

1 近赤外吸収スペクトル測定法

2 次のように改める。

3 近赤外吸収スペクトル測定法(NIR)は、被検物質による近赤
4 外領域における光の吸収スペクトルを測定し、その解析を行う
5 ことにより、物質の定性的又は定量的評価を行うための分光学
6 的方法の一つである。

7 近赤外光は、可視光と赤外光の間にあって、通例、750～
8 2500 nm(13333～4000 cm⁻¹)の波長(波数)範囲の光を指す。近
9 赤外光の吸収は、主として赤外領域(4000～400 cm⁻¹)における
10 基準振動の倍音(over-tones)又は結合音(combinations)による
11 振動によって生じ、特に水素原子が関与するO-H、N-H、C
12 -H、S-Hによる吸収が主である。例えば、N-Hの非対称伸
13 縮振動は3400 cm⁻¹付近にあるが、その第一倍音による吸収は
14 3400 cm⁻¹の2倍弱の6600 cm⁻¹(波長1515 nm)付近に現れる。

15 近赤外域における吸収は、赤外域における基準振動による吸
16 収よりもはるかに弱い。また、近赤外光は、可視光に比較して
17 長波長であることから、光は粉体を含む固体試料中、数mmの
18 深さまで侵入することができる。この過程で吸収される光のス
19 펙トル変化(透過光又は反射光)より、試料に関わる物理的及
20 び化学的知見が得られることから、本法は、非破壊分析法とし
21 ても広く活用されている。

22 近赤外吸収スペクトルの解析法としては、検量線法などの一
23 般的な分光学的手法が適用可能であれば、これを用いるが、通
24 常、ケモメトリックスの手法を用いて解析を行う。ケモメトリ
25 ックスは、通例、化学データを数量化し、情報化するための数
26 学的手法及び統計学的手法を指すが、近赤外吸収スペクトル測
27 定法におけるケモメトリックスとしては、重回帰分析法ははじ
28 め、種々の多変量解析法が用いられ、これにより有効成分の定
29 性的又は定量的評価などが行われる。

30 近赤外吸収スペクトル測定法は、水分の測定又は物質の確認
31 などにおいて、既存の確立された分析法に代えて、迅速かつ非
32 破壊的な分析法として用いられるものであり、この分析法を品
33 質評価試験法として日常的試験に用いる場合、既存の分析法を
34 基準として比較試験を行うことにより、その同等性を確認して
35 おく必要がある。

36 医薬品分野における近赤外分光法の応用としては、原薬及び
37 製剤中の有効成分、添加剤又は水分について、定性的又は定量
38 的評価を行うことができる。また、結晶形、結晶化度、粒子径
39 などの物理的状態の評価に用いることもできる。更に光ファイ
40 バーを用いることにより、装置本体から離れた場所にある試料
41 について、サンプリングを行うことなくスペクトル測定が可能
42 であることから、オンラインに加えて、医薬品の製造工程管理
43 をオンラインで行うための有力な手段としても活用することが
44 できる。

45 1. 装置

46 近赤外分光光度計には、分散型近赤外分光光度計及びフーリ
47 エ変換型近赤外分光光度計がある¹⁾。別に分光部に干渉フィル
48 ターを用いた干渉フィルター型近赤外分光光度計もあるが、こ
49 の方式の装置は医薬品の品質管理分野で用いられることはほと
50 んどない。

51 1.1. 分散型近赤外分光光度計

52 装置は、光源部、試料部、分光部、測光部、信号処理部、デ
53 ータ処理部及び表示・記録・出力部より構成されている。光源
54 には、ハロゲンランプ、タングステンランプ、発光ダイオード
55 など、近赤外光を高輝度かつ安定に放射するものが用いられる。
56 試料部は、試料セル及び試料ホルダーより構成される。光ファイ
57 iber及びコリメーターなどより構成される光ファイバー部を
58 有する装置においては、分光光度計本体から離れた場所に設置
59 された試料部に光を伝送する機能が付与されている。光ファイ
60 iberの材質としては、通例、石英が用いられる。

61 分光部は、分散素子を用いて必要とする波長の光を取り出す
62 ためのものであり、スリット、ミラー、分散素子から構成され
63 ている。分散素子には、プリズム、回折格子、音響光学素子
64 (AOTF)、液晶チューナブルフィルター(LCTF)などがある。測
65 光部は、検出器及び増幅器で構成されている。検出器としては、
66 半導体検出器(シリコン、硫化鉛、インジウム・ガリウム・ヒ
67 素、インジウム・アンチモンなど)のほか、光電子増倍管も用
68 いられる。半導体検出器による検出方法としては、通例、単一
69 素子による検出が行われるが、複数の素子を用いたアレイ型検
70 出器が用いられることもあり、これにより複数波長(波数)の光
71 の同時検出が可能となる。信号処理部では、増幅器の出力信号
72 から測定に必要な信号を分離し、出力する。データ処理部では、
73 データ変換、スペクトル解析などを行う。表示・記録・出力部
74 は、データ、分析結果及びデータ処理結果などをプリンターに
75 出力する。

76 1.2. フーリエ変換型近赤外分光光度計

77 装置の構成は、分光測光部及び信号処理部を除き、基本的に
78 1.1.の分散型装置の構成と同様である。

79 分光測光部は、干渉計、サンプリング信号発生器、検出器、
80 増幅器、A/D変換器などで構成される。干渉計には、マイケ
81 ルソン干渉計、トランセプト干渉計及び偏光干渉計などがある。
82 信号処理部については、分散型装置で要求される機能に加え、
83 得られた干渉波形(インターフェログラム)をフーリエ変換によ
84 り吸収スペクトルへ読み替える機能が付与されている。

85 2. 測定法

86 近赤外吸収スペクトル測定法には透過法、拡散反射法及び透
87 過反射法の3種の測定法がある。測定法の選択は、試料の形状
88 及び用途に依存し、粉体を含む固体試料には透過法又は拡散反
89 射法が、液体試料には透過法又は透過反射法が用いられる。

90 2.1. 透過法

91 透過法では、光源からの光が試料を通過する際の入射光強度
92 の減衰の度合いを透過率 T (%)又は吸光度 A として表す。試料
93 は、光源と検出器の間の光路中に置かれるが、この配置は、通
94 常の分光学的計測法におけるものと同様である。

$$95 T = 100t$$

$$96 t = I/I_0 = 10^{-\alpha c l}$$

97 I_0 : 入射光の強度

98 I : 透過光の強度

99 α : 吸光係数

100 c : 溶液の濃度

101 l : 層長(試料厚さ)

$$102 A = -\log t = \log(1/t) = \log(I_0/I) = \alpha c l$$

103 本法は、液体又は溶液試料に適用される方法であり、石英ガ
104 ラスセル、フローセルなどに注入し、層長1~5 mm程度で測
105 定する。また、粉体を含む固体試料に対しても適用可能であり、
106 拡散透過法ともよばれる。この場合、試料の粒度、表面状態な
107 どにより透過光強度は変化することから、適切な層長の選択が
108 重要となる。

109 2.2. 拡散反射法

110 拡散反射法では、試料から広い立体角範囲に放射する反射光
111 強度 I と対照となる物質表面からの反射光強度 I_r との比を反射
112 率 $R(\%)$ として表す。近赤外光は、粉体を含む固体試料中、数
113 mmの深さまで侵入し、その過程で透過、屈折、反射、散乱を
114 繰り返し、拡散するが、この拡散光の一部は再び試料表面から
115 放射され、検出器に捕捉される。通例、反射率の逆数の対数を
116 波長(波数)に対してプロットすることにより、拡散反射吸光度
117 (A_r)のスペクトルが得られる。

$$118 R=100r$$

$$119 r=I/I_r$$

120 I : 試料から拡散反射する反射光強度

121 I_r : 対照となる物質表面からの反射光強度

$$122 A_r=\log(1/r)=\log(I_r/I)$$

123 また、拡散反射スペクトルの強度表現にはKubelka-
124 Munk(K-M)関数によるものがある。K-M関数は十分な厚さ
125 を有する試料を仮定して導かれたものであり、試料の濃度、近
126 赤外光に対する吸光係数及び粒子の大きさ、形状、充てんの度
127 合い(疎密)等により定まる光散乱係数を用いて表される。

128 本法は、粉体を含む固体試料に適用される方法であり、測定
129 に際して、拡散反射装置が必要となる。

130 2.3. 透過反射法

131 透過反射法は、透過法と反射法を組み合わせたものである。
132 透過反射率 $T^*(\%)$ を測定する場合、ミラーを用いて試料を透
133 過した光を再反射させる。光路長は試料厚さの2倍にする。一
134 方、対照光は、鏡面で反射して検出器に入る反射光を用いる。
135 ただし、本法を懸濁試料に適用する場合、ミラーの代わりに拡
136 散反射する粗面を持つ金属板又はセラミック反射板などが用い
137 られる。

138 本法における透過反射吸光度(A^*)は、次式により得られる。

$$139 T^*=100t^*$$

$$140 t^*=I/I_r$$

141 I : 試料が置かれた場合の透過光及び反射光強度

142 I_r : 試料がない場合の反射光強度

$$143 A^*=\log(1/t^*)$$

144 本法は、粉体を含む固体試料、液体試料及び懸濁試料に適用
145 される方法である。固体試料に適用する場合、試料厚さを調節
146 する必要があるが、通例、検出器の直線性とSN比が最良とな
147 る吸光度で0.1~2(透過率で79~1%)となるように調節する。

148 なお、粉体試料に適用する場合、粉体の粒度に応じて適切な層
149 長を持つセルを選択する必要がある。

150 3. スペクトルに影響を与える要因

151 近赤外吸収スペクトル測定法を適用しようとするとき、特に
152 定量的な分析においては、スペクトルに影響を与える要因とし

153 て、以下の事項に留意する必要がある。

154 (i) 試料温度: 温度が数℃違くとスペクトルに有意な変化(例
155 えば、波長シフト)を生ずることがある。特に試料が水溶液で
156 あるか、水分を含む場合、注意する必要がある。

157 (ii) 水分又は残留溶媒: 試料中の水分又は残留溶媒及び測定
158 環境中の水分(湿度)も近赤外領域の吸収帯に有意な影響を与え
159 る可能性がある。

160 (iii) 試料厚さ: 試料の厚さは、スペクトル変化の要因であり、
161 一定の厚さに管理する必要がある。例えば、拡散反射法では、
162 試料は十分に厚いことが想定されているが、一定の厚さ以下で
163 ある場合、高反射率の支持板の上に試料を置き、透過反射法と
164 するなどの工夫が必要である。

165 (iv) 試料の充てん状態: 固体又は粉体試料の測定においては、
166 試料の充てん状態がスペクトルに影響を与える可能性がある。
167 試料のセルへの充てんにあたっては、一定量を一定手順により
168 充てんするよう注意する必要がある。

169 (v) 試料の光学特性: 物理的、化学的又は光学的に不均一な
170 試料の場合、比較的大きな光束(**beam size**)を用いるか、複数
171 試料又は同一試料の複数点を測定するか、又は粉砕するなどし
172 て、試料の平均化を図る必要がある。また、粉末試料では、粒
173 径、充てんの度合い、表面の粗さなどもスペクトルに影響を与
174 える。

175 (vi) 結晶多形: 結晶構造の変化(結晶多形)もスペクトルに影
176 響を与える。複数の結晶形が存在する場合、適用しようとする
177 試料の特性を考慮して、検量線用の標準的な試料についても分
178 析対象となる試料と同様な多形分布を持つように注意する必要
179 がある。

180 (vii) 試料特性の時間的变化: 試料は、サンプリング後の時間
181 経過又は保存に伴って化学的、物理的又は光学的性質に変化が
182 生じる可能性があるが、それらの変化は、スペクトルに微妙な
183 影響を与えることになる。例えば、同一試料であっても時間経
184 過が異なれば、近赤外スペクトルとしての特性は有意に変化す
185 ることがある。したがって、検量線作成の際には、試験室での
186 オフライン測定とするか、又は製造工程でのオンライン(又は
187 インライン)測定とするかなど、測定までの時間経過を十分に
188 考慮して検量線用試料の調製をするなどの注意が必要である。

189 4. 装置性能の管理^{2, 3)}

190 4.1. 波長(波数)精度

191 装置の波長(波数)の正確さは、吸収ピークの波長(波数)が確
192 定された物質、例えば、ポリスチレン、希土類酸化物の混合物
193 (ジスプロシウム/ホルミウム/エルビウム(1:1:1))又は水
194 蒸気などの吸収ピークと装置の指示値との偏りから求める。通
195 例、次の3ピーク位置付近での許容差は下記のとおりとする。
196 ただし、適用する用途に応じて、適切な許容差を設定すること
197 ができる。

198 1200±1 nm(8300±8 cm⁻¹)

199 1600±1 nm(6250±4 cm⁻¹)

200 2000±1.5 nm(5000±4 cm⁻¹)

201 ただし、基準として用いる物質により吸収ピークの位置が異
202 なるので、上記3ピークに最も近い波長(波数)位置の吸収ピー
203 クを選んで適合性を評価する。例えば、希土類酸化物の混合物
204 は1261 nm, 1681 nm, 1971 nmに特徴的な吸収ピークを示
205 す。

206 また、透過法での測定を行う場合、ジクロロメタンを基準と
207 し、1155 nm, 1417 nm, 1649 nm, 2352 nmの吸収ピーク
208 を用いることができる(層長: 1.0 mm)。波数分解能の高いフ
209 ーリエ変換型分光光度計では 7306.7 cm^{-1} の水蒸気の吸収ピー
210 クを用いることができる。

211 なお、妥当性が確認できれば、ほかの物質を基準として用い
212 ることもできる。

213 4.2. 分光学的直線性

214 異なる濃度で炭素を含浸させた板状のポリマー(Carbon-
215 doped polymer standards)など適当な標準板を用いて分光学
216 的直線性の評価を行うことができる。ただし、直線性の確認の
217 ためには、反射率10~90%の範囲内の少なくとも4濃度レベル
218 の標準板を用いる必要がある。また、吸光度1.0以上での測定
219 が想定される場合、反射率2%又は5%の標準板のいずれか又
220 は両標準板を追加する必要がある。

221 これらの標準板につき、波長1200 nm, 1600 nm及び2000
222 nm付近の位置における吸光度(A_{obs})を測定し、この値(A_{obs})を
223 それぞれの標準板に付与されている各波長での吸光度(A_{ref})に
224 対してプロットするとき、得られる直線の勾配は、通例、い
225 ずれの波長においても 1.0 ± 0.05 、縦軸切片は 0 ± 0.05 の範囲内に
226 あることを確認する。ただし、適用する用途に応じて、適切な
227 許容差を設定することができる。

228 4.3. 測光ノイズ(Spectrophotometric noise)

229 装置の測光ノイズは、白色反射性セラミックタイル又は反射
230 性熱可塑性樹脂(例えば、ポリテトラフルオロエチレン)など適
231 切な反射率標準板を用いてチェックすることができる。

232 4.3.1. 高フラックスノイズ

233 高い反射率、例えば、反射率99%を有する標準板を用いて、
234 測光ノイズを評価する。測定は、試料及び対照用試料のいずれ
235 に対しても標準板を使用して行う。1200~2200 nmの波長範
236 囲につき、100 nm(セグメント)ごとにノイズの平均二乗根
237 (RMS)を計算するとき、通例、その平均値は 0.3×10^{-3} 以下で
238 あり、個々の値は 0.8×10^{-3} を超えてはならない。ただし、適
239 用する用途に応じて、適切な許容差を設定することができる。

$$240 \quad RMS = \{1/N \cdot \sum (A_i - A_m)^2\}^{1/2}$$

241 N : セグメント当たりの測定点数

242 A_i : セグメントの各測定点における吸光度

243 A_m : セグメントにおける平均吸光度

244 4.3.2. 低フラックスノイズ

245 低い反射率、例えば、反射率10%を有する標準板を用いて、
246 光量が小さいときの測光ノイズを評価する。この場合、光源、
247 光学系、検出器及び電子回路系のいずれもが、ノイズに対して
248 何らかの影響を与える。高フラックスノイズの場合と同様に、
249 1200~2200 nmの波長範囲につき、100 nmごとに RMS を計
250 算するとき、通例、その平均値は 1.0×10^{-3} 以下であり、個々
251 の値は 2.0×10^{-3} を超えてはならない。ただし、適用する用途
252 に応じて、適切な許容差を設定することができる。

253 5. 定性又は定量分析への応用

254 近赤外領域では、赤外領域と異なり、主として基準振動の倍
255 音又は結合音がスペクトルとして現れる。これらの吸収スペク
256 トルは官能基及び原子団の吸収バンドが重なって観察されるこ
257 とが多い。したがって、近赤外吸収スペクトル測定法は、従来

258 の分析法とは異なり、定性又は定量分析への応用のためには、
259 通例、多変量解析など、ケモメトリックスの手法を用いてモデ
260 ル分析法を作成し、それぞれの用途に応じた分析法を確立する
261 必要がある。

262 また、ケモメトリックスの手法を用いて分析法を確立しよう
263 とする場合、近赤外吸収スペクトルの特徴を強調すること及び
264 スペクトルの複雑さや吸収バンドの重なりの影響を減ずるため
265 に、スペクトルの一次若しくは二次微分処理又は正規化
(Normalization)などの数学的前処理を行うことは、重要な手
266 順の一つとなる。なお、ケモメトリックスの手法やデータの数
267 学的前処理法は多数あるが、分析目的に合わせ、適切な方法を
268 組み合わせる。269

270 近赤外分析法の確立に際しては、通常、分析法バリデーショ
271 ンで要求される分析能パラメーターに基づくその妥当性の評価
272 が必要とされるが、パラメーターの選択は、分析法の用途に合
273 わせて適切に行う必要がある。また、近赤外吸収スペクトル測
274 定法の特徴に合わせて、下記の事項に留意する。

275 (i) ある分析法で利用しようとする波長(波数)が、与えられ
276 た条件下で分析対象の特性評価のために適しているか。

277 (ii) 試料の取扱い方(例えば、粉末試料の充てんの度合い、充
278 てん圧など)や構成マトリックスなどの変動要因に対して十分
279 な堅牢性を有しているか。

280 (iii) 既存の確立された基準となる分析法と比較して、ほぼ同
281 等の真度及び精度が得られるか。

282 (iv) 確立された後の分析法の性能を維持・管理することが重
283 要であり、継続的かつ計画的な保守点検作業が必要とされる。

284 また、製造工程又は原料などの変更及び装置の主要部品の交換
285 などに伴う変更管理又は再バリデーションの実施などに関する
286 適切な評価手順は用意されているか。

287 (v) ある装置を用いることを前提にして確立された分析法を
288 ほかの装置に移設し(Model Transfer)、共通に利用しようとす
289 る場合、移設の妥当性を確認し得る適切な評価手順は用意され
290 ているか。

291 5.1. 定性分析

292 分析対象となる各物質について、許容される範囲のロット間
293 変動を含んだリファレンスライブラリーを作成し、多変量解析
294 などケモメトリックスの手法を用いて分析法を確立した後、物
295 質の確認などの定性的評価を行う。また、この手法によりロッ
296 ト間における品質特性の微小な差異を推定することもできる。

297 なお、多変量解析法としては波長相関法、残差平方和法、距
298 離平方和法などの波長(波数)又は吸光度などを変数とする直接
299 的な解析法のほか、主成分分析などの前処理をした後に適用さ
300 れる因子分析法、クラスター分析法、判別分析法及びSIMCA
301 (Soft independent modeling of class analogy)などの多変量解
302 析法もある。

303 また、近赤外吸収スペクトル全体を一つのパターンとみなし、
304 多変量解析法の適用により得られるパラメーター又は対象物質
305 に特徴的な波長(波数)でのピーク高さをモニタリングの指標と
306 することにより、原薬又は製剤の製造工程管理に利用すること
307 もできる。

308 5.2. 定量分析

309 定量分析は、試料群のスペクトルと既存の確立された分析法
310 によって求められた分析値との関係から、ケモメトリックスの
311 手法を用いて、定量モデルを求め、換算方程式によって、測定

4 近赤外吸収スペクトル測定法 (109-1112.pdf)

312 試料中の各成分濃度や物性値を算出する。定量モデルを求める
313 ためのケモトリックスの手法には、重回帰分析法、主成分回
314 帰分析法、PLS (Partial least squares)回帰分析法などがある。
315 また、試料の組成が単純な場合、濃度既知の検量線作成用試
316 料を用いて、ある特定波長(波数)における吸光度又はこれに比
317 例するパラメーターと濃度との関係をプロットして検量線とし、
318 これを用いて試料中の分析対象成分の濃度を算出できることも
319 ある(検量線法)。

320 6. 参考資料

321 ¹⁾ 日本工業規格, 近赤外分光分析通則JIS K 0134 (2002)

322 ²⁾ European Pharmacopoeia 5.0 (2005), 2.2.40. Near-
323 Infrared Spectrophotometry

324 ³⁾ US Pharmacopeia 30 (2007), 〈1119〉 Near-Infrared
325 Spectrophotometry

326