

土壤中可氣丹篩檢方法－免疫分析法

中華民國95年7月13日環署檢字第0950055833號公告

自中華民國95年10月15日起實施

NIEA S601.60C

一、方法概要

本方法採用已商品化的檢測試劑套組（Immunoassay test kit），操作時，須依循製造商說明書，對樣品進行可氣丹（Chlordane）定性及半定量的篩檢。

檢測時，以經過濾後保存在黑暗低溫下的土壤萃取液為樣品，將定量萃取液及酵素-可氣丹結合試劑（Enzyme-chlordane conjugate reagent）加入已固定化的可氣丹抗體上，酵素-可氣丹結合試劑與樣品中的可氣丹，共同競爭與可氣丹抗體的結合，當酵素-可氣丹結合試劑與可氣丹抗體結合後，會將無色的酵素受質轉化成有色產物。本方法檢測結果，將由比較樣品組及標準品顏色變化之差異而得知。

樣品中的可氣丹會減少酵素-可氣丹結合試劑與抗體的鍵結量，反應後呈現較弱顏色。因此，土壤可氣丹濃度與反應顏色呈負相關。

二、適用範圍

本方法用以篩檢土壤樣品，探討其中可氣丹（Chlordane；CAS Registry 57-74-9）的濃度是否超過 0.02，0.1 或 0.6 mg/kg，並藉由標準品的比對試驗，預估樣品中可氣丹的濃度。本方法適用於污染場址調查、污染場址整治範圍規劃，可在野外現場執行，篩選高濃度或低濃度部分；但法規管制值附近之樣品，需送至實驗室執行定量分析。

若要準確定量出樣品中可氣丹的濃度，則需使用進一步的分析技術〔請參考氣相層析法（NIEA M618），或氣相層析/質譜儀法（NIEA M731）〕。

本方法限由受過訓練之分析員，親自操作或在其監督下，方可執行。每一分析人員，需證明其具有使用本方法，並可產生可信結果的能力。

三、干擾

（一）化學結構與可氣丹類似者，易產生偽陽性反應。本方法所採用的

檢測試劑套組，已完成干擾物評估。表一列出本方法對這些化合物造成偽陽性結果之最小濃度。此外，可請試劑套組製造商，提供進一步的參考資料，以了解其他化合物的交叉反應（cross reactivity）。

(二) 保存及操作之溫度，會影響檢測結果，使用時請務必依照製造商的指示進行。

四、設備與材料

免疫分析檢測試劑套組：EnviroGard™ Chlordane in Soil (Millipore, Inc.) 或具同等功效之產品。

五、試劑

請參考每一商品化的檢測試劑套組，所提供或說明成功的資訊，以了解並準備完成該試驗，所需之相關試劑。

六、採樣及保存

(一) 採樣方法請參考本署公告 NIEA S102。

(二) 由於土樣可能已遭受污染，因此必須以危害物質處理規範之要求處置。

七、步驟

請遵循檢測試劑套組製造商的說明書進行，這些檢測套組，必須符合或優於表二-表五所列之效能。

八、結果處理

略

九、品質管制

(一) 請遵循檢測試劑套組製造商的說明，進行品質管制措施。

(二) 檢測結果若樣品濃度接近行動基準（action level）時，請利用重複分析來妥善處理樣品篩檢結果。

(三) 切勿使用過期的檢測試劑套組。

(四)切勿使用其他檢測試劑套組所配備的試劑與試管。

(五)請依產品規範，控制檢測試劑套組保存與使用的溫度。

(六)本方法適用於室內及野外試驗，品質保證規範可透過良好的文件資料管理來建立。

十、精密度與準確度

(一) 方法靈敏度：利用 8 種不含可氣丹的土壤，應用分析物-專一性反應曲線 (analyte-specific response curve) 換算出陰性控制組土樣基質 (matrix) 的雜訊基準 (noise level)，所相對應的可氣丹濃度。每一土樣重複萃取三次，重複檢驗三次後，計算出結果 %Bo ($\%Bo = [(\text{吸光度值}_{\text{樣品}} / \text{吸光度值}_{\text{負控制組}}) \times 100]$) 平均檢測值及標準偏差。方法靈敏度估計為平均測值扣除兩倍標準偏差。在 95% 信賴區間內，本方法的靈敏度為 80%Bo，參考表二可氣丹檢驗分析平均測值，得知此相對應濃度是 6.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

(二) 土壤水分含量之影響：採用三種經過乾燥處理的土壤樣品，分成兩大類，乾燥及添加 30% (w/w) 水分，分別作添加可氣丹 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 與不添加處理。由表三的數據結果得知，土樣水含量高達 30%，也不會對檢測結果產生明顯的影響。

(三) 土壤 pH 值之影響：採用三種土壤樣品，分別利用 6 N HCl 與 12 N NaOH 調整土壤 pH 值成為未調整、pH 2-4、pH 10-12 三類，隨之分別作添加可氣丹 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 與不添加處理。由表四的數據結果推知，土樣 pH 值由 3 至 11，對檢測結果，都不會產生明顯的影響。

(四) 採用野外試驗，針對 32 個土樣，進行本方法與 NIEA M618 的比對檢測，探討免疫分析，在可氣丹污染整治場址上的可行性。由表五數據得知，在 1 mg/kg 之篩檢濃度，免疫分析檢測出現 2/32 (6.3%) 偽陰性反應，0/32 (0%) 偽陽性反應。反之，在 10 mg/kg 之篩檢濃度，則偽陰性反應率是 0/32 (0%)，偽陽性反應率是 2/32 (6.3%)。

十一、參考資料

(一) U.S.EPA, Soil Screening for Chlordane by Immunoassay, Method

4041 , December 1996.

(二) EnviroGard™ Chlordane in Soil Test Kit Guide , Millipore,Inc.

表一 交叉反應

化合物	產生陽性反應所需之濃度 (µg/kg)
可氯丹 Chlordane	5
安特靈 Endrin	3
安殺番 I Endosulfan I	3
安殺番 II Endosulfan II	3
地特靈 Dieldrin	3
飛佈達 Heptachlor	3
阿特靈 Aldrin	10
毒殺芬 Toxaphene	100
γ-蟲必死 Gamma-BHC (靈丹)	300
α-蟲必死 Alpha-BHC	1000
δ-蟲必死 Delta-BHC	1000
<p>下列化合物濃度高達 200,000 µg/kg 時，仍產生陰性反應：</p> <p>汽油 Gasoline 多氯聯苯 PCB (Aroclor 1248)</p> <p>五氯酚 Pentachlorophenol 三硝基甲苯 Trinitrotoluene</p>	

表二 方法靈敏度

第一部分 呈現陰性反應之土樣的平均測值			
土樣編號	土樣種類	平均值 %Bo(n=8)	標準偏差
S1	壤土/砂土	92.8	2.0
S2	壤土	86.2	1.0
S3	黏土	85.5	8.8
S4	黏土	95.4	1.1
S5	黏土	83.9	2.6
S6	壤土/砂土	88.5	1.8
S7	砂土	81.4	2.7
S8	砂土	95.8	0.8
平均值		88.7	4.5
第二部分 可氣丹校正液的平均測值			
可氣丹 濃度 (µg/kg)	吸光度平均值	平均測值 %Bo	
0	1.043	N/A	
5	0.882	84.4	
25	0.592	57.2	
125	0.322	30.8	
500	0.159	15.2	
第三部分 -方法靈敏度			
依上述第一、二部分： 平均測值 %Bo - 2 SD = 79.7 相當於 6.4 µg/kg 可氣丹 平均測值 %Bo - 3 SD = 75.2 相當於 8.6 µg/kg 可氣丹			

表三 土壤樣品中水分含量之影響

樣品編號	%水分	添加與否	重複 1	重複 2	重複 3	平均值	標準偏差	± 2 標準偏差範圍
S1	0	否	95.2	101	94.5	97.0	3.7	89.6 - 104
S1	30	否	96.0	99.2	96.0	97.1	1.8	93.5 - 101
S1	0	是	40.5	38.5	35.6	38.3	2.3	33.7 - 42.9
S1	30	是	42.2	43.0	43.0	42.8	0.5	41.8 - 43.8
S2	0	否	85.8	87.1	85.5	86.1	0.9	84.3 - 87.9
S2	30	否	78.7	84.9	79.8	81.1	3.3	74.5 - 87.8
S2	0	是	37.7	39.5	40.6	39.3	1.5	36.3 - 42.3
S2	30	是	39.8	38.8	37.0	38.5	1.4	35.7 - 41.3
S3	0	否	76.6	76.6	73.0	75.4	2.1	71.2 - 79.6
S3	30	否	87.4	88.7	85.7	87.3	1.5	84.3 - 90.3
S3	0	是	40.0	40.2	35.7	38.7	2.5	33.7 - 43.7
S3	30	是	40.8	37.1	38.7	38.9	1.9	35.1 - 42.7

表四 土壤樣品 pH 值之影響

樣品編號	調整 pH	添加與否	重複 1*	重複 2	重複 3	平均值	標準偏差	± 2 標準偏差範圍
S1	無	否	97.5	87.8	94.8	93.4	5.0	83.4 - 103
S1	酸性	否	97.4	114	94.7	102	10.7	80.8 - 124
S1	鹼性	否	107	114	93.8	105	10.1	84.7 - 125
S1	無	是	43.6	47.5	38.5	43.2	4.5	34.2 - 52.2
S1	酸性	是	43.6	51.8	34.1	43.2	8.8	25.6 - 60.8
S1	鹼性	是	44.8	50.8	32.0	42.5	9.6	23.3 - 61.7
S2	無	否	87.8	86.3	87.6	87.3	0.8	85.7 - 88.9
S2	酸性	否	94.2	108	80.5	94.1	13.5	67.1 - 121
S2	鹼性	否	89.3	99.3	77.9	88.8	10.7	67.4 - 110
S2	無	是	43.9	48.9	33.9	42.2	7.7	26.8 - 57.6
S2	酸性	是	44.6	55.9	41.5	47.4	7.6	32.2 - 62.6
S2	鹼性	是	42.3	59.2	36.5	46.0	11.8	22.4 - 69.6
S3	無	否	72.3	74.5	79.3	75.4	3.6	68.2 - 82.6
S3	酸性	否	85.3	105	75.7	88.8	15.1	58.6 - 119
S3	鹼性	否	89.4	83.8	85.9	86.4	2.8	80.8 - 92.0
S3	無	是	44.5	49.5	32.6	42.2	8.7	24.8 - 59.6
S3	酸性	是	40.5	52.1	34.7	42.4	8.9	24.6 - 60.2
S3	鹼性	是	40.6	37.1	43.9	40.5	3.4	33.7 - 47.3

*所有測值以 %Bo 表示， $\%Bo = [(吸光度值_{樣品} / 吸光度值_{負控制組}) \times 100]$

表五 與 NIEA M618 相關性
以 1 mg/kg 濃度作比對試驗

樣品編號	NIEA M618 (mg/kg)	免疫分析法(mg/kg)	結果一致性
co-ss-2	45	陽性反應	是
co-ss-3	4.9	陽性反應	是
co-ss-4	25	陽性反應	是
co-ss-5	1.4	陰性反應	偽陰性
co-ss-6	2.7	陽性反應	是
co-ss-7	2.5	陽性反應	是
co-ss-8	<1.0	陰性反應	是
co-ss-9	7.9	陽性反應	是
co-ss-10	6.0	陽性反應	是
co-ss-13	5.2	陽性反應	是
co-ss-14	2.9	陽性反應	是
co-ss-15	2.1	陽性反應	是
co-ss-17	<1.0	陰性反應	是
co-ss-20	2.8	陰性反應	偽陰性
co-ss-21	<1.0	陰性反應	是
co-ss-22	<1.0	陰性反應	是
co-ss-23	<1.0	陰性反應	是
co-ss-24	51	陽性反應	是
co-ss-25	1.4	陽性反應	是
co-ss-26	<1.0	陰性反應	是
co-ss-27	<1.0	陰性反應	是
co-ss-28	9.6	陽性反應	是
co-ss-28-17D	2.6	陽性反應	是
co-ss-29	14	陽性反應	是
co-ss-30	1.8	陽性反應	是
co-ss-31	<1.0	陰性反應	是
co-ss-32	<1.0	陰性反應	是
co-ss-33	2.9	陽性反應	是
co-ss-34	4.2	陽性反應	是
co-ss-35	<1.0	陰性反應	是
co-ss-36	5.9	陽性反應	是
co-ss-41	<1.0	陰性反應	是

表五(續一) 以 10 mg/kg 濃度作比對試驗

樣品編號	NIEA M618 (mg/kg)	免疫分析法(mg/kg)	結果一致性
co-ss-2	45	陽性反應	是
co-ss-3	4.9	陰性反應	是
co-ss-4	25	陽性反應	是
co-ss-5	1.4	陰性反應	是
co-ss-6	2.7	陰性反應	是
co-ss-7	2.5	陰性反應	是
co-ss-8	<1.0	陰性反應	是
co-ss-9	7.9	陽性反應	偽陽性
co-ss-10	6.0	陽性反應	偽陽性
co-ss-13	5.2	陰性反應	是
co-ss-14	2.9	陰性反應	是
co-ss-15	2.1	陰性反應	是
co-ss-17	<1.0	陰性反應	是
co-ss-20	2.8	陰性反應	是
co-ss-21	<1.0	陰性反應	是
co-ss-22	<1.0	陰性反應	是
co-ss-23	<1.0	陰性反應	是
co-ss-24	51	陽性反應	是
co-ss-25	1.4	陰性反應	是
co-ss-26	<1.0	陰性反應	是
co-ss-27	<1.0	陰性反應	是

表五(續二) 以 10 mg/kg 濃度作比對試驗

樣品編號	NIEA M618 (mg/kg)	免疫分析法(mg/kg)	結果一致性
co-ss-28	9.6	陰性反應	是
co-ss-28-17D	2.6	陰性反應	是
co-ss-29	14	陽性反應	是
co-ss-30	1.8	陰性反應	是
co-ss-31	<1.0	陰性反應	是
co-ss-32	<1.0	陰性反應	是
co-ss-33	2.9	陰性反應	是
co-ss-34	4.2	陰性反應	是
co-ss-35	<1.0	陰性反應	是
co-ss-36	5.9	陰性反應	是
co-ss-41	<1.0	陰性反應	是