

附件：0402 红外光谱法草案公示稿（第二次）

0402 红外光谱法

1 1 概述

2 红外光谱法（亦称红外分光光度法）是在 $4000\sim 400\text{cm}^{-1}$ 波数范围（ $2.5\sim 25\mu\text{m}$
3 波长范围）内采集物质的吸收光谱，用于化合物的鉴别、检查或含量测定的方法。
4 在中红外谱区，吸收带反映了官能团的分子振转信息，其中 1500cm^{-1} 以下区域称
5 为“指纹区”，信息丰富且复杂。除部分光学异构体及长链烷烃同系物外，几乎没
6 有两个化合物具有相同的红外光谱，据此可以对化合物进行定性和结构分析；化
7 合物对红外辐射的吸收程度与其浓度的关系在一定条件下符合朗伯-比尔定律，
8 是红外光谱法定量分析的依据。

9 红外光谱法在制药领域被广泛应用于实验室的化学和物理分析，同时也是过
10 程分析技术（PAT）的有效工具。其中，化学分析方面包括原辅料、剂型、生产
11 中间体和包装材料的鉴别和确认；药物中药物活性成分的定量；以及气体、无机
12 物中的杂质定量；化学合成的反应监测等。物理分析方面主要应用于固态性质的
13 测定，如药物多晶型鉴别或检查。

14 在红外光谱中，波长（ λ ）通常以微米（ μm ）表示，波数（ ν ）以厘米倒数（ cm^{-1} ）
15 表示。波数比波长更常用，二者的转换关系如下：

$$16 \quad \nu_{\text{cm}^{-1}} = 10^4 \times \frac{1}{\lambda_{\mu\text{m}}} \dots\dots\dots (1)$$

17 2 测量模式

18 红外光谱常用测量模式有透射模式、衰减全反射（ATR）和漫反射三种模式。
19 此外，在特定情况下还可以使用显微实现上述模式。

20 2.1 透射模式

21 该模式是基于透射率（ T ）的测定，即样品在给定波长（波数）下透射红外光
22 的能力。定义如下：

$$23 \quad T = \frac{I}{I_0} \dots\dots\dots (2)$$

24 其中， I_0 是入射光强度， I 是透射光强度。

25 透射模式测得的红外光谱通常以透射率-波数表示，也可用吸光度（ A ）-波数
26 表示，二者关系如下：

$$A = \log_{10} \left(\frac{1}{T} \right) = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right) = a \cdot b \cdot c \dots \dots \dots (3)$$

28 式中： a 为分子吸收系数， $\text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ ； b 为样品厚度， cm ； c 为样品浓度，
29 $\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$ 。

30 2.2 衰减全反射 (ATR) 模式

31 ATR 模式是基于内反射现象测量红外光谱。其原理为：从光源发出的红外光
32 经过光密介质（晶体，折射率 n_1 ）投射到光疏介质（样品，折射率 n_2 ）表面上，
33 当入射角 θ 大于临界角时，入射光在晶体和样品界面发生全反射，但倏逝波会穿
34 透样品表面一定深度，并吸收部分能量，使得全反射被衰减，得到红外吸收光谱。
35 常用的晶体材料有硒化锌（ZnSe）、锗（Ge）、硅（Si）、金刚石等。根据光束
36 在晶体中发生的全反射次数的不同，ATR 附件可分为单次反射 ATR 与多次反射
37 ATR。多次反射 ATR 附件可以提高检测信号的强度，而单次反射 ATR 附件因
38 采样量少而更为常用。穿透深度 d_p 与波长 λ 相关，通常为 μm 数量级：

$$39 \quad d_p = \frac{\lambda/n_1}{2\pi\sqrt{\sin^2\theta - (n_2/n_1)^2}} \dots \dots \dots (4)$$

40 式中： λ 为波长， θ 为入射角， n_1 、 n_2 分别是晶体和样品的折射率， $n_1 > n_2$ 。

41 2.3 漫反射模式

42 从粉末或较细的颗粒样品记录的光谱称为漫反射光谱。其中大部分光谱来源
43 于在不同样品颗粒内部经过多次的透射、折射和反射后，从样品粉末表面各个方
44 向射出反射光；较小一部分光谱来源于在表层样品颗粒外部产生镜面反射光，即
45 菲涅尔反射（Fresnel Reflectance）光谱。通常将样品与 90~99% 的非吸收性稀释
46 剂（如 KBr）混合，通过稀释样品，来减小菲涅尔反射的贡献。

47 漫反射光谱与透射光谱相似，但漫反射光谱不遵从比尔定律，而符合
48 Kubelka-Munk 函数：

$$49 \quad f(R_\infty) \frac{(1-R_\infty)^2}{2R_\infty} = \frac{K}{S} \dots \dots \dots (5)$$

50 式中： $f(R_\infty)$ 称为 K-M 函数， R_∞ 代表样品层无限厚时的漫反射率（实际有几
51 毫米厚度即可）， K 为样品的吸光系数， S 为样品的散射系数（与样品粒度有关，
52 粒度一定时为常数）。由于 K 与粉末样品浓度 C 成正比，由此可知， $f(R_\infty)$ 与 C 成
53 正比，这是应用漫反射光谱定量分析的依据。

54 2.4 显微模式

55 对于非均相的混合物样品，无需进行化学法分离，可通过红外显微镜在微观
56 条件下选择特定区域，直接测定红外光谱，实现微量分析和成像分析。

57 红外显微镜的工作原理：红外光经聚焦后通过样品的微区，通过调节可变光
58 阑的大小对不同成分在空间上分辨并分析，包括透射模式、反射模式和 ATR 模
59 式。红外显微镜的物镜为球面反射镜，为提高信号灵敏度，一般采用液氮制冷的
60 碲镉汞（MCT）检测器。红外成像由配备的阵列检测器实现；当使用阵列检测器
61 时，空间分辨率将不受光阑的限制。

62 3 仪器及性能确认

63 3.1 仪器装置

64 傅里叶变换型红外光谱仪(简称 FT-IR)是目前最常用的红外光谱仪器类型，
65 由光源、干涉仪、样品室、检测器和数据处理系统组成。其中光源常采用导电陶
66 瓷棒，干涉仪使用 KBr 分束器，样品室中使用附件，如透射样品架、ATR 附件
67 等。满足性能要求的其他类型红外光谱仪均可使用。红外光谱仪可与红外显微镜
68 联用，用于微观样品或化学成像的研究。红外光谱还可与其他分析技术联用，如
69 热分析、色谱法等。

70 3.2 仪器性能确认

71 为确保仪器能达到预期的应用目的，应采用标准参比物质(如聚苯乙烯薄膜)
72 对仪器的性能进行确证。例如，制订 SOP 定期进行校验，并在使用中通过自检
73 确保仪器的适用性。校验参数可包括本底光谱能量分布、光谱分辨率、波数准确
74 性、波数重复性、透射率重复性、100%线平直度、100%噪声等。

75 波数准确性和光谱分辨率为关键参数，必须进行确认。下述测试可用于仪器
76 确认，也可用作系统适用性试验：

77 用聚苯乙烯薄膜（厚度约为 0.04mm）校正仪器，采集其光谱图，用 3027cm^{-1} 、
78 2851cm^{-1} 、 1601cm^{-1} 、 1028cm^{-1} 、 907cm^{-1} 处的吸收峰对仪器的波数进行校正。
79 傅里叶变换红外光谱仪在 3000cm^{-1} 附近的波数误差应不大于 $\pm 5\text{cm}^{-1}$ ，在 1000cm^{-1}
80 1 附近的波数误差应不大于 $\pm 1\text{cm}^{-1}$ 。

81 用聚苯乙烯薄膜校正时，仪器的分辨率要求在 $3110\sim 2850\text{cm}^{-1}$ 范围内应能清
82 晰地分辨出 7 个峰，峰 2851cm^{-1} 与谷 2870cm^{-1} 之间的分辨深度不小于 18%透光
83 率，峰 1583cm^{-1} 与谷 1589cm^{-1} 之间的分辨深度不小于 12%透光率。仪器的标称

84 分辨率，除另有规定外，应优于 2cm^{-1} 。

85 仪器的校验应定期进行，并应在维修光路或更换光学部件（如光源或采样附
86 件）后及时进行。仪器性能校验与自检过程应根据仪器类型、测量方式以及所需
87 要验证的参数选择标准参比物质，并应该在光路中不存在滤光片的配置下，选择
88 合适的校验与自检方法。

89 4 定性和定量方法

90 4.1 鉴别

91 通过将供试品的红外光谱与对照图谱进行比对实现定性鉴别。其中，对照图
92 谱可为对照品的红外光谱、《药品红外光谱集》中的标准光谱或质量标准所附对
93 照图谱。鉴别时，实测谱带的波数误差应小于规定值的 $\pm 5\text{cm}^{-1}$ 或0.5%。可以存
94 储当前批次对照品的红外光谱以供后续使用。

95 除另有规定外，应按照《药品红外光谱集》各卷收载的各光谱图所规定的方
96 法制备样品。具体操作技术参见《药品红外光谱集》的说明。各品种项下规定“应
97 与对照的图谱（光谱集××图）一致”，系指《药品红外光谱集》各卷所载的图谱。
98 同一化合物的图谱若在不同卷上均有收载时，则以后卷所载的图谱为准。

99 当供试品的实测光谱与对照品或《药品红外光谱集》所收载的标准光谱不一
100 致时，应考虑晶型的影响。除另有规定外，应采用适当的溶剂对供试品和对照品
101 在相同的条件下同时进行重结晶，制样，并采集光谱，进行比对。如已规定特定
102 的药用晶型，则应采用相应晶型的对照品依法比对。

103 当采用固体制样技术不能满足鉴别需要时，可改用溶液法采集光谱后与对照
104 品在相同条件下采集的光谱进行比对。

105 **制剂鉴别** 品种鉴别项下应明确规定制剂的前处理方法，通常采用溶剂提取
106 法。提取时应选择适宜的溶剂，以尽可能减少辅料的干扰，避免导致可能的晶型
107 转变。提取的样品再经适当干燥后依法进行红外光谱鉴别。

108 药物制剂经提取处理并依法采集光谱，比对时应注意以下四种情况：（1）辅
109 料无干扰，待测成分的晶型不变化，此时可直接与原料药的标准光谱进行比对；
110 （2）辅料无干扰，但待测成分的晶型有变化，此种情况可用对照品经同法处理
111 后的光谱比对；（3）待测成分的晶型无变化，而辅料存在不同程度的干扰，此时
112 可参照原料药的标准光谱，在指纹区内选择3~5个不受辅料干扰的待测成分的特

113 征谱带作为鉴别的依据；(4) 待测成分的晶型有变化，辅料也存在干扰，此种情
114 况一般不宜采用红外光谱鉴别。

115 **多组分药物鉴别** 多组分药物鉴别包括多组分原料药鉴别、中药供试品整体
116 鉴别等。应考虑干扰、晶型、基质等对鉴别的影响。可采用溶剂提取法；或选择
117 主要成分的若干个特征谱带，进行谱图比对；也可使用化学计量学方法，在一定
118 波数范围内建立光谱特征判别模型或指纹图谱。

119 **谱图比对和结果判断方法** 可以利用全谱区或特定谱区进行谱图比对。可使
120 用软件的数学计算实现光谱比较，但需预先设定结果判断的标准，如阈值。常用
121 方法包括：

- 122 (1) 基于吸收峰峰位和相对强度的目视比较，进行判断；
- 123 (2) 计算两个光谱之间的相关系数，通过预先设定的阈值进行判断，其中
124 阈值的设定应符合专属性要求（参见化学计量学指导原则中的定性模型评估）；
- 125 (3) 通过化学计量学方法（如欧氏距离、马氏距离、分类方法）进行判断；
126 该类方法的建立、评估和验证应符合化学计量学指导原则的一般原则。

127 由于各种型号的仪器性能不同，供试品制备时研磨程度的差异或吸水程度不
128 同等原因，均会影响光谱的形状。因此，进行光谱比对时，应考虑各种因素可能
129 造成的影响。

130 同一物质的 ATR 光谱与透射光谱的吸收峰位置、强度或形状上有可能存在
131 一定的差异。因此，在鉴别时，ATR 光谱不能与透射光谱进行直接比较。

132 4.2 定量分析

133 **晶型、异构体限度检查** 采用红外光谱法可对不同晶型、异构体原料药或固
134 体制剂进行定量分析。可采用相对峰强度法：配制一系列不同比例的混合对照品，
135 选取不同晶型（或异构体）特有且互不干扰的红外光谱吸收峰，建立特征吸收峰
136 的响应值（吸收度、峰高或峰面积）的比值与晶型（或异构体）含量间的线性关
137 系（或对数线性关系），绘制标准曲线，对混合样品中各晶型（或异构体）进行
138 定量分析。也可采用归一化法进行纯度分析：选取不同晶型（或异构体）特有且
139 互不干扰的红外光谱吸收峰，对各晶型（或异构体）特征吸收峰进行积分获得峰
140 高或峰面积，计算各晶型的归一化纯度。

141 样品制备条件（如压力、溶剂）可能会改变表现出多态性物质的结晶形式。

142 对压力可致晶型状态改变的样品，优先考虑采用漫反射模式。

143 **含量测定** 采用红外光谱法可对样品中某些常量组分进行定量分析，如反式
144 脂肪酸、二甲硅油的测定等，常用外标法和标准曲线法。采用红外光谱外标法含
145 量测定的方法为：按各品种项下有关规定，精密称（量）取对照品和供试品，分
146 别配制供试品溶液和对照品溶液，对照品溶液中所含被测成分的量应为供试品溶
147 液中被测成分的量的 $100\% \pm 10\%$ ，所用溶剂应完全一致。在规定波数处，同法测
148 量供试品溶液和对照品溶液的响应值后，按下式计算供试品中被测溶液的浓度：

$$149 \quad c_X = c_R \times \frac{A_X}{A_R} \dots\dots\dots (6)$$

150 式中： A_X 为供试品的响应值； c_X 为供试品的浓度； A_R 为对照品的响应值；
151 c_R 为对照品的浓度。

152 红外光谱定量分析也可采用多变量校正模型，可参照近红外光谱法和化学计
153 量学指导原则。

154 根据检测类别（定性或定量），方法的验证可能涉及专属性、线性及范围、
155 准确度、精密度、检测限、定量限和耐用性等。通常情况下，定量方法验证应包
156 括准确度、精密度和定量限。

157 5 测定法

158 应根据样品的物理状态选择合适的测量模式和制备方法。透射模式适用于透
159 明样品，如液体、溶液、气体、薄膜、溴化钾压片等。液态样品和气态样品可装
160 载于固定或可变光程的液体池或气体池中测量，溴化钾压片应使用样品支架置于
161 光路中。ATR 模式适用于固态和液态样品的测量。漫反射模式适用于粉末样品的
162 测量。对于极微量或需微区分析的供试品，可采用显微红外光谱方法测定。制备
163 方法应符合药品检验标准规程的一般规定操作，保证红外图谱的质量。

164

起草单位：中国食品药品检定研究院、天津大学、江苏省食品药品监督检验研究院、宁夏回族自治区药品检验研究院、广州市药品检验所、清华大学

参与单位：云南省食品药品监督检验研究院、哈尔滨市药品和医疗器械检验检测中心、湖南省药品评审与不良反应监测中心、上海市食品药品检验研究院、安徽省食品药品检验研究院、山西省检验检测中心等

主要起草人：赵瑜（010-83851546），尹利辉（010-53851547），李晨曦，黄朝瑜，朱会琴，张立雯，李睿，孙素琴

0402 红外光谱法第二次公示稿修改说明

根据2024年2月0402红外光谱法首次公示稿的反馈意见和建议,在第一次公示稿的基础上修订了部分内容,包括概述、测量模式、仪器性能确认、鉴别、定量分析、测定法部分,详见公示稿。

公示稿