

土壤中多環芳香烴化合物篩檢方法－免疫分析法

中華民國 97 年 3 月 28 日環署檢字第 0970023420 號公告

自中華民國 97 年 7 月 15 日起實施

NIEA S702.60C

一、方法概要

本方法採用商品化的免疫分析檢測套組 (Immunoassay test kit)，操作時，須依循製造商說明書，對土壤樣品進行多環芳香烴化合物 (Polynuclear aromatic hydrocarbons) 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結合試劑 (Enzyme conjugate reagent) (可與多環芳香烴化合物抗體專一性結合) 加入已固定化的多環芳香烴化合物抗體上，此酵素與樣品中的多環芳香烴化合物，共同競爭與多環芳香烴化合物抗體的結合。當酵素結合體與多環芳香烴化合物抗體結合後，會將無色的酵素受質轉化成有色產物。本方法檢測結果，可由比較樣品組及標準品顏色變化之差異而得知。

樣品中多環芳香烴化合物會減少酵素結合試劑與抗體的結合量，反應後呈現較弱顏色。因此，土壤多環芳香烴化合物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，探討其多環芳香烴化合物的濃度是否超過 1 mg/kg，並藉由標準品的比對試驗而預估樣品中多環芳香烴化合物的濃度。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多環芳香烴化合物的濃度，則需使用進一步的分析技術 (請參考 HPLC 方法 (USEPA SW-846 M8310)，氣相層析法 (USEPA SW-846 M8100) 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) 化學結構與多環芳香烴化合物類似者，易產生偽陽性反應。本方法所採用的免疫分析檢測套組，已完成干擾物評估。表一及表二列出本方法對多環芳香烴化合物偵測極限與受化學結構與多環芳香烴化合物類似者的干擾情形。此外，可經由免疫分析檢測套組製造商，提供進一步的參考資料，以了解其他化合物間的交叉反應 (cross-reactivity)。
- (二) 保存及操作之溫度，會影響檢測結果，使用時，務必依照製造商的指示進行。

四、設備及材料

免疫分析檢測套組：PAH-RISc™ Soil Test (EnSys, Inc.) 或具同等功效之產品。

五、試劑

請參考每一商品化的免疫分析檢測套組所提供或指定完成該試驗，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，因此必須以符合現有環保規範之要求處置。

七、步驟

請遵循免疫分析檢測套組製造商的說明書進行，這些檢測套組，必須符合或優於表三至表七所列之效能。

八、結果處理

略

九、品質管制

- (一) 請遵循免疫分析檢測套組製造商的說明，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, 1 ppm) 時，請利用重複分析來妥善處理樣品篩檢結果。

- (三)切勿使用已過期的檢測套組。
- (四)切勿使用其他檢測套組所配備的試劑與試管。
- (五)請依產品規範，控制檢測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系統來建立。

十、精密度及準確度

- (一) 方法績效評估：商品化檢測試劑套組之萃取效率，係藉由添加 phenanthrene、benzo(a)anthracene 及 benzo(a)pyrene 於不含 PAHs 土壤基質來驗證，土壤中每種 PAHs 化合物添加量參照表一，萃取與分析採用免疫分析法。由表四結果顯示 3-，4-及 5-環 PAHs 萃取回收率良好且獲得正確分析結果。
- (二) 標準方法與免疫分析法比較測試：單一實驗室驗證資料顯示，針對 25 個污染土樣，進行本方法與 HPLC 方法 (USEPA SW-846 M8310) 的比對檢測。由表五數據得知，免疫分析與 HPLC 方法檢測結果一致性相當良好。
- (三) 採用野外試驗，針對 30 個受 PAHs 污染土樣進行免疫分析法確效研究，結果見表六。而表七係以表一中 phenanthrene 之交叉反應數據將表六之結果予以常態化修正之結果。針對上述結果顯示，在 1 ppm 行動基準時，未經交叉反應常態化修正，所得結果其偽陽性率 13%；而經交叉反應常態化修正，所得結果其偽陽性率 19%；另在上述二種狀況下，其偽陰性率為 0%。而在 10 ppm 行動基準時，未經交叉反應常態化修正，所得結果其偽陽性率 19%；而經交叉反應常態化修正，所得結果其偽陽性率 26%；另在上述二種狀況下，其偽陰性率分別為 6% 及 3%。

十一、參考資料

- (一) USEPA, SW - 846, Method 4035 "Soil Screening for Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by Immunoassay", 1996.
- (二) PAH-RIScTM Users Guide, EnSys Inc..
- (三) P. P. McDonald, R. E. Almond, J. P. Mapes, and S. B. Friedman, "PAH-RIScTM Soil Test – A Rapid, On-Site Screening Test for Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Soil", J. of AOAC.

International (accepted for publication document #92263)

- (四) R. P. Swift, J. R. Leavell, and C. W. Brandenburg, "Evaluation of the EnSys PAH-RIScTM Test Kit", Proceedings, USEPA Ninth Annual Waste Testing and Quality Assurance Symposium, 1993.

註：本方法相關廢液依有機溶劑廢液處理。

表一 USEPA SW-846 M8310 PAHs 的交叉反應

| 化合物 | 產生陽性反應所需之濃度 (ppm) | 產生交叉反應百分比 |
|--------------------------------|----------------------|-----------|
| 2 環 Naphthalene | 200 | 0.5 |
| 3 環 Acenaphthene | 8.1 | 12 |
| Acenaphthylene | 7.5 | 13 |
| Phenanthrene | 1.0 | 100 |
| Anthracene | 0.81 | 123 |
| Fluorine | 1.5 | 67 |
| 4 環 Benzo(a)anthracene | 1.6 | 64 |
| Chrysene | 1.2 | 84 |
| Fluoranthene | 1.4 | 73 |
| Pyrene | 3.5 | 29 |
| 5 環 Benzo(b)fluoranthene | 4.6 | 22 |
| Benzo(k)fluoranthene | 9.4 | 11 |
| Benzo(a)pyrene | 8.3 | 12 |
| Dibenzo(a,h)anthracene | >200 | <0.5 |
| 6 環 Indeno(1,2,3-c,d)pyrene | 11 | 9.4 |
| Benzo(g,h,i)perylene | >200 | <0.5 |

表二 其他多環芳香烴化合物及其相關化合物的交叉反應

| 化合物 | 產生陽性反應所需之濃度 (ppm) | 產生交叉反應百分比 |
|----------------------------|----------------------|-----------|
| 其他多環芳香烴化合物 | | |
| 1-Methylnaphthylene | 54 | 1.8 |
| 2- Methylnaphthylene | 58 | 1.7 |
| 1-Chloronaphthylene | 59 | 1.7 |
| Halowax 1013 | 18 | 5.7 |
| Halowax 1051 | > 200 | < 0.5 |
| Dibenzofuran | 14 | 7.2 |
| 其他化合物 | | |
| Benzene | > 200 | < 0.5 |
| Toluene | > 200 | < 0.5 |
| CCA | > 200 | < 0.5 |
| Phenol | > 200 | < 0.5 |
| Creosote | 5.4 | 18.5 |
| 2,4,6-Trichlorobenzene | > 200 | < 0.5 |
| 2,3,5,6-Tetrachlorobenzene | > 200 | < 0.5 |
| Pentachlorobenzene | > 200 | < 0.5 |
| Pentachlorophenol | > 200 | < 0.5 |
| Bis(2-ethylhexyl)phthalate | > 200 | < 0.5 |
| Aroclor 1254 | > 200 | < 0.5 |
| Aroclor 1260 | > 200 | < 0.5 |

表三 在 1 ppm 行動基準下可能產生偽陽性及偽陰性結果

| 添加濃度 Phenanthrene (ppm) | 產生偽陽性百分比 (平均值±標準差) | 產生偽陰性百分比 (平均值±標準差) |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|
| 0 | 0% ± 0% | N/A |
| 0.4 | 23% ± 17% | N/A |
| 0.8 | 94% ± 13% | N/A |
| 1.0 | N/A | 0% ± 0% |

註：1.表中結果來自於 4 種添加濃度且由 3 個操作者、12 種基質下，針對 201 樣品分析結果。

2.N/A=未產生偽陽性或偽陰性情形。

表四 Phenanthrene,benzo(a)anthracene 及 benzo(a)pyrene 添加分析結果

| 化合物 | 添加量 (ppm) | 土壤 | PAH 免疫分析檢測套組分析結果 (ppm) |
|--------------------|-----------|---------|------------------------|
| Blank | 0 | Wake | < 1 |
| Blank | 0 | PAH-116 | < 1 |
| Phenanthrene | 1 | Wake | 1-10 |
| Phenanthrene | 1 | PAH-116 | 1-10 |
| Phenanthrene | 1 | PAH-141 | 1-10 |
| Phenanthrene | 10 | Wake | > 10 |
| Phenanthrene | 10 | PAH-116 | > 10 |
| Phenanthrene | 10 | PAH-141 | > 10 |
| Benzo(a)anthracene | 1.6 | Wake | 1-10 |
| Benzo(a)anthracene | 1.6 | PAH-116 | 1-10 |
| Benzo(a)anthracene | 16 | Wake | > 10 |
| Benzo(a)anthracene | 16 | PAH-116 | > 10 |
| Benzo(a)pyrene | 8.3 | Wake | 1-10 |
| Benzo(a)pyrene | 8.3 | PAH-116 | 1-10 |
| Benzo(a)pyrene | 83 | PAH-116 | > 10 |

表五 電廠附近土壤樣品利用免疫分析法之評估結果

| 樣品編號 | 免疫分析法 (ppm) | HPLC 法 (ppm) |
|---------|-------------|--------------|
| PAH-137 | > 10 | < 21 |
| PAH-141 | < 1 | < 21 |
| PAH-118 | > 1-10 | < 26 |
| PAH-136 | > 10 | 26 |
| PAH-139 | > 10 | < 28 |
| PAH-126 | 1-10, > 10 | < 32 |
| PAH-127 | > 10 | < 33 |
| PAH-122 | > 10 | < 33 |
| PAH-138 | > 10 | 33 |
| PAH-131 | > 10 | < 34 |
| PAH-128 | > 10 | < 35 |
| PAH-132 | > 10 | < 43 |
| PAH-112 | > 10 | < 48 |
| PAH-140 | > 10 | 50 |
| PAH-130 | > 10 | 54 |
| PAH-116 | < 1 | < 61 |
| PAH-135 | > 10 | 71 |
| PAH-133 | > 10 | < 91 |
| PAH-119 | > 10 | < 100 |
| PAH-120 | > 10 | < 161 |
| PAH-124 | > 10 | < 167 |
| PAH-134 | > 10 | 182 |
| PAH-114 | > 10 | < 247 |
| PAH-113 | > 10 | < 294 |
| PAH-115 | > 10 | < 343 |

表六 PAH 檢測套組針對 30 個受 PAHs 污染土樣進行免疫分析法確效研究

| 樣品編號 | 1 ppm | | 10 ppm | | GC/MS ^註 (ppm) | 結果一致性 | |
|-----------|-------|----|--------|-----|-----------------------------|-------|--------|
| | <1 | >1 | <10 | >10 | | 1 ppm | 10 ppm |
| PAH-1 | | * | | * | 0.2 | 偽陽性 | 偽陽性 |
| PAH-2 | | | | * | 12.2 | | |
| PAH-3 | | | | * | 16.0 | | |
| PAH-4 | * | | | | 0.00 | | |
| PAH-5 | * | | | | 0.5 | | |
| PAH-6 | | * | | * | 8.7 | | 偽陽性 |
| PAH-7 | | | | * | 148 | | |
| PAH-8 | | | | * | 182 | | |
| PAH-9 | | * | | * | 4.4 | | 偽陽性 |
| PAH-10 | | * | | * | 0.2 | 偽陽性 | 偽陽性 |
| PAH-11 | * | | | | 0.00 | | |
| PAH-12 | | | | * | 85.4 | | |
| PAH-12dup | | | | * | 85.4 | | |
| PAH-13 | | | | * | 28.5 | | |
| PAH-14 | * | | * | | 0.3 | | |
| PAH-15 | | * | | | 0.6 | 偽陽性 | |
| PAH-16 | * | | * | | 0.00 | | |
| PAH-17 | | * | | * | 1.8 | | 偽陽性 |
| PAH-18 | | * | * | | 3.4 | | |
| PAH-19 | | * | * | | 6.7 | | |
| PAH-20 | * | | * | | 0.9 | | |
| PAH-21 | | | | * | 43.2 | | |
| PAH-22 | | | | * | 72.8 | | |
| PAH-23 | | * | | * | 1.3 | | 偽陽性 |
| PAH-24 | | * | * | | 0.3 | 偽陽性 | |
| PAH-25 | * | | * | | 0.4 | | |
| PAH-26 | | | * | | 27.9 | | 偽陰性 |
| PAH-27 | * | | * | | 0.00 | | |
| PAH-28 | | | * | | 16.4 | | 偽陰性 |
| PAH-29 | * | | * | | 0.4 | | |
| PAH-30 | | * | * | | 9.6 | | |

註：GC/MS 係所有 PAHs 之總量。

表七 PAH 檢測試劑套組針對 30 個受 PAHs 污染土樣進行免疫分析法確效研究^{註1}

| 樣品編號 | 1 ppm | | 10 ppm | | GC/MS ^{註2} (ppm) | 結果一致性 | |
|-----------|-------|----|--------|-----|------------------------------|-------|--------|
| | <1 | >1 | <10 | >10 | | 1 ppm | 10 ppm |
| PAH-1 | | * | | * | 0.1 | 偽陽性 | 偽陽性 |
| PAH-2 | | | | * | 8.1 | | 偽陽性 |
| PAH-3 | | | | * | 9.0 | | 偽陽性 |
| PAH-4 | * | | | | 0.00 | | |
| PAH-5 | * | | | | 0.2 | | |
| PAH-6 | | * | | * | 5.2 | | 偽陽性 |
| PAH-7 | | | | * | 56.9 | | |
| PAH-8 | | | | * | 73.2 | | |
| PAH-9 | | * | | * | 0.1 | 偽陽性 | 偽陽性 |
| PAH-10 | | * | | * | 0.00 | 偽陽性 | 偽陽性 |
| PAH-11 | * | | | | 0.00 | | |
| PAH-12 | | | | * | 47.3 | | |
| PAH-12dup | | | | * | 47.3 | | |
| PAH-13 | | | | * | 11.5 | | |
| PAH-14 | * | | * | | 0.2 | | |
| PAH-15 | | * | | | 0.5 | 偽陽性 | |
| PAH-16 | * | | * | | 0.00 | | |
| PAH-17 | | * | | * | 1.2 | | 偽陽性 |
| PAH-18 | | * | * | | 1.7 | | |
| PAH-19 | | * | * | | 3.6 | | |
| PAH-20 | * | | * | | 0.6 | | |
| PAH-21 | | | | * | 27.5 | | |
| PAH-22 | | | | * | 49.2 | | |
| PAH-23 | | * | | * | 0.8 | 偽陽性 | 偽陽性 |
| PAH-24 | | * | * | | 0.1 | 偽陽性 | |
| PAH-25 | * | | * | | 0.2 | | |
| PAH-26 | | | * | | 13.5 | | 偽陰性 |
| PAH-27 | * | | * | | 0.00 | | |
| PAH-28 | | | * | | 6.4 | | |
| PAH-29 | * | | * | | 0.2 | | |
| PAH-30 | | * | * | | 2.8 | | |

註：1.以表一 Phenanthrene 之交叉反應數據常態化修正之結果。

2.GC/MS 係所有 PAHs 之總量。