

## 1 2.27 近赤外吸収スペクトル測定法

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

6 近赤外線は、可視光線と赤外線の間であって、通例、750 ~  
7 2500 nm (13333 ~ 4000  $\text{cm}^{-1}$ )の波長(又は波数)範囲の光を指  
8 す。近赤外線の吸収は、主として赤外領域 2500 ~ 25000 nm  
9 (4000 ~ 400  $\text{cm}^{-1}$ )における基準振動の倍音又は結合音による  
10 振動によって生じ、特に水素原子が関与するO-H, N-H, C  
11 -H, S-Hによる吸収が主である。

12 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  
13 収よりもはるかに弱い。また、近赤外線は、可視光線と比較し  
14 て長波長であることから、光は粉体を含む固体試料中、数mm  
15 の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  
16 スペクトル変化(透過光又は反射光)より、試料に関わる物理的  
17 及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  
18 しても広く活用されている。

19 近赤外吸収スペクトル測定法は、既存の確立された分析法に  
20 代えて、迅速かつ非破壊的な分析法として用いられるものであ  
21 り、この分析法を品質評価試験法として管理に用いる場合、既  
22 存の分析法を基準として比較試験を行うことにより、その同等  
23 性を確認しておく必要がある。

24 本法を応用し、原薬及び製剤中の有効成分、添加剤又は水分  
25 について、定性的又は定量的評価を行うことができる。また、  
26 結晶形、結晶化度、粒子径などの物理的状態の評価に用いるこ  
27 ともできる。さらに光ファイバーを用いることにより、装置本  
28 体から離れた場所にある試料について、サンプリングを行うこ  
29 となくスペクトル測定が可能であることから、医薬品の製造工  
30 程管理をオンライン(又はインライン)で行うための有力な手段  
31 としても活用することができる。

### 32 1. 装置

33 近赤外分光光度計には、主として分散型近赤外分光光度計及  
34 びフーリエ変換近赤外分光光度計がある。

#### 35 1.1. 分散型近赤外分光光度計

36 装置は、光源部、試料部、分光部、測光部、信号処理部、デ  
37 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  
38 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  
39 など、近赤外線を高輝度かつ安定に放射するものが用いられる。  
40 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  
41 イバー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  
42 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  
43 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  
44 バーの材質としては、通例、石英が用いられる。

45 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  
46 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  
47 ている。測光部は、検出器及び増幅器で構成されている。検出  
48 器としては、半導体検出器のほか、光電子増倍管も用いられる。  
49 半導体検出器による検出方法としては、通例、単一素子による  
50 検出が行われるが、複数の素子を用いたアレイ型検出器が用い  
51 られることもあり、これにより複数波長(又は波数)の光の同時

52 検出が可能となる。信号処理部では、増幅器の出力信号から測  
53 定に必要な信号を分離し、出力する。信号処理方式にはアナロ  
54 グ処理及びデジタル処理がある。

#### 55 1.2. フーリエ変換近赤外分光光度計

56 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  
57 1.1.の分散型装置の構成と同様である。

58 分光測光部は、干渉計、サンプリング信号発生器、検出器、  
59 増幅器、A/D変換器などで構成される。信号処理部について  
60 は、分散型装置で要求される機能に加え、得られた干渉波形  
61 (インターフェログラム)をフーリエ変換により吸収スペクトル  
62 へ読み替える機能が付与されている。

## 63 2. 測定法

64 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  
65 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  
66 及び用途に依存し、例えば、粉体を含む固体試料には透過法又  
67 は拡散反射法が、液体試料には透過法又は透過反射法が用いら  
68 れる。装置の測定モードなどを選択し、設定する。

### 69 2.1. 透過法

70 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  
71 の減衰の度合いを透過率 $T(\%)$ 又は吸光度 $A$ として表す。

72 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  
73 ラスセル、フローセルなどに注入し、層長1 ~ 5 mm程度で測  
74 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、  
75 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  
76 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  
77 重要となる。

### 78 2.2. 拡散反射法

79 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  
80 強度 $I$ と対照となる物質表面からの反射光強度 $I_0$ との比を反射  
81 率 $R(\%)$ として表す。近赤外線は、粉体を含む固体試料中、数  
82 mmの深さまで侵入し、その過程で透過、屈折、反射、散乱を  
83 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  
84 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  
85 波長(又は波数)に対してプロットすることにより、拡散反射吸  
86 光度( $A_d$ )のスペクトルが得られる。

87 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  
88 に際して、プローブなどの拡散反射装置が必要となる。

### 89 2.3. 透過反射法

90 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。  
91 透過反射率 $T^*(\%)$ を測定する場合、ミラーを用いて試料を透  
92 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  
93 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。  
94 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  
95 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  
96 られる。

97 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  
98 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  
99 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  
100 る吸光度で0.1 ~ 2(透過率で79 ~ 1%)となるように調節する。  
101 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  
102 長を持つセルを選択する必要がある。

## 103 3. スペクトルに影響を与える要因

104 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

105 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  
106 て、以下の事項に留意する必要がある。

107 (i) 測定条件：試料温度が数℃違うとスペクトルに有意な  
108 変化(例えば、波長シフト)を生ずることがある。特に試料が水分  
109 を含む場合、注意する必要がある。また、試料中の水分又は  
110 残留溶媒及び測定環境中の水分(湿度)も近赤外領域の吸収帯に  
111 有意な影響を与える可能性がある。

112 試料の厚さは、スペクトル変化の要因であり、一定の厚さに  
113 管理する必要がある。さらに、固体又は粉体試料の測定におい  
114 ては、試料の充填状態がスペクトルに影響を与える可能性がある  
115 ため、試料のセルへの充填にあたっては、一定量を一定手順  
116 により充填するよう注意する必要がある。

117 試料は、サンプリング後の時間経過又は保存に伴って化学的、  
118 物理的又は光学的性質に変化が生じる可能性があるため、検量  
119 線作成の際には、試験室でのオフライン測定とするか、又は製  
120 造工程でのオンライン(又はインライン)測定とするかなど、測  
121 定までの時間経過を十分に考慮して検量線用試料の調製をする  
122 などの注意が必要である。

123 (ii) 試料特性：物理的、化学的又は光学的に不均一な試料  
124 の場合、比較的大きな光束(*beam size*)を用いるか、複数試料  
125 又は同一試料の複数点を測定するか、又は粉碎するなどして、  
126 試料の平均化を図る必要がある。また、粉末試料では、粒径、  
127 充填の度合い、表面の粗さなどもスペクトルに影響を与える。  
128 結晶構造の変化(結晶多形)もスペクトルに影響を与えるため、  
129 複数の結晶形が存在する場合、検量線用の標準的な試料につい  
130 ても分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  
131 る必要がある。

## 132 4. 装置性能の管理

### 133 4.1. 波長(又は波数)の正確さ

134 装置の波長(又は波数)の正確さは、吸収ピークの波長(又は波  
135 数)が確定された適切な物質、例えば、ポリスチレン、希土類  
136 酸化物の混合物(ジスプロシウム/ホルミウム/エルビウム  
137 (1:1:1)又は水蒸気などの吸収ピークと装置の指示値との偏  
138 りから求める。通例、次の3ピーク位置付近での許容差は下記  
139 のとおりとする。ただし、適用する用途に応じて、適切な許容  
140 差を設定することができる。

141  $1200 \pm 1 \text{ nm}$  ( $8300 \pm 8 \text{ cm}^{-1}$ )

142  $1600 \pm 1 \text{ nm}$  ( $6250 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ )

143  $2000 \pm 1.5 \text{ nm}$  ( $5000 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ )

144 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  
145 なるので、上記3ピークに最も近い波長(又は波数)位置の吸収  
146 ピークを選んで適合性を評価する。例えば、希土類酸化物の混  
147 合物は $1261 \text{ nm}$  ( $7930 \text{ cm}^{-1}$ )、 $1681 \text{ nm}$  ( $5949 \text{ cm}^{-1}$ )、 $1971 \text{ nm}$   
148 ( $5074 \text{ cm}^{-1}$ )に特徴的な吸収ピークを示す。

149 波数分解能の高いフーリエ変換分光光度計では $1368.6 \text{ nm}$   
150 ( $7306.7 \text{ cm}^{-1}$ )の水蒸気の吸収ピークを用いることができる。

151 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  
152 ることもできる。

### 153 4.2. 分光学的直線性

154 異なる濃度で炭素を含浸させた板状のポリマー(Carbon-  
155 doped polymer standards)など適当な標準板を用いて分光学  
156 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  
157 ためには、反射率10～90%の範囲内の少なくとも4濃度レベ

158 ル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  
159 定が想定される場合、反射率2%又は5%の標準板のいずれか  
160 又は両標準板を追加する必要がある。

161 これらの標準板につき、波長 $1200 \text{ nm}$  ( $8300 \text{ cm}^{-1}$ )、 $1600$   
162  $\text{nm}$  ( $6250 \text{ cm}^{-1}$ )及び $2000 \text{ nm}$  ( $5000 \text{ cm}^{-1}$ )付近の位置における  
163 吸光度を測定し、この値をそれぞれの標準板に付与されている  
164 各波長(又は波数)での吸光度に対してプロットするとき、得ら  
165 れる直線の勾配は、通例、 $1.00 \pm 0.05$ 、縦軸切片は $0.00 \pm$   
166  $0.05$ の範囲内にあることを確認する。ただし、適用する用途に  
167 応じて、適切な許容差を設定することができる。

## 168 5. 定性又は定量分析への応用

169 近赤外吸収スペクトルの解析法としては、通常、ケモメトリ  
170 ックスの手法を用いて解析を行うが、検量線法などの一般的な  
171 分光学的手法が適用可能であればこれを用いてもよい。ケモメ  
172 トリックスは、通例、化学データを数量化し、情報化するため  
173 の数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  
174 ル測定法におけるケモメトリックスとしては、種々の多変量解  
175 析法が用いられ、目的に合わせて選択する。また、ケモメトリ  
176 ックスの手法を用いて分析法を確立しようとする場合、近赤外  
177 吸収スペクトルの特徴を強調すること及びスペクトルの複雑さ  
178 や吸収バンドの重なりの影響を減ずるために、スペクトルの一  
179 次若しくは二次微分処理又は正規化(Normalization)などの数  
180 学的前処理を行うことは、重要な手順の一つとなる。

181 近赤外吸収スペクトル測定法では、確立された後の分析法の  
182 性能を維持管理することが重要であり、継続的かつ計画的な保  
183 守点検作業が必要とされる。また、製造工程又は原料などの変  
184 更及び装置の主要部品の交換などに伴う変更管理又は再バリデ  
185 ーションの実施などに関する適切な評価手順が用意されている  
186 か留意が必要である。

### 187 5.1. 定性分析

188 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  
189 変動を含んだリファレンスライブラリーを作成し、ケモメトリ  
190 ックスの手法を用いて分析法を確立した後、定性的評価を行う。  
191 標準スペクトルとの比較やバリデートされたケモメトリックス  
192 ソフトウェアなどを用いた方法により、同一性を確認すること  
193 ができる。また、吸収バンドによる同定を行うこともできる。

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

200 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、  
201 多変量解析法の適用により得られるパラメーター又は分析対象  
202 成分に特徴的な波長(又は波数)でのピーク高さをモニタリング  
203 の指標とすることにより、原薬又は製剤の製造工程管理に利用  
204 することもできる。

### 205 5.2. 定量分析

206 定量分析は、通例、試料群のスペクトルと既存の確立された  
207 分析法によって求められた分析値との関係から、ケモメトリッ  
208 ックスの手法を用いて、定量モデルを求め、換算方程式によって、  
209 測定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  
210 めるためのケモメトリックスの手法には、重回帰分析法及び

211 PLS (Partial least squares)回帰分析法などがある。  
212 試料の組成が単純な場合、濃度既知の検量線作成用試料を用  
213 いて、ある特定波長(又は波数)における吸光度又はこれに比例  
214 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、  
215 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  
216 ある(検量線法)。  
217  
218