

# 比較卡爾費雪水分測定儀及微波/紅外線水分分析儀 檢測冷凍乾燥疫苗之含濕度

謝政橘\*、李伯軒、潘姿吟、黃建元

農業部獸醫研究所

**摘要** 冷凍乾燥是保存活毒疫苗常見的一種方法，優點在於能不破壞疫苗中活性成分的力價，使活毒疫苗可在室溫或冷藏中長效且穩定的保存；但若在冷凍乾燥的過程中，未能控制含濕度，將使疫苗中的物質處於固液共存的情況下，易使疫苗中的活性成分處於高濃度溶劑中，而破壞疫苗中的活性成分。目前動物用疫苗品質管制檢測常使用卡爾費雪滴定法檢測含濕度，本試驗選用羊痘活毒疫苗及豬瘟組織培養活毒疫苗，比較卡爾費雪滴定法及微波/紅外線水分分析法檢測含濕度的差異。試驗結果顯示，同種疫苗使用不同檢測方法，分別得到迴歸方程式： $y=1.001x-0.001$ ， $R^2=0.971$ ； $y=0.937x+0.062$ ， $R^2=0.948$ ；表示卡爾費雪滴定法及微波/紅外線水分分析法的相關性極高，微波/紅外線水分分析法可應用於動物用冷凍乾燥疫苗之品質檢測。

**關鍵詞：**卡爾費雪、微波/紅外線、冷凍乾燥、品質管制、疫苗

## 緒言

羊痘活毒疫苗及豬瘟組織培養活毒疫苗是農業部獸醫研究所（以下簡稱本所）製造生產之滅毒活毒疫苗，分別預防綿羊痘、山羊痘及豬瘟，作為國內動物疾病防疫所需。一般活毒疫苗產品為保存活性，常以冷凍乾燥技術保存 [8]。

冷凍乾燥是一種常見疫苗保存的方法，主要是利用高度真空的狀態之下，將疫苗成品中凍結成冰晶的水分，直接昇華成氣體並凍結於冷凝器之上 [11]。在冷凍乾燥過程中，可有效穩定疫苗的有效成分，進而延遲疫苗的生物反應與化學反應，亦是延長保存期限 [9]。冷凍乾燥優點在於不破壞疫苗中病毒力價，疫苗成品能於室溫或冷藏中長效且穩定保存，並能有效降低運輸重量與運輸費用等；但若於冷凍乾燥過程中，溫度選擇錯誤，含濕度異常，反而使疫苗中活性成分處於高濃度的溶劑中，破壞疫苗中的活性成分。依據「動物用藥品檢驗標準」第 22 節「乾燥兔化豬瘟組

織培養活毒疫苗檢驗標準」[3]及第 85 節「羊痘活毒疫苗檢驗標準」[4]，有關疫苗含濕度試驗含濕度須為 4% 以下，可見含濕度於疫苗檢驗之重要性。

參考中華藥典第九版，有關水分測定法敘述 [1]，甚多藥典中藥品或為水合物或吸附形式游離水，在證明含量時，以藥典標準方法測定水含量極為重要。當物質含有水合作用水，建議使用下列方法：

### 一、滴定法 [1]：

#### 1. 直接滴定法：

水分滴定法是基於二氧化硫和碘的無水溶液，與氫離子反應之緩衝溶液下發生水的定量反應。原始之滴定溶液即費氏試劑，是將二氧化硫和碘溶解在吡啶和甲醇中，樣品可被試劑直接滴定，或採反滴定法完成分析。水分的滴定通常以無水甲醇作為樣品之溶劑，而對於特殊或不常用之樣品，則可能擇定其他適合的溶劑。

\* 抽印本索取作者  
農業部獸醫研究所

## 2. 反滴定法：

將過量的費氏試劑加入待測樣品中，給予足夠之時間達成反應完全，未消耗之費氏試劑以溶於溶劑（例如：甲醇）的標準水溶液滴定。反滴定法是普遍適用之方法，可避免直接滴定樣品時可能遇到之困難，例如結合水緩慢被釋放。

## 3. 庫倫滴定法：

費氏反應被用於水分之庫倫測定法，碘是通過陽極氧化含有碘的溶液生成。反應池通常由一陽極室和一陰極室組成，中間再以隔膜分開，亦可使用其他合適類型之反應池。此種方法特別適用於惰性化學物質，例如碳氫化合物、乙醚和乙醇。

## 二、恆沸點法：

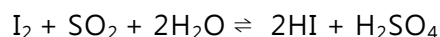
將不溶於水的樣品和有機溶劑放入蒸餾式水分測定裝置中加熱，樣品中的水分與溶劑蒸汽一起蒸發，將蒸汽於冷凝管中冷凝，由水分的容量而得到樣品中水分含量。

## 三、重量分析法：

測定樣品在規定條件下乾燥時，所減失水分及揮發性物質之重量，並以其重量百分率（%）表示之。

水分測定法常見為卡爾費雪（Karl Fischer）滴定法 [7] 及微波/紅外線水分分析法等。卡爾費雪滴定法是 1935 年卡爾費雪提出的測定水分的方法 [7]，測定物質水分的各類化學方法中，對水最為專一且準確的方法，利用碘、二氧化硫與水進行氧化還原反應來偵測水的含量。雖屬經典方法但經過近年改進，提高準確度，擴大測量範圍，已被列為許多物質中水分測定的標準方法。

卡爾費雪滴定法屬碘量法，其基本原理是利用碘氧化二氧化硫時，需要一定量的水參加反應：



上述反應是可逆的，為使反應向正方向移動並定量進行，須加入鹼性物質，而吡啶是最適宜之試劑。另試劑必須加進甲醇或另一種含活潑 OH 基的溶劑，使硫酸酐吡啶轉變成穩定的甲基硫酸氫吡啶。卡爾費雪使用含硫及含碘的試劑對樣品水分進行化學滴定，

但因試劑內含有吡啶，對環境具毒性，雖然後續有開發出不含吡啶的溶劑，但廢液的處理仍是實驗室的一大問題。

微波/紅外線乾燥法 [10, 12] 分析水分時，因為可以使用對水具專一性的微波波長，使用熱量能夠到達樣品的任一處，且輔以紅外線，能加熱樣品的表面，使樣品溫度能快速且內外均勻，另有些微波設備具備控溫，能使樣品維持於一定溫度而不被破壞，使微波/紅外線乾燥法來分析水分在樣品選擇上更多元也更具競爭力。

本試驗係比較卡爾費雪滴定法及微波/紅外線乾燥法來分析冷凍乾燥疫苗的含濕度結果，比較兩種檢測方法之差異。

## 材料與方法

### 樣品準備

取本所製造之羊痘活毒疫苗成品共 30 支；豬瘟組織培養活毒疫苗成品 3 批次各 10 支，共 30 支成品。

### 真空試驗

待測樣品於暗室中以 Tesla Coil ( Tesla Coil, KABURAGI GAGAKU, Tokyo ) 行無極放電，測試真空度，觀察樣品放電反應，若真空度足夠時，將呈現紫色放電反應。確認冷凍乾燥疫苗具有紫色放電反應，證明成品仍具備真空，始能用於後續的含濕度試驗。

### 含濕度試驗

取真空度試驗合格之冷凍乾燥疫苗，以鉗子破壞封裝用鋁蓋，取出真空橡皮塞，迅速以一字型藥勺將真空玻璃瓶底部的冷凍乾燥藥餅切成兩等份，將分別用於卡爾費雪滴定法以及微波/紅外線乾燥法進行含濕度試驗。準備石臘膜，於取出其中一片分切好之藥餅時，立即將已開封的真空玻璃瓶封好，用以隔絕與環境接觸。

### 卡爾費雪滴定法檢測含濕度試驗 ( Karl Fischer Titration )

使用卡爾費雪滴定來檢測冷凍乾燥疫苗所含微量

水分的方法，其原理為利用碘、二氧化硫與水進行氧化還原反應來偵測水的含量。此滴定法可應用於多種類的固體、有機液體的水分檢測。使用非極性的溶劑來進行反應，避免因酸性或鹼性溶劑而造成化學計量上的誤差。

卡爾費雪滴定儀器需要先進行預滴定，待滴定至平衡時，始可進行測試，預滴定至反應槽內平衡需要一段時間，因此可在預計開始試驗前即先開啟儀器，使儀器先進行預滴定，試驗時即可立即使用。

卡爾費雪滴定法係使用 CombiTitrant 5 ( Merck, 188005, USA ) 與 CombiSolvent Keto ( Merck, 188007, USA ) 進行試驗。試驗前開機使儀器 ( METTLER TOLEDO, Volumetric KF Titrator: V30, Switzerland ) 自行滴定至終點。於儀器儀表按下「開始樣品」，輸入樣品重量，將其中一片分切好的藥餅取出置於秤量紙上，將秤量紙連同樣品置於精密天秤上，精秤至小數點 4 位，並記錄所得重量。將秤量紙連同樣品自精密天秤取下，將秤量紙對摺包裹住樣品，同時將樣品壓碎，將樣品小心投入反應槽中。將秤量紙再次置於精密天秤，精稱至小數點 4 位，並記錄所得重量。將秤量紙連同樣品所得秤重數值，減去秤量紙所得秤重數值，即為投入反應槽中的樣品重量，將此數值輸入至儀器中，並按下「確認」。儀器將會持續攪拌樣品 90 秒，使樣品與試劑充份接觸，讓試劑溶出樣品中的水分。當計時完成時，儀器將自動開始滴定程序，待完成滴定後，即顯示本次試驗的含水量並產出報告。

### 微波/紅外線水分分析法檢測含濕度試驗 ( Microwave/Infrared Moisture Analyzer )

微波/紅外線水分分析儀 ( CEM, Microwave and Infrared Moisture Analyzer: SMART 6, USA ) 是利用微波使水分子共振並產生熱量、紅外線加熱樣品表面的方式來使水分蒸發，因疫苗成份對熱較敏感，為使樣品不因熱而質變，進而影響試驗結果，又能在合理的時間內完成一次樣品的試驗，經測試，加熱的條件以 50% 微波能量及 50% 紅外線能量，並控溫在 40°C ( 含 ) 以下，且應保持至少 3 分鐘後儀器才開始測量是否達到恆重。

儀器開機完成自動檢查程序後，選擇「CLASSIC」，再依待測樣品品項選擇「MOISTURE」方法進行試驗。打開儀器上蓋，於載臺上放置兩張玻璃纖維墊片，待儀器面板顯示「Place pads on balance and press Tare」時，按下「Tare」，儀器會對玻璃纖維進行烘乾並歸零重量。儀器提示歸零完成後，開啟上蓋取出一片玻璃纖維墊片，將不規則面朝上置於壓臺。將其中一片分切好的藥餅取出置於玻璃纖維墊片上，再取另一片玻璃纖維墊片，不規則面朝下，置於樣品上，使樣品呈三明治狀夾於兩片玻璃纖維墊片之間。蓋上壓臺上蓋，並用力壓合，使樣品完全被壓平於兩片墊片之間。將壓好的樣品置於儀器載臺上，輕輕闔上上蓋。待儀器面板顯示「START」時，可按下該鈕，開始進行試驗。儀器完成分析時，即會於面板顯示分析結果並產出報告。完成樣品分析後，收集數據，進行整理及分析。

### 實驗數據處理與統計分析

使用 EXCEL 程式，以 CORREL 函數比較兩組內容之間的關係。 $p < 0.05$  表示在統計學上顯著性。

## 結果

### 真空試驗結果

所有樣品於暗室中，以 Tesla Coil 進行無極放電，皆可觀察到樣品呈現紫色放電反應，顯示疫苗成品皆具備足夠真空度 ( 表 1、2 )。

### 羊痘活毒疫苗含濕度試驗結果

以卡爾費雪滴定法及微波/紅外線水分分析法檢測羊痘活毒疫苗含濕度結果 ( 表 1 )。利用迴歸統計自變數 (  $x$  ) : 卡爾費雪滴定法 ( K-F ) 含濕度試驗結果，應變數 (  $y$  ) : 微波/紅外線水分分析法 ( MW ) 含濕度試驗結果，統計結果 ( 表 3、圖 1 )， $y = 1.001x - 0.001$ ， $R^2 = 0.971$ 。在迴歸模型的顯著性檢定 ( F test ) 顯著性  $p < 0.05$ ，拒絕虛無假說，接受兩種方法顯著相關的對立假說，亦即此迴歸模型有統計學上的顯著性，具有預測能力。另關係係數係計算兩組數據的變數  $x$  和  $y$  之間的線性相關的程度，利用兩變數的共變異數與其標準差的乘積之比，結果將介於 -1 和 1 之間值，

故當絕對值越靠近 1 時，則相關性越強 [6]。

### 豬瘟組織培養活毒疫苗含濕度試驗結果

以卡爾費雪滴定法及微波/紅外線水分分析法檢測豬瘟組織培養活毒疫苗含濕度結果(表 2)，迴歸統計結果(表 4 及圖 2)： $y = 0.937x + 0.062$ ， $R^2 = 0.948$ ，F test  $p < 0.05$  具有統計學上的顯著性。

### 討論

本試驗為減少實驗誤差，利用同一支疫苗分別進行卡爾費雪滴定法及微波/紅外線水分分析法含濕度的測試，藉以比較羊痘活毒疫苗及豬瘟組織培養活毒疫苗以不同的量測方法，將所得測試結果進行比較討論。

因試驗會將冷凍乾燥後的疫苗成品取出破碎，會使得冷凍乾燥樣品的表面積增加，因為接觸到環境，相對較易吸收環境中的水分，因此應使試驗環境的相對濕度在 60% 以下後再進行試驗，以減低環境對於試驗可能造成的影響，若試驗環境濕度過高時，應先對環境除濕後再進行試驗。

試驗結果顯示，在同一批次的疫苗成品中，不論以卡爾費雪滴定法及微波/紅外線水分分析法方式所測含濕度結果，以迴歸統計分析 [2, 5] 羊痘活毒疫苗  $R = 0.985$ ； $R^2 = 0.971$ ，F test  $p = 3.07E-23$  ( $p < 0.05$ )；分析豬瘟組織培養活毒疫苗  $R = 0.974$ ； $R^2 = 0.948$ ，F test  $p = 1.26E-19$  ( $p < 0.05$ )。相關係數 R 是用於計算兩組數據之變數 x 和 y 之間的線性相關程度，是兩變數的共變異數與其標準差的乘積之比；因此結果始終是介於 -1 和 1 之間數值。相關係數 R 為正值表示正相關，負值表示負相關，零表示零相關即無直線關係，R 等於 +1 為完全正相關，等於 -1 為完全負相關，若是 R 值為正負 1，即表示完全相關 [6]，如(表 5)。故 R 之範圍如下： $-1 \leq R \leq +1$ 。由結果可以得知，卡爾費雪滴定法及微波/紅外線水分分析法方式所測得疫苗中的含濕度結果具有高度的正相關性。而判定係數  $R^2$  (coefficient of determination) 是用來衡量自變數 (x) 所能解釋應變數 (y) 之變異量占 y 總變異量的百分比， $R^2$  值越近 1 越好。一般認為  $R^2 > 0.75$ ，表示模型擬合度較佳，可解釋程度較

高； $R^2 < 0.5$ ，表示模型擬合較差，則不宜採用進行迴歸分析。

F 值係檢驗兩組方差之間比較結果的統計量。簡而言之，意味結果可能不是隨機性，而是有潛在之原因。當相關係數 R 為 0.3 以下屬低相關，0.3 - 0.7 為中等相關，0.7 以上為高度相關，可推定兩變數之間為高度相關 [6]。另以羊痘活毒疫苗檢測含濕度結果，計算後 F 顯著性  $p < 0.05$ ，拒絕虛無假設，接受對立假設，顯示兩種檢測方式相關性顯著；若  $p > 0.05$  則接受虛無假設，顯示兩種檢測方式無顯著相關性。迴歸統計表顯示最佳擬合線如何定義自變量和因變量之間的線性關係，兩個最重要的指數是 R 平方和調整 R 平方。另外值得注意部分，在非線性回歸中，若僅用  $p$  值檢驗相關顯著性，殘差均值平方不再是誤差方差的無偏估計，因而不能使用線性模型的檢驗方法來檢驗非線性模型，從而不能用 F 統計量及其  $p$  值進行檢驗。

本試驗的目的在於建立卡爾費雪滴定法及微波/紅外線水分分析法檢測含濕度的差異，比較量化兩種檢測方式結果。因卡爾費雪滴定法檢測含濕度，需使用有機溶劑進行化學定量，對環境以及檢測的操作人員較不友善，且檢測所需時間通常較長，整個系統的維護及穩定難度較高。又因疫苗檢測通常是粉末狀，需常將滴定杯拆洗清潔，對於整個系統的維護及穩定造成一定的影響。而微波/紅外線乾燥法相較於卡爾費雪滴定法，因對水具有專一性，加熱時只會使水分由樣品蒸發失散，且在分析熱敏感樣品時，藉由對溫度精準的控制，一樣能得到如卡爾費雪滴定法的試驗結果，且使用微波/紅外線乾燥法，試驗時間可以大幅度的縮短，增加檢測的效率，亦不產生如卡爾費雪滴定法的有機溶劑廢液，對環境亦較友善。綜觀上述，微波/紅外線乾燥法可有效應用於動物用冷凍乾燥疫苗成品的品管檢測。

比較卡爾費雪水分測定儀及微波/紅外線水分分析儀檢測冷凍乾燥疫苗之含濕度

表 1、羊痘活毒疫苗真空試驗、卡爾費雪滴定法 ( K-F ) 及微波/紅外線水分分析法 ( MW ) 含濕度試驗結果。

序號	真空試驗	K-F ( % )	MW ( % )	差異
POX001	符合	1.30	1.60	-0.30
POX002	符合	2.29	2.22	0.07
POX003	符合	1.78	1.75	0.03
POX004	符合	1.68	1.62	0.06
POX005	符合	2.41	2.44	-0.03
POX006	符合	2.61	2.58	0.03
POX007	符合	2.58	2.57	0.01
POX008	符合	1.91	1.88	0.03
POX009	符合	2.00	1.95	0.05
POX010	符合	2.87	2.92	-0.05
POX011	符合	2.03	2.06	0.03
POX012	符合	1.82	1.86	-0.04
POX013	符合	1.90	1.87	0.03
POX014	符合	2.83	2.79	0.04
POX015	符合	2.01	1.96	0.05
POX016	符合	1.95	1.99	-0.04
POX017	符合	1.47	1.44	0.03
POX018	符合	1.38	1.33	0.05
POX019	符合	2.20	2.24	-0.04
POX020	符合	1.78	1.74	0.04
POX021	符合	1.76	1.72	0.04
POX022	符合	1.38	1.32	0.06
POX023	符合	2.30	2.36	-0.06
POX024	符合	1.97	1.92	0.05
POX025	符合	2.09	2.04	0.05
POX026	符合	2.04	2.09	-0.05
POX027	符合	2.15	2.20	-0.05
POX028	符合	1.72	1.78	-0.06
POX029	符合	2.60	2.68	-0.08
POX030	符合	1.28	1.21	0.07
平均值		2.00	2.00	
標準差 ( SD )		0.43	0.44	

備註：環境條件：溫度：23±4°C/濕度：50±10%。

表 2、豬瘟組織培養活毒疫苗真空試驗、卡爾費雪滴定法 ( K-F ) 及微波/紅外線水分分析法 ( MW ) 含濕度試驗結果。

序號	真空試驗	K-F ( % )	MW ( % )	差異
HCTC001	符合	1.13	1.20	-0.07
HCTC002	符合	2.93	2.67	0.26
HCTC003	符合	2.42	2.47	-0.05
HCTC004	符合	2.20	1.98	0.22
HCTC005	符合	1.98	2.14	-0.16
HCTC006	符合	3.09	2.84	0.25
HCTC007	符合	1.06	1.19	-0.13
HCTC008	符合	2.64	2.42	0.22
HCTC009	符合	1.49	1.13	0.36
HCTC010	符合	2.39	2.17	0.22
HCTC011	符合	1.96	2.05	-0.09
HCTC012	符合	3.13	2.90	0.23
HCTC013	符合	2.24	2.08	0.16
HCTC014	符合	3.59	3.65	-0.06
HCTC015	符合	2.54	2.38	0.16
HCTC016	符合	2.66	2.35	0.31
HCTC017	符合	2.64	2.45	0.19
HCTC018	符合	1.99	2.14	-0.15
HCTC019	符合	3.51	3.37	0.14
HCTC020	符合	2.39	2.16	0.23
HCTC021	符合	3.10	2.90	0.20
HCTC022	符合	3.53	3.35	0.18
HCTC023	符合	2.08	1.98	0.10
HCTC024	符合	2.07	1.94	0.13
HCTC025	符合	3.57	3.34	0.23
HCTC026	符合	3.78	3.84	-0.06
HCTC027	符合	2.94	3.05	-0.11
HCTC028	符合	2.52	2.39	0.13
HCTC029	符合	2.16	2.29	-0.13
HCTC030	符合	2.05	2.10	0.05
平均值		2.53	2.43	
標準差 ( SD )		0.70	0.67	

備註：環境條件：溫度：23±4°C/濕度：50±10%。

表 3、羊痘活毒疫苗以卡爾費雪滴定法 ( K-F ) 及微波/紅外線水分分析法 ( MW ) 檢測含濕度結果之迴歸統計。

迴歸統計	
R 的倍數	0.985791
R 平方	0.971785
調整的 R 平方	0.970777
標準誤差	0.07477
觀察值個數	30

## ANOVA

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	1	5.3914	5.3914	964.3704	3.07E-23
殘差	28	0.156537	0.005591		
總和	29	5.547937			

	係數	標準誤差	t 統計	p-值	下限 95%	上限 95%
截距	-0.00142	0.066015	-0.02145	0.983039	-0.13664	0.13381
X 變數	1.001373	0.032246	31.05431	3.07E-23	0.93532	1.067425

備註：

**R 的倍數**：相關係數 R，一般在  $-1 \sim 1$  之間，絕對值越靠近 1 則相關性越強，越靠近 0 則相關性越弱。

**R 平方**：又稱為判定係數 ( coefficient of determination )，是衡量回歸模型表現的指標，代表從自變數 x 可以解釋應變數 y 變異的比例。

**調整的 R 平方**：調整後的 R 平方，說明自變數 x 能說明應變數百分比。

**標準誤差**：也稱標準誤，即樣本平均數抽樣分布的標準差 ( standard deviation )，描述對應的樣本平均數抽樣分布的離散程度及衡量對應樣本平均數抽樣誤差大小的尺度。

**自由度**：以樣本來估計總體時，樣本中獨立或能自由變化之個數。見上表，數據自由度等於樣本組數減 1，回歸分析模型的自由度是 1，即此回歸模型有 1 參數，殘差自由度等於總自由度減去回歸分析模型之自由度。

**SS**：回歸平方和 SSR，等於回歸預測 Y 值與實際 Y 均值的平方和。

**MS**：均方差，等於 SS/自由度。

**F**：回歸分析 MS/殘差 MS。

**顯著值**：在顯著性水平下的  $F_{\alpha}$  臨界值，即 F test 的 p 值，一般小於 0.05 及統計上具有顯著性。

**標準誤差**：誤差值越小，表明參數的精確度越高。

**t 統計**：用於對模型參數的檢驗，需查表才能決定。

**p-value**：T 統計對應的 p 值，當  $p < 0.05$  時，可認為模型於  $\alpha = 0.05$  的水準上顯著性，或信賴區間達到 95%；當  $p < 0.01$  時，可認為模型於  $\alpha = 0.01$  的水準上顯著性，或信賴區間達到 99%。

**下限 95% / 上限 95%**：95% 信賴區間的上下限值。

表 4、豬瘟組織培養活毒疫苗以卡爾費雪滴定法 ( K-F ) 及微波/紅外線水分分析法 ( MW ) 檢測含濕度結果之迴歸統計。

迴歸統計	
R 的倍數	0.974131
R 平方	0.948932
調整的 R 平方	0.947108
標準誤	0.155095
觀察值個數	30

## ANOVA

	自由度	SS	MS	F	顯著值
迴歸	1	12.51526	12.51526	520.2868	1.26E-19
殘差	28	0.673527	0.024055		
總和	29	13.18879			

	係數	標準誤	t 統計	p-值	下限 95%	上限 95%
截距	0.062802	0.107602	0.583655	0.564125	-0.15761	0.283215
X 變數	0.937397	0.041096	22.8098	1.26E-19	0.853215	1.021579

表 5、相關係數的相關程度 [6]。

相關係數 R	相關程度
1	完全相關
$0.7 <  R  < 1$	高度相關
$0.3 <  R  < 0.7$	中度相關
$0 <  R  < 0.3$	低度相關
0	無相關



比較卡爾費雪水分測定儀及微波/紅外線水分分析儀檢測冷凍乾燥疫苗之含濕度

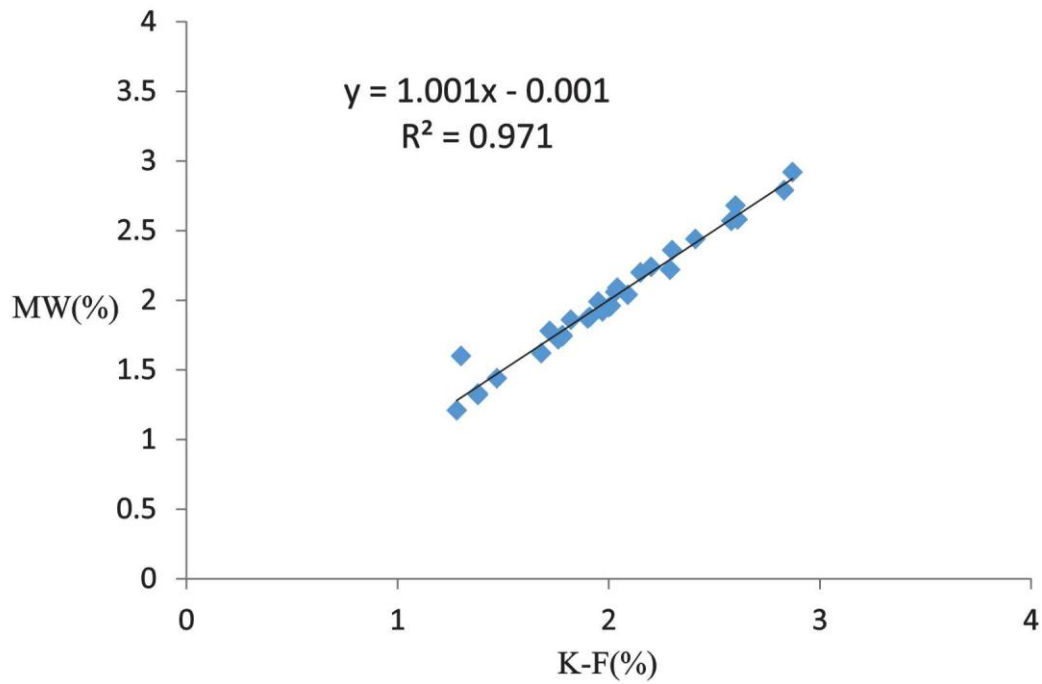


圖 1、羊痘活毒疫苗以卡爾費雪滴定法 ( K-F ) 及微波/紅外線水分分析法 ( MW ) 檢測含濕度的結果有極佳的線性關係， $y = 1.001x - 0.001$  ( $R^2 = 0.971$ )。

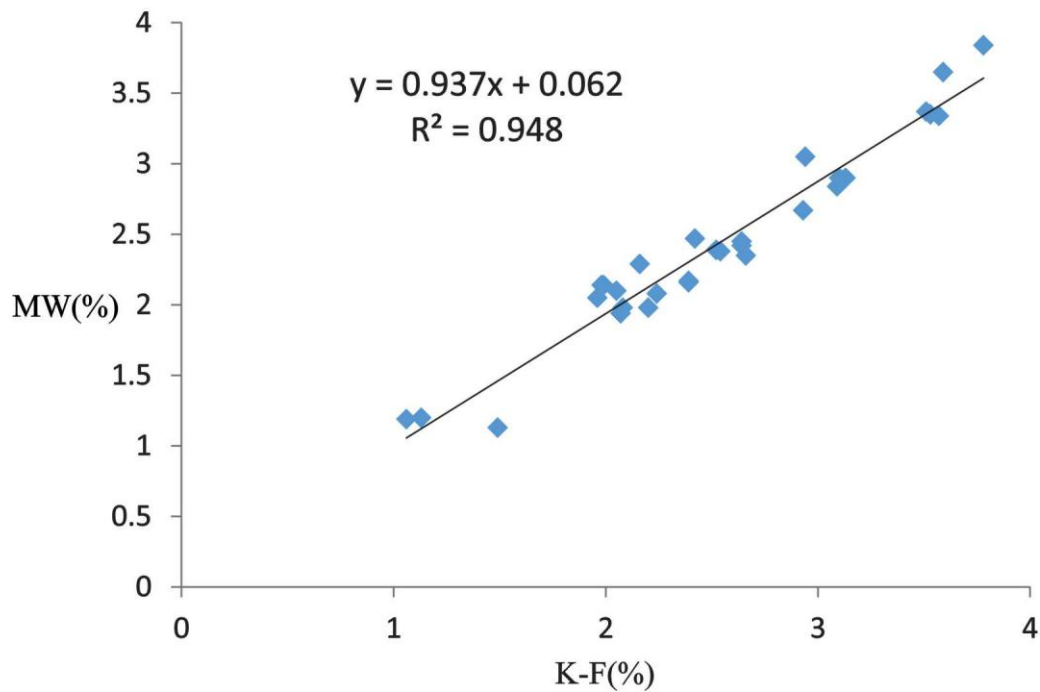


圖 2、豬瘟組織培養活毒疫苗以卡爾費雪滴定法 ( K-F ) 及微波/紅外線水分分析法 ( MW ) 檢測含濕度的結果有極佳的線性關係， $y = 0.937x + 0.062$  ( $R^2 = 0.948$ )。

## 參考文獻

1. 中華藥典第九版編修諮議會。中華藥典。臺北，衛生福利部食品藥物管理署，202-204，2021。
2. 白賜清。統計方法。臺北，中華民國品質學會，281-296，2010。
3. 農業部。動物用藥品檢驗標準。引自：第 22 節第 66 條，2022 年 10 月 19 日修正。
4. 農業部。動物用藥品檢驗標準。引自：第 85 節第 182-10 條，2022 年 10 月 19 日修正。
5. 楊志良。生物統計學新論。臺北，藝軒圖書出版社，235-254，2009。
6. Ahmad FS, Velu BKDV, Zaidin N, Shariff SA. Entrepreneurship Education for Industrial Professional: The Influence of Communication, Teamwork, Leadership and Innovative Soft Skill on Job Performance. IJRTE 8: 93-99, 2019.
7. Fischer K. Neues Verfahren zur maßanalytischen Bestimmung des Wassergehaltes von Flüssigkeiten und festen Körpern. Angew Chem 48: 394-396, 1935.
8. Hansen LJJ, Daoussi R, Vervaet C, Remon JP, De Beer TRM. Freeze-Drying of Live Virus Vaccines: A Review. Vaccine 33: 5507-5519, 2015.
9. Izutsu KI. Applications of Freezing and Freeze-Drying in Pharmaceutical Formulations. Review Adv Exp Med Biol 1081: 371-383, 2018.
10. Sale AJH. A Review of Microwave for Food Processing. Int J Food Sci Technol 11: 319-29, 1976.
11. van Gelder P, Makoschey B. Production of Viral Vaccines for Veterinary Use. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 125: 103-109, 2012.
12. Venkatesh MS, Raghavan GSV. An Overview of Microwave Processing and Dielectric Properties of Agri-Food Materials. Biosys Eng 88: 1-18, 2004.

# Comparison of Karl Fisher titration and microwave/infrared moisture analyzer for determination of moisture content in freeze-dried vaccine

CC Hsieh\*, PH Lee, TY Pan, CY Huang

Veterinary Research Institute, Ministry of Agriculture

**Abstract** Freeze drying is a standard method of preserving vaccines. The advantage is that it does not destroy the potency of the activated agent in the vaccine, and it can be stored for a long time and stably at room temperature or in cold storage. However, suppose the humidity is not controlled during the freeze-drying process. In this case, the vaccine will be in a solid-liquid coexistence situation, and the active ingredients in the vaccine will quickly be placed in a high-concentration solvent, thereby destroying the active ingredients in the vaccine.

At present, the quality control testing of animal vaccines often uses Karl Fischer titration for moisture content testing. The aims of this study is to compare the difference between Karl Fischer titration and microwave/infrared moisture analysis in detecting humidity. The results of the two detection methods were reached through the detection of sheep pox live virus vaccine and classical swine fever tissue culture live virus vaccine . The test results show that under different detection methods of the same vaccine, the regression equations are obtained respectively:  $y = 1.001x - 0.001$ ,  $R^2 = 0.971$ ;  $y = 0.937x + 0.062$ ,  $R^2 = 0.948$ ; Indicates that the correlation between Karl Fischer titration and microwave/infrared moisture analysis is exceptionally high. It shows that the microwave/infrared drying method can be applied to the quality control testing of animals freeze-dried vaccines.

**Keywords:** *Karl-Fisher, Microwave/infrared, Freeze-dried, Quality control, Vaccine*

---

\* Corresponding Author  
Veterinary Research Institute, Ministry of Agriculture

