

土壤中總石油碳氫化合物篩檢方法－免疫分析法

中華民國95年7月13日環署檢字第0950055833C號公告
自中華民國95年10月15日起實施
NIEA S701.60C

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，對樣品進行總石油碳氫化合物（Total petroleum hydrocarbons；TPH）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總石油碳氫化合物結合試劑(Enzyme-TPH conjugate reagent) 加入已固定化的總石油碳氫化合物抗體中，酵素-總石油碳氫化合物結合體和樣品中的碳氫化合物，共同競爭與總石油碳氫化合物抗體的結合，會將無色的酵素受質轉化成有色產物，本方法檢測結果，由比較樣品組及標準品顏色變化之差異而得知。

樣品中總石油碳氫化合物會減少酵素-總石油碳氫化合物結合試劑與抗體的鍵結量，反應後呈現較淺顏色。因此，土壤總石油碳氫化合物濃度與反應顏色呈負相關。

二、適用範圍

本方法是用來篩檢土壤中是否含有總石油碳氫化合物的方法，依檢測試劑套組的選擇，可判斷樣品可能為低濃度（<40-100 mg/kg）、中濃度、及高濃度（>1000 mg/kg）的污染，或是量測總石油碳氫化合物濃度，在 5、25、100 或 500 mg/kg 以上。本方法與對照標準品比較，以評估總石油碳氫化合物濃度，並可在採樣的一小時內，產生多組結果。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。

使用 100 mg/kg 之篩檢濃度，小於或等於 25 mg/kg 總石油碳氫化合物的樣品，95% 將會顯示陰性反應。

免疫分析之靈敏度，取決於目標分析物與套組上抗體的鍵結強弱。本方法之檢測試劑套組，對於燃料中之小芳香環化合物（如乙基苯、二甲苯及萘），具有最佳靈敏度。

篩檢之靈敏度可能受到自然界的碳氫化合物污染及場址中分析物降解，而產生干擾。

若要準確定量出量總石油碳氫化合物濃度，需使用進一步之分析方法，如氣相層析法（參考 NIEA S703 方法）或紅外線光譜法（USEPA SW846 方法 8440）。

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）具有與總石油碳氫化合物相似化學性質之化合物，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 A 與表一 B 列出本方法對這些化合物造成偽陽性結果的最小濃度。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，使用時務必請依照製造商的指示進行。
- （三）應使用適當的標準品（如：使用柴油標準品，以進行柴油分析，使用航空燃油（JP-4）標準品以進行航空燃油分析），否則可能導致偽陰性或偽陽性之誤判。

四、設備與材料

免疫分析檢測試劑套組：PETRO RISCTM Soil Test (EnSys, Inc.), EnvironGardTM Petroleum Fuels in Soil (Millipore, Inc.)或同等功效之產品。

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、採樣與保存

(一) 採樣方法請本署公告 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說明書進行，使用之檢測試劑套組，需符合或優於表二至表十二中所要求的成效。

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) 方法績效評估：在單一實驗室內以 PETRO RISC Soil Test 套組，檢測五種污染土壤樣品。這些樣品分別受到含氧汽油污染、含氧汽油污染 24 小時之樣品、低芳香環柴油污染、一般柴油污染及 JP-4 航空燃油污染。由多位不同的分析員執行免疫分析法，進行五次重複檢測，所得之數據與氣相層析法（參考 NIEA S703 方法）或紅外線光譜法（USEPA SW846 M8440）比較；判讀方式為低於 2 - 5 倍行動基準之樣品，判定為低於行動基準。高於 2 倍行動基準之樣品，判定為高於行動基準。在行動基準上或附近之樣品，判定為混合結果（如：低於及高於行動基準），表二至表六為檢測結果。
- (二) 方法靈敏度之建立：利用 8 種不含總石油碳氫化合物的土壤，應用分析物-專一性反應曲線（analyte-specific response curve）換算出負控制組土樣基質（matrix）的雜訊基準（noise level），所相對應的總石油碳氫化合物濃度。每一土樣重複萃取三次，重複檢驗三次後，計算出結果 %Bo（ $\%Bo = [(\text{吸光度值}_{\text{樣品}} / \text{吸光度值}_{\text{負控制組}}) \times 100]$ ）之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，檢測家用燃油（Home heating oil, HHO），本方法的靈敏度為 81.4 %Bo，參考表七 TPH 檢驗分析平均測值，得知此相對應濃度是 5.8 mg/kg。
- (三) 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，分別作添加家用燃油（Home heating oil, HHO）與不添加處理。由表八的數據結果得知，土樣含水量高達 30%，也不會對檢測結果產生明顯的影響。
- (四) 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，隨之分別作添加家用燃油與不添加處理。由表九的數據結果得知，土樣 pH 值由 2 至 12 對檢測結果，都不會產生明顯的影響。
- (五) 標準方法與免疫分析法比較測試：

1.以 PETRO RISC Soil Test (EnSys,Inc.) 篩檢兩個場址的污染情形；一號場址為地面上汽油儲存槽滲漏所導致的土壤污染，在二號場址為柴油所污染的土壤、爛泥及廢水儲存槽。整體而言，標準方法與免疫分析法間，有高度的相關性。將免疫分析法應用至 23 個樣品 (46 個分析)，產生 9 個偽陽性反應 (19.5%) 及 4 個偽陰性反應 (8.7%)，如表十及表十一所示。呈現的數據顯示，在兩個場址中的樣品檢測，有 71% 的結果是一致的。

2. 以 EnvironGard Petroleum Fuels in Soil 篩檢兩個場址的污染情形；一號場址為地底汽油儲存槽滲漏所導致的汽油污染，分析 20 個樣品，在 100 mg/kg 之篩檢濃度，免疫分析檢測出現 1/20 (5%) 偽陰性反應，0/20 (0%) 偽陽性反應。在二號場址為半掩埋儲存槽滲漏，所導致的 JP-4 航空燃油污染，分析 10 個樣品，在 1000 mg/kg 之篩檢濃度，免疫分析檢測出現 0/10 (0%) 偽陰性反應及 1/10 (10%) 偽陽性反應；整體而言，如表十二所示，兩個場址免疫分析檢測結果為 1/30 (3.3%) 偽陽性反應及 1/30 (3.3%) 偽陰性反應。

十一、參考資料

(一) US EPA, SW-846, Method 4030 "Soil Screening for Petroleum Hydrocarbons by Immunoassay", 1996.

(二) PETRO RISC™ Users Guide, Ensys Inc.

(三) Marsden, P.J., S-F Tsang, and N. Chau, "Evaluation of the PETRO RISC™ kit Immunoassay Screen Test System", Science Applications International Corporation under contract to EnSys Inc., June 1992, unpublished.

(四) EnviroGard™ Petroleum Fuels in Soil Test Kit Guide, Millipore, Inc.

表一 A 不同化合物的交叉反應

化合物	產生陽性反應所需之濃度(mg/kg)	
汽油	Gasoline	100
2 號普通柴油	Diesel fuel, regular #2	75
航空油 A	Jet A fuel	75
煤油	Kerosene	100
燃料油 2 號	Fuel oil #2	100
礦物型溶劑	Mineral Spirits	<30
輕潤滑油	Light lubricating oil	7,000
鋰油膏	Lithium grease	10,000
剎車油	Brake fluid	>10,000
鏈潤滑油	Chain lubricant	>10,000
甲苯	Toluene	200
鄰二甲苯	o-Xylene	50
間二甲苯	m-Xylene	100
對二甲苯	p-Xylene	300
乙基苯	Ethylbenzene	50
六氯苯	Hexachlorobenzene	<30
三氯乙烯	Trichloroethylene	1,000
芴	Acenaphthene	<30
萘	Naphthalene	<30
雜酚油	Creosote	<30
2-甲基戊烷	2-Methylpentane	150
己烷	Hexanes, mixed	250
庚烷	Heptane	300
異辛烷	iso-Octane	30
十一烷	Undecane	>10,000

以 PETRO RISCTM Soil Test, EnSys, Inc. 進行測試
 資料來源：EnSys, Inc. 產品文獻。

表二 JP-4 檢測結果 (5 次重複/檢測)

標示濃度 ^a (mg/kg)	20	40	90	260	1000
PETRO RISC TM ^b	2/5, >40	5/5, >40	5/5, >40	1/5, >400	5/5, >400
氣相層析法 ^c (mg/kg)	27 ± 2.1	38 ± 12	93 ± 30	260 ± 100	3000 ± 600
紅外線光譜法 ^d (mg/kg)	NA	2.8-5.3	52-95	380-620 (有一個偏離值)	1370-2700

a：樣品由空軍基地核心取得。添加濃度以氣相層析法分析。

b：使用 PETRO RISCTM 檢測試劑套組，提供之碳氫化合物，進行本方法檢測。

c：氣相層析法的檢測以 JP-4 為標準品，取 20 mg/kg 進行萃取，但未進行 TPH 免疫分析。

d：使用 USEPA 方法 418.1 中特定的混合溶劑執行此方法。因為結果的變異性，只報告數值範圍 20 mg/kg 的樣品並分析。

表三 低芳香環柴油之檢測結果 (5 次重複/檢測)

標示濃度 ^a (mg/kg)	12.5	75	105	150	1000
PETRO RISC TM ^b	4/4, <150	4/4, <150	5/5, <150	3/5, >150	5/5, >1500
氣相層析法 ^c (mg/kg)	ND	54 ± 7	90 ± 15	125 ± 12	960 ± 105
紅外線光譜法 ^d (mg/kg)	30.5-51.7	106.0-292.0	129.0-305.0	NA	810.0-1798.0

a：樣品由含砂壤土樣品中添加已知量的加州所販售之低芳香環柴油製備而得。

b：使用 PETRO RISCTM 檢測試劑套組，提供之碳氫化合物，進行本方法之檢測，在 35 mg/kg 及 75 mg/kg 的檢測值中，有 1/5 超出 QC 極限。

c：使用購自加州加油站之柴油標準品執行氣相層析法；ND：未偵測到。

d：使用 USEPA 方法 418.1 中特定的混合溶劑執行此方法。因為結果的變異性，只報告數值範圍。NA：150 mg/kg 樣品未進行 IR 檢測。

表四 普通柴油之檢測結果 (4 次重複/檢測)

標示濃度 ^a (mg/kg)	25	75	150
PETRO RISC™ ^b	2/4, <75	2/3, >75	4/4, >75
氣相層析法 ^c (mg/kg)	51.2 ± 6.4	75.9 ± 7.8	162 ± 10.4

a: 樣品由含砂壤土樣品中添加已知量的普通 2 號柴油製備而得。

b: 使用 PETRO RISC™ 檢測試劑套組，提供之碳氫化合物，進行本方法之檢測，在 75 mg/kg 的檢測值中，有 1 個超出 QC 極限。

c: 使用購自維吉尼亞州加油站之柴油標準品執行。

表五 含氧汽油之檢測結果-新添加 (5 次重複/檢測)

標示濃度 ^a (mg/kg)	50	100	200	1000
PETRO RISC™ ^b	3/4, <100	4/5, >100	5/5, >100	5/5, >1000
氣相層析法 ^c (mg/kg)	22.2 ± 1.6	39.4 ± 4.2	84.8 ± 10.9	434 ± 26

a: 樣品由含砂壤土樣品中添加已知量的含氧汽油製備而得。樣品保存在密閉罐中直到分析。

b: 使用 PETRO RISC™ 檢測試劑套組，提供之碳氫化合物，進行本方法之檢測，在 50 mg/kg 的檢測值中，有 1 個超出 QC 極限。

c: 使用購自加州加油站之汽油標準品執行。

表六 含氧汽油之結果 (5 次重複/檢測)

標示濃度 ^a (mg/kg)	50	100	200
PETRO RISC™ ^b	3/4, <100	4/5, >100	2/4, >100
氣相層析法 ^c (mg/kg)	ND	3.6 ± 0.4	7.3 ± 0.9

a: 樣品由含砂壤土樣品中添加已知量的含氧汽油製備而得。樣品均質化後 24 小時進行分析。樣品開放保存在大氣下。

b: 使用 PETRO RISC™ 檢測試劑套組，提供之碳氫化合物，進行本方法之檢測，在 50 mg/kg 及 250 mg/kg 的檢測值中，有 1/5 超出 QC 極限。

c: 使用購自加州加油站之汽油標準品執行。以較後面的沖提峰進行定量。ND : 未偵測到。

表七 方法靈敏度

第一部分 土壤之平均靈敏度			
樣品編號	土壤種類	平均 %Bo (n = 8)	標準偏差 SD
S1	砂土	91.4	4.1
S2	壤土	83.1	3.2
S3	黏土	84.4	3.1
S4	壤土	80.9	1.3
S5	黏土	89.7	1.7
S6	壤土/砂	91.7	0.2
S7	砂/壤土	89.0	0.3
S8	壤土	90.0	1.4
平均		87.5	4.0
第二部分 校正因子之平均感度			
校正因子濃度 (mg/kg)	平均吸收度	平均 %Bo	
0	1.339	N/A	
5	1.097	81.9	
15	0.825	61.7	
50	0.427	31.9	
125	0.219	16.3	
第三部分 方法靈敏度			
基於上述之第一部份與第二部分			
平均 %Bo -2 SD = 79.6 相等於 5.8 mg/kg			
平均 %Bo -3 SD = 75.6 相等於 7.0 mg/kg			

$$\%Bo = [(OD_{\text{樣品}}/OD_{\text{陰性控制}}) \times 100]$$

表八 土壤中水分的影響

樣品編號	%水	添加與否	重複 1*	重複 2	重複 3	平均值	標準偏差	± 2 SD 範圍
S1	0	否	101.3	99.1	111.8	104.1	6.8	90.4–117.7
S1	30	否	100.5	115.5	109.1	108.4	7.5	93.4–123.4
S1	0	是	59.2	65.8	69.6	64.9	5.3	49.9–75.5
S1	30	是	60	74.7	83.1	72.3	11.7	49.2–96.0
S2	0	否	57.9	53.9	72.3	61.4	9.7	42.0–80.8
S2	30	否	74.5	91.8	85.2	83.8	8.7	66.4–101.2
S2	0	是	40.3	40.9	45.6	42.3	2.9	36.5–48.1
S2	30	是	44.5	67.8	68.4	60.2	13.6	33.0–87.4
S3	0	否	70.1	85.6	76.7	77.5	7.8	61.9–93.1
S3	30	否	81.5	109.4	103.4	98.1	14.7	68.7–127.5
S3	0	是	41.1	46.6	60.7	49.5	10.1	29.3–69.7
S3	30	是	61.3	76.7	63.1	67.0	8.4	50.2–83.8

* 所有值以%Bo = [(OD_{樣品}/OD_{陰性控制})×100]表示之

表九 土壤樣品 pH 的影響

樣品編號	pH 調整	添加與否	重複 1 [*]	重複 2	重複 3	平均值	標準偏差	± 2 SD 範圍
S1	無	否	88.9	93.2	92.8	91.6	2.1	86.8 – 96.4
S1	酸性	否	108.9	66.0	88.1	87.7	21.5	44.7 – 109.2
S1	鹼性	否	101.2	90.3	90.6	94.0	6.2	81.6 – 106.4
S1	無	是	64.3	55.7	58.0	59.3	4.5	50.3 – 68.3
S1	酸性	是	52.9	41.1	49.4	47.8	6.1	35.6 – 60.0
S1	鹼性	是	69.3	61.7	57.5	62.8	6.0	50.8 – 74.8
S2	無	否	86.2	86.4	83.1	81.9	5.2	71.5 – 92.3
S2	酸性	否	101.2	82.4	99.5	94.4	10.4	73.6 – 115.2
S2	鹼性	否	89.9	72.1	77.7	79.9	9.1	61.7 – 98.1
S2	無	是	59.4	60.3	53.7	57.8	3.6	50.6 – 65.0
S2	酸性	是	68.1	62.3	59.3	63.2	4.5	54.2 – 72.2
S2	鹼性	是	47.8	51.7	39.4	46.3	6.3	33.7 – 58.9
S3	無	否	83.4	88.4	85.3	85.7	2.5	80.7 – 90.7
S3	酸性	否	89.3	84.9	91.0	88.4	3.1	82.2 – 94.6
S3	鹼性	否	80.6	84.2	90.3	85.0	4.9	75.2 – 94.8
S3	無	是	60.2	53.6	58.8	57.5	3.5	47.7 – 64.5
S3	酸性	是	58.8	58.5	62.0	59.8	1.9	56.0 – 63.6
S3	鹼性	是	53.4	41.8	59.9	51.7	9.2	33.3 – 70.1

* 所有值以 %Bo = [(OD_{樣品}/OD_{陰性控制})×100] 表示之

表十 PETRO RISCTM 土壤測試 - 一號場址

樣品編號	紅外線光譜 法 (mg/kg)	100 mg/kg		1000 mg/kg	
		結果	一致性	結果	一致性
AST-01	<20	<100	是	<1000	是
AST-02	520	≥100	是	≥1000	偽陽性
AST-03	1700	≥100	是	≥1000	是
AST-04	130	≥100	是	<1000	是
AST-05	20	≥100	偽陽性	<1000	是
AST-06	40	≥100	偽陽性	<1000	是
AST-07	400	≥100	是	<1000	是
AST-08	640	≥100	是	<1000	是
AST-09	1600	≥100	是	≥1000	是

表十一 PETRO RISC™ 土壤測試 - 二號場址

樣品編號	GC 法測值 (mg/kg)	TRPH (mg/kg)	75 mg/kg			750 mg/kg		
			結果	一致性		結果	一致性	
				GC	TRPH		GC	TRPH
1-B	5720	20800	≥75	是	是	≥750	是	是
2-A	610	14700	≥75	是	是	≥750	偽陽性	是
2-B	370	6800	≥75	是	是	≥750	偽陽性	是
2-C	2270	1950	≥75	是	是	≥750	是	是
3-B	4870	18600	≥75	是	是	≥750	是	是
3-C	760	1180	≥75	是	是	<750	偽陰性 ^a	偽陰性
4-A	66	4100	≥75	偽陽性 ^b	是	<750	是	偽陰性
4-B	303	2100	≥75	是	是	<750	是	偽陰性
5-A	20400	29600	≥75	是	是	≥750	是	是
5-B	26300	28600	≥75	是	是	≥750	是	是
5-C	267	330	≥75	是	是	≥750	偽陽性	偽陽性
6-B	550	22700	≥75	是	是	≥750	偽陽性	是
8	59300	64400	≥75	是	是	≥750	是	是
9	26500	12900	≥75	是	是	≥750	是	是

a：偽陰性，但在 GC 或 IR 結果的 25% 內。

b：偽陽性，但在 GC 或 IR 結果的 25% 內。

表十二 免疫分析法與氣相層析法比較

一號場址：汽油（檢測濃度 100 mg/kg）			
樣品編號	氣相層析法(mg/kg)	免疫分析法	結果一致性
MW-18-1	270	陰性反應	偽陰性
MW-18-2	15	陰性反應	是
MW-18-3	15	陰性反應	是
MW-18-A1	20	陰性反應	是
MW-18-A1	15	陰性反應	是
MW-18-A2	1500	陽性反應	是
DB3	300	陽性反應	是
MW-12-3	250	陽性反應	是
MW-13-1	40	陰性反應	是
MW-13-3	50	陰性反應	是
MW-13-4	20	陰性反應	是
MW-17-3	250	陽性反應	是
MW-17-4	180	陽性反應	是
MW-17-5	180	陽性反應	是
MW-16-2	11,500	陽性反應	是
MW-16-2	11,500	陽性反應	是
MW-19-2	10	陰性反應	是
MW-19-3	70	陰性反應	是
MW-14-1	280	陽性反應	是
MW-17-A1	560	陽性反應	是

二號場址：JP-4 航空燃油（檢測濃度 1000 mg/kg）

樣品編號	氣相層析法(mg/kg)	免疫分析法	結果一致性
TB1 6.5-7.0	15,900	陽性反應	是
TB2 6.5-7.0	16,800	陽性反應	是
TB1 5.0-5.5	900	陰性反應	是
TB2 5.0-5.5	100	陽性反應	偽陽性
TB3 5.0-5.5	ND (<5)	陰性反應	是
TB3 6.5-7.0	29,500	陽性反應	是
TB5 5.0-5.5	5,000	陽性反應	是
TB5 6.5-7.0	2,000	陽性反應	是
TB4 6.5-7.0	19,000	陽性反應	是
TB4 5.5-6.0	5,900	陽性反應	是