

土壤中滴滴涕篩檢方法－免疫分析法

中華民國95年7月13日環署檢字第0950055833A號公告

自中華民國95年10月15日起實施

NIEA S602.60C

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，對樣品進行滴滴涕 (DDT) 及其分解產物 (DDD、DDE 及 DDA) 定性及半定量的篩檢。

檢測時，以經過濾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-DDT 結合試劑 (Enzyme-DDT conjugate reagent) 加入已固定化的 DDT 抗體上，酵素-DDT 結合試劑與樣品中的 DDT，共同競爭與 DDT 抗體的結合。當酵素-DDT 結合體與 DDT 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 DDT 會減少酵素-DDT 結合試劑與抗體的結合量，反應後，呈現較弱顏色。因此，土壤 DDT 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 1,1,1-三氯-2,2-雙(4-氯苯基)乙烷 (1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl) ethane; DDT; CAS Registry 50-29-3) 及其分解產物的濃度是否超過 0.2, 1.0 或 10 mg/kg。本方法藉由標準品的比對試驗，而預估樣品中 DDT 及其分解產物的總濃度。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 DDT 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 DDT 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，對部分化合物的偵測極限。此外可請檢測試劑套組製造商，提供進一步的參考資料，以了解其他化合物的交叉反應。

(二) 保存及操作之溫度，會影響檢測結果，使用時，務必請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™ DDT in Soil (Millipore,Inc.) 或具同等功效之產品。

五、試劑

請參考每一商品化檢測試劑套組，所提供或說明成功的資訊，以了解並準備完成該檢測時，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系統來建立。

十、精密度與準確度

(一)方法靈敏度：利用 8 種不含 DDT 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 DDT 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 ($\%Bo = [(\text{吸光度值}_{\text{樣品}} / \text{吸光度值}_{\text{陰性控制組}}) \times 100]$) 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 81.4 %Bo，參考表二 DDT 檢驗分析平均測值，得知此相對應濃度是 0.044 mg/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 DDT 1.0 mg/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 等三類，隨之分別作添加 DDT 1.0 mg/kg 與不添加處理。由表四的數據結果得知，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，進行本方法與 NIEA M618 的比對檢測，探討免疫分析，在 DDT 污染場址篩檢的可行性。並由一認證實驗室，與 NIEA M618 作結果比對。由表五數據得知，在 0.2 mg/kg 之篩檢濃度，免疫分析檢測出現 0/32 (0%) 偽陰性反應，2/32 (6.3%) 偽陽性反應。在 1.0 mg/kg 之篩檢濃度，則偽陰性反應率是 1/32 (3.1%)，偽陽性反應率是 2/32 (6.3%)。

十一、參考資料

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

4042, December 1996.

(二) EnviroGard™ DDT 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 (mg/kg)	
<i>p,p'</i> -DDT	0.04	
<i>p,p'</i> -DDD	0.01	
<i>p,p'</i> -DDE	0.18	
<i>p,p'</i> -DDT	4.0	
<i>p,p'</i> -DDD	0.4	
<i>p,p'</i> -DDE	3.0	
DDA	0.002	
克氣蟎 Chloropropylate	0.007	
克氣苯 Chlorobenzilate	0.03	
大克蟎 Dicofol	0.14	
枯草龍 Chloroxuron	24	
綠谷龍 Monolinuron	25	
殺丹 Thiobencarb	5	
得克利 Tebuconazole	7	
草不龍 Neburon	17	
得脫蟎 Tetradifon	1.2	
禾草靈 Diclofop	70	
多氯聯苯 PCB(Aroclor 1248)	90	
下列化合物濃度在 100 ppm 或以上時，仍呈陰性反應：		
2,4-二氯苯氧醋酸 2,4-D	4-氯苯氧醋酸 4-Chlorophenoxyacetic acid	可氣丹 Cholodane
五氯酚 Pentachlorophenol	滅落寧 Chlorobromuron	綠麥隆 Chlorotoluron
汰克草 Dicamba	福隆 Diflubenzuron	達有龍 Diuron
靈丹 Lindane	理有龍 Linuron	二甲四氯酸 MCPA acid
加撲草 MCPB	二甲四氯丙酸 Mecoprop	汽油 Gasoline
柴油 Dielder fuel	2,4,6-三硝基甲苯 2,4,6-Trinitrotoluene	毒殺芬 Toxaphene

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=9)	標準偏差
S1	壤土	87.0	7.5
S2	黏土	93.2	2.3
S3	砂土	97.2	2.6
S4	壤土	87.7	1.2
S5	壤土/砂土	88.1	2.3
S6	黏土	100.8	2.1
S7	壤土/砂土	103.6	0.3
S8	砂土/壤土	89.6	4.5
平均值		93.4	6.0
第二部分 DDT 校正液的平均測值			
DDT 濃度 (ppm)	吸光度平均值	平均測值 %Bo	
0	1.133	N/A	
0.1	0.897	79.4	
1.0	0.569	50.3	
10.0	0.362	32.0	
50.0	0.259	22.9	
第三部分 方法靈敏度			
依上述第一、二部分： 平均測值 %Bo - 2 SD = 81.4 相當於 0.044 ppm DDT 平均測值 %Bo - 3 SD = 75.4 相當於 0.097 ppm DDT			

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	79.7*	79.3	83.7	80.9	2.4	76.1 - 85.7
S1	30	否	89.1	84.0	85.9	86.4	2.6	81.2 - 91.6
S1	0	是	49.8	62.1	46.3	52.8	8.3	36.2 - 69.4
S1	30	是	55.8	59.9	58.0	57.9	2.1	53.7 - 62.1
S2	0	否	85.2	96.2	97.9	93.1	6.9	79.3 - 106.9
S2	30	否	94.8	94.3	95.0	94.7	0.3	94.1 - 95.3
S2	0	是	54.4	47.0	56.1	52.5	4.8	42.9 - 62.1
S2	30	是	56.3	53.8	60.2	56.8	3.2	50.4 - 63.2
S3	0	否	96.2	91.3	100.0	95.8	4.3	87.2 - 104.4
S3	30	否	95.6	90.5	96.4	94.2	3.2	87.8 - 100.6
S3	0	是	54.8	52.9	54.8	54.2	1.1	52.0 - 56.4
S3	30	是	59.4	55.0	54.5	56.3	2.7	50.9 - 61.7

*所有測值以 %Bo 表示， $\%Bo = [(OD_{\text{樣品}} / OD_{\text{陰性控制組}}) \times 100]$

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	91.4	91.3	78.3	87.0	7.5	72.0-102
S1	酸性	否	79.7	87.0	86.8	84.5	4.1	76.3-92.7
S1	鹼性	否	80.5	84.5	78.5	81.2	3.0	75.2-87.2
S1	無	是	57.5	60.3	55.1	57.6	2.6	52.4-62.8
S1	酸性	是	54.2	60.6	55.2	56.7	3.4	49.9-63.5
S1	鹼性	是	52.8	60.2	53.3	55.5	4.1	47.3-63.7
S2	無	否	94.7	90.6	94.5	93.2	2.3	88.6-97.8
S2	酸性	否	87.8	100.1	100.9	96.3	7.3	81.7-111
S2	鹼性	否	87.9	81.6	98.3	89.3	8.5	72.3-106
S2	無	是	51.7	56.9	48.3	52.3	4.3	43.7-60.9
S2	酸性	是	52.2	61.0	55.2	56.1	4.5	47.1-65.1
S2	鹼性	是	52.0	53.5	48.9	51.5	2.3	46.9-56.1
S3	無	否	99.1	94.2	98.2	97.2	2.6	92.0-102
S3	酸性	否	86.4	84.3	85.5	85.4	1.1	83.2-87.6
S3	鹼性	否	94.9	100.3	92.9	96.1	3.8	88.5-104
S3	無	是	56.2	54.3	52.8	54.4	1.7	51.0-57.8
S3	酸性	是	54.5	53.5	53.9	54.0	0.5	53.0-55.0
S3	鹼性	是	54.6	57.2	62.9	58.2	4.2	49.8-66.6

*所有測值以 %Bo 表示， $\%Bo = [(OD_{\text{sample}} / OD_{\text{negative control}}) \times 100]$

表五 比對於 NIEA M618
以 0.2 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	3.6	陽性反應	是
co-ss-3	0.55	陽性反應	是
co-ss-4	2.3	陽性反應	是
co-ss-5	<0.05	陰性反應	是
co-ss-6	0.15	陽性反應	偽陽性
co-ss-7	0.3	陽性反應	是
co-ss-8	0.1	陰性反應	是
co-ss-9	0.8	陽性反應	是
co-ss-10	0.23	陽性反應	是
co-ss-13	0.79	陽性反應	是
co-ss-14	0.58	陽性反應	是
co-ss-15	0.35	陽性反應	是
co-ss-17	<0.05	陰性反應	是
co-ss-20	0.18	陰性反應	是
co-ss-21	0.06	陰性反應	是
co-ss-22	<0.05	陰性反應	是
co-ss-23	<0.05	陰性反應	是
co-ss-24	1.2	陽性反應	是
co-ss-25	0.12	陰性反應	是
co-ss-26	<0.05	陰性反應	是
co-ss-27	<0.05	陰性反應	是
co-ss-28	0.16	陰性反應	是
co-ss-28-17D	0.18	陽性反應	偽陽性
co-ss-29	0.69	陽性反應	是
co-ss-30	0.73	陽性反應	是
co-ss-31	0.68	陽性反應	是
co-ss-32	<0.05	陰性反應	是
co-ss-33	0.32	陽性反應	是
co-ss-34	0.23	陽性反應	是
co-ss-35	0.52	陽性反應	是
co-ss-36	1.0	陽性反應	是
co-ss-41	<0.05	陰性反應	是

表五(續) 以 1.0 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	3.6	陽性反應	是
co-ss-3	0.55	陰性反應	是
co-ss-4	2.3	陽性反應	是
co-ss-5	<0.05	陰性反應	是
co-ss-6	0.15	陰性反應	是
co-ss-7	0.3	陰性反應	是
co-ss-8	0.1	陰性反應	是
co-ss-9	0.8	陰性反應	是
co-ss-10	0.23	陰性反應	是
co-ss-13	0.79	陰性反應	是
co-ss-14	0.58	陰性反應	是
co-ss-15	0.35	陰性反應	是
co-ss-17	<0.05	陰性反應	是
co-ss-20	0.18	陰性反應	是
co-ss-21	0.06	陰性反應	是
co-ss-22	<0.05	陰性反應	是
co-ss-23	<0.05	陰性反應	是
co-ss-24	1.2	陽性反應	是
co-ss-25	0.12	陰性反應	是
co-ss-26	<0.05	陰性反應	是
co-ss-27	<0.05	陰性反應	是
co-ss-28	0.16	陰性反應	是
co-ss-28-17D	0.18	陰性反應	是
co-ss-29	0.69	陰性反應	是
co-ss-30	0.73	陽性反應	偽陽性
co-ss-31	0.68	陽性反應	偽陽性
co-ss-32	<0.05	陰性反應	是
co-ss-33	0.32	陰性反應	是
co-ss-34	0.23	陰性反應	是
co-ss-35	0.52	陰性反應	是
co-ss-36	1.0	陰性反應	偽陽性
co-ss-41	<0.05	陰性反應	是