 및 acetone)으로 채운 10mm 셀의 5mm 경로 길이 셀에서 생성된 스펙트럼 차감을 통해 미분 스펙트럼을 생성하기 위한 것입니다. 미광 비율 테스트는 Cary UV Workstation 시스템 검증 테스트에서 시행되며, 이는 기기가 그림 11에서 확인할 수 있는 허용오차 한계 내에 포함되는지를 자동으로 검증합니다.

미광은 지정된 대역폭을 벗어나는 파장의 빛입니다. 기기 시스템에서 미광이 발생하는 주요 원인은 엔진 단색화 장치 구획의 광학 구성품 오염 및 결함입니다. 이러한 결함은 모든 큐벳 위치에 동일하게 영향을 미치기 때문에 멀티셀 모듈에서 하나의 큐벳 위치만 테스트하면 됩니다.

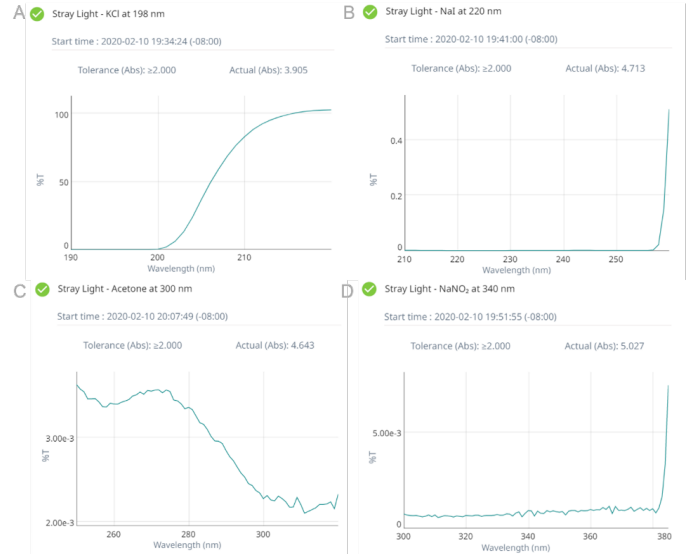


그림 10. 필터 스캔(%T)과 지정된 파장에서 해당 흡광도 값을 표시하는 (A) KCl, (B) NaI, (C) acetone 및 (D) NaNO_2 에 대한 미광 결과

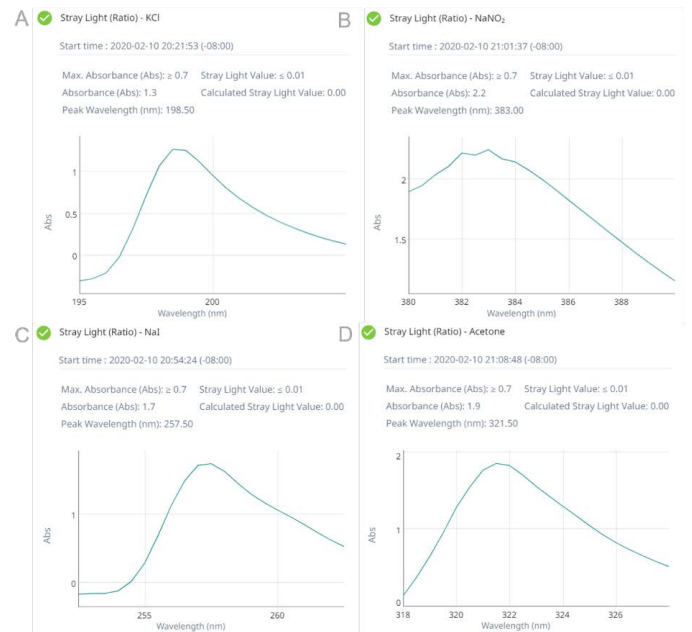


그림 11. (A) KCl, (B) NaNO_2 , (C) NaI 및 (D) acetone에 대한 미광(비율) 결과 및 계산된 미광 값

분리능 제어

UV-Vis 분광 광도계의 분리능은 기기에서 구현할 수 있는 가장 좁은 스펙트럼 대역폭을 자랑합니다. 이 매개변수는 스펙트럼이 복잡하거나 흡광도 피크가 거의 겹치는 여러 가지 스펙트럼을 나타내는 시료를 측정하는 경우에 중요합니다. 분리능 테스트에는 275 ~ 265nm 사이에서 toluene in hexane(UV 등급) 인증 시료 0.020% v/v 용액의 스펙트럼 측정 및 각각 약 269nm 및 266nm에서 확인되는 최대 흡광도 및 최소 흡광도의 비율 계산이 포함됩니다. 계산한 흡광도 비율은 사용한 기기의 스펙트럼 대역폭에 따라 달라집니다. 또는, benzenoid 화합물이나 흡수대가 뾰족한 다른 화합물(15nm 이하의 자연적인 반값 대역폭)에 따라 달라집니다. toluene in hexane의 파장 스캔은 그림 12와 같습니다.

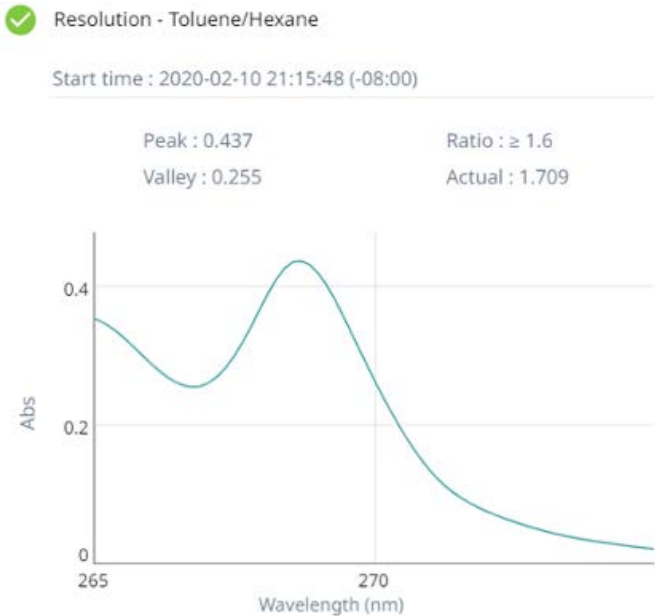


그림 12. Toluene/hexane에 대한 분리능 테스트 결과

엔진은 모듈과 결합되는 단색화 광의 스펙트럼 대역폭을 통해 기기의 분리능을 확인합니다. 엔진에는 빛의 대역폭을 파악하는 기기 시스템의 모든 부품이 갖춰져 있습니다. 빛이 충분하면 (빛이 충분한지 여부는 다른 테스트에서 테스트) 모듈의 어떤 큐벳 위치를 사용해도 기기 시스템의 분리능을 확인할 수 있습니다. 모듈에는 빛의 분리능(스펙트럼 대역폭)을 변경할 수 있는 기능이 없기 때문에 모듈의 큐벳 위치 하나만 테스트하면 됩니다.

결론

의약품 실험실에서 사용하는 UV-Vis 분광 광도계가 QA/QC 측정 요구를 충족하는 데 필요한 작업을 수행하도록 하는 것이 중요합니다. 전 세계의 약전은 기기의 의도된 운용 범위 테스트 방법을 규정하며, 이러한 테스트는 Cary UV Workstation 소프트웨어에서 편리하게 자동화됩니다. Cary 3500을 사용해 쉽고 간편하게 시스템 검증 테스트를 수행함으로써 실험실은 기기 성능을 즉시 확인할 수 있습니다.

Agilent Cary 3500 UV-Vis 분광 광도계는 고유한 동시 측정 기능을 통해 의약품 산업이 데이터 품질 및 무결성을 개선할 수 있도록 지원합니다. 이러한 장점은 고유한 광학 설계를 통해 실현되었으며, 이 기술 자료는 전 세계의 약전 요건에 따라 Cary 3500의 적격성을 확인하는 방법을 보여줍니다. 또한, 이 기기는 ISO 9001 인증을 받은 품질 관리 시스템에 따라 제조되며, 전 세계의 모든 약전 성능 요건 또는 그 이상을 충족합니다. Cary 3500 UV-Vis 분광 광도계는 21 CFR Part 11 및 EU Annex 11 준수에 도움이 되는 종합적인 소프트웨어 패키지도 제공합니다. 이 소프트웨어 제품은 Cary 3500 UV-Vis 분광 광도계 조작과 관련된 모든 전자 기록의 추적 가능성 및 데이터 무결성 확보에 도움을 주며, 여기에는 이 기술 자료에서 설명한 대로 기기 성능 테스트를 수행하기 위해 사용하는 시스템 검증 응용이 포함됩니다.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2020
2020년 3월 30일, 한국에서 인쇄
5994-1188KO
DE.698275463

한국애질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com

 **Agilent**
Trusted Answers