家畜衛試所研報No.42：11~20(2007)

普魯士藍測試斑點形成法的氰化物中毒檢體快速檢測

林文華*[1] 張春梵*[2] 陳朝欽[3] 翁麗珍[4] 宋華聰[4] 趙磐華[1]
[1]行政院農業委員會家畜衛生試驗所
[2]中國文化大學動物科學系
[3]清華大學資訊學系
[4]行政院農業委員會動植物防疫檢疫局

摘要 應用普魯士藍測試斑點形成法 (prussian blue test - spot formation method, PBT-SFM) 建立動物氰化物中毒之安全簡易速檢技術平台，將可疑檢體與硫酸置於改良型安全速檢裝置系統，反應釋出氰化物氣體經適度抽氣吸附於含二價鐵 (ferrous) 濾紙，反應生成亞鐵 (ferriferroc) 氰化物斑點，由鹽酸脫色展現藍色化合物沈積，經演算分析簡易光學掃瞄濾紙斑點影像的藍色訊號數值，建立半定量檢測回復的回歸校正曲線。初步測試使用標準物劑量 5、10、25 與 50 μg 等 4 種，校正曲線的回歸相關係數為 0.9727，標準物溶液的檢測方法極限 (method detection limit, MDL) 濃度為 150 μg/L 或 2.3 μM，實際檢體胃內容物和臟器的檢測結果未見陽性。本研究報告實施簡易安全的普魯士藍測試斑點形成法 PBT-SFM 技術平台，執行氰化物檢體的半定量安全速檢無需昂貴設備和試劑，檢測靈敏度符合臨床診斷實驗室的氰化物中毒檢體安全速檢需求，適於疑似氰化物中毒的動物案例。(家畜衛試所研報，00(0): 000－000, Jun. 28, 2007.)

關鍵詞：動物，中毒，氰化物，普魯士藍測試，斑點形成法。

緒言

動物中毒案例常因毒物種類眾多，測定不易，導致常未被重視甚至忽略。氰化物鹽類中毒致死重症案例的氰離子 (cyanic ion, CN^-) 血液濃度達 2~10 mg/L，組織濃度常見類別差異；氰化氫(hydrogen cyanide, HCN) 中毒案例弱酸解離則少見氰離子。氰化氫擴散進入細胞膜內非專一性抑制多種酵素，包括琥珀酸去氫酶 (succinic acid dehydrogenase)、過氧化物變異酶(superoxide dismutase)、碳酸脫水酶(carbonic anhydrase)、與細胞色素氧化酶 a3(cytochrome oxidase)，導致電子傳遞鏈的氫離子無法結合氧氣產生能量物質三磷酸腺嘌呤 (ATP)，常見症狀呈現酸血症的過量氫離子蓄積與神經毒性的低氧耗用型腦脂過氧化與抗氧化酵素抑制，典型症狀呈現酸血症型心跳過速、高血壓、腸倦與頭痛，以及神經毒性型抽搐與昏迷等，嚴重症狀呈現亮紅色靜脈血與 1~15 分鐘內致死〔17〕。

氰化物中毒的毒物來源涵蓋吸入氫氰與攝食氫氰酸 (hydrocyanic acid) 或氰酸鉀或氰酸鈉 (potassium or sodium cyanide)；氫氰類毛綢化纖與有機建材，常見火場高溫釋出一氧化碳與氫氰；複合型氰化物的金屬電鍍與酸化溶液，常見工業應用廢水排放氫氰化物污染水質；氰化配醣類 (cyanogenic glycosides)和亞硝酸鹽(nitrile)組成物，常見植物組織苦杏仁素 (amygdalin) 的核桃與杏仁核果仁 (kernels)、樹薯根部 (cassava root) 與青豆 (lima beans)，動物攝食此類植物組織體內代謝釋出氰化物引發中毒。

*抽印本索取作者
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

家畜衛試所研報No.42：11~20(2007)

氰化物中毒案例需要積極建立相關對策的氰化物中毒檢測技術與衛生管理制度，確保公衛安全與個體健康，防範意外事件的社會經濟損失。疑似氰化物中毒案例的現行臨床診療所得的經驗型病歷資料、高乳酸血症、與靜脈高氧症等，至今尚缺臨床診療適用的安全簡易速檢法以利緊急實施於氰化物中毒疑似案例〔17, 5〕，協助判定支持療法給予氧氣、解毒劑、氫氧鈷胺、硝酸鈉和硫代硫酸鈉等。急性氰化物中毒臨床判定仍然依據運動失調、頭痛不安、呼吸困難、意識不清、昏睡、代謝性酸毒症、肺水腫和停止呼吸等特徵，未見發紺（cyanosis）。

本研究建置普魯士藍測試斑點形成法（PBT-SFM）的安全簡易速檢技術平台，實施檢體氰化物酸化釋出氰氣，經二價鐵反應生成亞鐵氰化物斑點，由鹽酸脫色呈現藍色化合物沈積〔15〕；類似檢測方法包括微擴散法（micro diffusion method, MDM）〔5〕，微濾盤蒸餾法（micro disc distillation method, MDDM）〔14〕，與氰試膜長條試紙法（Cyantesmo® test strips, CTTS）〔13〕；本研究報告建立氰化物安全簡易速檢法，改良設計安全簡易裝置，演算簡易掃瞄影像訊號數據，回歸分析半定量校正曲線，提供疑似氰化物中毒動物案例檢體的檢測服務應用。

材料與方法

藥品器具及設備裝置

1.藥品與器具：氯化鐵，硫酸銨鐵，氫氧化鈉，硫酸，鹽酸，氰化鉀，甘酵素，消泡劑，濾紙片，滴管，恆溫水浴槽，抽氣幫浦，氰化物檢測器組（Cyanide test apparatus，如圖 1）。

2.檢測反應系統的改良裝置：設計改良委製裝置元件的自有安全速檢系統如圖 1，裝置元件組合的條列說明載於圖示文字。

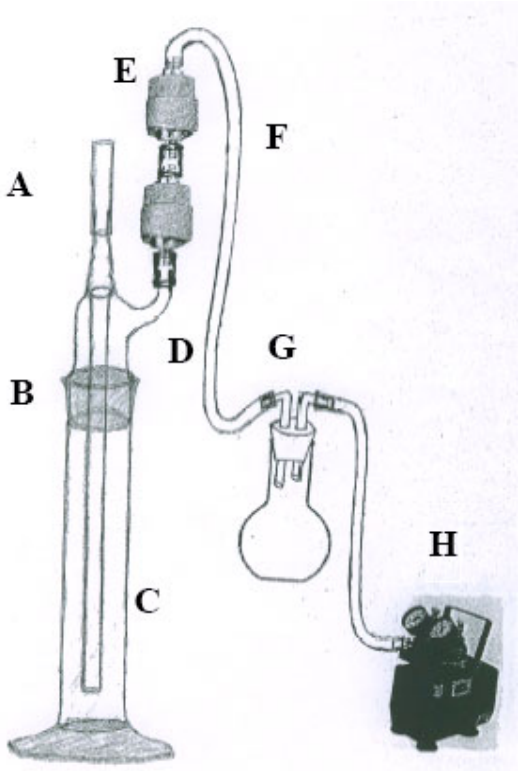


圖 1、改良型裝置的自有系統示意圖，尺寸規格無相對比例關係。以下簡要條列說明各部裝置元件項目：

A：進氣部入口軟管接頭。
B：接合部磨砂瓶口緊密處理。
C：檢體 50 mL 量筒反應容器，標準操作反應體積 20 mL 淹蓋進氣管口，容器下段妥適浸置 70 ℃水浴槽進行反應。
D：出氣部出口軟管接頭。
E：串連雙重 13 mm 圓斗組合過濾器，濾斗內徑 8 mm 與濾孔內徑 5 mm。
F：抽氣部出口軟管。
G：集溢槽捕捉相關溢流氣體與水氣，內裝集溢捕捉反應相關化學藥物。
H：抽氣部幫浦。

試劑溶液

1.氯化鐵溶液（11 %)：秤取 11 g 氯化鐵溶於 100 mL 蒸餾水，混勻後室溫存置備用。

2.硫酸銨鐵溶液（19 %)：秤取 19 g 硫酸銨鐵溶於 100 mL 蒸餾水，混勻後室溫存置備用。

3.氫氧化鈉溶液（10 %)：秤取 10 g 氫氧化鈉錠粒溶於 100 mL 蒸餾水，經 121 ℃高壓蒸氣滅菌 15 分鐘，冷卻後室溫存置備用。

4.氫氧化鈉 NaOH 溶液（1 N)：秤取 4g 氫氧化鈉(分子量約 40.00）錠粒溶於 100 mL 蒸餾水，經 121 ℃高壓蒸氣滅菌 15 分鐘，冷卻後室溫存置備用。

5.硫酸溶液（20 %)：量取 50 mL 蒸餾水，逐漸滴加 20 mL 濃硫酸，冷卻後再混加蒸餾水稀釋至 100 mL，混勻後室溫存置備用。

6.鹽酸溶液（25 %)：量取 50 mL 蒸餾水，逐漸滴加 25 mL 濃鹽酸，冷卻後再混加蒸餾水稀釋至 100 mL，混勻後室溫存置備用。

氰化物標準溶液

1.氰化物儲備標準溶液（1000 μg/mL)：精確秤取 0.2503 g 氰化鉀（分子量約 65.12)，溶於 10 mL 氫氧化鈉 1N 溶液，再混加蒸餾水至 100 mL，混勻後室溫存置備用。特別提醒注意：高濃度氰化物運作事宜務必嚴守工作安全準則與符合操作安全規範。

2.氰化物中間標準溶液（100 μg/mL)：新鮮配製。量取 1 mL 氰化物儲備標準溶液混加蒸餾水至 10 mL，使用於後續配製新鮮的工作標準溶液。.

3.氰化物工作標準溶液（10 μg/mL)：新鮮配製。量取 5 mL 氰化物中間標準溶液混加蒸餾水至 50 mL，稀釋後試驗用。

檢體材料來源與前處理

1.檢體材料來源：收集各縣市家畜疾病防疫所或養殖戶暨本所疫學研究組病理室動物疾病單一窗口提供之宜蘭與花蓮產地的台灣黃金蜆；豬與土羊飼料和胃內物；以及犬飼料和胃內容物，暨血、腦、心、肺、腎、肝和脾臟等檢體。

2.動物食材飼料和胃內物檢體材料的前處理：秤取 10 g 食材蜆類或飼料或胃內物等檢體，置於研缽混合 20 mL 蒸餾水與 0.02 g 甘酵素研磨數分鐘，室溫靜置 1 小時待續進行分析。

3.動物血液檢體材料的前處理：試驗共收集檢體多批。

4.動物內臟檢體材料的前處理：秤取臟器檢體 5 g 放入氰化物檢測器組內，取加一滴消泡劑待續進行分析。

氰化物分析法

1.普魯士藍測試斑點形成法（PBT-SFM)：氰化物標準溶液或經前處理的檢體置入內裝 20 mL 蒸餾水的氰化物檢測量筒裝置系統，連接濾斗與螺旋塞部組合內置維持適當溼度的新鮮製備 12 mm 濾紙圓片，亦即於濾紙圓片中心依序個別新鮮加置 20 μL 氯化鐵溶液（11 %)，硫酸銨鐵溶液（19 %)，與氫氧化鈉溶液（10 %)；完成組裝的密閉裝置系統以注射針筒由空氣引流管入口逐漸滴加 1 mL 硫酸溶液（20 %) 至反應溶液底部。密閉系統反應部隨即浸入 75 ℃恆溫水浴槽並進行抽氣數分鐘，完成後取出濾紙圓片緩慢搖動浸漬鹽酸 25%溶液直至濾紙變白或出現藍色斑點，再以蒸餾水清洗後自然晾乾。依照上述標準操作步驟進行陽性對照氰化物標準溶液 5、10、25 與 50 μg 的不同劑量安全速檢，分析建立校正回歸曲線與技術品管資訊。

2.影像處理：安全速檢結果的 12 mm 濾紙圓片貼於第 1 與 7 註解欄以外的 12 欄 8 列 15 mm 方格 A5 紙張，以多功能 HP 伺服掃描傳真列印系統執行掃瞄，掃瞄設定雙次的 300 dpi 解析度藍色灰階或三色全彩，儲存設定 8 或 16-bit 無壓縮 tiff 或 jpg 圖檔格式。自動化分析建置藍色自動化影像

家畜衛試所研報No.42：11~20(2007)

數據分析系統的主要任務為攫取個別圖點物件的真實藍色訊號緻密程度以便進行精確分析，嚴謹的操作程序包括：螢幕顯示輸入影像數據、將特用型24-bit 紅綠藍 RGB 光學三原色格式影像轉化成紅藍黃黑 CMYK 印刷四色格式的數值檔案；整體物件佈局格網化 gridding、與物件緻密程度 16 與 8 位元互換等；本篇報告實作自有演算核心，執行物件格網化與分割的高度可信前處理，以便計算影像數據的真實藍色訊號達成後續的阿伊達自動影像數據分析〔16〕。採取高畫素固定進行高解析度 tiff 原始影像訊號強度的數位轉換。水平定位與大小顯示以自有軟體調整影像，視窗選取顯示通道指令，以分光通道將影像轉成紅 C、藍 M、黃 Y、黑 K 的灰階影像。其中，藍 M 代表實驗組訊號，紅 C 與黃 Y 與黑 K 雜訊值則藉此分離排除。藍 M 色訊號像素直接轉成灰階格式，以*.tif 檔案型式儲存。

3.數據分析：利於影像解析度的同級比較與統計分析，建立標準化校正曲線與半定量分析效能數據；依據實驗室技術平台品管採認重點的操作程序方面：針對氰化物安全速檢技術平台達成前述品管採認重點的的實驗室品管工作項目包括：[a]實驗室對照檢體（laboratory control sample, LCS）確認方法檢測極限(MDL)與回復百分率標準誤差(PRSD)，確證實驗室起始期技能，建立校正曲線的實驗空白物（laboratory blank, LB）與對照檢體(LCS) 分別稱為校正空白物（calibration blank, CB）與標準物（calibration standard, CAL）等，校正曲線範圍涵蓋最低劑量（minimum level, ML）的校正標準物群至少三個劑量；[b]基質摻入與基質摻入複作（MS/MSD）檢體組，各批檢體至少10 %選取摻入背景值濃度五倍內劑量的實驗室校正標準物（CAL），評估平均回復百分率（APR）與相對標準誤差（RSD）與相對百分率差異(RPD)；[c]標準參照材料（standard reference material, SRM）確證實驗室技術平台效能，使用外部參照檢體定期測試技術平台方法的各項效能指標〔11〕。

結果

氰化物標準溶液分析　本研究實施普魯士藍測試斑點形成法的氰化物中毒檢體安全速檢技術，使用硫酸將檢體的氰化物釋出，經由抽氣通過吸附高價鐵或二價鐵濾紙形成亞鐵氰化物斑點，濾紙浸泡鹽酸完全移除未有反應部份與完全呈顯濾紙藍色訊號，進行半定量分析。依照標準操作程序量取氰化物安全速檢 10 μg/mL 工作標準溶液 0.1、0.5、1、2.5 和 5 mL 進行校正標準物 5、10、25 與 50 μg 等 4 種劑量的回歸分析，藍色斑點影像掃瞄結果紅綠藍 RGB 光學三原色全彩 24 位元影像格式如圖 2 所示，不同劑量呈現相關比例藍色斑點訊號；圖 3 展示紅綠藍 RGB 全彩影像轉換紅藍黃黑 CMYK 印刷四色格式藍色 8 位元 300 dpi 負片，分析藍光訊號反白負片的平均灰階像素 8.05，10.14，17.18 與 40.22，標準物校正曲線的回歸係數 R^2 = 0.9727，檢測方法極限濃度 MDL 的初步數據為 5 μg 劑量，等同 250 μg/L 或 3.84 μM；後續數據顯示本法氰化物檢測的檢測方法極限濃度 MDL 為 3 μg，等同 150 μg/L 或 2.3 μM(數據未呈示)。

檢體分析 所收集的台灣蜆，狗內臟（肝臟、肺臟、脾臟和腎臟）、胃內容物和飼料，豬和土羊胃內容物等九種檢體的氰化物檢測，結果未見達檢出劑量的陽性結果。

討論

本報告實施普魯士藍測試斑點形成法 PBT-SFM 的氰化物中毒檢體安全速檢，符合氰化物鹽類或氫氰酸的重症中毒案例的血液氰化物離子濃度範圍 2~10 mg/L。本法於改良裝置系統（如圖 1）加入硫酸溶液短暫加熱 75 ℃釋出酸化檢體的氰化物，抽氣通過附著二價鐵濾紙反應生成亞鐵氰化物斑點，進行緻密度儀或簡易掃瞄器藍色訊號影像的自有

演算軟體數據分析，此項改良式速檢方法可檢測至 0.15 mg/L 或 2.3 μM 於 20 mL 體積，故其敏感度適用於多數氰化物中毒檢體速檢。本研究報告建置的自有改良暨其他類似技術平台，必須建立標準與摻入與參考等檢體的標準化操作程序，並符合技術平台確證採認相關的的效能規格，相關規範參考技術手冊如美國環保署技術方法文件 OIA-1677 與 335.2。類似的氰化物檢測方法大致包括微擴散法 MDM、微濾盤蒸餾法 MDDM 和氰試膜 Cyantesmo®長條試紙法。1.微擴散法 MDM 適用於檢測現場殘留物和胃內物，於微擴散槽 5 mL 反應體積實施短暫室溫反應，檢測方法極限濃度 MDL 為 10 mg/L 劑量〔5〕；2.微濾盤蒸餾法 MDDM 於特殊設計密閉管狀裝置實施 6.75 mL 反應體積的 30 分鐘高溫 120 ℃蒸餾，使用光度計量測或流液注射分析（flow injection analysis, FIA）儀器的安培電流量測，檢測方法極限濃度 MDL 可達 2 μg/L 劑量〔14〕；與 3.氰試膜；與 3.氰試膜 Cyantesmo®長條。

標準物劑量	(1) 5 μg	(2) 10 μg	(3) 25 μg	(4) 50 μg
原始溶液[CN^{-1}]	10 μg/mL	10 μg/mL	10 μg/mL	10 μg/mL
取用體積	0.5 mL	1.0 mL	2.5 mL	5.0 mL
反應體積	20.0 mL	20.0 mL	20.0 mL	20.0 mL
等同檢體濃度	250 μg/L	500 μg/L	1,250 μg/L	2,500 μg/L

紅綠藍 RGB
24-bit
300dpi
全彩圖像
Tiff 圖檔格式

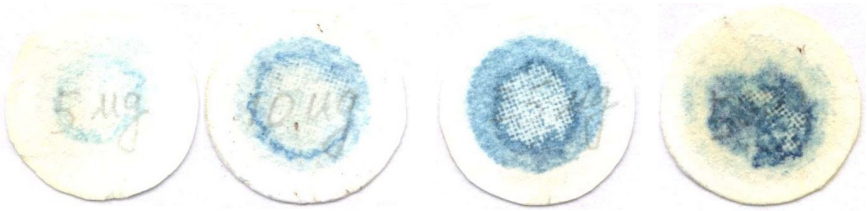
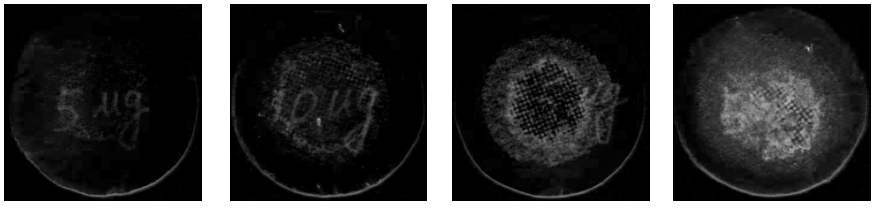


圖 2、氰化物中毒速檢應用的普魯士藍測試斑點形成法實測不同劑量標準物的影像數據。影像圖檔格式為紅綠藍 RGB 光學三原色全彩 24 位元。

(A)

標準物劑量	(1) 5 μg	(2) 10 μg	(3) 25 μg	(4) 50 μg

紅藍黃黑 CMYK
8-bit
300dpi
藍色訊號
負片圖像
Tiff 圖檔格式



平均訊號數值	8.05	10.14	17.18	40.22
標準誤差	12.68	16.36	24.21	38.18
中間值	3	2	4	30
影像區域	49952	49952	49952	49952

家畜衛試所研報No.42：11~20(2007)

(B)

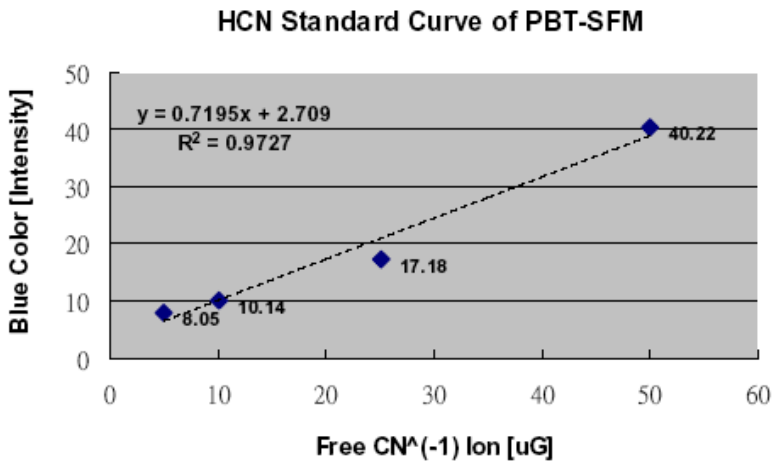


圖 3、氰化物中毒速檢應用的普魯士藍測試斑點形成法實測不同劑量標準物的(A)訊號數值與(B)校正曲線。影像圖檔格式為紅藍黃黑 CMYK 印刷四色格式藍色 8 位元 300 dpi 負片數位影像分析的訊號數值，回歸分析校正曲線呈現線性關係與相關係數。

Cyantesmo®長條試紙法於密閉試管實施約 0.5 mL 反應體積短暫室溫反應，使用比色紙分析試紙顏色深淺，檢測方法極限濃度 MDL 為 3 mg/L 劑量〔13〕。

本研究報告顯示普魯士藍測試斑點形成法足以安全有效速檢各種類型氰化物檢體，亦即，適用於各式氰化物的生成原因類型與檢測劑量範圍，包括體外來源含量與體內代謝分佈。1.體外來源含量方面，氰化物廣泛存在於空氣，飲水，與食料暨胃內物等，生成原因約略分為天然生成、人為污染與恐怖攻擊等；空氣來源案例常見煙癮者、火場罹難者與失效白金觸媒轉換器暨石化工業的空氣污染等；飲水來源案例常見廢水污染河川與飲用水，應特別注意地下水相較地表水的污染持續程度更為嚴重，氰化物廢水來源為漆鍍鋁鋼業等；食料暨胃內物來源案例常見天然植物與醫療藥物等。2.體內代謝分佈方面，動物食入體內代謝釋出氰化物引起的中毒案例不易察覺。動物氰化物中毒主要原因是攝食產氰配醣類和亞硝酸鹽組成物，如苦杏仁素等，存於核桃與杏仁核果、樹薯根部和青豆等植物組織內，甚者，硫氰酸鹽殺蟲劑(thiocyanate insecticides)【乙基硫氰酸鹽 (ethyl thiocyanate)，甲基硫氰酸鹽 (methyl thiocyanate)】體內代謝釋出嚴重毒性的氰化物離子。藥物用途硝基普魯士酸鈉鹽的血管擴張劑和亞硝酸鹽組成物，代謝釋出氰化物導致罕見中毒案例。無機硫氰酸鹽和鐵氰根 (ferricyanide) 和亞鐵氰化物 (ferrocyanide) 等鹽類的體內代謝未見釋出氰化物，故相較未具毒性。火災受難者血液出現氰化物，源自吸入燃燒羊毛、綢絲和合成的聚酯類如聚亞胺酯 (poly-urethanes) 和 poly-acrylonitriles 的氫氰化物；重度煙癮者血液氰化物濃度高達 0.3 mg/L。

本研究報告顯示普魯士藍測試斑點形成法是可行的安全速檢方法，後續開發實際應用仍須確效符合效能規格與實施操作程序。[1]符合實驗室技術平台品管採認重點的效能規格：符合品管採認重點 (QC acceptance criteria, QC AC) 效能規格的必要回復範圍 (% required recovery range, %RRR) 與準確度 (%P, precision: relative standard deviation, RSD; relative percent difference, RPD) 規格，意即，平均回復百分率 (average percent recovery,

APR) 與相對標準誤差 (RSD) 與相對百分率差異 (RPD)，[a]初始期準確度與回復範圍 92 ~ 122 % 與小於 5.1 % RSD；[b]營運期準確度與回復範圍 82~132 %與 N/A 的實驗室對照檢體；[c]校正確效範圍 86 ~ 118 %與 N/A；與[iv].基質摻入與基質摻入複作 (matrix spike and matrix spike duplicate, MS/MSD) 範圍 82 ~ 130 %與小於 11 % RPD〔11〕。[2]實施實驗室技術平台品管採認重點的操作程序：氰化物安全速檢技術平台達成前述品管採認重點的實驗室品管工作包括：[a]實驗室對照檢體 (laboratory control sample, LCS) 確認方法檢測極限 (MDL) 與回復百分率標準誤差 (PRSD)，確證實驗室起始期技能，建立校正曲線的實驗空白物 (laboratory blank, LB) 與對照檢體 (LCS)，專業名稱分別為校正空白物 (calibration blank, CB) 與標準物 (calibration standard, CAL)，校正曲線範圍必須涵蓋最低劑量 (minimum level, ML) 的校正群標準物至少三個劑量；[b]基質摻入與基質摻入複作 (MS/MSD) 檢體組，各批檢體至少 10 % 選取摻入背景值濃度五倍內劑量的實驗室校正標準物 (CAL)，評估平均回復百分率 (APR)與相對標準誤差 (RSD) 與相對百分率差異 (RPD)；[c]標準參照材料 (standard reference material, SRM) 確證實驗室技術平台效能，使用外部參照檢體定期測試技術平台方法的各項效能指標〔11〕。

參考文獻

1. Alcorta R. Smoke inhalation and acute cyanide poisoning: hydrogen cyanide poisoning proves increasingly common in smoke-inhalation victims. J. E. M. S. 29 (suppl): 6~15. 2004.
2. Bark LS and Higson HG. Detection of small amounts cyanide. Analyst 88: 751, 1963.
3. Eckstein M. Cyanide as a chemical terrorism weapon. J. E. M. S. 29 (suppl): 22~31, 2004.
4. Eisler R and Wiemeyer SN. Cyanide hazards to plants and animals from gold mining and related water issues. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 183: 21~54, 2004.
5. Flanagan RJ, Braithwaite RA, Brown SS, Widdop B and de Wolff FA. Basic analytical toxicology. World Health Organization 117~121, 1995.
6. Fortin JL, Ruttiman M, Domanski L and Kowalski JJ. Hydroxocobalamin: treatment for smoke inhalation-associated cyanide poisoning: meeting the needs of fire victims. J. E. M. S. 29 (suppl): 18~21, 2004.
7. Gettle AO and Goldbaum L. Detection of cyanide in forensic samples. Anal. Chem. 19: 270, 1947.
8. Gill JR, Marker E and Stajic M. Suicide by cyanide: 17 deaths. J. Forensic Sci. 49: 826~828, 2004.
9. Hubach CE. Detection of cyanide. Anal. Chem. 20: 1115, 1949.
10. Kaul S, Coin B, Hedayiti A, Yano J, Cercek B, Chyu KY and Shah PK. Synthesis of antioxidants in wheat sprouts. J. Agric. Food Chem. 52: 5201~5206, 2004.
11. Office of Water. Available cyanide by flow injection, ligand exchange, and amperometry (EPA-821-R-99-013). US-EPA Method OIA-1677: 1~23, 1999 August.
12. Riddle K. Hydrogen cyanide: fire smoke's silent killer. J. E. M. S. 29 (suppl): 5, 2004.
13. Rella J, Marcus S, Wagner BJ. Rapid Cyanide Detection Using the Cyantesmo® Kit. Clinical Toxicol. (6): 897-900, 2004 December.
14. Sebroski JR and Bogren KL. An NPDES Distillation Method for Measuring Total Cyanide in Water. American Laboratory 37(20): 20~23, 2005 October.
15. Stahr HM. Analytical methods in Toxicology. 15-19. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1991.

16. Tsai MY, Chang CF, Chu HT, Chan CH, Chang KJ, Kao CY, Chen CC. Microarray Images Pre-Analysis for Critical Gene Expression Computation with Implemented Algorithmic Kernel. Hwa Kang Journal of Agriculture 16: 43-50, 2005 December.
17. Way JL. Cyanide intosication and its mechanism of antagonism. Ann Rev Pharmacol. Toxicol. 24: 451-81, 1984.

Exp.Rep AHRI.,No.42：11~20(2007)

Prussian Blue Test- Spot Formation Method for Rapid Detection of Cyanide-Poisoned Specimens

W. H. Lin*[1], C. F. Chang[2], C.C. Chen[3], L. J. Weng[4], H.T. Sung[4], P. H. Chao[1]

[1] Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan
[2] Graduate Department of Animal Science, Chinese Culture University, Taipei
[3] Department of Computer Science, Tsing Hua University, Hsinchu
[4] Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taipei

Abstract This study aimed to establish rapid detection techniques for cyanide intoxication cases by using the prussian blue test, a spot formation method (PBT-SFM). In practice, cyanide-containing vapor was passed through ferrous filter paper via vacuum system to form ferriferrocyanide spots in situ after being released from specimen with sulfuric acid in an improved reaction chamber.. With subsequent de-coloring process by hydrochloride, visible blue spots were measured by digital image processing and calibration curve regression. Preliminary experimental result at 5, 10, 25, and 50 μg standard doses demonstrated that the minimal detection concentration of standard solution was 150 μg/L or 2.3 μM based on the calibration curve at regression coefficient of 0.9727. Practical detection on collected clinical specimens of stomach content and visceral organs showed negative results. The study established a semi-quantitative test that would not require sophisticated equipment or expensive reagents for rapid detecting cyanide in poisoned specimens by clinical laboratory.

Keywords: *Animal, Poisoning, Cyanide, Prussian blue test, Spot formation method*

*Corresponding Author
Animal Health Research Institute