

以氣相層析法檢測香茅油中 香茅醛含量之探討

賴韋學／標準局臺南分局技佐

錢鋒銘／標準局臺南分局技正

一、前言

(一)香茅油

香茅油為香茅草中萃取出來，具特殊氣味的物質，這些成分主要是由異戊間二烯（Isoprene）為構成單元所組成之萜類（Terpenoids），主成分為香茅醛（Citronellal）、香葉醇（Geraniol）和香茅醇（Citronellol），其特性清新、具強烈檸檬香味、不刺鼻。

(二)香茅醛

中文名稱：香茅醛。別名：玫瑰醛。分子量：154.25。英文名稱：Citronellal。分子式： $C_{10}H_{18}O$ 。密度：0.8510（20 °C, d）；0.8567（25 °C, l）。沸點（°C）：203.5（d）；205~208（l）。閃點（°C）：77（d）；77（l）。性質：無環單萜醛，無色透明液體，具有花椒香味，易溶於乙醇；乙醚；氯仿，微溶於水。有光學異構體。

(三)香茅油國內外相關標準

香茅油原料（香茅草）會因之產地、氣候、品種、部位等因素，所含成分比例有所不同。本試驗參採精油國家標準有 CNS 6469「爪哇香茅油」（100年版）[1] 及 CNS 8133「斯里蘭卡香茅油」（100年版）[2]等。

(四)香茅油國內外相關檢測方法

香茅油中香茅醛含量之檢測在國內外檢測方法上目前有兩種方式，第一種方

法為傳統滴定法（羥胺法），其原理為利用醛類於與羥胺試劑反應，生成醛肟（aldoxime），以求出試樣內所含醛類化合物之總量。

第二種方法是利用氣相層析儀配合火焰離子偵測器（GC-FID）求得層析特性成分分布，所得之層析圖可以用來檢驗香茅醛含量，檢測快速、可直接進樣不需稀釋。CNS 6469 及 CNS 8133 係引用 CNS 14943「精油-層析特性成分分布通則-第 1 部：標準中層析特性成分分布之建立」[3]及 CNS 14944「精油-層析特性成分分布通則-第 2 部：標準中層析特性成分分布之應用」[4]；另國外檢測方法有 SN/T 1510-2005「出口天然香茅油中香茅醛和含氧化合物含量的測定氣相色譜法」[5]。

二、實驗

(一)實驗流程

本次試驗以氣相層析法對香茅醛進行試驗，以判定香茅油品質，並深究探討氣相層析法對香茅醛分析最適條件，實驗流程簡圖（圖 1）。

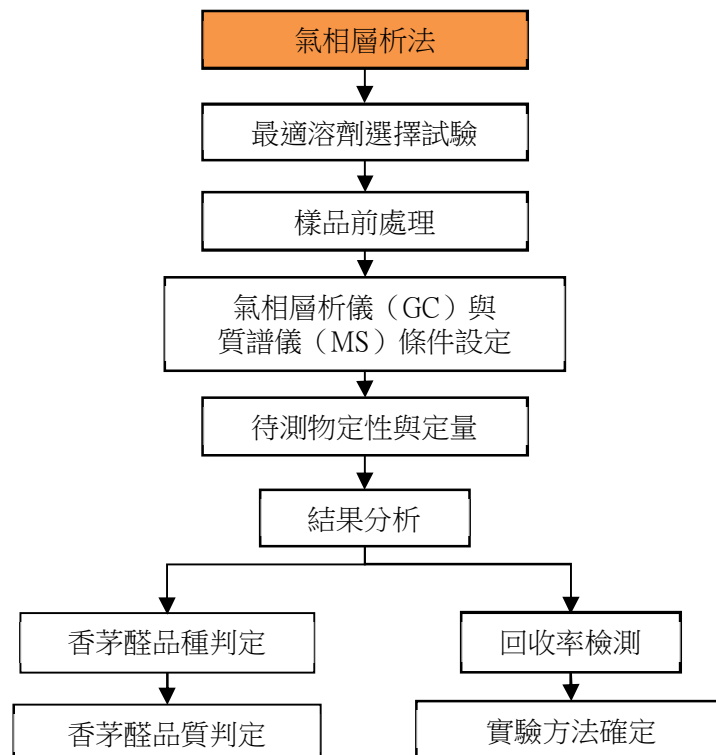


圖 1 實驗流程簡圖

(二) 樣品來源

本次選擇香茅油為研究標的，進行市場購樣挑選具代表性樣品，共計 4 件（編號 A~D），分析香茅醛含量以鑑定其品質優劣，如表 2 所示。

表 2 市購樣品編號及購樣資料表

項次 編號	成分標示	產地	容量
樣品 A	天然香茅油，萃取香茅根、莖部	台灣	100 ml
樣品 B	天然香茅草提煉	台灣	100 ml
樣品 C	天然香茅油、合成碳氫溶劑油	台灣	100 ml
樣品 D	天然香茅植物萃取液、高級潤膚油	台灣	100 ml

(三) 氣相層析法

1. 最適樣品溶劑試驗

香茅醛本身具有親水基（羥基）及疏水基（碳鏈），對於大部分溶劑相容性佳，在使用溶劑上無太大限制，但因樣品內含物成分複雜基質干擾多，在使用溶劑上有一定限制。溶劑選用有兩大注意要件，其一為探討樣品與溶劑之互溶性，若呈現混濁、液滴或分離等不互溶狀態，表此溶劑不適用，樣品於此溶劑下進行氣相層析法時，注射針在樣品瓶中取樣時，僅取到少量樣品且取到多量溶劑，造成待測物訊號峰非常低又或者無訊號，致無法定性亦無法定量，又或者取到多量樣品且取到少量溶劑，定性分析不會出現問題，然而在定量分析所測得之待測物含量會低於原始樣品中含量，致誤判含量結果。另一為樣品與溶劑互溶性佳，但進行氣相層析儀分析後，所呈現之氣相層析圖譜中溶劑峰與待測物峰發生峰重疊之現象，致無法準確定量，表此溶劑不適用。

本試驗欲以 4 種不同極性溶劑（正己烷、乙酸乙酯、丙酮及甲醇），先以 10:1 之比例混合樣品進行試驗挑選出互溶性佳的溶劑，再藉由氣相層析法來確定所挑選出來互溶性佳的溶劑，其溶劑峰不與待測物峰發生峰重疊，以決定試驗最適溶劑。

2.最適層析管柱選用試驗

參考國內外試驗方法之氣相層析圖譜得知，使用非極性管柱進行氣相層析時，香茅醛峰與異洋薄荷醇 (Isopulegol) 峰會產生層析峰重疊現象；使用極性管柱進行氣相層析時，得香茅醛單一層析峰。因此本次實驗將嘗試兩種不同極性管柱進行試驗以確定最適管柱，來進行香茅醛待測物之定性與定量。

3.氣相層析儀 (GC) 之設定

參考國外標準 SN/T 1510-2005、中華民國國家標準 CNS 6469 及 CNS 8133 等三種方法所建議之參數設定，包含調整 GC 之參數設定，如表 3 所示。

表 3 各種方法設定比較一覽表

方法 項次	SN/T 1510- 2005	CNS 6469		CNS 8133	
Injection mode	Splitless (100:1)	Splitless (40:1)	Splitless (40:1)	--	--
Injector Temp. (°C)	220	250	250	250	250
Column oven	80 °C (2min) 以 8 °C/min 到 220 °C	80 °C (2min) 以 4 °C/min 到 220 °C	80 °C (2min) 以 4 °C/min 到 220 °C	70 °C (10min) 以 2 °C/min 到 220 °C	50 °C (1min) 以 10 °C/min 到 200 °C
Column	DB-5ms 同級品	DB-1ms	DB-Wax	DB-1ms	DB-Wax
Detector	FID	FID	FID	FID	FID

4.質譜儀 (MSD) 之設定

利用全掃描模式 (Full scan) 所得之氣相層析圖譜，決定各層析峰之滯留時間，並由總離子層析圖 (TIC) 所得各分析物之離子碎斷片資訊，進行選擇離子監測模式 (SIM) 設定，如表 4。

表 4 選擇離子模式 (SIM) 之質譜儀參數設定一覽表

層析管柱	分析物	滯留時間 (R.T.min)	相對分子量	特徵離子 (m/z)	
				定性離子	定量離子
DB-5ms	香茅醛	13.54	154	69 (61.7) ; 95 (51.8) ; 121 (29.8)	41
DB-Wax		16.37	154	69 (62.6) ; 95 (42.5) ; 12 (18.2)	41

5. 試驗液調製

樣品分別以適量乙酸乙酯 (供非極性層析管柱分析) 及丙酮 (供極性層析管柱分析) 進行稀釋與調製, 以 0.45 μm PTFE 濾膜過濾待上機檢測。

6. 添加回收率試驗

添加適量濃度標準品於相對基質干擾少之樣品中, 進行添加回收率試驗, 並確認回收率在 90~110 % [6]。

7. 計算

$$\text{香茅醛 (ppm), } S1 = \frac{C \times V \times D \times P}{W} \quad \text{香茅醛 (\%), } S2 = \frac{S1}{10000}$$

式中, S1: 樣品中香茅醛濃度, mg/kg; S2: 樣品中香茅醛含量, %;

C: 由檢量線所得試樣液中香茅醛濃度, μg/ml;

V: 樣品液體積, ml;

D: 樣品液稀釋倍率;

P: 香茅油標準品純度, (本次標準品 P = 93 %);

W: 樣品質量, g

8. 香茅油品種判定

參考 CNS 6469 及 CNS 8133 之層析特性成分分布, 來比對樣品之層析特性成分分布以判定是否與標準規定同品種。

9. 香茅油品質判定

依據 CNS 6469 及 CNS 8133 之層析特性成分分布含量中香茅醛含量範圍分別為 31~39 % 及 3~6 %。

三、結果與討論

(一)最適樣品溶劑試驗結果

正己烷對樣品 B 互溶性不佳；乙酸乙酯及丙酮對各樣品互溶性佳；甲醇對樣品 A、B 及 D 互溶性不佳（圖 2）。

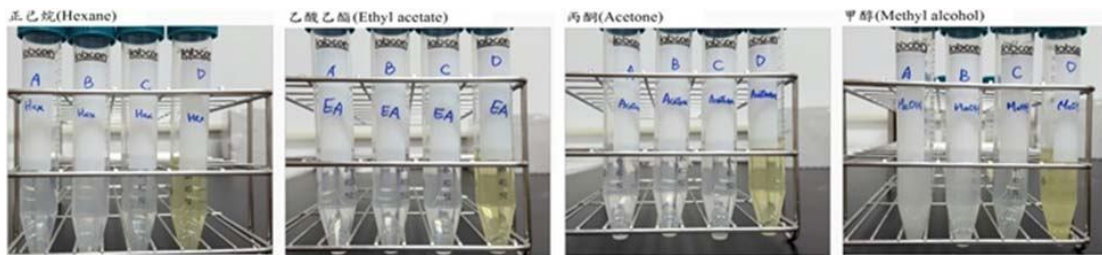


圖 2 樣品與溶劑相溶性試驗圖

(二)氣相層析儀（GC）之層析管柱試驗結果

非極性層析管柱（DB-5ms 及 DB-1ms）所得待測物（香茅醛, Citronellal）會與干擾物（異洋薄荷醇, Isopulegol）發生峰重疊（圖 3），層析分離效果較差；極性層析管柱（DB-Wax）所得待測物可分離干擾物峰且不發生峰重疊（圖 4），層析分離效果最佳，因此以 DB-Wax 管柱做後續試驗。

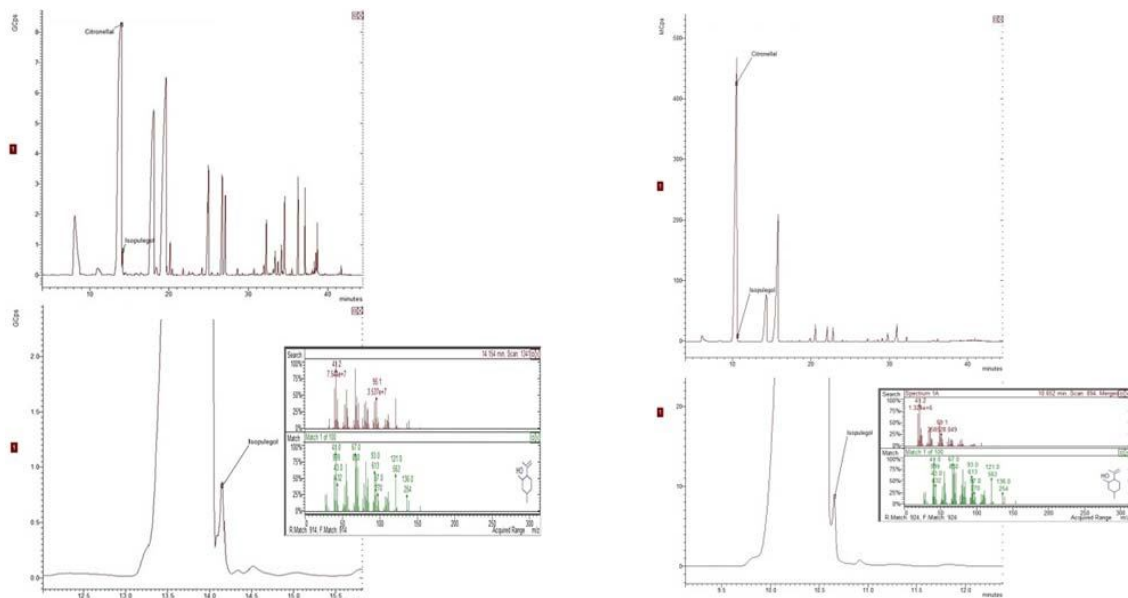


圖 3 樣品 A 中異洋薄荷醇之層析圖譜及 Full scan 質譜圖譜（左 DB-5ms；右 DB-1ms）

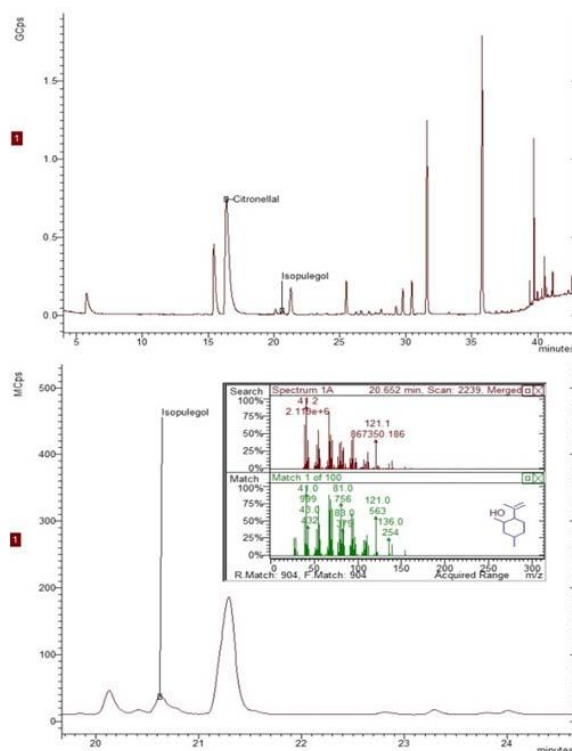


圖 4 樣品 A 中異洋薄荷醇之層析圖譜及 Full scan 質譜圖譜 (DB-Wax)

(三)質譜儀 (MSD) 之極性層析管柱 (DB-Wax) 試驗結果

1.全掃描模式 (Full scan) 之定性試驗結果

樣品 A~D 進行層析 (圖 5)，樣品 A~C 於待測物峰附近之基質干擾少且離子碎斷片與標準品比例相仿，其中樣品 C 於 star time 附近沖提出大量化合物，表示內含較小分子量合成碳氫溶劑油；樣品 D 於接近 end time 析出大量化合物，表示內含較大分子量潤膚油。

2.選擇離子監測模式 (SIM) 之定性試驗結果

各樣品中香茅醛待測物與標準品之滯留時間皆在 16.1~17.8 min，並比對所含待測物與標準品之層析圖譜同時比對質譜圖 (圖 6)，其中待測物之離子比例符合設定範圍 $\pm 20\%$ 以內。

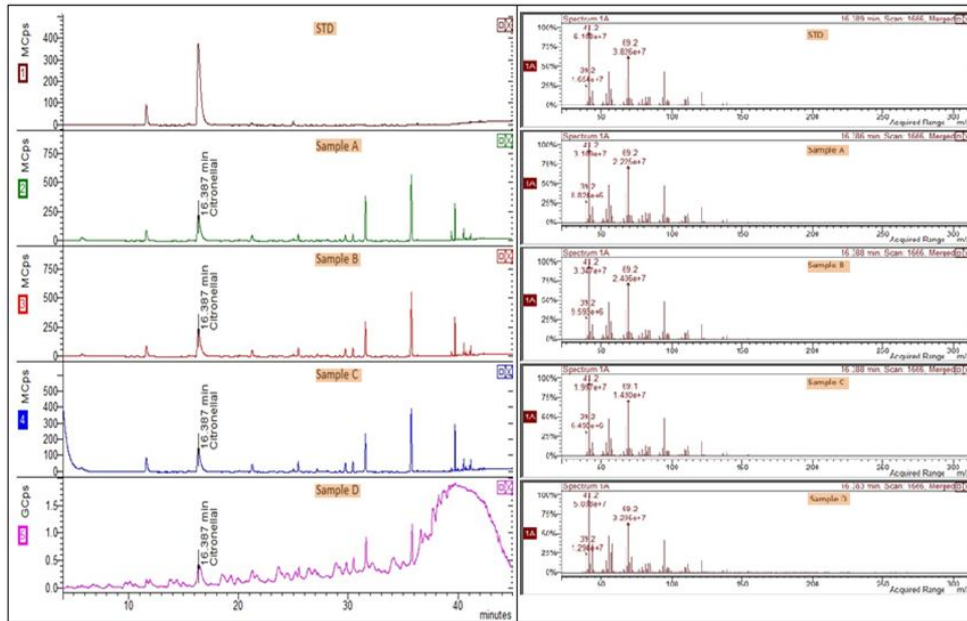


圖 5 DB-Wax 之標準品與各樣品層析比對圖譜（左）及 Full scan 質譜比對圖譜（右）

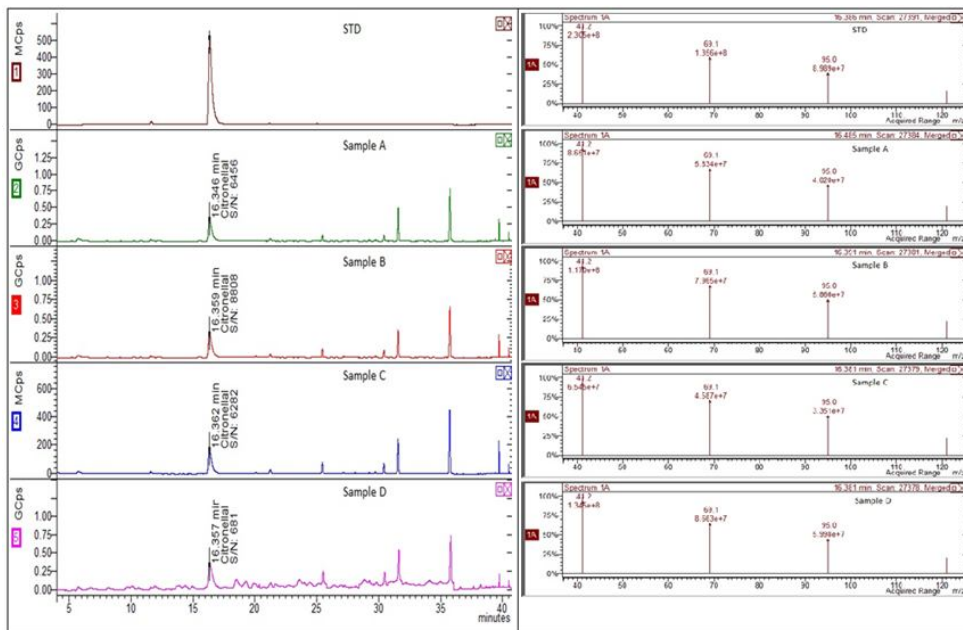


圖 6 DB-Wax 之標準品與各樣品之層析比對圖譜（左）及 SIM 質譜比對圖譜（右）

(四) 選擇離子監測模式 (SIM) 之定量試驗結果

以離子碎斷片 41 m/z 為定量離子，進行樣品中香茅醛定量，如表 6 所示。

表 6 DB-Wax 管柱之 SIM 定量結果一覽表

項次	編號	選擇離子監測模式 (SIM)			
		樣品 A	樣品 B	樣品 C	樣品 D
樣品秤量 (g)		0.2547	0.2600	0.2522	2.5076
樣品液體積 (ml)		50	50	50	50
稀釋倍率		10	10	1	2
試驗液濃度 (g/ml)		173.02	157.93	82.47	237.07
香茅醛含量 (%)		33.97	30.37	1.64	0.95

(五) 氣相層析法之標準品添加回收率試驗結果

由於不同極性管柱層析分離效果不同，因此以基質干擾少的樣品 A 進行標準品添加回收率試驗，其回收率在 91 %。

(六) 香茅油品種判定結果

針對香茅醛 (Citronellal)、香茅醇 (Citronellol) 及香葉醇 (Geraniol) 等三種成分所得之層析圖譜，比對三成分峰之比例及峰形做初步判定各樣品之香茅草來源，各樣品於不同極性層析管柱中所呈現的三成分峰之高度比例及峰形皆相仿 (圖 7)，初步判定本次試驗各樣品所含之香茅油為同一種香茅草來源。

品種的確定須透過層析特性成分分布來做最終判定，以樣品 A 為代表，透過層析分離效果佳的極性層析管柱 (DB-Wax) 所得之層析圖譜進行分析 (圖 8)。再配合 CNS 6469 及 CNS 8133 之層析特性成分分布含量如表 7 所示，來判定品種。樣品 A 與 CNS 6469 之特性成分分布不僅所含成分相符，各成分溶析順序也一致，可推斷本次樣品 A~D 之香茅油品種為爪哇香茅草。

(七) 香茅油品質判定結果

由上述結果可知此次香茅油品種為爪哇香茅油，依據 CNS 6469 「爪哇香茅油」之層析特性成分分布含量中香茅醛含量範圍為 31~39 %，進行判定，以氣相層析法 (DB-5ms 管柱及 DB-Wax 管柱) 所測得之香茅醛含量進行品質判定如表 8 所示。

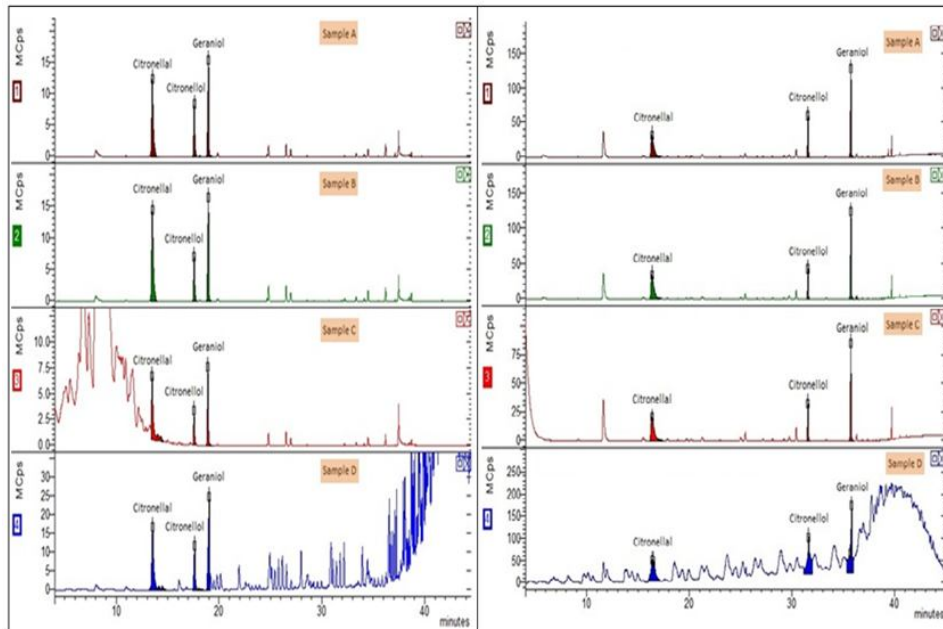


圖 7 各樣品中三成分之層析比對圖譜 (左 DB-5ms ; 右 DB-Wax)

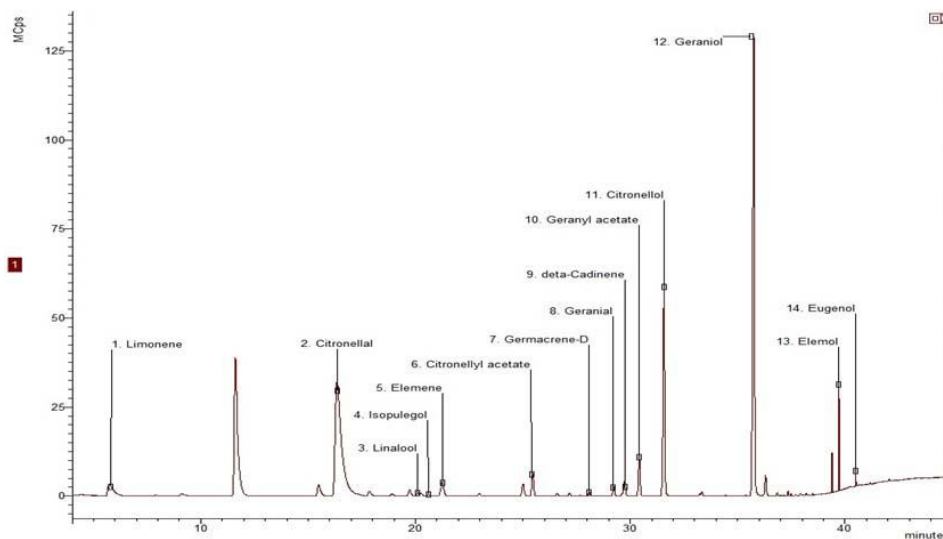


圖 8 氣相層析法 (DB-Wax 管柱) 之樣品 A 層析特性成分分布層析圖譜，波峰辨識：1. 萜烯 (limonene)；2. 香茅醛 (citronellal)；3. 沈香醇 (linalool)；4. 異洋薄荷醇 (isopulegol)；5. β - 覽香烯 (β -elemene)；6. 乙酸香茅酯 (citronellyl acetate)；7. 牻牛兒醇-D (germacrene-D)；8. 香葉醛 (geranial)；9. δ -杜松烯 (δ -cadinene)；10. 乙酸香葉酯 (geranyl acetate)；11. 香茅醇 (citronellol)；12. 香葉醇 (geraniol)；13. 欖香醇 (elemol)；14. 丁香酚 (eugenol)

表 7 香茅油特性成分分布含量一覽表

CNS 6469			CNS 8133		
成分 ^(a)	最小值 (%)	最大值 (%)	成分	最小值 (%)	最大值 (%)
檸檬烯 (limonene)	2.0	5.0	莰烯 (camphene)	7.0	10.0
香茅醛 (citronellal)	31.0	39.0	檸檬烯 (limonene)	7.0	11.5
沈香醇 (linalool)	0.5	1.5	香茅醛 (citronellal)	3.0	6.0
異洋薄荷醇 (isopulegol)	0.5	1.7	龍腦 (borneol)	4.0	7.0
β-覽香烯 (β-elemene)	0.7	2.5	-	-	-
乙酸香茅酯 (citronellyl acetate)	2.0	4.0	-	-	-
牻牛兒醇-D (germacrene-D)	1.5	3.0	-	-	-
香葉醛 (geranial)	0.3	11.0	-	-	-
δ-杜松烯 (δ-cadinene) + 乙酸香葉酯 (geranyl acetate)	3.9	8.0	-	-	-
			-	-	-
香茅醇 (citronellol)	8.5	13.0	香茅醇 (citronellol)	3.0	8.5
香葉醇 (geraniol)	20.0	25.0	香葉醇 (geraniol)	15.0	23.0
欖香醇 (elemol)	1.3	4.0	-	-	-
丁香酚 (eugenol)	0.5	1.0	異丁香酚甲醚 (methyl isoeugenol)	7.0	11.0

註：^(a) 成分係依其在極性層析管柱上之溶析順序列出

表 8 依據 CNS 6469 對樣品 A~D 之品質判定結果一覽表

項次 編號	試驗方法	香茅醛含量 (%)	香茅油判定標準
			CNS 6469 (香茅醛含量 31~39 %)
樣品 A	氣相層析法 (DB-5ms)	36.30	●
	氣相層析法 (DB-Wax)	33.97	●
樣品 B	氣相層析法 (DB-5ms)	37.47	●
	氣相層析法 (DB-Wax)	30.37	●
樣品 C	氣相層析法 (DB-5ms)	0.65	×
	氣相層析法 (DB-Wax)	1.64	×
樣品 D	氣相層析法 (DB-5ms)	0.37	×
	氣相層析法 (DB-Wax)	0.95	×

四、結論與建議

1. 因精油屬天然物本身內容物相當複雜，再加上每種精油商品會因用途不同而加入不同添加劑，使得樣品特性不盡相同，試驗時需要稀釋樣品，因此溶劑選用相當重要，經本研究試驗結果可知香茅油樣品於前處理時，以中極性溶劑（乙酸乙酯及丙酮）不僅互溶性最佳，且進行分析時也不與待測物發生峰重疊，可符合試驗需求。
2. 本專題研究之氣相層析法，經參數條件優化後，亦可達到有效分離待測物與大部分其他成分，減少基質干擾，其中非極性層析管柱層析分離效果較差，適合香茅油定性；極性層析管柱分離效果較佳，適合香茅油定性與香茅醛定量。
3. 標準品添加回收率試驗結果 91 %，符合一般訂定待測物濃度在 100 ppm 以上其回收率範圍 85~110 %之要求，同時可縮短檢測香茅油中香茅醛之檢驗時效並增加定量準確度（accuracy）。
4. 本次市購樣品經試驗所得之層析成份特性分布，不僅可知香茅油品種為爪哇香茅油，亦可得知樣品 A 及樣品 B 如業者所標示，應該為純天然之香茅油；樣品 C 及樣品 D 如業者所標示，為添加物摻入天然香茅油之調和香茅油。

五、參考文獻

1. CNS 6469：2011，爪哇香茅油，經濟部標準檢驗局。
2. CNS 8133：2011，斯里蘭卡香茅油，經濟部標準檢驗局。
3. CNS 14943：2005，精油一層析特性成分分布通則—第 1 部：標準中層析特性成分分布之建立，經濟部標準檢驗局。
4. CNS 14944：2005，精油一層析特性成分分布通則—第 2 部：精油樣品層析特性成分分布之應用，經濟部標準檢驗局。
5. SNT 1510-2005，出口天然香茅油中香茅醛和含氧化合物含量的測定氣相色譜法，中華人民共和國國家質量監督檢驗檢疫總局。
6. 環境檢測標準方法驗證注意事項，2012/9/3 檢索，行政院環境保護署環境檢驗所，取自 <http://www.niea.gov.tw/analysis/information/環境檢測標準方法驗證注意事項 1010903.pdf>。