

의약외품중 산화에틸렌가스의 잔류량 분석

이정표[#] · 김영옥 · 손경훈 · 양성준 · 백옥진 · 양원준 · 김종갑* · 최상숙

식품의약품안전청 의약품평가부 의약외품과, *중앙대학교 약학대학

(Received September 7, 2001; Revised October 11, 2001)

Determination of the Residual Ethylene Oxide in Quasi-drugs

Jeong Pyo Lee[#], Young Ok Kim, Kyung Hun Son, Seong Jun Yang, Ock Jin Paek,
Won Jun Yang, Chong Kap Kim* and Sang Sook Choi

Quasi drugs & Cosmetics Division, Department of Drug Evaluation, Korea Food and
Drug Administration, 5 Nokbun-Dong, Eunpyung-Ku, Seoul 122-704, Korea

*College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract — The quasi-drugs including nonwoven fabric and gauze were sterilized using ethylene oxide (EO) gas. Residual EO in the quasi-drugs was extracted with water (20 mL of water for 1 g of sample) for 24h at 37°C. Residual EO was determined using GC. The optimal analytical conditions were as follows : column, Carbowax 20M (I.D. 0.2 mm); mobile phase, helium with 30 mL/min; oven temperature 50°C, injector temperature 180°C, detector temperature 200°C. The detection limit for EO was 0.10 µg/mL. When the residual EO extracted from nonwoven fabric and gauze was determined, it took more than 9h to get the lower level than 25 ppm which is the limit value of FDA guideline. When the EO residues, ethylene chlorohydrine (ECH) and ethylene glycol (EG) in the 7 commercially available quasi-drugs were determined, no residual EO, ECH, EG were found from the seven commercially available quasi-drugs analyzed by this method.

Keywords □ Quasi-drugs, residual EO, nonwoven fabric, gauze

의약외품중 부직포, 거즈, 면봉 등은 외과수술시 사용되어 혈액에 직접 접촉되는 일이 많으며 주로 면류를 재료로하여 접착패드등 다양한 형태로 만들어진다. 이러한 의약외품은 고압증기, 산화에틸렌 가스 또는 코발트 60으로부터 방출되는 γ 선을 이용하여 멸균하고 있는데 대부분의 의약외품 멸균에 이용되는 산화에틸렌 가스 멸균법의 경우, 잔류하는 산화에틸렌 가스에 의한 독성이 문제가 되고 있다. 실제로 산화에틸렌으로 멸균된 몇 가지 의료용구에 의해 홍반,¹⁾ 염증, 포상반점의 부종,²⁾ 감작반응,³⁾ 기관이나 후두에서의 호흡장애,⁴⁾ 신부전,⁵⁾ 심혈관계 속⁶⁾ 등의 부작용에 대한 보고가 있다.

산화에틸렌 가스 멸균법은 대한약전, 일본약국방, 미국약전, 영국약전등의 공정서에도 수재되어 있고, 외국에서도 부직포, 거즈, 면봉 등에 대한 산화에틸렌의 잔류 허용기준은 규정되어 있지 않으나 다만, 미국 FDA에서 의료용구에 잔류하는 산화에틸렌 및 반응생성물인 에틸렌클로로히드린(ECH)과 에틸렌글리콜(EG)의 허용기준을 Federal Register(1978)에 규정하고 있다.

산화에틸렌가스는 의료용구의 멸균에 널리 쓰이며, 일회용 플라스틱 주사기, 수액셋트, 수혈셋트, 혈액백 등의 의료용구에 잔류하는 산화에틸렌가스의 분석법⁷⁻⁹⁾ 및 산화에틸렌의 일반적인 분석법¹⁰⁻¹²⁾에 대한 연구보고가 있었다. 이에 저자 등은 의약외품중 산화에틸렌가스의 잔류량을 분석하기 위한 최적조건, 멸균후 방치시간에 따른 산화에틸렌가스 잔류량과 무균상태 및 시판품 중 잔류량을 측정하였으며, 산화에틸렌가스의

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-380-1721 (팩스) 02-380-1723

분해산물인 ECH와 EG의 양을 측정하였다.

실험방법

실험재료 및 기기

Ethylene oxide(EO) 표준품(50 mg/mL in methylene chloride)은 Supelco · Sigma-Aldrich사(Pennsylvania, USA)에서, Ethylene Chlorohydrin(ECH) 표준품(EP, 95 v/v%)는 Kanto사(Japan)에서, Ethylene Glycol(EG) 표준품은 Junsei사(Japan)에서 구입하여 사용하였다. 시험에 사용한 시료는 멸균부직포, 멸균거즈(부직포 및 거즈를 포장한 다음 EO 가스로 멸균처리) 및 시판 의약품(멸균거즈, 멸균부직포, 멸균면봉, 멸균접착부직포등) 7종을 구입하여 사용하였다. 또한 EO를 추출하기 위한 용매로 methylene chloride(MC, Waco Pure Chemical LTD, Japan) 및 3차 증류수(18 $\mu\Omega$, Barnstead, USA)를 사용하였다. 분석기기는 수소염이온화검출기가 장착된 가스크로마토그래피(Perkin Elmer, USA) 및 Head Space sampler(HS40XL, Perkin Elmer, USA)를 사용하였다.

멸균조건

EO 가스의 멸균 조건은 제조회사에서 일반적으로 적용하고 있는 조건에 따랐으며, 온도 54°C, 습도 30%, 진공상태 650 mmHg로 하여 EO 가스를 0.8 Kg/cm²의 압력으로 1시간 주입하고 6시간동안 멸균시킨 다음 진공펌프를 이용하여 진공(600 mmHg)으로 하고, 여과된 공기를 투입하였다. 이와같은 방법으로 3회 통기(aeration) 하여 주었다.

정량법

MC에 녹아있는 EO 표준품(50 mg/mL) 0.5 mL를 정확히 취하여 물을 넣어 50 mL로 하여 표준원액으로 하였다(0.5 mg/mL). 이 액을 희석하여 각각 10, 20, 40, 80, 160, 320 $\mu\text{g/mL}$ 로 만들어 표준액으로 하였다. 또한 ECH와 EG 각 5 mg을 정밀히 달아 물에 녹여 20 mL로 하고, 이 액 1.0 mL에 물을 넣어 정확히 10 mL로 하여 표준액으로 하였다. 이때, 표준품과 모든 용기는 미리 냉장고에 보관하였다가 사용하였으며, 위의 모든 조작도 냉장실에서 시행하였다. 또한 EO 가스로 멸균시킨 시료의 무게를 정밀하게 달아서 Head Space Supply kit에 적당한 크기로 잘라 넣고, 검체

1 g당 물 20 mL의 비율로 용매를 넣어 37°C에서 24시간 용출시킨 액을 새로운 바이알에 옮기고 밀봉하여 검액으로 하였다. 검액 및 표준액을 Table I의 실험조건으로 가스크로마토그래피를 이용하여 분석하였다.

검량선 작성

염화메틸렌에 녹아있는 산화에틸렌 표준원액(0.5 mg/mL) 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 및 3.2 mL를 정확히 취하여 미리 냉장고에 보관하였던 Head Space용 바이알에 넣고 물을 넣어 10 mL로 하여 위의 조건에 따라 시험하였다.

재현성 시험

표준액(200 $\mu\text{g/mL}$)을 가지고 위의 조건에 따라 10회 실험하여 그 평균 및 상대표준편차를 구하였다.

산화에틸렌 최적추출조건

부직포 및 거즈에 잔류하는 산화에틸렌을 추출하기 위하여 추출용매로서 물을 사용하여 검체 1 g당 물 20 mL의 비율로 하였고, 추출시간은 24시간으로 고정하였다. 최적의 추출온도를 구하기 위하여 온도를 4°C에서 50°C로 변화시키면서 시험하였다. 또한, 추출온도를 37°C로 하고 추출시간을 15시간으로부터 41시간까지 변화시키면서 실험하여 비교하였다.

멸균 후 방치시간에 따른 산화에틸렌가스 잔류량 측정

부직포 및 거즈를 산화에틸렌 가스로 멸균한 후 실온에서 방치하면서, 멸균직후, 멸균 1시간후, 멸균 2시간후, 멸균 3시간후, 멸균 9시간후 및 멸균 31시간후에 검체를 채취하여 상기조건에 따라 산화에틸렌 가스의 잔류량을 측정하였다.

무균시험

부직포 및 거즈를 산화에틸렌가스로 멸균한 후 1일째의 시료(산화에틸렌가스 잔류량이 25 ppm이하)와 시판의약품 7종을 취하여 약전일반시험법 무균시험법에 따라 시험하였다.

산화에틸렌 분해산물의 잔류량

멸균시료와 7종의 시판품을 가지고 산화에틸렌 분해산물인 ECH와 EG의 잔류량을 장⁷등의 방법에 따라 가스크로마토그래피를 이용하여 분석하였다.

실험결과 및 고찰

검량선 작성 및 검출한계

산화에틸렌은 Fig. 1과 같이 10~320 µg/mL의 농도 범위에서 직선성을 나타내었고($r^2=0.9999$), 산화에틸렌의 유지시간은 약 3.7분, 용매인 염화메틸렌의 유지시간은 약 4.5분으로 피크분리가 양호하여(Fig. 2) 정량성이 있는 것으로 판단되었다. 검출한계는 EO 표준액을 가지고 Table I의 실험조건으로 가스크로마토그래피를 이용하여 구하였으며, 시료의 피크면적이 노이즈 피크면적의 2배가 되는 농도(S/N=2)를 검출한계로 하였다.¹³⁾ 위 조건에서 EO의 검출한계는 0.10 µg/mL이었다.

재현성시험

표준액(500 µg/mL)을 가지고 상기조건에 따라 10회

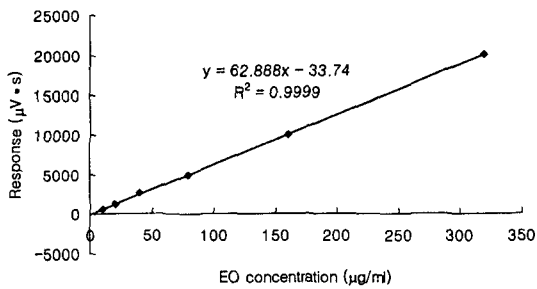


Fig. 1 – Calibration curve of ethylene oxide. EO : ethylene oxide. The analytical conditions for gas chromatography are the same as those in Table I.

Table I – Optimal conditions for gas chromatograph

Gas Chromatograph equipped with FID detector	
Column :	HP-20M (Carbowax 20M)
Column ID :	0.20 mm
Film thickness :	0.2 µm
Length :	25 m
Phase Ratio :	250
Carrier gas :	Helium
Flow rate :	30.0 ml/min
Temperature (GC) :	
Oven temperature :	50°C
Injector temperature :	180°C
Detector temperature :	200°C
Head space :	Oven temperature : 70°C
Needle temperature :	90°C
Transfer temperature :	100°C
Pressure time :	0.1 min
Inject time :	0.08 min
Withdrawl time :	0.1 min
Injection Volume :	1.0 µl

실험하여 얻은 결과 상대표준편차가 1.02%로써 재현성이 양호하였다.

산화에틸렌 최적추출조건

추출시간을 24시간으로 고정하고 추출온도를 4°C에서 50°C로 변화시키면서 추출하여 시험한 결과 37°C에서 추출량이 최대이었고, 추출온도를 37°C로 고정하고 추출시간을 15시간으로부터 41시간까지 변화시킨 경우 24시간동안 추출했을 때 추출량이 최대를 나타내었다. 따라서 부직포 및 거즈에 잔류하는 산화에틸렌가스를 물을 용매로 하여 추출하기 위한 최적의 추

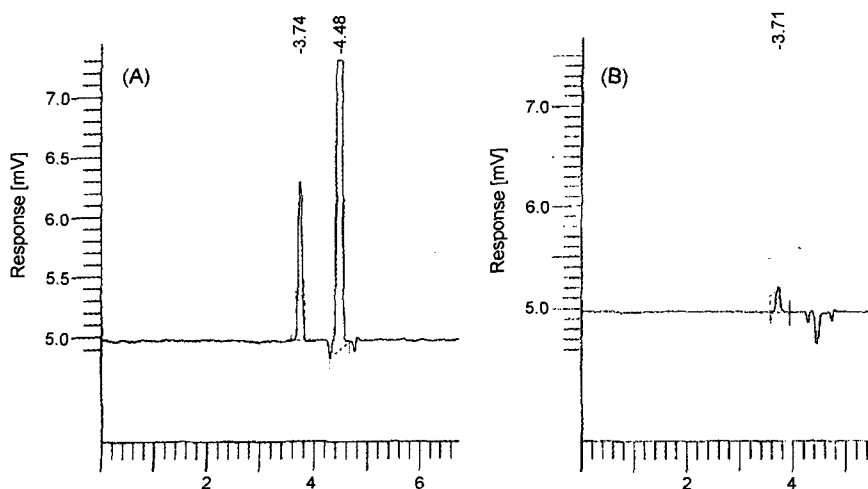


Fig. 2 – Chromatograms of ethylene oxide standard(A) and sample extracted from nonwoven fabric immediately after sterilization(B). The analytical conditions for gas chromatography are the same as those in Table I.

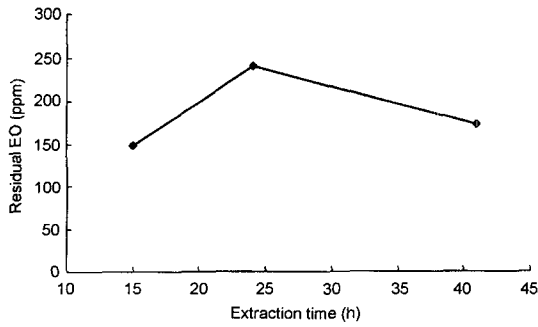


Fig. 3 – The influence of extraction time on residual ethylene oxide extracted from nonwoven fabric.

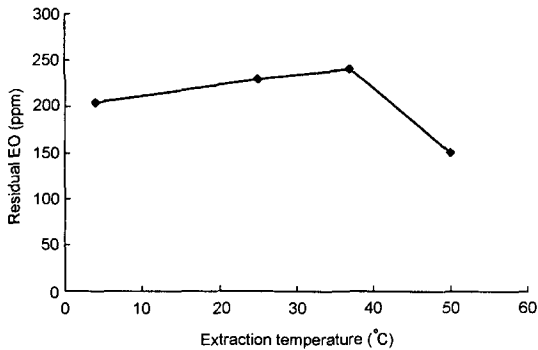


Fig. 4 – The influence of extraction temperature on residual ethylene oxide extracted from nonwoven fabric.

출조조건은 37°C에서 24시간으로 나타났다(Fig. 3, 4).

멸균후 방치시간에 따른 산화에틸렌가스 잔류량 측정

부직포의 경우 멸균 후 9시간이 지나면 미국 FDA 규정의 혈액과 접촉하는 기구인 경우의 잔류허용치인 25 ppm 이하가 되었으며, 거즈의 경우에는 4시간이 지나면 25 ppm 이하가 되었다. 또한 멸균부직포 및 멸균 거즈의 멸균시 포장여부에 따른 효과를 관찰하기 위하여 박스포장 내부의 것과 외부의 것을 비교하였다. 일반적으로 박스포장 외부의 것이 잔류량이 많았고, 부직포의 잔류량이 거즈에 비해 많았다(Fig. 5, 6).

본 시험은 의약품 제조회사에서 일반적으로 이용하

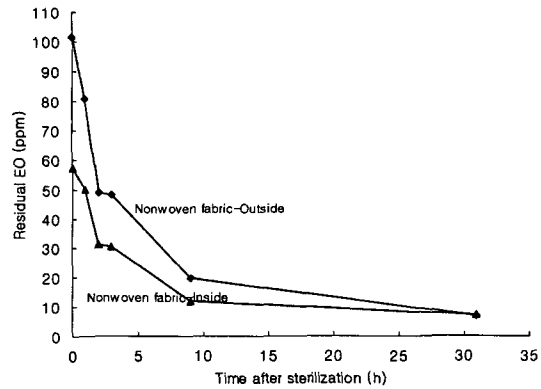


Fig. 5 – The influence of storage time after sterilization on residual ethylene oxide from nonwoven fabric.

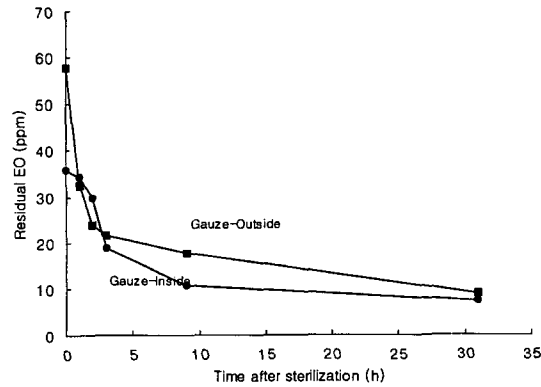


Fig. 6 – The influence storage period after sterilization on residual ethylene oxide extracted from gauze.

고 있는 멸균조건으로 멸균한 제품에 대하여 그 잔류량을 측정하는 것이므로 멸균조건과 멸균시 aeration 횟수, 멸균후의 방치온도 등에 따른 산화에틸렌가스의 잔류량에 대해서는 추후 더욱 연구되어야 할 것으로 생각된다.

시판 의약품중 산화에틸렌가스 잔류량 분석

시중에서 유통되고 있는 3개사의 7종의 의약품을 구입하여 잔류하는 산화에틸렌 가스의 양을 분석한 결과 제품 모두에서 잔류 가스가 검출되지 않았다(Table

Table II – The residual concentration of ethylene oxide in the sterilized samples

	Nonwoven fabric A	Nonwoven fabric B	Gauze A	Gauze B	Adhesive bandage, nonwoven support A	Adhesive bandage, nonwoven support B	Cotton
Residual EO (ppm)	ND ^{a)}	ND	ND	ND	ND	ND	ND

^{a)}ND : not detected.

II). 일반적으로 공장에서 저장, 수송, 판매되는 기간이 9시간 이상 소요됨으로 시험결과와 같이 시판품에서 산화에칠렌가스의 잔류량이 거의 없을 것으로 판단된다.

무균시험

산화에칠렌가스로 멸균한 후 1일째의 검체와 시판 의약외품 7종 모두 적합하였다. 따라서 산화에칠렌가스에 의해 제품이 완벽하게 멸균되었음을 알 수 있었고, 멸균 상태를 계속 유지함에도 멸균가스가 거의 잔류하지 않음을 알 수 있었다.

산화에칠렌 분해산물의 잔류량

멸균시료와 7종의 시판 의약외품 모두에서 ECH와 EG가 검출되지 않았다(자료생략). 결국 EO 가스는 극미량만이 그 자체로 잔류하며, 분해산물은 잔류하지 않았다.

결 론

산화에칠렌 가스로 멸균시킨 부직포, 거즈등의 의약외품에 잔류하는 산화에칠렌가스의 양을 가스크로마토그래피를 이용하여 시험한 결과는 다음과 같다.

1. 의약외품에 잔류하는 산화에칠렌가스를 검출하기 위한 가스크로마토그래피의 최적 분석조건은 Carbowax 20M(I.D. 0.2 mm) 칼럼을 사용하고 이동가스의 유속은 30 mL/분, 항온조 온도 50°C, 주입구 온도 180°C, 검출기 온도 200°C이었고, 이 조건에서 EO의 검출한계는 0.10 µg/mL이었다.
2. 산화에칠렌 가스로 멸균시킨 부직포 및 거즈에 잔류하는 산화에칠렌은 검체 1g당 20 mL의 물로 37°C에서 24시간 추출할 경우 최대로 추출되었다.
3. 잔류되는 산화에칠렌가스의 양은 멸균후 적어도 9시간 이상 방치하여야 미국 FDA 규정의 혈액과 접촉하는 기구인 경우의 잔류허용치인 25 ppm 이하가 되었다.
4. 시중에서 유통되고 있는 3개사의 7종의 의약외품에서는 산화에칠렌가스 및 그 분해산물(ECH, EG)이 검출되지 않았다.

문 헌

1) Shupack, J. L., Andersen S. R. and Romano S. J. : Human skin reaction to ethylene oxide. *J. Lab. Clin. Med.* **98**, 723 (1981).

2) Stark W. J., Rosenblum P., Maumenee A. E. and Cowan C. L. : Postoperative inflammatory reactions to intraocular lense sterilized with ethylene-oxide. *Ophthalmology* **87**, 385 (1980).

3) Poothullil J., Shimizu A., Day R. P. and Dolovich J. : Anaphylaxis from the product(s) of ethylene oxide gas. *Ann. Intern. Med.* **82**, 58 (1975).

4) Holley H. S. and Gildea J. E. : Vocal cord paralysis after tracheal intubation. *J. Am. Med. Assoc.* **215**, 281 (1971).

5) Lebrech D., Masquet C. and Rueff B. : Circulatory collapse following endovascular exploration with catheters sterilized by ethylene oxide. *Nouv. Presse. Med.* **6**, 2991 (1977).

6) Stanley P., Bertranou E., Forest F. and Langevin L. : Toxicity of ethylene oxide sterilization of polyvinyl chloride in open-heart surgery. *J. thorac. cardiovasc. surg.* **61**, 309 (1971).

7) Chang, Y. K., Choi, S. S., Choi, B. K., Lee, H. P., Jung, K. R., Kim, Y. S., Rhee, G. S. and Koh, I. S. : Studies for improvement in quality of medical devices (I)-Determination of the residual EO in disposable plastic syringes. *The Report of National Institute of Health.* **29**(2), 358 (1992).

8) Chang, Y. K., Choi, S. S., Lee, H. P., Jung, K. R., Kim, Y. S., Jung, M. W. and Koh, I. S. : Studies for improvement in quality of medical devices (II)-Determination of the residual EO in infusion set & blood transfusion set. *The Report of National Institute of Health.* **30**(2), 360 (1993).

9) Chang, Y. K., Choi, S. S., Lee, H. P., Kim, Y. S., Jung, M. W., Son, K. H. and Koh, I. S. : Studies for improvement in quality of medical devices (III)-Determination of the residual EO in blood bag. *The Report of National Institute of Health.* **31**(2), 431 (1994).

10) Kolb, B. : Headspace sampling with capillary columns. *J. Chromatogr. A.* **842**, 163 (1999).

11) Al-Saigh, Z. Y. : Inverse gas chromatographic characterization of poly(ethylene oxide). *Polymer* **40**, 3479 (1999).

12) Wala-Jerzykiewics, A. and Szymanowski, J. : Headspace gas chromatography analysis toxic contaminants in ethoxylated alcohols and alkylamines, *Chromatographia*, **48**, 299 (1998).

13) Miller, J. M. : Chromatography, Concepts and Contrasts. Wiley, New York, 96 (1988).