

## 附件：0402 红外光谱法草案公示稿（第一次）

## 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）内测定物质的吸收光谱，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动信息，其中  $1500\text{cm}^{-1}$  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（ $\lambda$ ）通常以纳米（ $\mu\text{m}$ ）表示，波数（ $\nu$ ）以厘米倒数（ $\text{cm}^{-1}$ ）  
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， $\text{cm}$ ； $c$  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  $\theta$  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  $\lambda$  相关，通常为  $\mu\text{m}$  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： $\lambda$  为波长， $\theta$  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，但漫反射光谱不符合比尔定律，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， $R_\infty$  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认，如制订 SOP 定期进行校验，并在使用中通过自检确保  
73 仪器的适用性；也可以对仪器进行 3Q 认证。校验参数通常包括本底光谱能量分  
74 布、光谱分辨率、波数准确性、波数重复性、透射率重复性、100%线平直度、100%  
75 噪声。

76 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  
77 确认，也可用作系统适用性测试：

78 用聚苯乙烯薄膜（厚度约为 0.04mm）校正仪器，采集其光谱图，用  $3027\text{cm}^{-1}$ 、  
79  $2851\text{cm}^{-1}$ 、 $1601\text{cm}^{-1}$ 、 $1028\text{cm}^{-1}$ 、 $907\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰对仪器的波数进行校正。  
80 傅里叶变换红外光谱仪在  $3000\text{cm}^{-1}$  附近的波数误差应不大于  $\pm 5\text{cm}^{-1}$ ，在  $1000\text{cm}^{-1}$   
81  $^1$  附近的波数误差应不大于  $\pm 1\text{cm}^{-1}$ 。

82 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  
83 晰地分辨出 7 个峰，峰  $2851\text{cm}^{-1}$  与谷  $2870\text{cm}^{-1}$  之间的分辨深度不小于 18%透光

84 率，峰  $1583\text{cm}^{-1}$  与谷  $1589\text{cm}^{-1}$  之间的分辨深度不小于 12%透光率。仪器的标称  
85 分辨率，除另有规定外，应不低于  $2\text{cm}^{-1}$ 。

86 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  
87 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  
88 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  
89 合适的校验与自检方法。

## 90 4 定性和定量方法

### 91 4.1 鉴别

92 通过将供试品的红外光谱与对照品的红外光谱或《药品红外光谱集》中的标  
93 准光谱进行比对实现定性鉴别。可以存储当前批次对照品的红外光谱以供后续使  
94 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。鉴别时，实测谱带的波数误差应小于规定值的 $\pm 5\text{cm}^{-1}$   
114 (0.5%); (4) 待测成分的晶型有变化，辅料也存在干扰，此种情况一般不宜采  
115 用红外光谱鉴别。

116 **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  
117 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  
118 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  
119 波数范围内建立光谱特征判别模型或指纹图谱。

120 **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  
121 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  
122 方法包括：

- 123 (1) 基于吸收峰峰位和相对强度的目视比较，进行主观判断；
  - 124 (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；
  - 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，常用的方法为相对峰强度法。配制一系列不同比例的混合  
135 对照品，选取不同晶型或异构体特有互不干扰的红外光谱吸收峰，建立特征吸收  
136 峰的吸光度比值的对数值与晶型（异构体）含量间的线性关系，绘制标准曲线，  
137 实现对混合样品的晶型（异构体）分析。

138 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。  
139 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。

140 **含量测定** 采用红外光谱法可对样本中常量组分进行定量分析，如反式脂肪  
141 酸、二甲硅油的测定等。常用外标法。按各品种项下有关规定，精密称（量）取

142 对照品和供试品，分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  
143 分的量应为供试品溶液中被测成分的量的  $100\% \pm 10\%$ ，所用溶剂应完全一致。在  
144 规定波数处测定供试品溶液和对照品溶液的吸收度值后，按下式计算供试品中被  
145 测溶液的浓度：

$$146 \quad c_X = c_R \times \frac{A_X}{A_R} \dots\dots\dots (6)$$

147 式中： $A_X$ 为供试品的峰面积或峰高； $c_X$ 为供试品的浓度； $A_R$ 为对照品的峰  
148 面积或峰高； $c_R$ 为对照品的浓度。

149 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。根据检  
150 测类别，方法的验证可能需要检测线性及范围、准确度、专属性、精密度、检测  
151 限、定量限和耐用性。通常情况下，定量方法验证应包括准确度、精密度和定量  
152 限。

## 153 5 测定法

154 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  
155 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  
156 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  
157 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  
158 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。

## 0402 红外光谱法修订说明

本草案在《中国药典》0402 红外分光光度法的基础上修订了如下内容：

- 对通则结构做了调整；
- 增订了红外光谱法的应用范围、谱图表示单位；
- 测量模式部分补充了原理，并增加了漫反射和红外显微镜的内容；
- 仪器部分提出仪器校验的要求及系统适用性方案；
- 定性定量方法部分对原描述进行了精简概括，并补充了必要内容；增订了“谱图比对和结果判断方法”，补充了定量分析的具体方法并给出方法验证方案等。

公示稿