

# 綠色化學-液液微萃取檢測水中苯甲酸

賴昱劭/正修科技大學環境毒物與新興污染物研究中心

## 摘要

綠色化學為一新興化學，主要目的為降低成本、提高效率、充分使用能源且過程中不會產生有害物質，將對環境的影響降到最低。將綠色化學應用在化學分析上，則需要達到在降低成本及溶劑量的同時依舊能準確檢測出所需要的標的物，本文將提供一種低污染低成本檢測方法利用液液微萃取技術及高效液相層析串聯質譜儀來檢測水中苯甲酸。

**關鍵詞：**環境；食品；人體；水體；苯甲酸；液液微萃取；  
高效液相層析串聯質譜儀

## 1. 前言

由於苯甲酸對微生物有較強烈的毒性，所以該物質常常被拿來添加於食品中作為防腐劑。苯甲酸在人體中會與甘氨酸結合形成馬尿酸，如圖一，而馬尿酸會隨著尿液排出，所以苯甲酸對人體並無強烈的毒性。但若食用高劑量的苯甲酸時還是會引起腹瀉、腹痛和心悸等症狀，因此政府機關對苯甲酸有訂定適用範圍及添加量。馬尿酸易被水解成苯甲酸及甘氨酸，如圖二，因此我們可以監測水體或尿液中是否有高濃度之馬尿酸或苯甲酸來判斷是否食用過量的苯甲酸防腐劑。

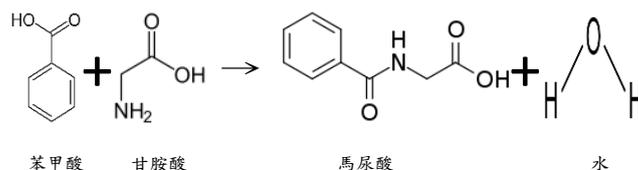
綠色化學為一新興化學，主要目的為降低成本、提高效率、充分使用能源且過程中不會產生有害物質，將對環境的影響降到最低。應用在分析檢測上，則需要減少樣品及溶劑的使用量，避免使用大量耗材及有毒有機溶劑，降低前處理過程中能源的消耗。

一般會使用稀釋法、直接注入法或固相萃取方式進行苯甲酸之檢測 但其前兩者其偵測極限為 ppm 等級，而後者使用之成本較高 因此想利用液液萃取方式將低成本又能達到濃縮之目的。

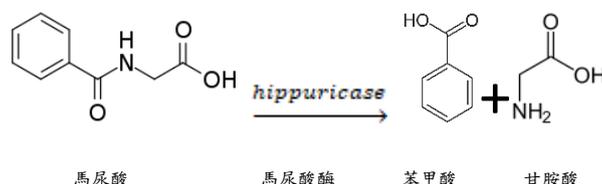
開發初期研究人員以液液萃取方式為目標進行測試，目的在於想降低成本較高的前處理程序以及提高前處理過程待測物濃縮倍數；其步驟將 250 毫升的水樣調整 pH 值後加 200 毫升的三氯甲烷萃取，重複三次萃取步驟，將三次的萃取液共 600 毫升減壓濃縮後再注入機台分析。

由於苯甲酸於機台的感度沒有非常好所以必須 使用大量的檢體進行濃縮，好提高濃縮倍數，結果導致需要消耗大量的檢體、使用大量有毒有機溶劑及適用的設備器具。

因此我們發展出一套液液微萃取方法來檢測水中苯甲酸，在準確分析定量苯甲酸的同時也能改善上述的缺點。



圖一 苯甲酸代謝途徑



圖二 馬尿酸水解途徑

表一 苯甲酸

名稱	簡稱	CAS	M.W	結構式
Benzoic acid	BA	65-85-0	122.12	

## 2. 方法

### a) 試劑及標準品

苯甲酸採購自 Sigma、ALFA、PS、CIL 公司的標準品(表一)。試劑水應不含待測物的去離子水，其電阻應接近 18MΩ-cm。殘量級甲醇(CH<sub>3</sub>OH)。乙醚需 HPLC 級、LC/MS 級或更高純度。氯化鈉: GR 級或更高純度。

### b) 檢量線製備

稱取 10 mg 苯甲酸標準品於 10 mL 定量瓶中，以甲醇定容至刻線，即為 1000 ppm 苯甲酸標準溶液；吸取苯甲酸標準溶液(1000 ppm) 0.1 mL 於 10 mL 定量瓶中，以甲醇定容至刻線，即為 10 ppm 苯甲酸標準溶液；臨用時以去離子水為基質配置成檢量線，範圍為 10~100 ppb。

### c) 前處理

將樣品調整 pH 至 6~7。取 10 mL 檢體至離心管後加入 4 g 氯化鈉混合均勻，加入 1 mL 的乙醚進行萃取，混合均勻後立即超音波震盪 30 分鐘，靜置後取萃取液至試管中，吹氮濃縮至乾，加入 0.1 mL 乙醇回容，注入高效液相層析串聯式質譜儀分析。流程見附件一。

### d) 層析條件

分析管柱為 Agilent Eclipse Plus-C18(100 × 4.6 mm，粒徑 3.5 μm)，管柱溫控設定 25°C，流動相 A: 去離子水、流動相 B: 甲醇。注入量: 20μL。0-2 分鐘 75% A 到 35% A；2-5 分鐘 35% A 到 20% A；維持 20% A 5 分鐘；10-12 分鐘 20% A 到 75% A；維持 75% A 8 分鐘。流速 0.35 mL/min。

### e) 離子源及質譜條件

採用負離子電灑游離法模式(ESI<sup>-</sup>)，Source 溫度為 250°C，使用多重反應監測模式(Multiple Reaction Monitoring mode, MRM)；苯甲酸的母離

子為 121.1 m/z，子離子為 77 m/z。

### 3. 測試及討論

研究初期我們將檢體量及有機溶劑的使用量都減少使用，只使用 10 mL 的檢體並在調整 pH 值至 6-7 後用 1 mL 的三氯甲烷進行萃取，靜置後取 1 mL 的萃取液吹氮濃縮至乾，用少量乙醇回溶，再用去離子水定容至 1 mL。上述方法大致可行，回收率的表現也相當良好，但似乎在使用毒性化學溶劑作為萃取液這部分會跟綠色化學的精神有所衝突。

因此我們找了其他有機溶劑來取代三氯甲烷，最後選定了乙醚來作為本次研究的萃取溶劑。

但在實驗過程中發現乙醚會微溶於水中，如果想將溶劑的使用量降低可能會造成萃取液溶入水樣中無法分層，而提高溶劑的使用量又會造成溶劑的浪費。

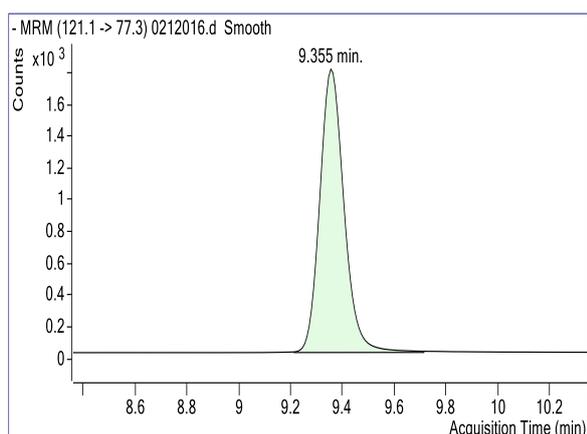
為了解決互溶的問題，我們在水樣中加入 4 g 的氯化鈉，使得水樣過飽和，降低乙醚在水中的溶解度。

待萃取完成後將乙醚萃取液以氮氣吹乾並用 0.1 mL 乙醇回溶，不再定容至 1 mL 以提高濃縮倍數，高速離心後取上清液上機。

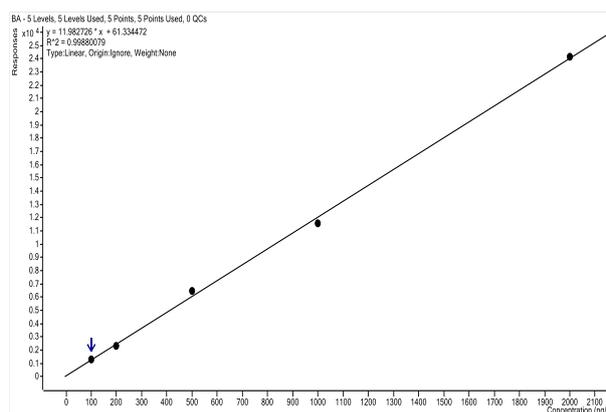
### 4. 結果

經機台分析結果顯示此檢測方法在濃度 0.1 ~ 2.0 mg/L 之間有著良好的線性關係，其  $R^2$  大於 0.995，如圖三。層析圖中沒有其他干擾影響定量，且峰型正常，出峰時間為 9.3 分鐘，如圖四。

液液微萃取前處理測試結果顯示，此方法的回收率在 78 ~ 119 % 之間。



圖三 苯甲酸標準曲線



圖四 苯甲酸層析圖及其特徵離子

### 5. 結論

傳統的前處理作法不外乎為固相萃取及液液萃取，兩者各有其優點，但其共同的缺點為皆會產生大量的廢棄物，前者會有廢棄的固相萃管柱需處理，後者則是需要使用大量的有機溶劑，花費較多成本也造成大量的廢棄物。

因此本文提供一種較環保的前處理步驟，利用液液微萃取技術將水樣萃取濃

縮後搭配高效液相層析串聯質譜儀進行分析。此方法不僅使用的溶劑非常少，也沒有使任何毒性化學物質。

此方法成功的檢測出水中的苯甲酸含量，且其方法的偵測極限為 1 µg/L。雖然液液微萃取技術在建立初期需要花費相當多的時間去尋找適合的萃取溶劑及萃取方法，不過一旦建立好方法後其後續的效益則會比傳統方法高出許多，無論是對環境來說或是經濟成本上的考量，此方法都會比較佔有優勢，因此此方法在未來是非常值得去投資和研究的方向。

## 6. 參考文獻

食品添加物規格檢驗方法-苯甲酸，108 年 1 月 29 日衛授食字第 1081900116 號公告修正。

食品中防腐劑之檢驗方法，MOHWA0020.03，108 年 1 月 30 日衛授食字第 1081900155 號公告修正。

超音波輔助分散液液微萃取-高效液相層析測定水樣中的 4 種鄰苯二甲酸酯類增塑劑，馬燕玲，2013 年。

水中 13 種磺胺類抗生素的超音波輔助分散液液微萃取/超高效液相層析-串聯質譜測定方法，李曉晶，2016 年。

超音波輔助離子液体一分散液液微萃取—高效液相層析測定環境水樣中苯胺 (AN)、對氟苯胺 (4-FA)、對硝基苯胺 (4-NA)、對氯苯胺 (4-CA) 四種苯胺化合物的方法，馬瑩，2016 年。

審稿者：林淑芬 組長/正修科技大學環境毒物與新興污染物研究中心

附件一 實驗流程圖

