

分液漏斗液相-液相萃取法

中華民國 101 年 9 月 26 日環署檢字第 1010087259 號公告

自中華民國 101 年 10 月 31 日生效

NIEA R106.02C

一、方法概要

本方法係將水溶液樣品以分液漏斗進行液相-液相萃取以分離待測物，通常將 1 L 的液體樣品，於特定的 pH 值（參見表一），用分液漏斗以二氯甲烷或其他溶劑連續萃取，將萃液濃縮（若有必要），或視需要置換成適當的溶劑，以利後續的淨化及分析使用（參見表一所述適當的置換溶劑）。

二、適用範圍

- （一）本方法敘述自水溶液樣品中，將有機物分離出來的步驟；本方法亦敘述適用於如氣相層析儀（GC）、氣相層析質譜儀（GC/MS）和高效能液相層析儀（HPLC）等特定檢測方法之萃液製備濃縮技術。
- （二）本方法適用於不溶於水及微溶於水的半揮發性及非揮發性有機物之分離及濃縮樣品製備，以供各種層析分析使用。

三、干擾

- （一）在鹼性萃取條件下，已有實例證明某些待測物會分解，有機氯農藥會脫氯、鄰苯二甲酸酯類會改變、酚類會反應生成單寧酸鹽，當 pH 值增加時，這些反應亦隨之增加；若本方法中反應時間縮短，這些反應隨之減少。
- （二）樣品如需分析揮發性有機物質，在運送和儲存過程中，揮發性有機物（尤其是氟氯碳化合物及氯甲烷）會經由樣品容器之墊片滲透而污染樣品，由不含有機物的試劑水所製備的野外空白，攜至採樣現場並與樣品相同之儲存及處理，可用以檢查是否有此種污染。
- （三）溶劑、試劑、玻璃器皿及其他樣品處理過程中所用之器皿，皆可能對樣品分析造成誤差及/或干擾。所有這些物質必須在設定的分析條件下，進行方法空白分析，證明其無干擾。視須要以全套玻璃系統內進行特定試劑及溶劑純化之蒸餾。
- （四）樣品中共萃取之干擾物隨來源之不同而異。若被萃取後的樣品，因干擾而無法分析，則樣品萃液須先進行淨化。

- (五) 鄰苯二甲酸酯易污染實驗室中許多常用的物品，特別是塑膠製品必須避免使用。因鄰苯二甲酸酯常被用做可塑劑，且極易自塑膠物質中被萃取出來，若不執行一系列的品質管制，則嚴重的鄰苯二甲酸酯污染隨時會發生。
- (六) 玻璃器皿之污染導致分析物裂解：肥皂殘留在玻璃器皿上可能會使某些待測物裂解。這些問題對較難清洗的玻璃器皿（如 500 mL K-D 瓶）特別明顯，故須非常小心的以人工清洗此類器皿，以避免此問題。

四、設備與材料

- (一) 分液漏斗：2 L，附鐵氟龍栓塞。
- (二) 乾燥管：20 mm 內徑之 Pyrex 玻璃層析管，底部填充 Pyrex 玻璃綿並附鐵氟龍栓塞。（註 1）
- (三) 濃縮裝置
- 1、K-D (Kuderna-Danish) 裝置
- (1) 濃縮管：10 mL，有刻度 (Kontes K-570050-1025 或同級品)，具磨砂口玻璃瓶蓋，以防止萃液蒸發。
- (2) 蒸發瓶：500 mL (Kontes K-570001-500 或同級品)，與濃縮管連接處，以彈簧、夾子或同級品夾緊。
- (3) 史耐得管 (Snyder column)：大型三球 (Kontes K-503000-0121 或同級品)。
- (4) 史耐得管：小型二球 (Kontes K-569001-019 或同級品)。
- (5) 彈簧：1/2 吋 (Kontes K-662750 或同級品)。
- 2、減壓濃縮裝置 (Rotary Evaporator)。
- (四) 沸石：以溶劑萃取清洗過，約 10 至 40 mesh (碳化矽或同級品)。
- (五) 水浴：附環狀同心圓蓋子，能控溫準確至 $\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。在排煙櫃中使用。
- (六) 樣品瓶 (Vials)：2 mL，玻璃瓶附鐵氟龍內襯之螺旋蓋或夾壓式密封蓋。
- (七) pH 試紙：pH 範圍須包括所需之萃取 pH 範圍。
- (八) 錐形瓶：250 mL。

- (九) 注射針：5 mL。
- (十) 量筒：1 L。
- (十一) 溶劑廢氣回收系統：(Kontes K-545000-1006 或 K-547300-0000, Ace Glass 6614-30 或同級品)。

五、試劑

- (一) 所有檢測時使用的試劑須為試藥級或依方法規定使用。
- (二) 不含有機物試劑水：是指試劑水中干擾物之濃度低於方法中待測物之偵測極限。
- (三) 氫氧化鈉溶液 (10 N)：先以少量不含有機物的試劑水溶解 40 g 氫氧化鈉後定容至 100 mL。其他濃度之氫氧化鈉溶液亦可被用來調整樣品 pH 值，所添加體積須小於樣品總體積之 1%。
- (四) 無水硫酸鈉 (粒狀)：置於淺盤中於 400°C 加熱 4 小時；或以二氯甲烷預洗硫酸鈉純化之，若以二氯甲烷預洗法純化硫酸鈉，則須進行方法空白測試，證明硫酸鈉中無干擾的存在。
- (五) 硫酸溶液 (1:1 v/v)：緩慢加入 50 mL 硫酸 (比重 1.84) 於 50 mL 不含有機物之試劑水中。其他濃度之硫酸溶液亦可被用來調整樣品 pH 值，所添加體積須小於樣品總體積之 1%。
- (六) 萃取/置換溶劑
 - 1、二氯甲烷， CH_2Cl_2 ：殘量級或同級品。
 - 2、正己烷， C_6H_{14} ：殘量級或同級品。
 - 3、2-丙醇， $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$ ：殘量級或同級品。
 - 4、環己烷， C_6H_{12} ：殘量級或同級品。
 - 5、乙腈， CH_3CN ：殘量級或同級品。

六、採樣與保存

參考各相關檢測方法。

七、步驟

- (一) 以 1 L 有刻度的量筒，量取 1 L 或適當體積的樣品，將其完全倒入分液漏斗中；若估計樣品濃度高時，則取較少體積的樣品，以不含有機物的試劑水，稀釋至 1 L。依樣品特性及各分析方法，選擇適當的擬似標準品及基質樣品添加標準品，以移液管加

入 1.0 mL 擬似標準品於所有樣品、添加樣品及空白樣品中。於每批樣品中所選定的添加分析樣品中，以移液管加入 1.0 mL 基質樣品添加標準品。對鹼/中性-酸的分析，在待測萃液中加入擬似標準品及基質樣品添加標準品的量，須使標準品中每一鹼/中性待測物的最終濃度為 100 ng/μL，每一酸性待測物的最終濃度為 200 ng/μL（假設注入量為 1 μL）。若應用膠滲透層析淨化方法，則擬似標準品及基質樣品添加標準品的加入體積須加倍，因於裝填膠滲透層析管時，有一半的萃液會逸失。

- (二) 使用廣範圍的 pH 試紙測試樣品之 pH 值，若有必要，調整 pH 值至如表一中所列，適用於分析萃液之檢測方法所須者。（註 2）
- (三) 加入 60 mL 二氯甲烷或其他溶劑至分液漏斗中，適當進行排氣以洩壓。
- (四) 蓋緊並劇烈搖晃分液漏斗 1 至 2 分鐘，並不時排氣以釋出漏斗內過高的壓力。（註 3）
- (五) 靜置，待有機層與水層分開至少 10 分鐘。若二層之間的乳狀物介面層的體積，超過溶劑層的 1/3，則分析人員須使用物理方法進行相的分離，視樣品情況，選用適當的方法，如攪拌、將乳狀物以玻璃綿過濾、離心或其他方法。收集萃液於錐形瓶中。若乳狀物無法破壞，則將樣品、溶劑及乳狀物一同倒入連續萃取裝置之萃取腔中，依連續式液相-液相萃取方法進行萃取。
- (六) 每次重新加入新鮮溶劑，再重複萃取二次（七、（三）節至七、（五）節），將三次之萃液合併在一起。
- (七) 若須再行調整 pH 及萃取步驟，則調整水層之 pH 如表一所示，再依七、（三）至七、（五）節步驟，每次以 60 mL 二氯甲烷或其他溶劑連續萃取三次，收集並合併萃液，適當標示之。
- (八) 若進行氣相層析質譜儀分析或氣相層析質譜儀分析，則於濃縮前須將酸/中性和鹼性萃液合併；但在某些情況，將酸/中性和鹼性萃液分開濃縮和分析可能較合適（如為法規管制目的，必須檢測某些低濃度之特定酸/中性或鹼性化合物的存在與否，分開分析萃液，較有保證）。
- (九) 若有須要進行濃縮步驟，使用 K-D 濃縮步驟（七、（十）1 節至七、（十）4 節）或減壓濃縮步驟（七、（十一）節）。
- (十) K-D 濃縮步驟

- 1、組裝 K-D 濃縮裝置，將一 10 mL 濃縮管接到 500 mL 蒸發瓶上，將萃液通過一 10 cm 長，內含無水硫酸鈉之乾燥管，收集乾燥之萃液於 K-D 濃縮裝置內，以 20 至 30 mL 二氯甲烷或其他溶劑清洗內含萃液之錐形瓶，將洗液一併倒入乾燥管，而完整收集萃液。
- 2、於蒸發瓶內加入 1 至 2 粒乾淨沸石，接上大型三球史耐得管，由史耐得管頂端加入約 1 mL 之二氯甲烷或其他溶劑，使其濕潤。將 K-D 濃縮裝置放入熱水浴中（高於溶劑沸點 15 至 20°C），使濃縮管有部份浸在熱水中，蒸發瓶之整個下部圓球面則浴在熱蒸氣中。調整濃縮裝置之所需縱向高度位置及水溫，使濃縮過程在 10 至 20 分鐘內完成。適當的蒸餾速度將使史耐得管內的玻璃球不停的振動，但整個管腔中不應充滿冷凝的溶劑。觀看溶液達 1 mL 時，將 K-D 濃縮裝置移離水浴，使其乾燥並冷卻至少 10 分鐘。
- 3、若需置換溶劑（如表一所示），立即移開史耐得管，加入 50 mL 置換溶劑，及新的沸石，再接上史耐得管，依七、（十二）節步驟進行濃縮，若有需要，可提高水浴溫度，以保持適當的濃縮速度。
- 4、移開史耐得管，以 1 至 2 mL 之二氯甲烷或置換溶劑淋洗蒸發瓶及下部連接處，將洗液併入濃縮管中。若有硫結晶的問題，則依去硫淨化方法進行淨化。萃液可依七、（十二）節所列步驟再行濃縮，或以最後所用的溶劑定容至 10.0 mL。

（十一）減壓濃縮步驟

須視待測物的性質，設定適當的溫度與壓力於此裝置。

- （十二）如表一，若須再行濃縮步驟，則使用小型二球史耐得管濃縮技術（七、（十二）1 節）或氮氣吹除技術（七、（十二）2 節），將萃液定容至最終所須體積。

1、小型二球史耐得管濃縮技術

另外加入乾淨的沸石於濃縮管中，並接上小型二球史耐得管，由史耐得管頂端加入 0.5 mL 二氯甲烷或置換溶劑，使其濕潤。將 K-D 濃縮裝置放入熱水浴中，使濃縮管有部份浸在熱水中，調整濃縮裝置之所需縱向高度位置及水溫，使濃縮過程在 5 至 10 分鐘內完成。適當的蒸餾速度將使史耐得管內的玻璃球不停的振動，但整個管腔中不應充滿冷凝的

溶劑。觀看溶液至 0.5 mL 時，將 K-D 濃縮裝置移離水浴，使其乾燥並冷卻至少 10 分鐘。移開史耐得管，以 0.2 mL 之萃取溶劑淋洗蒸發瓶及下部連接處，將洗液併入濃縮管中。以溶劑調整最終體積至 1.0 至 2.0 mL，如表一所示。

2、氮氣吹除技術

(1)將濃縮管放在一溫水浴中（約 35°C），以一和緩流量之乾淨且乾燥的氮氣（通過活性碳過濾管），使溶劑蒸發至 0.5 mL。（註 4）

(2)在操作過程中，濃縮管內壁必須以二氯甲烷或適當溶劑淋洗數次。在蒸發過程中，濃縮管中溶劑液面位置必須適當，以防止冷凝的水掉入樣品中。在正常操作條件下，萃液不應完全被蒸乾。（註 5）

(十三) 萃液可依適當的檢測方法進行目標待測物的分析（參考如氣相層析儀、氣相層析質譜儀和高效能液相層析儀等特定檢測方法）。若萃液不立即進行分析，則將濃縮管蓋緊並冷藏保存；若萃液將保存 2 天以上，則須自濃縮管中轉置到具鐵氟龍內襯，具螺旋瓶蓋或夾壓式密封蓋之樣品瓶中，並標示清楚。

八、結果處理

略。

九、品質管制

(一) 所有試劑空白或基質添加樣品，須進行與真實樣品相同的處理及分析步驟。

(二) 當檢測方法中使用擬似標準品時，擬似標準品必須加入所有樣品中。

(三) 每批樣品（至多 20 個樣品）分析時，必須執行一個試劑空白，一個基質添加樣品，和一個重複或基質添加樣品重複分析。

(四) 進行氣相層析儀/氣相層析質譜儀之分析時，必須執行品管(QC)查核樣品分析來確認分析系統的功能，須依各檢測方法中品管查核樣品之步驟製備濃縮液。

十、精密度與準確度

略。

十一、參考資料

- (一) U.S. EPA, Separatory Funnel Liquid-Liquid Extraction, Test Methods for Evaluating Solid Waste. Method 3510C, 1996.
- (二) U.S. EPA, 40 CFR Part 136, "Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants Under the Clean Water Act; Final Rule and Interim Final Rule and Proposed Rule." 1984.
- (三) U.S. EPA, Test Methods for Evaluating Solid Waste, Sec. 4.3 of Chapter Four Organic Analytes, Sept. 1994.
- (四) U.S. EPA. Organic Extraction and Sample Preparation, Test Methods for Evaluating Solid Waste. Method 3500C, 2007.
- (五) U.S. EPA, Continuous Liquid-Liquid Extraction, Test Methods for Evaluating Solid Waste, Method 3520C, 1996.
- (六) U.S. EPA, Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) :Capillary Column Technique. Test Methods for Evaluating Solid Waste. Method 8270D, 2007.
- (七) U.S. EPA, Test Methods for Evaluating Solid Waste, Chapter One Quality Control. 1992.
- (八) U.S. EPA, Test Methods for Evaluating Solid Waste. Sec. 4.1 of Chapter Four Organic Analytes, 2007.
- (九) U.S. EPA, Gel Permeation Cleanup, Test Methods for Evaluating Solid Waste. Method 3640A, 1994.
- (十) U.S. EPA, Sulfur Cleanup, Test Methods for Evaluating Solid Waste. Method 3660B, 1996.
- (十一) 行政院環境保護署，事業廢棄物檢測方法總則 NIEA R101.02C，中華民國 92 年。

註 1：多孔性玻璃濾片於過濾高污染之萃液後，很難將污染物清除乾淨。可購買不含多孔性玻璃濾片的層析管，使用一小撮 Pyrex 玻璃綿團填充在底部，留滯填充劑。以吸附劑填充乾燥管之前，須先清洗裝填用之玻璃綿團，先以 50 mL 丙酮清洗後，再用 50 mL 沖提溶劑清洗。

註 2：調整 pH 值時可使用 1:1 (v/v) 硫酸、10 N 氫氧化鈉或較低濃度之溶液，但添加之體積不可超過樣品總體積的 1%。

註 3：二氯甲烷會很快產生過高的壓力，因此當分液漏斗蓋緊後搖晃一次，即須立即排氣，分液漏斗排氣須在排煙櫃中進行，以避免分析人員暴露在溶劑蒸氣中。

註 4：於活性碳過濾管與樣品間切勿使用新的塑膠連接管，因其可能導入干擾物。

註 5：當溶劑體積少於 1 mL 時，半揮發性待測物可能會逸失。

表一 各種檢測方法之特定萃取條件

檢驗方法	最初萃取 pH	第二次萃取 pH	分析需用之 置換溶劑	淨化所需之 置換溶劑	淨化所需之萃 取液體積 (mL)	進行分析最終之萃 液體積 (mL) ^a
酚類	≤2	無	2-丙醇	正己烷	1.0	1.0,0.5 ^b
鄰苯二甲酸酯類：毛細管柱	5-7	無	正己烷	正己烷	2.0	10.0
亞硝胺類	與收樣時同	無	甲醇	二氯甲烷	2.0	10.0
有機氯農藥	5-9	無	正己烷	正己烷	10.0	10.0
多氯聯苯	5-9	無	正己烷	正己烷	10.0	10.0
硝基芳香族及環酮類	5-9	無	正己烷	正己烷	2.0	1.0
多環芳香族碳氫化合物	與收樣時同	無	無	環己烷	2.0	1.0
氯化醚類	與收樣時同	無	正己烷	正己烷	2.0	10.0
氯化碳氫化合物：毛細管柱	與收樣時同	無	正己烷	正己烷	2.0	1.0
有機磷農藥：毛細管柱	與收樣時同	無	正己烷	正己烷	10.0	10.0
半揮發性有機物 (GC/MS)：毛細管柱 ^{c,d}	<2	>11	無	-	-	1.0
多環芳香族碳氫化合物 (HPLC)	與收樣時同	無	乙腈	-	-	1.0
溶劑萃取非揮發性化合物	與收樣時同	無	甲醇	-	-	1.0
溶劑萃取非揮發性化合物 (HPLC)	7.0	無	甲醇	-	-	1.0
半揮發性有機物 (GC/FTIR)：毛細管柱	與收樣時同	無	二氯甲烷	二氯甲烷	10.0	0.0 (dry)

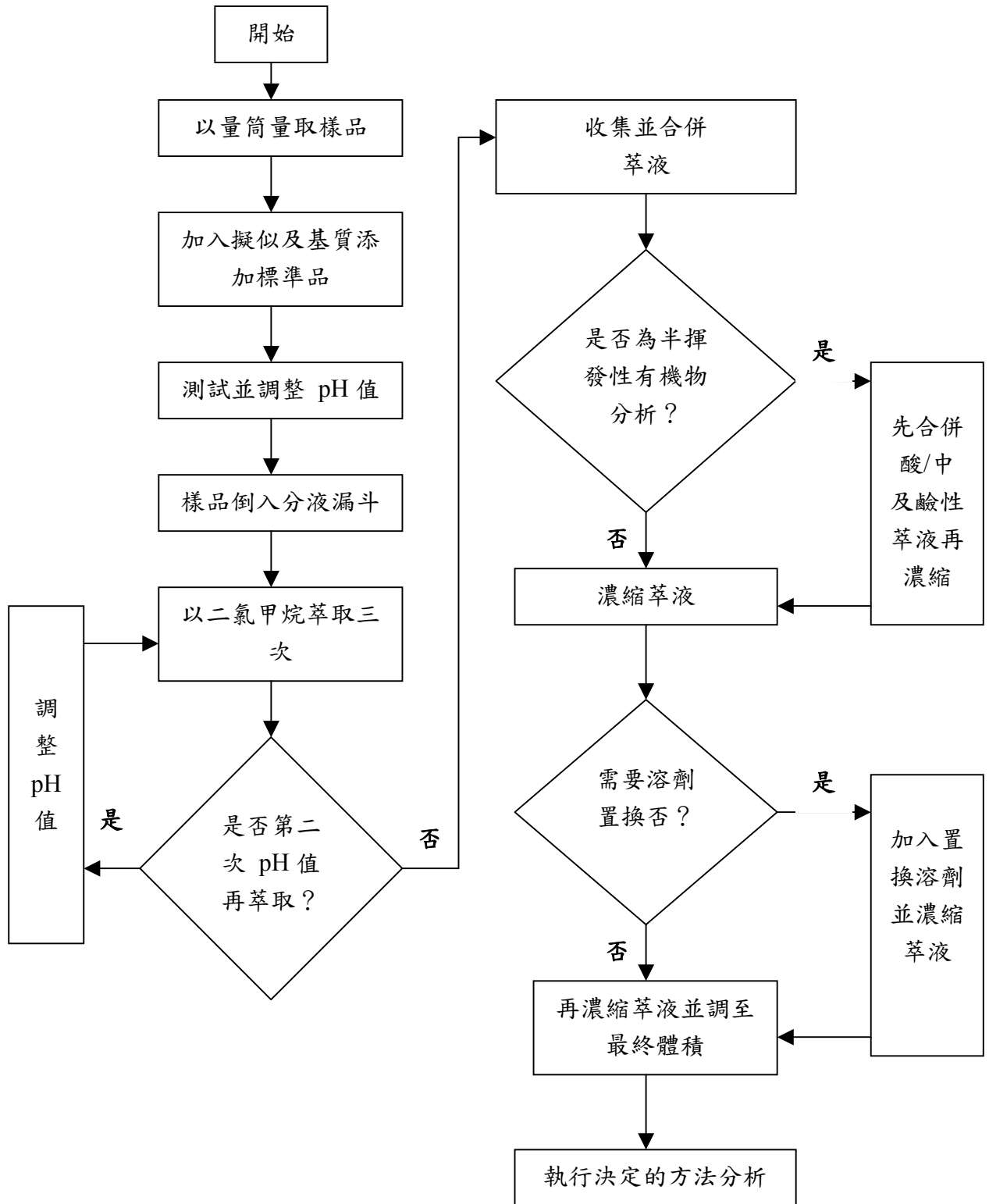
^a 方法中建議最終萃液體積為 10.0 mL，但為達到更佳的偵測極限其體積可濃縮至約 1.0 mL。

^b 以 GC/FID 分析酚類可以 1.0 mL 2-丙醇萃取，也可以將酚類經適當的衍生化最後以 0.5 mL 正己烷萃出再執行 GC/ECD 分析。

^c 以 GC/MS 分析並未明確規範萃液無需淨化，如需要可依照方法執行淨化。

^d 萃取時調 pH 次序可對調以達到酸、鹼雜質較佳的分離效果，過度調整 pH 可能造成部分成分流失。

附錄



分液漏斗液相-液相萃取法流程圖