

國立臺灣大學生物資源暨農學院生物產業機電工程學系

碩士論文

Department of Bio-Industrial Mechatronics Engineering

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

亞臨界水系統的組裝及廢棄物處理的應用

Construction of Subcritical Water System and Application  
to Waste Management

周哲宇

Che-Yu Chou

指導教授：陳力騏 博士

Advisor: Richie L.C. Chen, Ph.D.

中華民國 106 年 6 月

June, 2017



國立臺灣大學碩士學位論文  
口試委員會審定書

亞臨界水系統的組裝及廢棄物處理的應用  
Construction of Subcritical Water System and  
Application to Waste Management

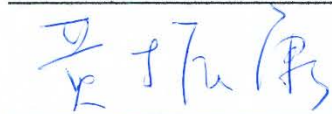
本論文係周哲宇君 (R0431040) 在國立臺灣大學生物產業  
機電工程學系、所完成之碩士學位論文，於民國 106 年 06 月 27  
日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：



(簽名)

(指導教授)







系主任、所長



(簽名)

## 中文摘要

當水處在一高溫高壓狀態時，其介電常數會下降且其反應性會上升，因此亞臨界水在綠色萃取製程中逐漸受到重視。本研究使用動態式亞臨界水系統萃取檸檬桉葉中的香茅醛防蚊成分，以對抗日益嚴重之登革熱疫情；使用批次式亞臨界水系統對於廚餘進行脫水處理，以達到公共衛生及節省其儲運成本之目標。

動態式亞臨界水系統其最前端為 HPLC 高壓幫浦，功用為輸送流體及調整流速參數；而後接上內徑 20 mm，長度 100 mm，材質為 316 不鏽鋼之空管柱；空管柱後端則設置背壓閥以調控壓力參數使之能呈現亞臨界狀態；空管柱內部溫度則由纏繞其外之加熱帶控制。由氣相層析系統檢測後，只有檸檬桉之樹葉內部含有較多的香茅醛成分。動態式亞臨界水系統雖成功萃取出香茅醛成分，但其萃取效率 0.12% 仍遠低於有機溶劑萃取法之 1.45%，推測原因為香茅醛在高溫時產生了熱降解。

批次式亞臨界水系統則由材質 316 鋼的反應器、pt 1000 溫度感測器、壓力表、溫度控制器以及鐵氟龍杯所組成。本研究將飯類廚餘經由批次式亞臨界水系統處理後不僅將含水率降至 10% 以下，亦達成殺菌目的。唯其能量利用效率低落，未來若能找出更節電之方法，將增加此套系統之實用性。

關鍵字:亞臨界水、萃取、驅蟲劑、檸檬桉、廢棄物處理

## Abstract

Subcritical water has drawn much attention to several eco-friendly extraction and green reaction processes due to the lower dielectric constant and higher reactivity of water under elevated temperature and pressure. For extracting the insect repellent, citronellal, from the leaves of lemon scented gum (*Eucalyptus Citriodora*), we constructed a flow-through subcritical water extraction system; and a batch subcritical water reactor was also developed to evaporate the water from kitchen waste for hygiene and transportation cost reduction.

The flow-through subcritical water system was assembled with HPLC devices. Water was driven with a high pressure HPLC pump and then introduced to the flow-through extraction chamber (20mm i.d. × 10 cm, a 316 stainless steel HPLC column) with a back pressure regulating valve to raise the pressure to subcritical status. The temperature of the extraction chamber was controlled by heating tape. As measured by gas chromatography, only the leaves from lemon scented gum contain more citronellal. However, citronellal was successfully extracted but decomposed at elevated temperature. The extraction efficiency of subcritical water is 0.12%, lower than organic solvent extraction which extraction efficiency is 1.45%. Therefore, a more efficient subcritical extraction system with a cooling manifold is demanded.

The batch subcritical water reactor was constructed with a bomb reactor made of 316 stainless steel, a pt1000 temperature sensor, a pressure gauge, a heating controller and a 300 ml Teflon sample cup. Kitchen waste such as rice can be sterilized and dehydrated to less than 10% in water content. A more power-saving protocol is under investigation.

Key words: Subcritical water; Extraction; Insect repellent; Lemon scented gum; Waste management

# 目錄



口試委員會審定書 .....	i
中文摘要 .....	ii
Abstract.....	iii
目錄 .....	iv
圖目錄 .....	viii
表目錄 .....	x
第一章 前言 .....	1
1.1 綠色化學與亞臨界水的發展 .....	1
1.2 登革熱疫情與驅蚊劑成分 .....	2
1.3 廚餘處理 .....	5
第二章 文獻探討 .....	6
2.1 亞臨界水萃取 .....	6
2.1.1 亞臨界水之定義及別名 .....	6
2.1.2 亞臨界水之特性 .....	7
2.1.2.1 介電常數 .....	7
2.1.2.2 表面張力、黏度、離子積 .....	7
2.1.3 亞臨界水系統分類架構 .....	8
2.1.3.1 動態式亞臨界水系統 .....	8
2.1.3.2 批次式亞臨界水系統 .....	9
2.1.4 影響亞臨界水萃取之因素 .....	9
2.1.4.1 溫度 .....	9
2.1.4.2 流速 .....	11
2.1.4.3 粒徑 .....	11
2.1.4.4 時間 .....	11
2.1.4.5 壓力 .....	11
2.1.4.6 其餘因素 .....	12



2.1.5 動態式亞臨界水系統之應用 .....	12
2.1.5.1 廢棄物處理 .....	12
2.1.5.2 製藥及食品 .....	12
2.1.5.3 植物中成分 .....	12
2.1.6 批次式亞臨界水系統之應用 .....	13
2.1.6.1 廢棄物處理 .....	13
2.2 檸檬桉及細葉桉簡介 .....	13
2.2.1 檸檬桉 .....	13
2.2.1.1 PMD 之合成方式探討 .....	13
2.2.1.2 檸檬桉內部成分探討 .....	15
2.2.1.3 檸檬桉內部成分萃取方式探討 .....	15
2.2.2 細葉桉 .....	16
2.2.3 檸檬桉及細葉桉之分辨 .....	17
2.3 廚餘處理 .....	18
第三章 實驗設備與方法 .....	19
3.1 實驗藥品與儀器設備 .....	19
3.1.1 實驗藥品 .....	19
3.1.2 實驗儀器設備 .....	19
3.2 檸檬桉葉與細葉桉葉採集及內部成分分析 .....	20
3.2.1 標準品配置及檢量線製作 .....	20
3.2.2 樹葉之採集 .....	20
3.2.2.1 標示檸檬桉之樹種 .....	20
3.2.2.2 標示細葉桉之樹種 .....	21
3.2.2.3 無標示檸檬桉及細葉桉之樹種 .....	21
3.2.3 樹葉之保存 .....	22
3.2.4 樹葉均質化前後比較 .....	22
3.2.5 檢測內部成分以確認樹種 .....	22

3.3 動態式亞臨界水系統萃取檸檬桉葉及檢測 .....	23
3.3.1 動態式亞臨界水萃取設備 .....	23
3.3.2 動態式亞臨界水萃取檸檬桉葉流程 .....	23
3.3.3 液液萃取 .....	24
3.4 批次式亞臨界水系統萃取檸檬桉葉及檢測 .....	24
3.4.1 批次式亞臨界水系統架構 .....	25
3.4.1.1 批次式亞臨界水萃取檸檬桉葉及液液萃取 .....	25
3.4.1.2 批次式亞臨界水系統測試高於常溫溶解度之香茅醛標準品 .....	26
3.5 氣相層析檢測系統 .....	27
3.5.1 氣相層析檢測架構圖及原理 .....	27
3.5.2 氣相層析檢測參數 .....	28
3.6 批次式亞臨界水系統應用於廚餘處理 .....	28
3.6.1 以去離子水進行系統測試 .....	29
3.6.2 以米飯進行系統測試 .....	29
3.6.3 米飯以批次式亞臨界水系統定溫排水 .....	29
3.6.3.1 溫壓紀錄及排去水分統計 .....	29
3.6.3.2 理論耗能和實際耗能比較 .....	29
3.6.4 米飯以批次式亞臨界水系統進行多次開閥 .....	30
3.6.5 去離子水以批次式亞臨界水系統定壓排水 .....	30
3.6.6 米飯以批次式亞臨界水系統進行定壓排水 .....	30
第四章 結果與討論 .....	31
4.1 檸檬桉葉與細葉桉葉採集及內部成分分析 .....	31
4.1.1 標準品氣相層析檢測結果 .....	31
4.1.1.1 香茅醛標準品氣相層析檢測結果及檢量線 .....	31
4.1.1.2 桉葉油醇標準品氣相層析檢測結果 .....	33
4.1.2 樹葉之採集 .....	34
4.1.2.1 有標示檸檬桉樹種之氣相層析檢測結果 .....	34

4.1.2.2 有標示細葉桉樹種之氣相層析檢測結果 .....	35
4.1.2.3 未標示樹種之氣相層析檢測結果 .....	36
4.1.3 樹葉保存結果比較 .....	37
4.1.4 樹葉之均質化結果比較 .....	38
4.2 動態式亞臨界水系統應用於萃取檸檬桉葉內部成分分析結果 .....	39
4.3 批次式亞臨界水系統應用於萃取檸檬桉葉內部成分 .....	40
4.3.1 批次式亞臨界水系統處理標準品之結果 .....	40
4.3.2 批次式亞臨界水系統處理檸檬桉葉之結果 .....	42
4.4 批次式亞臨界水系統應用於廚餘處理 .....	43
4.4.1 以去離子水進行系統測試之結果 .....	43
4.4.2 以 3g 米飯進行系統測試之結果 .....	44
4.4.3 米飯以批次式亞臨界水系統定溫排水 .....	45
4.4.3.1 溫壓紀錄及排去水分統計 .....	45
4.4.3.2 定溫開閥之理論耗能和實際耗能比較 .....	47
4.4.4 米飯以批次式亞臨界水系統進行定時多次開閥結果 .....	48
4.4.5 去離子水以批次式亞臨界水系統定壓排水結果 .....	48
4.4.6 米飯以批次式亞臨界水系統定壓排水結果 .....	50
第五章 結論及未來展望 .....	53
參考文獻 .....	55



## 圖目錄



圖 1-1 亞臨界水論文逐年出版數量.....	2
圖 1-2 2005 年至 2014 年台灣登革熱病例統計資料.....	3
圖 2-1 亞臨界水溫度區間示意圖.....	6
圖 2-2 壓力為 20MPa 下水溫及介電常數之關係.....	7
圖 2-3 A:動態式亞臨界水系統 B:批次式亞臨界水系統.....	8
圖 2-4 不同溫度對於萃取效率之影響.....	10
圖 2-5 香茅醛轉化至 PMD 之過程.....	14
圖 3-1 動態式亞臨界水萃取設備示意圖.....	23
圖 3-2 批次式亞臨界水系統.....	25
圖 3-3 氣相層析系統示意圖.....	27
圖 3-4 批次式亞臨界水系統架構圖.....	28
圖 4-1 香茅醛標準品以不同濃度溶於乙酸乙酯之氣相層析圖譜.....	31
圖 4-2 香茅醛濃度 5 $\mu\text{g/mL}$ 至 100 $\mu\text{g/mL}$ 之檢量線.....	32
圖 4-3 桉葉油醇標準品溶於乙酸乙酯中之氣相層析圖譜.....	33
圖 4-4 標示為檸檬桉葉以乙酸乙酯萃取後之氣相層析結果.....	34
圖 4-5 標示為細葉桉葉以乙酸乙酯萃取後之氣相層析結果.....	35
圖 4-6 無標示為檸檬桉或細葉桉樹種之氣相層析檢測結果.....	36
圖 4-7 檸檬桉葉粉末經三種不同處理之氣相層析圖譜.....	37
圖 4-8 檸檬桉葉均質化前後之氣相層析圖譜比較.....	38
圖 4-9 不同溫度亞臨界水萃取 2 g 高峰植物園檸檬桉葉粉末之檢測結果.....	39

圖 4-10	不同溫度亞臨界水萃取 2 g 自種檸檬桉葉粉末之檢測結果.....	40
圖 4-11	香茅醛標準品經批次式亞臨界水系統以不同溫度處理之結果.....	41
圖 4-12	香茅醛濃度 22 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 經批次式亞臨界水系統以不同溫度處理之結果...	42
圖 4-13	20g 檸檬桉葉以批次式亞臨界水萃取之結果.....	43
圖 4-14	批次式亞臨界水系統處理 50 mL 去離子水之溫壓紀錄.....	44
圖 4-15	批次式亞臨界水系統處理 3 g 米飯之溫壓紀錄.....	45
圖 4-16	批次式亞臨界水系統處理 65 g 米飯之溫壓紀錄.....	46
圖 4-17	去離子水以批次式亞臨界水系統定壓開閥之溫壓紀錄.....	49
圖 4-18	米飯以批次式亞臨界水系統定 5 atm 下排除之溫壓紀錄.....	51
圖 5-1	未來擬使用之亞臨界水架構圖.....	53

## 表目錄



表 3-1 具有檸檬桉標示之樹種地點分布及 GPS 座標.....	20
表 3-2 具有細葉桉標示之樹種地點分布及 GPS 座標.....	21
表 3-3 未標示檸檬桉或細葉桉之樹種地點分布及 GPS 座標.....	21
表 4-1 不同溫度對應之排水量關係.....	46
表 4-2 不同溫度之能源效率比較.....	47
表 4-3 多次開閥實驗前後含水率結果比較.....	48
表 4-4 以 100 g 水進入批次式亞臨界水系統，定 5 大氣壓開閥下之數據紀錄....	50
表 4-5 定 5 大氣壓開閥之數據紀錄.....	51
表 4-6 定壓多次開閥實驗前後含水率結果比較.....	52

# 第一章 前言



## 1.1 綠色化學與亞臨界水的發展

自從工業革命以大量機器取代人力，伴隨著人類經濟的快速成長亦改善了人類的生活，但卻犧牲了環境，加速了全球暖化的速度。隨著社會發展，人類逐漸思考如何和環境共存，綠色化學的概念因而產生，綠色化學之目的為將對於環境的衝擊以及汙染降到最低，除了保護環境亦能提升人類之生活品質及安全。超臨界二氧化碳應用於萃取咖啡因即為一綠色化學之應用例子。

超臨界二氧化碳萃取法藉由將二氧化碳氣體加溫加壓至超臨界狀態後，能夠擁有較好的氣體穿透性以及液體萃取性，針對非極性物質具有良好萃取效果，且超臨界二氧化碳具有不需去除溶劑之步驟，在溫度壓力回到常溫常壓後，二氧化碳會直接變成氣體而排除，因此大規模的用於萃取製程中。但若欲萃取稍具極性之物質，則必須加入助溶劑，像是甲醇、乙醇，不僅使得成本更高，並且增加了除去溶劑之複雜度。(Peker *et al.*, 1992)

亞臨界水萃取法首見於 1994 年，利用較為高溫高壓之水其性質會改變的特性，應用於環境固體中非極性物質之萃取，亞臨界水萃取法不僅相對於超臨界二氧化碳萃取法有成本之優勢，又由於能夠藉由調整亞臨界水之溫度參數去改變水之極性，因此其亦能夠萃取稍具極性之物質，相較於超臨界二氧化碳萃取法是較低成本且應用性較廣的選擇；亞臨界水相對於超臨界二氧化碳較大缺點為萃取完畢後，水的溶劑去除步驟較複雜，二氧化碳在常壓下會直接以氣體形式排除(Gbashi *et al.*, 2016)。

在高溫下，水的極性會隨著溫度升高而降低，而在 250°C 及 20 MPa 時，水的極性會等同於常溫下甲醇之極性狀態，因此若善加利用此一特性，可將高溫狀態之亞臨界水用來取代常溫常壓下有機溶劑之使用。

$$\log_{10} P = A - \frac{B}{C+T} \quad \text{式 1-1}$$

式 1-1 為 Antoine Equation，當溫度介於 100~374°C 之間時，常數 A 為 8.14、常數 B 為 1810.94、常數 C 為 244.48，25°C 下的飽和蒸汽壓約 40 atm，因此達成亞臨界水之條件只需大於 40 atm，是一般鋼材能夠承受的範圍，相對於超臨界二

氧化碳需要超過 73 atm、超臨界水需要大於 218 atm，亞臨界水狀態相對較為容易達成。

綜觀以上幾點，發展亞臨界水萃取法不僅較為節省成本，並且能應用之層面較超臨界二氧化碳來得廣，實為十分有潛力之綠色能源，由圖 1-1 也可以看出亞臨界水研究逐漸蓬勃發展中 (Saldana *et al.*, 2015)。

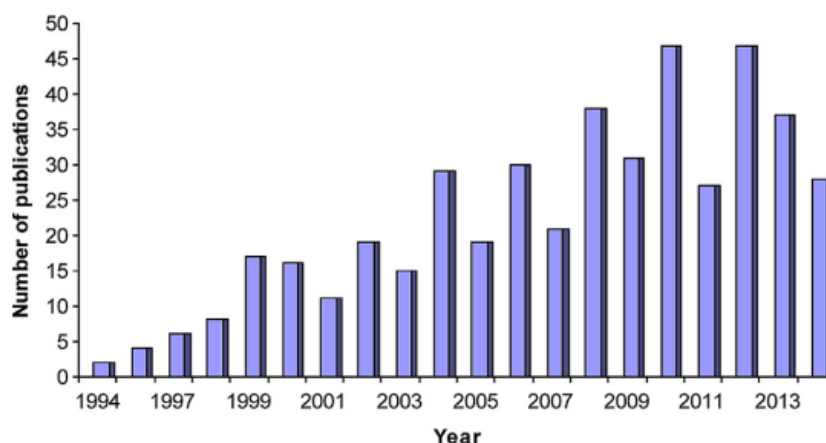


圖 1-1 亞臨界水論文逐年出版數量 (Saldana *et al.*, 2015)

## 1.2 登革熱疫情與驅蚊劑成分

登革熱好發於副熱帶以及熱帶氣候地區，主因為其病媒蚊喜好高溫溼熱之環境，登革熱之主要病媒蚊為白線斑蚊以及埃及斑蚊，其中白線斑蚊分布地區較廣但致病力較弱；埃及斑蚊則大多分布於熱帶地區但致病力較強。台灣橫跨兩種氣候型態，熱帶及副熱帶氣候，依北回歸線為界劃分，台灣中北部大多屬於副熱帶氣候，大部分為白線斑蚊出沒，因此登革熱病例較少；南部地區則屬熱帶氣候，為埃及斑蚊頻繁活動之區域，因此每年大部分台灣的登革熱案例皆來自於南部地區（台南、高雄、屏東）。根據行政院衛生福利部疾病管制署的統計資料顯示，自 2005 年至 2013 年間，台灣全國登革熱通報病例每年約有 1 千至 2 千件不等，但 2014 年的登革熱病例卻一口氣暴增至 7 倍以上（約 1 萬 5 千多件，如下圖 3）。至 2015 年時病例數更是飆高至 4 萬 4 千多例 (Wang *et al.*, 2016)。

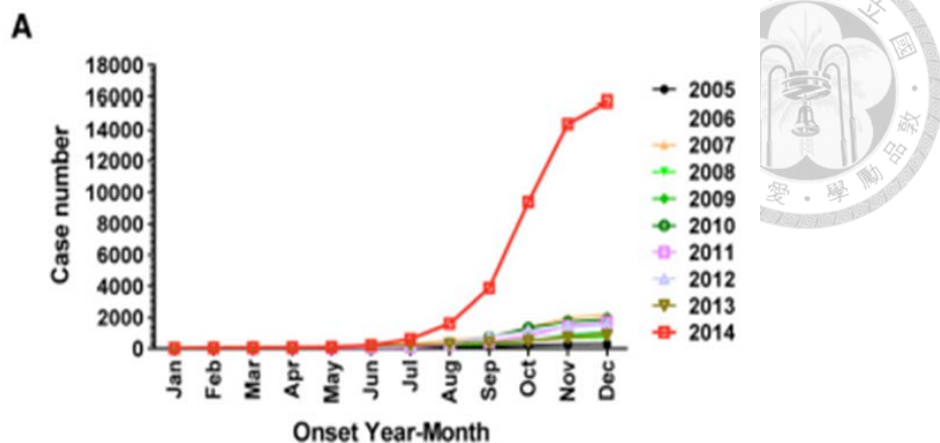


圖 1-2 2005 年至 2014 年台灣登革熱病例統計資料 (Wang *et al.*, 2016)

由於全球暖化的關係，原本只好發於熱帶地區的登革熱，目前已有明顯北遷之趨勢，高風險區亦逐漸擴散至中北部，登革熱也有趨於地球村的現象，因此登革熱的防治工作可說是刻不容緩。

目前登革熱病毒疫苗於 2015 年 12 月出現，由法國藥廠所生產，但目前台灣尚未核准上市，因此要根絕登革熱最好的辦法為定時清理積水容器，斷絕其生長源頭。大部分採用定期噴灑殺蟲劑作為主要方法，然而使用化學合成之殺蟲劑不僅與永續地球之概念背道而馳，亦會危害人體健康。(衛生福利部疾病管制署)

而在戶外時最直接之防治方式為隨時防治，也就是適時噴抹有效之驅蚊劑產品，但目前台灣市面上充斥著琳瑯滿目的防蚊性商品，台灣消基會對於市售防蚊液曾經進行過調查，9 款防蚊液中真正具有有效成分的僅 1 款，因此選購防蚊液時應注意其中成分是否含有由「美國國家環境保護局」(Environmental Protection Agency, EPA) 所認可之確切驅蚊劑成分，共有以下 4 種:

1. DEET (N,N-diethyl-m-toluamide, 中文名稱為敵避)。
2. Picaridin (1-piperidinecarboxylic acid, 中文名稱為派卡瑞丁)。
3. IR3535 (3-[N-butyl-N-acetyl]-aminopropionic acid, 中文名稱為伊默寧)。
4. PMD (p-menthane-3,8-diol, 中文名稱為必安敵)。

其中，前三種為化學合成驅蚊劑，最後一種 PMD 則是源自於植物組織中之天然驅蚊成分。而目前公認最有效之防蚊成分為 DEET，原為美軍於二戰期間使用，後廣泛應用於防蚊，亦為台灣目前唯一核准具有有效防蚊能力的藥品，其防蚊能力在通過認證之防蚊成分中為翹楚，防蚊時間能持續至少八小時，但有少數人會對

於 DEET 產生皮膚過敏反應，更有案例指出 DEET 會造成神經系統及腦部病變 (Sudakin *et al.*, 2003)。

PMD 於 2000 年通過美國 EPA 之認證，為近幾年興起之防蚊產品，其為檸檬桉樹葉精油之水溶性成分。美國農業部農業研究服務中心 (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service) 曾經針對上述 4 種防蚊成分之市售產品做一系列之驅蚊平行測試，結果為 PMD (20%) > Picaridin (10%) > DEET (15%) > IR3535 (7.5%)。其防蚊效果甚至略優於 DEET (Donald R and Xue, 2004)。

除了上述提到的 4 種防蚊成分外，香茅醛亦為一驅蚊力極強之成分，但其未通過 EPA 認證，原因為其揮發性過強因此造成作用時間不足。香茅醛為檸檬桉葉內部主要成分，許多文獻已用水蒸氣蒸餾法提取檸檬桉葉內之香茅醛，而亦有文獻提到香茅醛再經由一簡單之酸化反應即可得到經過認證的 PMD 成分 (Lenardao *et al.*, 2007)。

由於 PMD 成分之抗蚊能力與 DEET 相去不遠，DEET 亦存在使用疑慮，以及環保永續意識的抬頭，在未來 PMD 之產品接受度應會逐漸超越 DEET。

因此本研究擬將上述所提到的亞臨界水系統以及檸檬桉葉做結合，藉由兩種亞臨界水系統 (動態式以及批次式) 萃取檸檬桉葉內部之香茅醛成分，並和有機溶劑萃取法比較，期望以亞臨界水萃取法之效果能夠等同甚至超越有機溶劑萃取法。進而能夠達成節省能源及保護地球環境之目標。

### 1.3 廚餘處理

台灣早期為農業社會，自然而然地大部分廚餘皆用於飼養家禽，其中又以養豬為大宗，此舉不僅確保其食物來源並能夠處理多餘之食物，實為一永續的概念。但隨著工商業逐漸發展，並且社會結構的逐漸轉變，都市中的產業早已由傳統農業轉變為服務業，人口亦大量由農村轉進都市，因此在都市中廚餘的處理問題逐漸浮現，早期尚未實施資源回收分類時，大多將廚餘一併丟入一般垃圾中，造成垃圾焚化爐內部溫度降低之問題；而在實施嚴格資源回收後，在 2009 年至 2013 年之統計當中至少 67% 的廚餘是用於養豬，通常被運送至中南部之養豬場處理，經由長途運輸後勢必增加更多細菌，即使在豬隻食用之前經過殺菌程序，其廚餘品質依舊令人堪憂。(行政院環保署)

雖然廚餘能繼續拿來養豬，但廚餘含水率高、容易腐敗，若不每天清運勢必造成環境衛生的問題，特別是偏鄉，實在有發展社區用廚餘處理系統的必要性，以達到垃圾減量的目標。

由於加熱消毒是處理廚餘的必要過程，本研究擬將亞臨界水系統應用於廚餘處理，探討是否在加熱到亞臨界狀態下，有同時達到殺菌與脫水的雙重效果，並使用用電計費器紀錄實際使用電能與理論電能之差距。如此，若充分利用離峰電力，可在不增加碳排放量的前提下，將平均含水量 80% 的廚餘減量成為 20%，同時有高於醫療廢棄物處理等級的殺菌效果。所得到的脫水廚餘，將可以很安全地回收利用作為肥料或飼料的添加物，達到永續經濟的目標。



## 第二章 文獻探討



### 2.1 亞臨界水萃取

#### 2.1.1 亞臨界水之定義及別名

亞臨界水之定義為溫度介於 100°C 至 374°C 之液態水，也就是圖 2-1 上之淺藍色區塊。亞臨界水其全名為 subcritical water，而由於其壓力必須能夠使得該溫度的水維持液態，也因此亞臨界水又有別名為 pressurized hot water 及 hot compressed water，意為加壓之熱水；亞臨界水狀態為液態，但其溫度大於常溫下的水，故又有別名 superheated water，意為過熱的液態水；而亞臨界水為相對於超臨界水之名稱，因此亞臨界水亦有人以 near-critical water 稱之 (Pronyk & Mazza, 2009)。而 high-temperature water extraction、pressurized low polarity water extraction、hot liquid water extraction 指的亦為亞臨界水之意 (Gbashi *et al.*, 2017)。

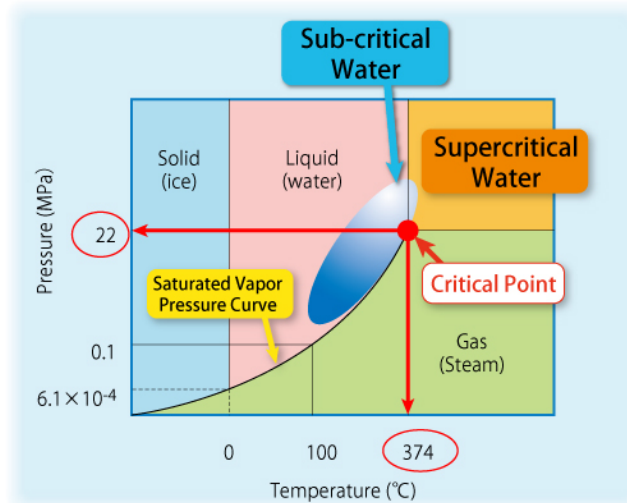


圖 2-1 亞臨界水溫度區間示意圖 (取自網址 <https://www.linkedin.com/>)



## 2.1.2 亞臨界水之特性

當溫度升高至亞臨界水狀態時，其許多特性相較於常溫常壓之水，具有很大的變化，以下針對包括介電常數、表面張力、黏度、離子積四個特性做探討。

### 2.1.2.1 介電常數

介電常數為物質電容率和真空中電容率之比值，因此無單位，其測量方式為使用兩塊平行電容板，施予電壓後即可量測，此種特性類似極性，介電常數愈大則能夠代表物質的極性愈高，愈容易被極化。

圖 2-2 為壓力為 20 MPa 下，黑色曲線代表水溫及介電常數之關係，明顯觀察出當溫度愈高時，水之介電常數會愈低；六個黑點則表示六種不同的溶劑在常溫下之介電常數，分別為水、甲酸、DMSO、乙腈、甲醇、正丁醇。由圖 2-2 可得知當水在足夠高溫之下，其介電常數會近似於一些常壓下所使用之有機溶劑 (Amashukeli *et al.*, 2007)。

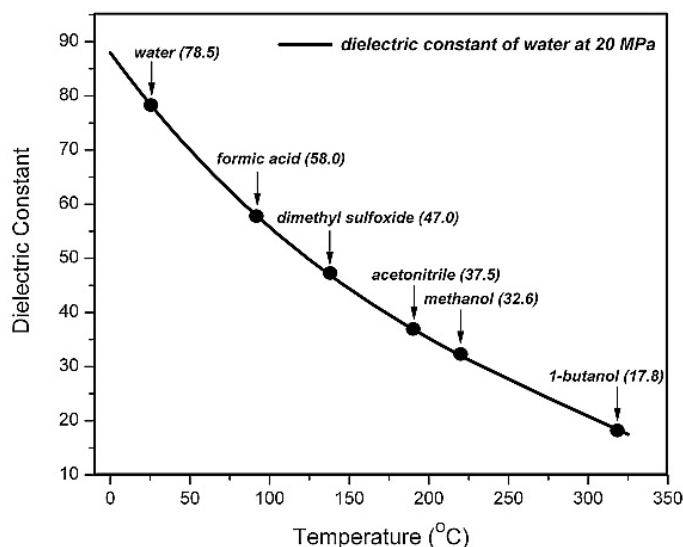


圖 2-2 壓力為 20MPa 下水溫及介電常數之關係 (Amashukeli *et al.*, 2007)

### 2.1.2.2 表面張力、黏度、離子積

N.B Vargaftik 等人在 1983 年之論文指出，水在 0.01°C 至 374°C 之間，其表面張力變化情形，溫度增加時，其表面張力下降；黏度及離子積亦會隨著溫度上升而下降，綜合上述原因，在亞臨界狀態之水有較佳之擴散速率。



### 2.1.3 亞臨界水系統分類架構

亞臨界水系統大致上可區分為兩類，動態式以及批次式，較常於研究上使用的為動態式系統 (Plaza *et al.*, 2015)。

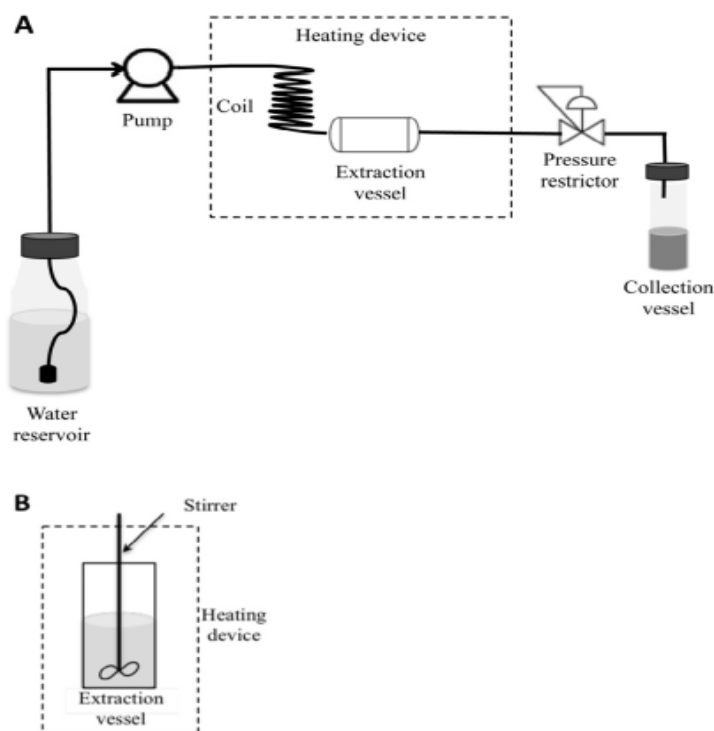


圖 2-3 A:動態式亞臨界水系統 B:批次式亞臨界水系統

#### 2.1.3.1 動態式亞臨界水系統

動態式亞臨界水系統 (dynamic subcritical water extraction) 又稱為連續式亞臨界水系統 (見圖 2-3 A)，而常見之動態式亞臨界水系統如下。最前端為一台 HPLC 高壓幫浦以輸送流體並能夠調控流量參數，亦為系統前端壓力來源；其後接一空管柱作為樣品放置處，亦為萃取發生之處；管柱外為加熱器，目的為調整溫度參數；管柱後端則會接上一背壓閥以提供前端壓力；管柱後端則將管路浸泡於冷水中以達成降溫效果，最後接上一收集器以收集萃取液。有些系統會在最前端加裝氮氣裝置，藉由填充氮氣將水中的氧氣排除。綜觀來說，整個系統利用加熱器、高壓幫浦、背壓閥三者使得管柱內部形成高溫高壓之狀態，輸送至管柱內之水即

成為高溫高壓之亞臨界狀態。



### 2.1.3.2 批次式亞臨界水系統

批次式亞臨界水系統(static subcritical water extraction),其裝置較動態式簡略,通常只有萃取槽以及外部的加熱裝置,首先將水注入萃取槽(extraction vessel)中,接著以加熱裝置將其加熱至超過 100°C,此時萃取槽中之水會達到液氣共存狀態,進而達成亞臨界之狀態。相較於動態式亞臨界水系統,批次式亞臨界水系統內部之水不會流動,因此又稱靜止式亞臨界水系統(見圖 2-3 B)。

### 2.1.4 影響亞臨界水萃取之因素

四項會影響亞臨界水萃取之因子分別為溫度、流量、粒徑、壓力,此外尚有一些次要因素亦會影響萃取效率,分別介紹。

#### 2.1.4.1 溫度

溫度為影響亞臨界水萃取效率之最重要因素,由於溫度提升時伴隨著介電常數等特性之改變,使得亞臨界水之擴散性較常溫水佳,進而能夠達到較好的質傳效率,而由於溫度愈高之亞臨界水其狀態更接近於常溫下所使用之有機溶劑,因此愈高的溫度理論上有著愈高的萃取效率。

然而在一篇萃取百里香(*Zataria multiflora boiss*)中精油成分之論文當中,在 150°C 之前萃取效率隨著溫度上升而提升,但 175°C 之萃取效率卻小於 150°C 之結果,這是由於太高溫可能造成欲萃取物質之降解而降低了萃取效率,因此溫度和萃取效率之關係並不總是線性。

因此每種物質具有自己的最適化溫度,一般來說萃取精油類物質之最適化溫度大約介於 125°C 至 175°C 之間。

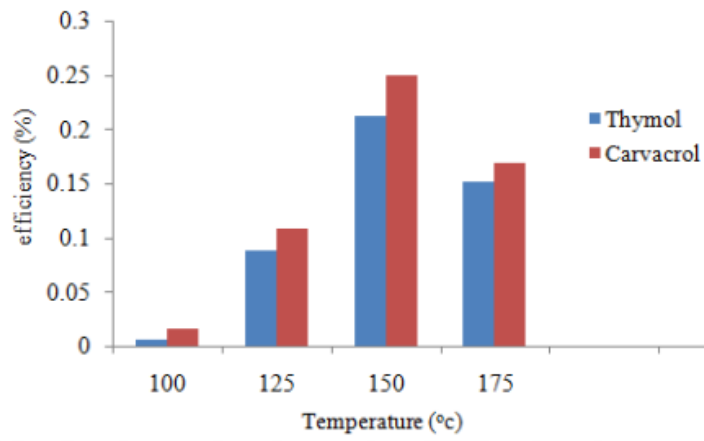


圖 2-4 不同溫度對於萃取效率之影響 (Khajenoori et al.,2009)



#### 2.1.4.2 流速

流速亦能夠影響萃取效率，流速愈高代表著愈高的質傳速度，但流速過快會使得溶劑和萃取物接觸時間過短，不僅稀釋了最終產物之濃度，也造成了萃取效率的低落，當流速提升時也就犧牲了濃度，兩者勢必做一取捨，在萃取百里香 (*Zataria multiflora boiss*) 中精油成分之論文當中選擇 2 mL/min 作為最適化流量。

#### 2.1.4.3 粒徑

粒徑大小和質傳效率有關，一般來說粒徑由質傳控制，粒徑愈小由於和水接觸的表面積變大，其萃取效率將會隨之提升，但在一篇萃取百里香 (*Zataria multiflora boiss*) 中精油成分之論文當中，粒徑 0.25 mm 及 0.5 mm 之萃取效率沒有明顯之差別。

探究其原因，在粒徑過小時，由於在萃尿管內部排列過於緊實，反而造成溶劑穿透度不佳而影響了萃取效率。另一原因為，並不是所有粒徑範圍皆符合質傳控制的原則，當粒徑太小時會有其他因素主導了萃取效率，而不是質傳速率決定一切，可能就不會遵守質傳控制之原則 (Khajenoori *et al.*, 2009)。

#### 2.1.4.4 時間

萃取時間會與所設定溫度以及欲萃取物質之性質有關，亞臨界水萃取法所使用之時間相較於其他萃取方法算是很短，過長之萃取時間可能導致物質在管柱中發生熱降解現象 (Zakaria *et al.*, 2016)。

#### 2.1.4.5 壓力

壓力相較於其他參數，在亞臨界水萃取中影響力最小，一般來說壓力只要使得超過沸點之水仍然維持液態狀態即可，理論上高溫下維持高壓可降低水之表面張力，但實際上論文指出當壓力從 20 atm 升高至 100 atm 時，其萃取效率僅僅增加了 2%，幾乎沒有幫助 (Zakaria *et al.*, 2016)。



#### 2.1.4.6 其餘因素

其餘亦會影響亞臨界水萃取效率之因素包括了物質本性、萃取槽特性、助溶劑等。例如在水中加入酒精以及甲酸可增強亞臨界水對於紅捲心菜中花青素的萃取效果 (Arapitsas *et al.*, 2008)。

### 2.1.5 動態式亞臨界水系統之應用

#### 2.1.5.1 廢棄物處理

亞臨界水始祖為將其應用於萃取環境固體中之有機汙染物質，背景為超臨界二氧化碳成本太貴，又由於在 300°C 下水的介電常數和超臨界二氧化碳只相差了 1，因此期望亞臨界水能夠取代超臨界二氧化碳之使用，結論為在 250°C 至 300°C 時由於水的極性下降因此對於欲萃取物質之萃取效率提升許多 (Hawthorne *et al.*, 1994)，因此使用亞臨界水萃取非極性之物質具可行性；而 Yu 等 (1995) 亦利用亞臨界水萃取土壤中的聯苯及多氯聯苯。

Jimenez-Carmona 等 (1999) 利用動態式亞臨界水系統應用於桉樹樹葉中成分之萃取並和水蒸氣蒸餾法做比較，並由結果得知以亞臨界水萃取之效率並不遜色於水蒸氣蒸餾法。

#### 2.1.5.2 製藥及食品

Zakaria 等 (2016) 將前人對於亞臨界水應用於製藥及食品方面之論文整理成一 review paper。動態式亞臨界水系統萃取對象大多為植物及海藻內部之生物活性物質。

#### 2.1.5.3 植物中成分

Ozel 等 (2003) 利用動態式亞臨界水系統萃取 1.5 g 寬葉百里香內部精油成分，並得出最佳化之萃取參數；Ibanez 等 (2003) 使用動態式亞臨界水系統以不同溫度萃取迷迭香中之抗氧化物質，並與超臨界萃取法相比較，亞臨界水之萃取效果較好。



## 2.1.6 批次式亞臨界水系統之應用

### 2.1.6.1 廢棄物處理

Hawthorne 等(2000)利用批次式亞臨界水系統萃取土壤內部中之多環芳香烴；McGowin 等(2001)利用批次式亞臨界水萃取堆肥中的多環芳香烴；Liu 等(2015)使用批次式亞臨界水系統萃取樺樹皮中的樺樹酸；而 Areprasert 等(2016)利用批次式亞臨界水系統處理廢棄材料。

## 2.2 檸檬桉及細葉桉簡介

檸檬桉及細葉桉為兩種不同樹種，而由於兩者在分類學上皆屬於桉樹屬，因此在外觀方面非常相似。而桉樹種類繁多，在分類學上，桉樹屬下其種類就達 700 多種，本研究對於檸檬桉及細葉桉之外觀及樹葉內部成分做相關探討。

### 2.2.1 檸檬桉

檸檬桉為桃金娘科下桉樹屬之其中一種，其英文學名為 *Eucalyptus Citriodora*，原生地為澳洲，成熟檸檬桉具有細長型灰白色樹幹，有時甚至能達到 30 m 的高度，相當高聳，其樹幹離地至一定高度才開始分枝，適合用於行道樹之種植，且其生長過程中土壤環境需求較低，又具生長快速、可充當建材及燃料之特性，因此日軍在二戰時期引進台灣種植。

檸檬桉樹種其葉片在搓揉之下會散發出一股類似檸檬的宜人味，這也是其別名 Lemon-scented gum 之由來。因此葉片部位之精油時常用於香水以及肥皂工業。除此之外，檸檬桉葉之精油亦能應用於防蚊上，香茅醛 (citronellal) 以及香茅醇 (citronellol) 為其葉片內主要成分，其中香茅醛成分佔全部化合物的 6-70%，香茅醛具有驅蚊以及殺菌之能力，但由於其揮發性過強，作用時間不長，因此未能通過美國 EPA 之認證。

#### 2.2.1.1 PMD 之合成方式探討

由於在前言中已提到在已通過美國 EPA 認證之四種防蚊成分中，PMD



(para-mentane diol) 為較為天然且沒有使用疑慮之成分，本節探討由何種物質能夠合成 PMD。

Yuasa 等 (1999) 及 Drapeau 等 (2001) 即指出香茅醛經由一簡單之酸化反應後能夠得到 PMD。如圖 2-5 香茅醛 (左一) 經由硫酸作用後得到中間產物，而後其中間產物再與水反應即可得到最終產物 PMD (右一)。由 Muphlu 發表的博士論文中 (2007)，提出多達七種合成 PMD 之方法，包括前段敘述以香茅醛合成之方法，其只需要一酸化步驟，而其餘六種方法皆需要較多反應步驟才能夠合成出 PMD。

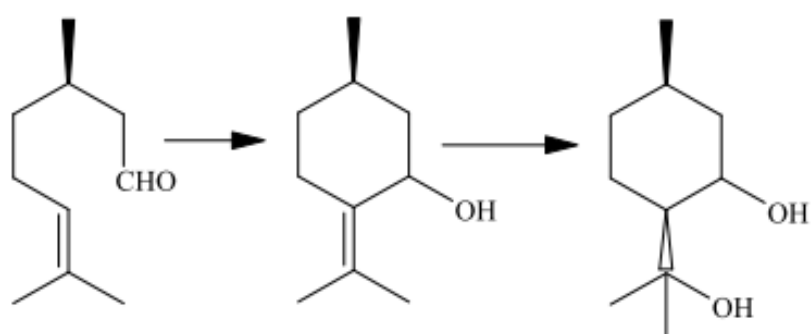


圖 2-5 香茅醛轉化至 PMD 之過程



### 2.2.1.2 檸檬桉內部成分探討

Ramezani 等 (2002)、Batish 等 (2006)、Su 等 (2006)、Singh 等 (2012)、Mann 等 (2013)、Bossou 等 (2015)，對於檸檬桉葉做萃取皆發現其內部之主要成分為香茅醛。而在田等人發表之論文中提到檸檬桉葉內部精油中之水溶性成分亦含有 PMD (para-mentane diol) 之成分，其含量占全部水溶性物質之 70%，但由於水溶性物質僅占有精油之 0.48%，因此總體 PMD 含量非常少；總體來說香茅醛還是在檸檬桉葉中含量最高之物質。Manika 等 (2012) 比較了不同月份採集之檸檬桉樹葉其內部成分差異性，實驗結果指出在不同月份間所採集之樹葉內部主要成分依舊為香茅醛，並不會由於季節不同而造成內部成分的不同，但香茅醛含量在亦會隨著品種、季節、栽種方式有影響。

### 2.2.1.3 檸檬桉內部成分萃取方式探討

目前大部分以水蒸氣蒸餾法對於檸檬桉葉內部之成分做提取，包括 Su 等 (2006)、Lucia 等 (2008)、Singh 等 (2009) 及 (2012) 皆以水蒸氣蒸餾法之方式來萃取檸檬桉葉內部之成分。Mann 等 (2013) 以水蒸氣蒸餾法及超臨界萃取法應用於檸檬桉內部成分之提取，為少數幾篇以超臨界萃取法處理檸檬桉葉之論文。

本研究將亞臨界水應用於檸檬桉葉內部成分之萃取，期望成功萃取出檸檬桉葉內部之有效防蚊成分以減緩台灣內部日益嚴重之登革熱問題以及減少水蒸氣蒸餾及有機溶劑萃取對於環境之衝擊。由於檸檬桉樹種過於高大，樹葉部分難以直接取得，因此本研究採集檸檬桉落葉部分，如此不僅達成清除廢棄物之目的，亦能夠對於廢棄物做有效之利用。

### 2.2.2 細葉桉

細葉桉亦為桃金娘科下之桉樹屬之一種，其英文學名為 *Eucalyptus tereticornis*，原產地亦為澳洲，其外觀特徵與檸檬桉非常類似，皆具有高聳白色樹幹，其葉子亦皆為細長型。唯一較能作為判斷依據者為其內部成分具有明顯差別，檸檬桉葉中具有近 70% 的香茅醛 (citronellal) 成分；細葉桉葉中主要成分則為桉葉油醇 (eucalyptol) 或  $\alpha$ -pinene，桉葉油醇亦能夠當作驅蟲劑以及殺蟲劑使用。

Lucia 等 (2008) 所發表之論文指出，細葉桉內部具有 18.59% 之桉葉油醇成分。而 Nathan (2007) 所發表之論文將細葉桉內部成分桉葉油醇當作一抵抗瘧疾之殺蟲劑。Singh 等 (2009) 研究新鮮及枯萎之細葉桉樹葉其內部成分之異同，新鮮之細葉桉樹葉其內部主要成分為  $\alpha$ -pinene (28.53%) 及 1,8-cineole (19.48%)；而枯萎之細葉桉樹葉其內部主要成分出現了  $\beta$ -citronellal (14.15%)，因此葉子之新鮮度亦會影響其內部成分。



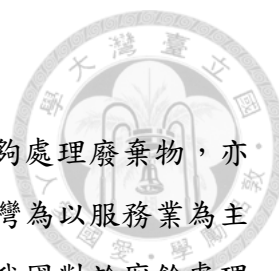
### 2.2.3 檸檬桉及細葉桉之分辨

由於檸檬桉及細葉桉屬於同一屬，樹幹外觀及特徵亦非常相似，因此兩者分辨不易，不只在日常生活中可能辨識錯誤，在做研究的範疇上亦可能發生辨識錯誤之情形。

Husain 等 (2013) 一篇探討檸檬桉葉內部成分以及其對於致病性微生物之影響的論文中，檢測樣本為檸檬桉葉，但內部成分並無香茅醛 (citronellal)，卻有高達 44.1% 之桉葉油醇 (Eucalyptol)。Siddique 等 (2013) 一篇探討檸檬桉葉內部成分對於帕金森氏症模型之論文中，其內部成分檢測結果亦缺乏香茅醛 (citronellal)。

Manika 等 (2012) 一篇探討不同月份採集對於檸檬桉葉內部成分影響之論文中，其內部成分檢測結果至少 80% 為香茅醛 (citronellal)。Bossou 等 (2015) 比較檸檬桉葉以及三種香茅屬下之植物其內部成分及驅蚊能力之論文中，其檢測之檸檬桉葉內部主要成分為香茅醛 (citronellal)。Koundal 等 (2015) 檢測檸檬桉果實內部成分並檢測，香茅醛 (citronellal) 並非其內部之主要成分。

上述幾篇研究其題目皆提及所採用之樹葉為檸檬桉葉，但其中兩篇其內部主要成分顯然並非香茅醛 (citronellal)，因此在本研究進行前，有必要藉由確認樹葉內部成分判斷其樹種是否為檸檬桉。



## 2.3 廚餘處理

早期台灣為農業社會，大部分廚餘之用途為養豬，不僅能夠處理廢棄物，亦可達成資源再利用之目的，但隨著社會結構逐漸轉變，目前台灣為以服務業為主之工商業社會，因此在都會區內，廚餘的處理變成一項議題，我國對於廚餘處理之政策亦有其對策。

2001 年英國疑似因廚餘處理不當而爆發大規模口蹄疫，因此我國農委會在 2005 年擬發布禁止廚餘養豬之政策，但環保署以及農民皆持反對意見，在協商之後決定未來雖能繼續以廚餘養豬，但廚餘用於養豬之前必須經過以 90 °C 持續至少 1 小時之高溫殺菌前處理程序。但廚餘之含水率高，容易腐敗，若經由長途運輸，過程中勢必增加更多細菌滋生，即使在豬隻食用之前經過殺菌程序，其廚餘品質還是令人堪憂。

目前台灣尚未看到以亞臨界水處理廚餘之裝置，而在日本目前已有使用亞臨界水裝置來處理廢棄物之案例(網路資料:)。若能在廚餘運送前即經過一脫水殺菌程序，不僅能讓運送過程更衛生且亦降低其運輸成本，為一舉兩得之好方法。

1. <https://www.youtube.com/watch?v=u6g3F02wTKs>
2. [https://www.youtube.com/watch?v=nv\\_H56Pc4KQ](https://www.youtube.com/watch?v=nv_H56Pc4KQ)

## 第三章 實驗設備與方法



### 3.1 實驗藥品與儀器設備

#### 3.1.1 實驗藥品

香茅醛標準品、桉葉油醇標準品、乙酸乙酯、無水硫酸鎂由 Sigma-Aldrich 公司購得（美國密蘇里州）。實驗中所使用之去離子水（deionized water）是由尚偉股份出產之 RDI 純水系統製造（台灣台北），其電導係數（conductivity）皆小於  $1 \mu\text{S cm}^{-1}$ 。氣相層析系統所使用之氮氣、零級空氣、氫氣由億峰氣體有限公司購得（台灣桃園）。

樹葉樣品為台灣各地野外採集而得，以  $-18^{\circ}\text{C}$  保存。

#### 3.1.2 實驗儀器設備

粉碎機由祐麒機械有限公司購得（台灣彰化）。微量吸管由 Gilson 公司（20~200  $\mu\text{L}$  系列，美國威斯康辛州）。電子天秤由 Shimadzu 公司購得（ATX-224 及 BL-3200H 系列，日本京都）。HPLC 高壓幫浦由日本 Jasco 公司購得（880-PU 系列，日本京都）。不鏽鋼空 column 由立行科技有限公司購得（LCS-WF-20-100-2-S 系列，台灣台北）。氣相層析系統由台灣安捷倫科技股份有限公司購得（HP-6890 系列，台灣台北）。氣相層析系統內部之分析管柱由台灣安捷倫科技股份有限公司購得（HP-5MS 系列，part number:19091S-433，台灣台北）。20 ml 樣品瓶、50 ml 巴士萃取管、濾紙、GC-vial 瓶由德記儀器購得（台灣新北）。背壓閥由台灣管件公司購得（44-1862-24-012 系列，台灣新竹）。加熱帶由 Newlab instruments co 購得（HT-720K 系列，台灣台北）。批次式亞臨界水系統之溫控器及高溫高壓反應器、加熱器、壓力錶、鐵氟龍杯組由宏惇公司購得（型號分別為 HCT-200、BO-300、HEAT-7000、PRE-1000、TF-300 系列，台灣台北）。用電計費器由太星電業股份有限公司購得（OTM737 系列，台灣台中）。水分測定儀由梅特勒托利多股份有限公司購得（HG63 系列，台灣台北）。



## 3.2 檸檬桉葉與細葉桉葉採集及內部成分分析

### 3.2.1 標準品配置及檢量線製作

香茅醛為檸檬桉葉內部主要成分，將香茅醛標準品溶於乙酸乙酯當中，配置四種不同濃度，分別為 10  $\mu\text{g/mL}$ ，100  $\mu\text{g/mL}$ ，1  $\text{mg/mL}$ ，10  $\text{mg/mL}$ ；桉葉油醇為細葉桉葉內部主要成分，將桉葉油醇標準品溶於乙酸乙酯當中，配置三種不同濃度，分別為 10  $\mu\text{g/mL}$ ，100  $\mu\text{g/mL}$ ，1  $\text{mg/mL}$ 。將兩種標準品溶液分別以氣相層析系統檢測，觀察標準品其特徵出峰時間，做為日後定性之基礎。

檢量線製作， $N=3$ ，配製香茅醛標準品濃度分別為 5  $\mu\text{g/mL}$ 、10  $\mu\text{g/mL}$ 、40  $\mu\text{g/mL}$ 、70  $\mu\text{g/mL}$ 、100  $\mu\text{g/mL}$ ，並以氣相層析系統檢測後，以濃度對訊號強度做檢量線。

### 3.2.2 樹葉之採集

#### 3.2.2.1 標示檸檬桉之樹種

蒐集野外以及自種具有確實標示檸檬桉之樹種，採集之部位為葉子，共 6 處有標示檸檬桉之樹種其分布位置以及 GPS 座標如下，自種之檸檬桉由台北花卉村購入。

表 3-1 具有檸檬桉標示之樹種地點分布及 GPS 座標

地點	數量	GPS 座標
台北植物園外	1 棵	WGS84 (121.508489,25.031066)
台北市興隆路三段旁	4 棵	WGS84 (121.559123,24.993665)
新竹載熙國小	12 棵	WGS84 (120.962553,24.816450)
新竹高峰植物園內	10 棵	WGS84 (120.982443,24.788203)
成功大學工科系館前	10 棵	WGS84 (120.220288,22.996602)



### 3.2.2.2 標示細葉桉之樹種

蒐集野外具有確實標示細葉桉之樹種，採集之部位為葉子，共 2 處有標示細葉桉之樹種其分布位置以及 GPS 座標如下。

表 3-2 具有細葉桉標示之樹種地點分布及 GPS 座標

地點	數量	GPS 座標
台灣大學醉月湖	2 棵	WGS84 (121.537985,25.019616)
台灣大學總圖書館前	3 棵	WGS84 (121.540670,25.016920)

### 3.2.2.3 無標示檸檬桉及細葉桉之樹種

樹種外觀特徵皆符合檸檬桉及細葉桉，但無標示為哪一種樹種，共 10 處，其分布位置以及 GPS 座標如下。

表 3-3 未標示檸檬桉或細葉桉之樹種地點分布及 GPS 座標

地點	數量	GPS 座標
台大新生南路棒球場	6 棵	WGS84 (121.535615,25.021572)
新竹力行路上	20 棵	WGS84 (121.022526,24.776093)
新竹新竹國小內	1 棵	WGS84 (120.966283,24.795656)
新竹青峰路上	10 棵	WGS84 (120.976301,24.776046)
新竹學府路	1 棵	WGS84 (120.983505,24.796533)
台中文心公園內	10 棵	WGS84 (120.644107,24.144805)
台中五權西路上	1 棵	WGS84 (121.589937,25.071241)





### 3.2.3 樹葉之保存

本研究將新竹高峰植物園之檸檬桉樹葉，處以三種不同保存方式，分別為室溫保存 12 天，以及冷凍-4°C 保存 12 天、120 天，保存後將三種不同保存方式之樹葉粉末秤取 2 g 以 15 mL 乙酸乙酯萃取，並以超音波震盪器震盪 15 mL，待其分層後以 1 mL 微量吸管取上層液體至 GC-vial 瓶中並送至氣相層析儀中檢測，比較不同保存方法之優劣性。

### 3.2.4 樹葉均質化前後比較

雖已經解決樹葉保存之問題，但樹葉成分亦具有個體差異，是實驗誤差來源之一，若想降低此誤差來源則須將樹葉做均質化之處理以確保同一批採集之樹葉其內部成分分布平均。本研究將自新竹高峰植物園採集之樹葉分為未均質處理及均質處理兩組。未均質處理方法將樹葉剪取成面積不超過 1 cm<sup>2</sup>；而均質處理方法為在剪取樹葉後再將其置於粉碎機內部，粉碎時間為 1 min。

而後收集兩組粉末各 2 g，並個別加入乙酸乙酯 15 mL 後置於超音波震盪器震盪 15 min，待其萃取液澄清後，以 1 mL 之微量吸管吸取萃取液至 GC-vial 瓶中並送至氣相層析系統檢測，比較樹葉均質化前後差異。

### 3.2.5 檢測內部成分以確認樹種

由 4.1.4 之實驗結果可發現均質化為較好之處理方式，因此將均質化後樹葉粉末秤取 2 g 置入 20 mL 樣品瓶中，以 5 mL 之微量吸管吸取 15 mL 乙酸乙酯加入樣品瓶，將樣品瓶置於超音波震盪槽中震盪 15 min，震盪完之萃取液待其明顯分層後，以 1 mL 之微量吸管吸取上部澄清液至 GC vial 瓶中，將 vial 瓶送入氣相層析系統以檢測內部成分，以出峰時間判斷其為何種樹種。



### 3.3 動態式亞臨界水系統萃取檸檬桉葉及檢測

#### 3.3.1 動態式亞臨界水萃取設備

圖 3-1 為本研究使用之流動式亞臨界水萃取設備示意圖，各個設備用途說明如下。系統前端架設一 HPLC 高壓幫浦，能夠輸送流體並且調整輸送流速；而後接上一不鏽鋼空管柱，其尺寸為內徑 20 mm，長度 100 mm，材質為 316 不鏽鋼，空管柱為萃取進行之處；空管柱上則纏繞加熱帶，並於空管柱與加熱帶間放置溫度感測器以測定加熱時的溫度；空管柱後端則接上一背壓閥以調控萃取時的壓力參數；最末端設置收集器以收集萃取液。

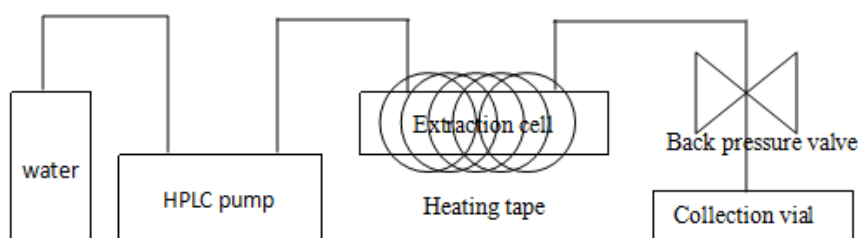


圖 3-1 動態式亞臨界水萃取設備示意圖

#### 3.3.2 動態式亞臨界水萃取檸檬桉葉流程

將確認過之檸檬桉葉粒徑選取 250~500  $\mu\text{m}$  (Mesh no 60~30) 並秤取 2 g 置於不鏽鋼 column 當中，實驗中壓力參數介於 40  $\text{kg}/\text{cm}^2$  至 50  $\text{kg}/\text{cm}^2$  之間 (約介於 38 atm 至 48 atm)，而後將 column 以加熱帶纏繞，接著打開 HPLC pump，流速設定 1 mL/min，待 column 內部充滿水時，關閉 HPLC pump 並以計時器計時 5 min 後，再打開 HPLC pump 並以 1 mL/min 之流速，收集萃取液，收集時間為 15 min，收集後暫時關閉 HPLC pump，並將溫控器調整至 50°C 維持 5 min，打開 HPLC pump，以流速 1 mL/min，收集萃取液 15 min，而後暫時關閉 HPLC pump，並將溫控器調整至 100°C 維持 5 min，打開 HPLC pump，以流速 1 mL/min，收集萃取液 15 min，而後暫時關閉 HPLC pump，並將溫控器調整至 150°C 維持 5 min，再打開 HPLC pump，以流速 1 mL/min，收集萃取液 15 min，而後暫時關閉 HPLC pump，並將溫

控器調整至 200°C 維持 5 min，打開 HPLC pump，以流速 1 mL/min，收集萃取液 15 min，接著關閉 HPLC pump。待系統降溫後取出空管柱內部之樹葉粉末並開啟 HPLC pump 洗淨管路。



### 3.3.3 液液萃取

由於氣相層析檢測系統其檢測樣品若含有水，會使得檢測系統中的層析管柱有毀損之疑慮，因此較不適合使用溶劑為水之樣品。但本研究之萃取環境不可避免地會使用到水，故在檢測前須做溶劑轉移的步驟，方法為將不同溫度之亞臨界水萃取液和有機溶劑以 1:1 比例配置去萃取。本研究則使用乙酸乙酯當作再度萃取之有機溶劑，將 3.3.2 得到之樣品取 15 mL 分別置於巴氏萃尿管中，在每個萃尿管中皆加入 15 mL 之乙酸乙酯，而後將五支萃尿管施以超音波震盪 15 min，待其清楚分層後，取上層液體置於 20 mL 之樣品瓶中，並加入 1 g 之無水硫酸鎂除水，之後以濾紙過濾得濾液，再以 1 mL 之微量吸管吸取濾液至 GC-vial 瓶中，並送至氣相層析儀檢測。

### 3.4 批次式亞臨界水系統萃取檸檬桉葉及檢測

由於以流動式亞臨界水系統之萃取效率不佳，因此改以批次式亞臨界水系統處理檸檬桉葉，欲利用其與溶質接觸時間較久之特點，期望能夠增進其質傳效率因而能改善流動式亞臨界水其萃取效率不佳之問題。

### 3.4.1 批次式亞臨界水系統架構

批次式亞臨界水系統由高溫高壓反應器為主體，並搭配鐵氟龍杯、加熱器、溫控器、壓力表、pt 1000 溫度感測器所組成。高溫高壓反應器提供一耐高溫及高壓之環境；將欲萃取物質裝入鐵氟龍杯中；加熱器為熱量來源；溫控器可設定反應溫度；壓力表則能讀出即時系統壓力。



圖 3-2 批次式亞臨界水系統

#### 3.4.1.1 批次式亞臨界水萃取檸檬桉葉及液液萃取

將確認過之檸檬桉樹葉秤取 20 g 置入 300 mL 去離子水中 30 min，後留下樹葉並丟棄萃取液，此舉能在萃取前除去一些水溶性物質。

接著將樹葉置入批次式亞臨界水系統內部，加入 100 mL 之去離子水，溫控器設定溫度 200°C，萃取時間 140 min，萃取完畢待其降溫後得到 80 mL 之萃取液。

取 15 mL 之萃取過後液體，裝入巴式萃尿管中，再加入 15 mL 之乙酸乙酯，以超音波震盪 15 min 加速物質的異相轉移，待其清楚分層後，取上層液體置於 20 mL 之樣品瓶中，接著加入 1 g 之無水硫酸鎂除水，之後以濾紙過濾，並以 1 mL 微量吸管取濾液部分至 GC-vial 瓶中後送至氣相層析系統檢測。

### 3.4.1.2 批次式亞臨界水系統測試高於常溫溶解度之香茅醛標準品

由於不論以流動式亞臨界水系統或是以批次式亞臨界水系統萃取檸檬桉葉之結果皆不如預期，推測香茅醛在高溫環境會降解，因此配置濃度為 10 mg/mL 之 10 mL 水溶液四罐，分別將其中三罐置入容量為 220 mL 之鐵氟龍杯後，溫控器設定 200°C 開始加熱，待其內部溫度感測器分別達到 105°C、120°C、150°C 後關閉溫控器電源。並待其內部溫度降溫後，以 5 mL 之微量吸管吸取 10 mL 之萃取液至巴士萃取管中，再加入 15 mL 之乙酸乙酯進行異相轉移，超音波震盪 15 min 後以 1 mL 之微量吸管取上層液體至 GC vial 瓶中，而後送入氣相層析系統中檢測，確認香茅醛標準品在經過批次式亞臨界水之處理後是否還具有香茅醛之特徵峰，觀察萃取效率不彰之原因是否為溫度因素所造成。



### 3.5 氣相層析檢測系統

目前植物精油所使用的檢測方法大多使用氣相層析法，因此本研究亦使用其方法，以下介紹系統架構圖及原理。

#### 3.5.1 氣相層析檢測架構圖及原理

圖 3-3 為氣相層析系統示意圖，液體欲進入 injector port 時會由於 injector port 之高溫而將液體氣化成氣體；氣化後之氣體便被 carrier gas 所攜帶，常使用之 carrier gas 包括氮氣、氬氣等，本研究所使用之 carrier gas 為氮氣；當 carrier gas 攜帶被氣化之樣品進入 column 時，由於樣品中不同成分對於 column 成分之親和力亦不同，因此會在不同時間於 column 內部產生滯留，進而達成分離混合物之效果；column oven 能夠設定系統之升溫速率，進而影響物質分離時間之快慢；detector 為檢測器，能夠將分離出之物質轉變為可偵測之訊號，氣相層析系統後端較常見為質譜儀 (Mass Spectrometer) 以及火焰離子偵測器 (Flame Ionization Detector)，本研究使用火焰離子偵測器 (FID)；recorder 則是將 detector 所檢測之訊號轉移至電腦上，使得分析結果得以被觀察。

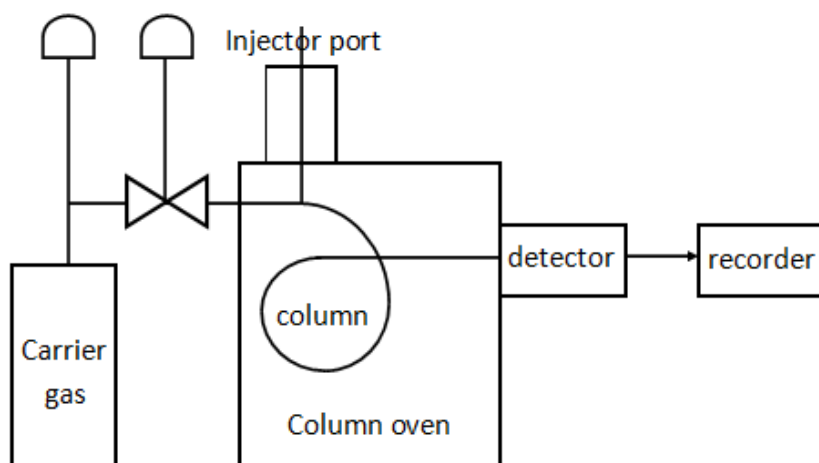


圖 3-3 氣相層析系統示意圖

### 3.5.2 氣相層析檢測參數

所有樣品之後端檢測系統參數條件皆如下:進料端溫度為 250°C,原本為液體的樣品在進入進料端後氣化成氣體並以分流比 5:1 之比例進入管柱,管柱內以流速為 1.5 mL/min 之高純度氬氣做為移動相。管柱烘箱設定為初始溫度 80°C,並以攝氏 1 °C/min 之速率升溫至 95°C,再以 20 °C/min 速率升溫至 250°C 後維持 11 min。偵測端在 250°C 之溫度下,與 40 mL/min 高純度氬氣、400 mL/min 零級空氣以及 35 mL/min 高純度氮氣所混合之穩流氣體進行火焰離子偵測。

### 3.6 批次式亞臨界水系統應用於廚餘處理

應用於廚餘處理之批次式亞臨界水系統較為特別之處為其在閥外部外接一太空管(型號多少??)並且導引至 500 mL 之裝有適量去離子水之錐形瓶當中,使得排出之水蒸氣遇冷水冷凝後能夠定量排出水之重量,圖 3-4 為實體架構圖。

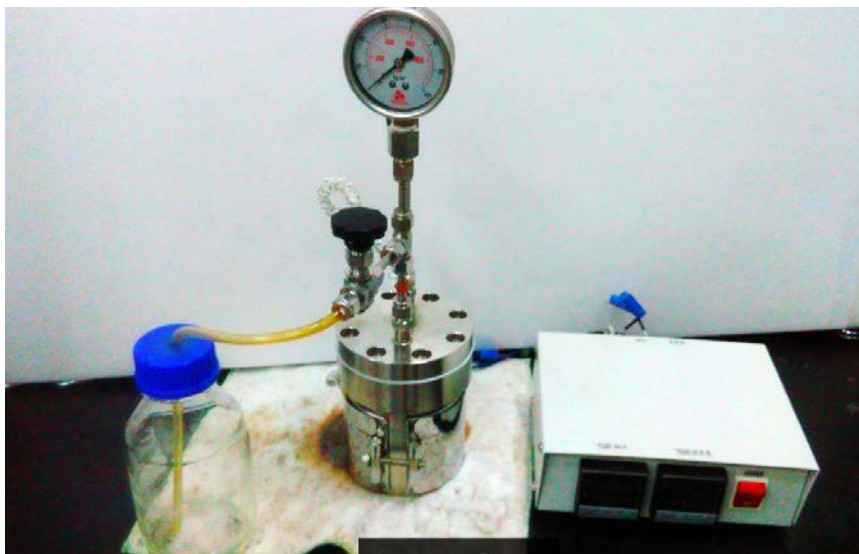


圖 3-4 批次式亞臨界水系統架構圖 (加入血清瓶)



### 3.6.1 以去離子水進行系統測試

將 50 mL 去離子水置入批次式亞臨界水系統中，溫控器溫度設定 200°C 開始升溫，每隔 5 min 紀錄一次系統溫度及壓力，以溫度對壓力作圖並和理想 Antoine 方程式做比較，藉此判斷系統中是否達到理想液氣共存狀態。

### 3.6.2 以米飯進行系統測試

以去離子水測試後，將 3 g 之米飯置入批次式亞臨界水系統中進行實際測試，溫控器溫度設定 200°C 開始升溫，每隔 5 min 紀錄一次系統溫度及壓力，以溫度對壓力作圖並和理想 Antoine 方程式做比較，藉此判斷 3 g 米飯系統中是否足夠達到液氣共存狀態。

### 3.6.3 米飯以批次式亞臨界水系統定溫排水

以電子天平每次秤取米飯 65 g 至批次式亞臨界水系統中，進行改變溫度且固定其餘參數之實驗，溫控器溫度設定 200°C 後開始升溫，三次實驗分別在溫度 150°C、160°C、170°C 進行開閥排除水蒸氣，僅開閥一次，並搭配用電計紀錄所耗能量，比較不同溫度選取一個最佳開閥溫度。

#### 3.6.3.1 溫壓紀錄及排去水分統計

實驗時每 5 min 紀錄一次系統之溫度壓力。實驗後比較三次實驗中第一次不同溫度開閥所能排除水分並且搭配所消耗電能，計算出排除每克水所需要之耗電量。

#### 3.6.3.2 理論耗能和實際耗能比較

以理論計算及實際用電計費器所記錄之耗電量做比較，推算出能源利用效率。理論上將 25°C 水加熱至 150°C 所需耗能可分為兩步驟。

將 25°C 水加熱至 150°C 所需之顯熱 (sensible heat)，此部分的熱為固定值。以及將 150°C 之水蒸發至 150°C 水蒸氣所需之蒸發熱 (heat of vaporization)，由於



溫度為蒸發熱之函數，不同溫度下水之蒸發熱有不同的值，因此此部分所需能量僅利用估算而得。



#### 3.6.4 米飯以批次式亞臨界水系統進行多次開閥

由於批次式亞臨界水系統無法一次開閥即排去所有水分，若欲達成脫水目的勢必得進行多次開閥，因此進行多次開閥實驗以增加排除之水分。

以電子天平秤取 65 g 米飯至批次式亞臨界水系統中，溫控器溫度設定 200°C 後開始升溫，並每隔 60 min 開閥一次，共開閥三次，並計算每次排去之水分，實驗前後並以紅外線水分儀測定米飯含水率。

#### 3.6.5 去離子水以批次式亞臨界水系統定壓排水

3.6.3 節以實驗決定了最佳開閥溫度，3.6.4 節則可發現多次開閥較單次開閥能夠排去更多水分之結論，但由於溫度不適合當作多次開閥之參數，因此本節改以壓力進行多次開閥實驗參考之參數。

使用米飯之前先以去離子水做測試，將 100 mL 去離子水置入批次式亞臨界水系統中，溫控器設定 200°C 開始加熱，待其壓力升至 5 atm 時，開閥 2 min 以排除內部水蒸氣；而後再度關閥，待其壓力再度升至 5 atm 時，再度開閥 2 min，重複此步驟直到系統內部水分不足以使得壓力升高為止，實驗時並於每 5 min 記錄一次系統溫度壓力。在實驗前先將 500 mL 錐形瓶裝取適量去離子水並以電子天平秤取其重量，在開閥後再度以電子天平秤取錐形瓶重量，兩者重量差即為開閥所排去水分。

#### 3.6.6 米飯以批次式亞臨界水系統進行定壓排水

由於以壓力做為一個開閥指標較為直觀，因此進行定壓開閥之實驗。以電子天平秤取 65 g 米飯至批次式亞臨界水系統中，溫控器溫度設定 200°C 後開始升溫，待系統壓力升至 5 atm 時，開閥 2 min 以排除內部水蒸氣；而後再度關閥，待其壓力再度升至 5 atm 時，再度開閥 2 min，重複此步驟直到系統內部水分不足以使得壓力升高為止，實驗時並於每 5 min 記錄一次系統溫度壓力。

## 第四章 結果與討論



### 4.1 檸檬桉葉與細葉桉葉採集及內部成分分析

#### 4.1.1 標準品氣相層析檢測結果

##### 4.1.1.1 香茅醛標準品氣相層析檢測結果及檢量線

圖 4-1 將香茅醛標準品以五種不同濃度溶於乙酸乙酯中，分別為 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1  $\text{mg}/\text{mL}$ 、10  $\text{mg}/\text{mL}$ ，並以氣相層析檢測結果如圖 4-1 所示，由氣相層析圖譜得知，香茅醛標準品在 9.8 min 時有一明顯波峰。且若香茅醛濃度愈高，其訊號強度愈強，但濃度為 10  $\text{mg}/\text{mL}$  時檢測波峰形狀已不符合正常情況下之高斯分布，因此濃度及訊號強度已不呈線性關係，故此種分析參數下，較理想檢測濃度為 1  $\text{mg}/\text{mL}$  以下。

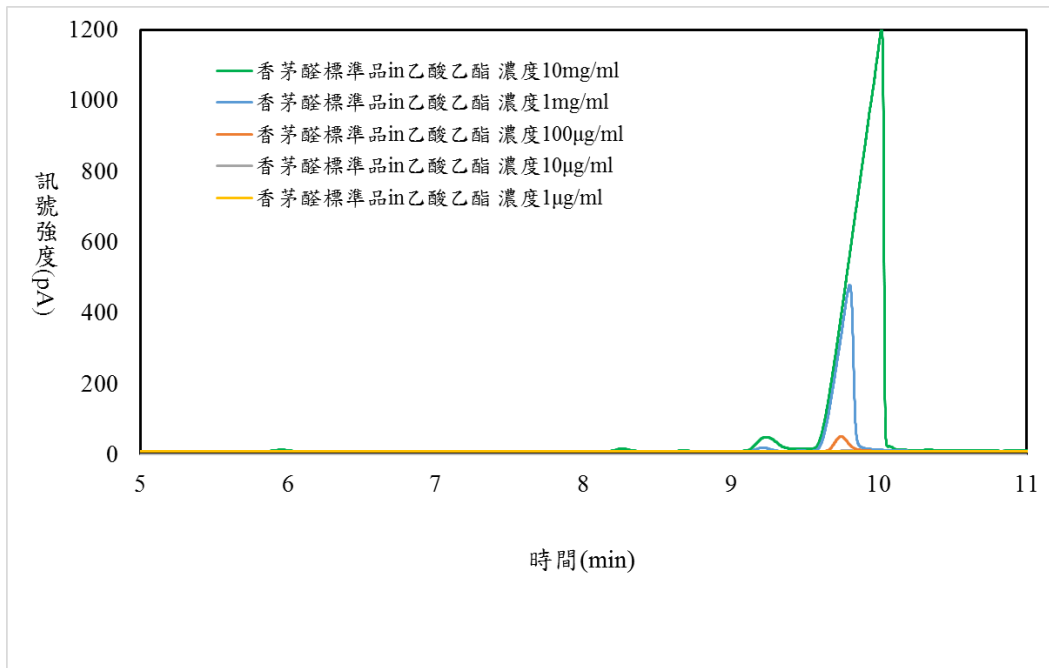


圖 4-1 香茅醛標準品以不同濃度溶於乙酸乙酯之氣相層析圖譜

圖 4-2 在 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  至 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  間取五個濃度製作檢量線，分別為 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、70  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ， $N=3$ ，標準差最大為 4.14，尚在可信任範圍。檢量線公式為  $y=0.5109x-1.3408$ 。

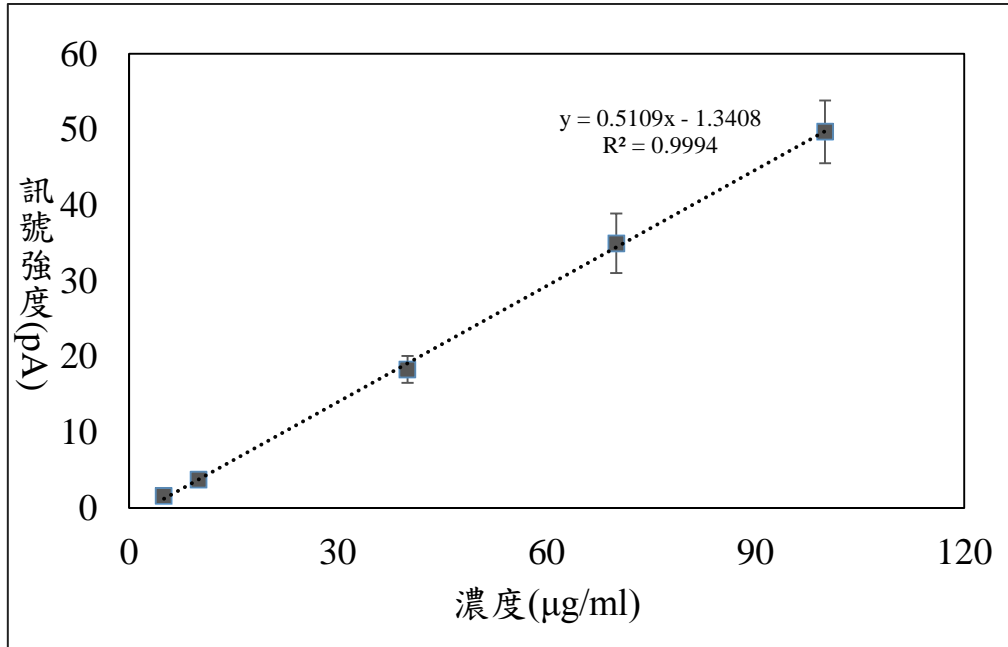
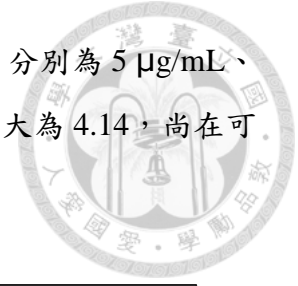


圖 4-2 香茅醛濃度 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  至 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之檢量線

#### 4.1.1.2 桉葉油醇標準品氣相層析檢測結果

將桉葉油醇標準品以三種不同濃度溶於乙酸乙酯中，並以氣相層析檢測之結果如圖 4-3，由氣相層析圖譜得知，桉葉油醇標準品在 5.5 min 時有一明顯波峰。

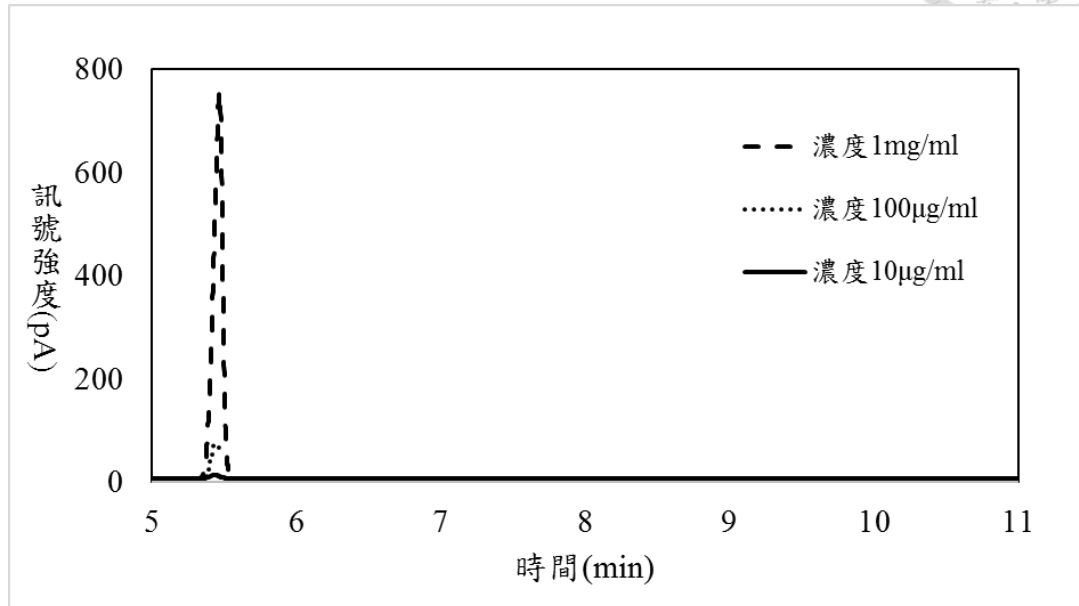


圖 4-3 桉葉油醇標準品溶於乙酸乙酯中之氣相層析圖譜



## 4.1.2 樹葉之採集

### 4.1.2.1 有標示檸檬桉樹種之氣相層析檢測結果

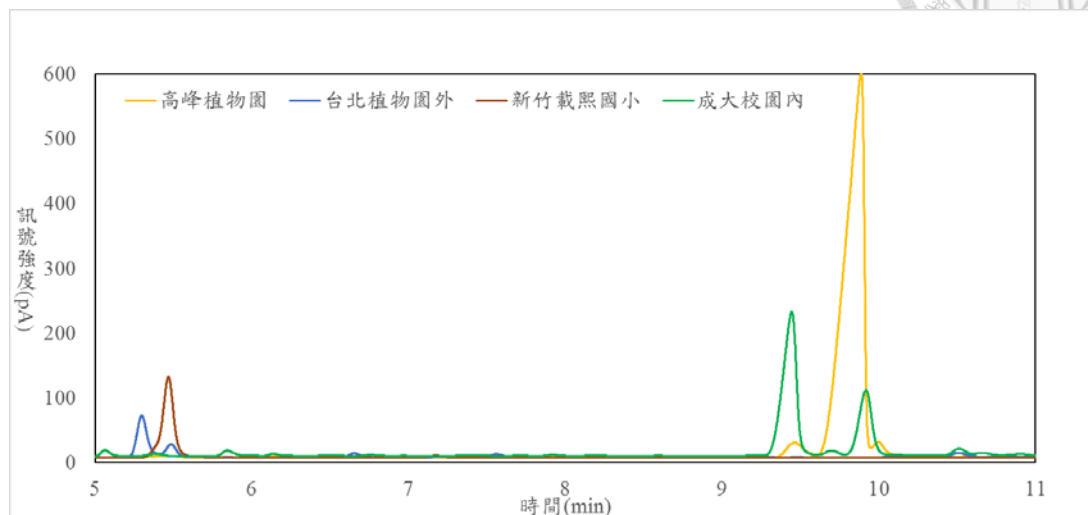


圖 4-4 標示為檸檬桉葉以乙酸乙酯萃取後之氣相層析結果

將全台各地標示為檸檬桉數種之樹葉 2 g 以 15 mL 乙酸乙酯萃取後，以氣相層析系統檢測後之結果如圖 4-4 所示。收集之 5 種有標示為檸檬桉樹種內，具有之香茅醛特徵峰者只有其中 2 種，其餘 3 種之特徵峰出現於 5.5 min，為細葉桉樹種特徵峰。由結果可推斷並非所有樹種皆有正確標示之情況。

由於未來選取高峰植物園之檸檬桉葉做為亞臨界水系統實驗對象，因此將高峰植物園訊號強度代回圖 4-2 之檢量線當中得到香茅醛濃度大略為 1177  $\mu\text{g/mL}$ 。乘上所使用之乙酸乙酯體積 15 mL 後可得 17655  $\mu\text{g}$ ；除以樹葉 2 g 重後得到以乙酸乙酯萃取之萃取效率為 0.88%。

#### 4.1.2.2 有標示細葉桉樹種之氣相層析檢測結果

將標示為細葉桉樹種之樹葉 2 g 以 15 mL 乙酸乙酯萃取後，以氣相層析系統檢測後結果如圖 4-5 所示。共收集兩種具有清楚標示細葉桉之樹種，由圖譜觀察其特徵峰出現於 5.5 min 時，和圖 4-3 桉葉油醇標準品出峰時間相同，因此推測其樹種確實為細葉桉，無標示錯誤情形。

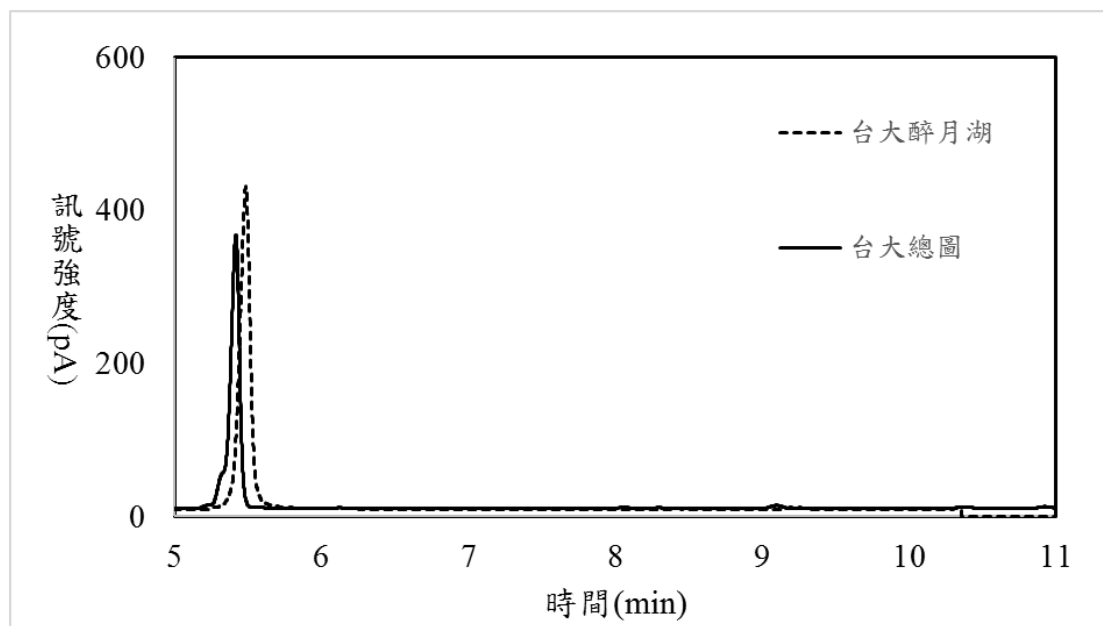


圖 4-5 標示為細葉桉葉以乙酸乙酯萃取後之氣相層析結果。



#### 4.1.2.3 未標示樹種之氣相層析檢測結果

將未清楚標示為檸檬桉或細葉桉之樹種，取其葉片部分 2 g，並以 15 mL 乙酸乙酯萃取後，以氣相層析系統檢測後結果如圖 4-5 所示。共收集 7 地方之樹葉，由圖譜觀察出其中僅 1 地區之葉片內部主要成分溶出時間落在 9.8 min，為香茅醛；其餘六地區主要成分溶出時間皆落在 5.5 min，為桉葉油醇。可合理推斷由 7 地區採集而來之樹葉僅 1 種為檸檬桉，其餘 6 種皆為細葉桉。

綜合各種結果推斷，目前所採集 13 種來自不同地區之樣品，具有香茅醛之特徵峰者只有 3 種；而 5 處有標示為檸檬桉樹種之內部成分，只有 2 處內部主要成分為香茅醛，其餘 3 處內部主要成分為桉葉油醇，因此台灣目前存在樹種標示錯誤之問題。

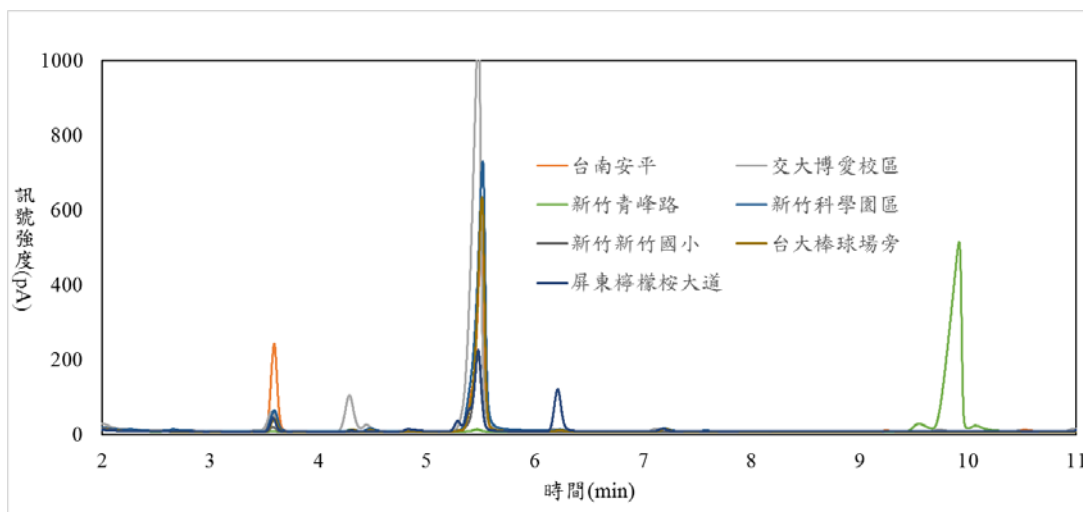


圖 4-6 無標示為檸檬桉或細葉桉樹種之氣相層析檢測結果

### 4.1.3 樹葉保存結果比較

將粉碎過之檸檬桉葉，以 3 種不同方式處理。稀疏線為施以冷凍 4°C 保存 12 天結果；黑實線為以冷凍-4°C 保存 120 天結果；密集線為以室溫保存 12 天後結果。

由冷凍及室溫保存同樣保存 12 天之數據觀察出，室溫保存 12 天後，其香茅醛之特徵峰已明顯消退；而以冷凍保存 12 天後其香茅醛特徵峰仍然未消退。而以冷凍保存 12 天及 120 天數據可以看出，不論以 12 天或以 120 天保存，其香茅醛特徵峰依然未消退。因此相較於室溫保存，冷凍保存為較好方式，且以冷凍方式能夠保存樹葉內部成分至少 120 天。

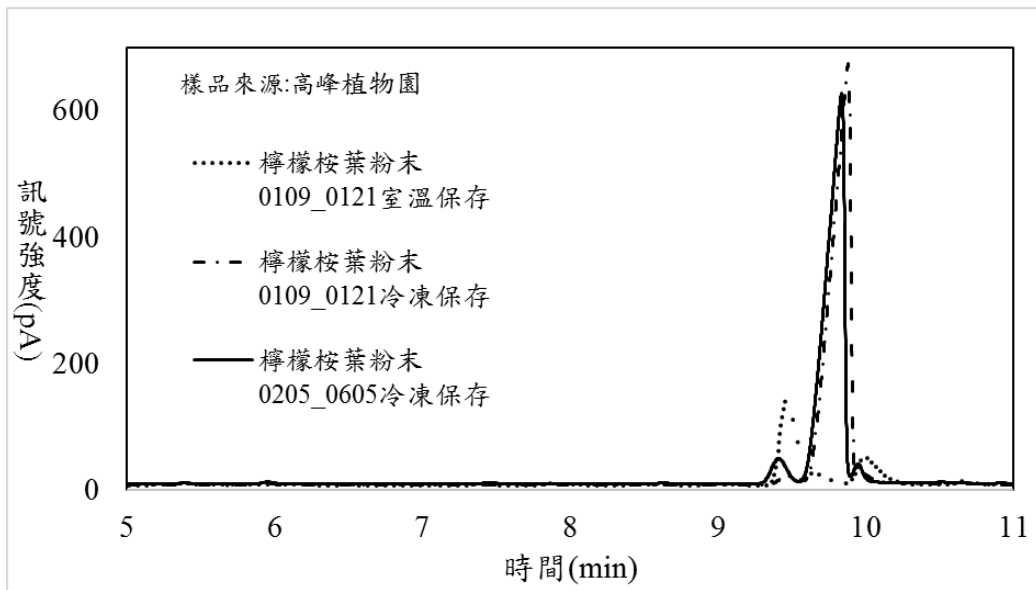


圖 4-7 檸檬桉葉粉末經三種不同處理之氣相層析圖譜



#### 4.1.4 樹葉之均質化結果比較

由台北花卉村購買之自種檸檬桉葉均質化前後結果如圖 4-8 所示，實線為未均質化前之萃取結果；而虛線為將樹葉均質化後之萃取結果，兩者比較後得出均質化後之自種檸檬桉樹葉其訊號強度較強。因此未來進行亞臨界水實驗之樹葉皆會先進行均質化，以降低每次檢測之變異性。

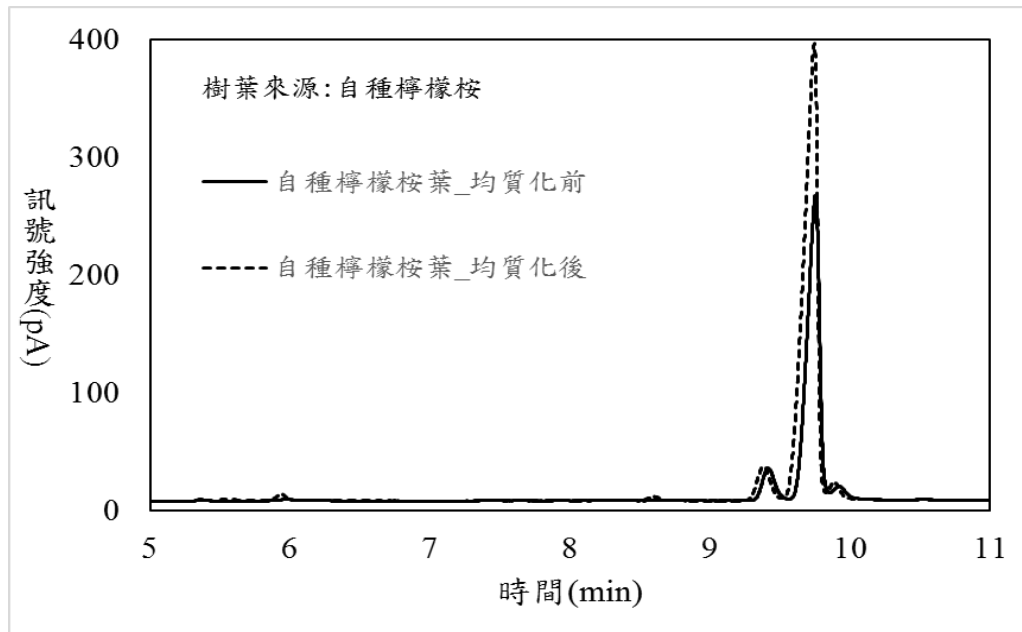


圖 4-8 檸檬桉葉均質化前後之氣相層析圖譜比較

#### 4.2 動態式亞臨界水系統應用於萃取檸檬桉葉內部成分分析結果

由圖 4-9 數據觀察溶出時間 9.8 min 可以看出，在溫度逐漸增加下，香茅醛特徵峰訊號亦有變大趨勢，因此在溫度愈高時，其萃取效率具有明顯提升，推論在溫度上升時，會因為介電常數的下降而製造了有利於香茅醛萃取之環境。

但若將圖 4-9 數據與圖 4-4 數據相比較下，能夠觀察出以亞臨界水萃取訊號強度比有機溶劑萃取訊號強度低了 6 倍，且在溶出時間 9.5 min 出現了以有機溶劑萃取未出現之波峰，推測是由於高溫導致了香茅醛成分之降解，造成了其他物質生成，因此相較於有機溶劑萃取結果，出現了新的波峰。

綜合比較下，在溫度達成亞臨界狀態時，雖然由於介電常數下降，因此對於非極性物質其萃取效率會提升；但溫度上升時亦可能會造成欲萃取物質降解，造成欲萃取物質其萃取效率降低。由實驗結果推論在溫度升高時降解所造成的效應較大，因而造成萃取效率較有機溶劑萃取低落。

將四種溫度萃取結果代入圖 4-2 之檢量線中，得到以不同溫度對應至萃取出來濃度分別為 8.49、10.45、12.41、31.98  $\mu\text{g/mL}$ 。乘上所使用之 column 體積 30 mL 後可得 254.7、313.5、372.3、959.4 $\mu\text{g}$ ；分別除以使用之樹葉 2 g 重後可得到萃取效率分別為 0.013%、0.016%、0.019%、0.048%。和 4.1.2.1 節有機溶劑萃取之效率為 0.88% 相比，使用亞臨界水之萃取效率低了將近 20 倍。

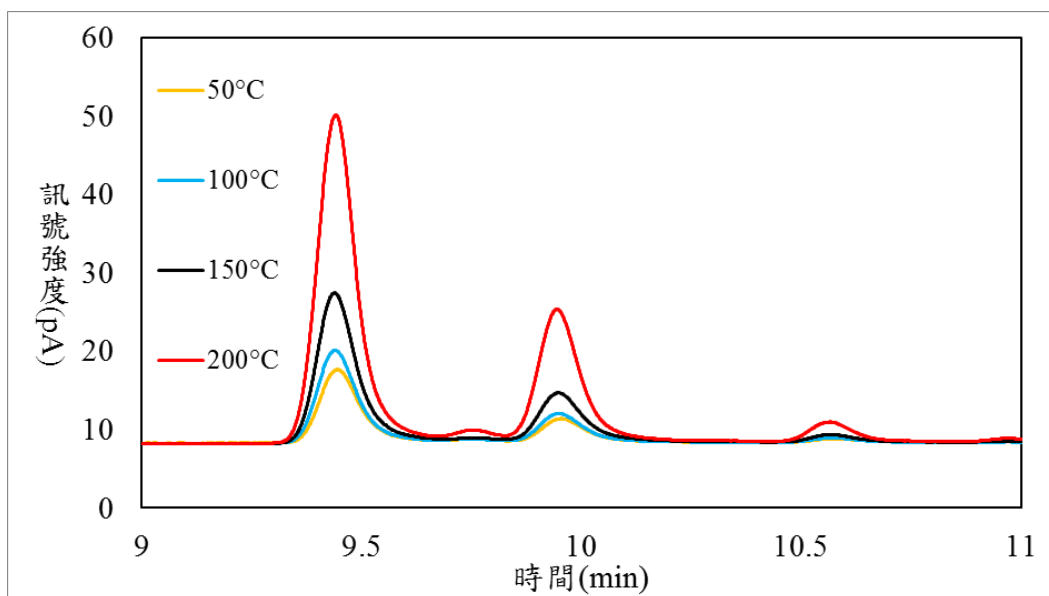


圖 4-9 不同溫度亞臨界水萃取 2 g 高峰植物園檸檬桉葉粉末之檢測結果

而圖 4-10 為自種檸檬桉葉 2 g 之亞臨界水萃取結果，由結果明顯觀察出隨著溫度愈高，訊號強度並無隨之增加的趨勢，與圖 4-9 結果差距頗大，推測原因為高溫下具有兩種效應而造成實驗重複性不佳。

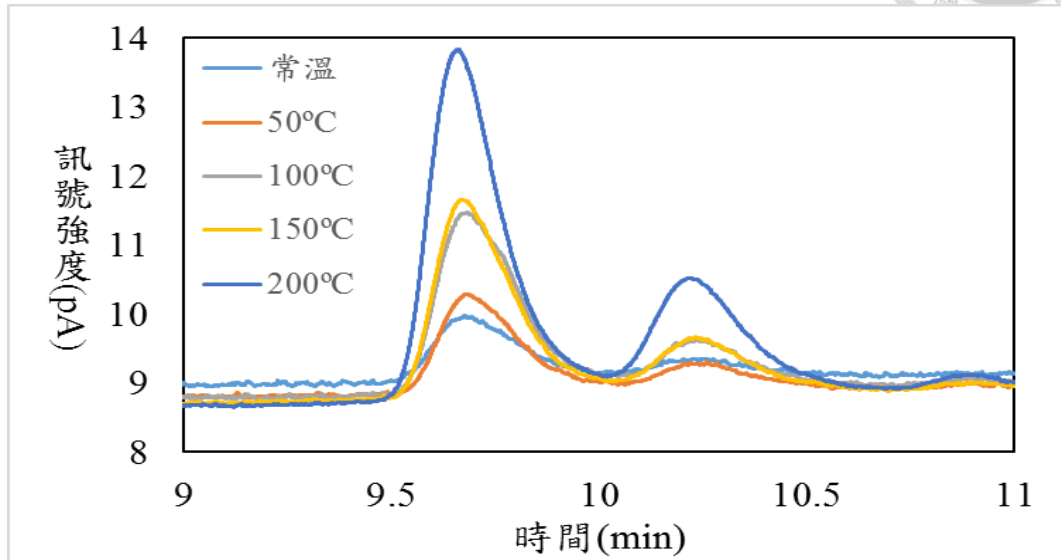


圖 4-10 不同溫度亞臨界水萃取 2 g 自種檸檬桉葉粉末之檢測結果

### 4.3 批次式亞臨界水系統應用於萃取檸檬桉葉內部成分

#### 4.3.1 批次式亞臨界水系統處理標準品之結果

由先前流動式亞臨界水萃取結果可得知檸檬桉葉內部香茅醛成分可能受到溫度因素影響而降解。因此將香茅醛標準品經過高溫處理，觀察其在高溫下是否穩定。圖 4-11 為以 3 種不同溫度處理濃度為 10 mg/mL 香茅醛水溶液 10 mL 之結果，藍線為經過室溫保存結果；黃線、橘線、灰線分別為經過批次式亞臨界水以溫控器 105°C、120°C、150°C 之氣相層析檢測結果。

結果顯示當溫度愈高時，香茅醛訊號強度愈強，顛覆了原先愈高溫香茅醛降解程度愈大之假設。明顯觀察出香茅醛標準品在經由高溫下處理後，其訊號強度減低，並且部分降解成出峰時間 9.4 min 物質，和以兩種亞臨界水系統處理檸檬桉葉結果能夠相互呼應。

探究其原因可能為實驗前香茅醛水溶液配置太濃，25°C 下香茅醛在水中溶解度為 38.94 mg/L，相當於 38.94  $\mu\text{g/mL}$ ；而本次實驗所配置濃度為 10 mg/mL，遠遠超過其溶解度，因此會造成香茅醛在水中分布不均勻之現象，若附著於系統管壁

上水滴有較多量香茅醛而未進入檢測系統中，會導致香茅醛含量被低估之情形，故進行高溫降解實驗時香茅醛須盡量處於一勻相環境中，以避免實驗誤差。

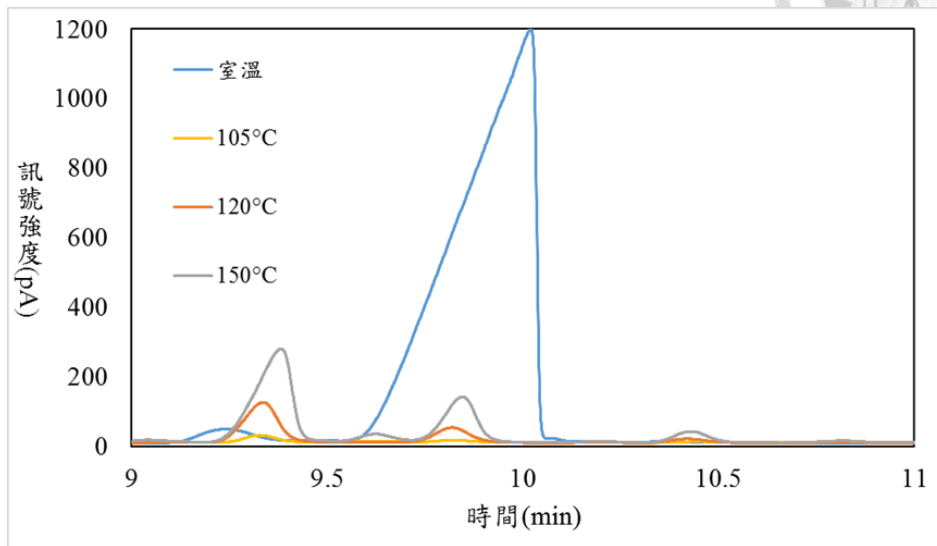


圖 4-11 香茅醛標準品經批次式亞臨界水系統以不同溫度處理之結果

圖 4-12 所配置香茅醛濃度為 22  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，低於常溫下香茅醛溶解度 (38.94  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )，因此去除了非均相系統可能造成之影響。並以四種不同溫度處理，藍線為以常溫保存；而橘線、灰線、黃線三者分別為以 120°C、140°C、160°C 處理結果。

由結果可得知在愈高溫時其訊號強度愈低。且由於配置香茅醛濃度過低，因此由結果觀察出高溫下已全部降解為其餘物質，證明了香茅醛在高溫下確實會降解。

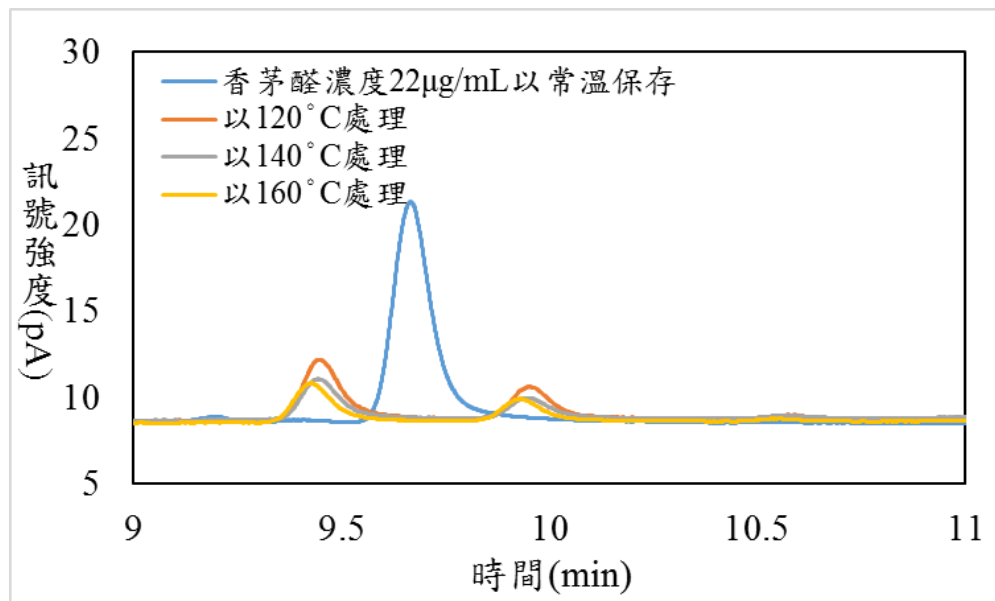


圖 4-12 香茅醛濃度 22  $\mu\text{g}/\text{mL}$  經批次式亞臨界水系統以不同溫度處理之結果

#### 4.3.2 批次式亞臨界水系統處理檸檬桉葉之結果

圖 4-13 為將 100 mL 之去離子水加入批次式亞臨界水系統並萃取 20 g 高峰植物園檸檬桉葉之結果，溫控器設定為 200°C，待其系統達到 130°C 時立即關閉電源。由圖譜觀察出以批次式亞臨界水系統萃取之檸檬桉葉其香茅醛特徵峰訊號依舊未增大，反而在 9.4 min 特徵峰強度大過了香茅醛特徵峰強度 (9.8 min)，合理提出 9.4 min 之物質為 9.8 min 降解而成，但目前尚無法推論。

由圖 4-13 可觀察出在經過批次式亞臨界水系統處理後，檸檬桉葉中香茅醛 9.8 min 特徵峰訊號強度非常低，而 9.4 min 特徵峰較為突出，由於在圖 4-9 動態式亞臨界水系統萃取結果中亦能發現香茅醛特徵峰消退且 9.4 min 特徵峰生成現象，因

此兩者能夠相呼應，推論香茅醛在高溫下會降解，並降解成 9.4 min 之物質。

將 9.8 min 之訊號強度 20pA 代回圖 4-2 之檢量線中可得香茅醛濃度為 41.77  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，乘上所使用的去離子水體積 100 mL 後可得香茅醛重 4177  $\mu\text{g}$ ，而除以所用的檸檬桉葉重 20 g 後，得到萃取效率為 0.021%，和流動式亞臨界水系統之萃取結果相去不遠。

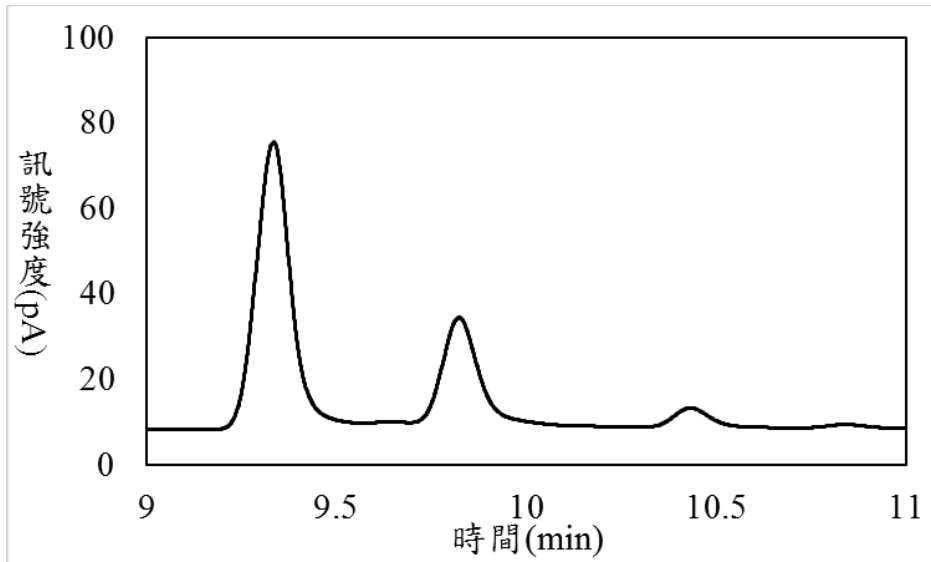


圖 4-13 20g 檸檬桉葉以批次式亞臨界水萃取之結果

#### 4.4 批次式亞臨界水系統應用於廚餘處理

##### 4.4.1 以去離子水進行系統測試之結果

應用於廚餘處理前，先以 50 mL 去離子水，溫控器設定 200°C（實際上最多僅能加熱至 180°C 左右），並紀錄批次式亞臨界水系統溫壓紀錄，紀錄時間為 3 hr 22 min，並將實驗結果以溫度對壓力作圖，將以去離子水之實驗結果與理想 Antoine 方程式做比較。

實驗結果如圖 4-14 所示，實線為將當時系統內部之溫度代入 Antoine 方程式中求得壓力後，以溫度對壓力做圖之結果。實線之意義為水達成液氣共存狀態，而實線以左為液相區、以右則為氣相區。

虛線為當時系統紀錄之溫度壓力做圖，可觀察出在 150°C 之前較偏離液氣共存狀態，而在 150°C 後虛線及實線之距離愈來愈靠近，推斷在 150°C 之後系統內

部之水逐漸達成液氣平衡，因此開閥時機盡量選取大於 150°C 為較理想之參數設定。

在理想狀態下，虛線應和實線重合，推測造成沒有重合的原因有二，第一為在剛開始加熱時，由於系統內部尚未達成平衡，因此造成差異較大；第二則為此系統使用壓力錶為指針式，所顯示之壓力讀值與真實壓力存在誤差，推斷實際上內部系統壓力應大於錶上壓力。

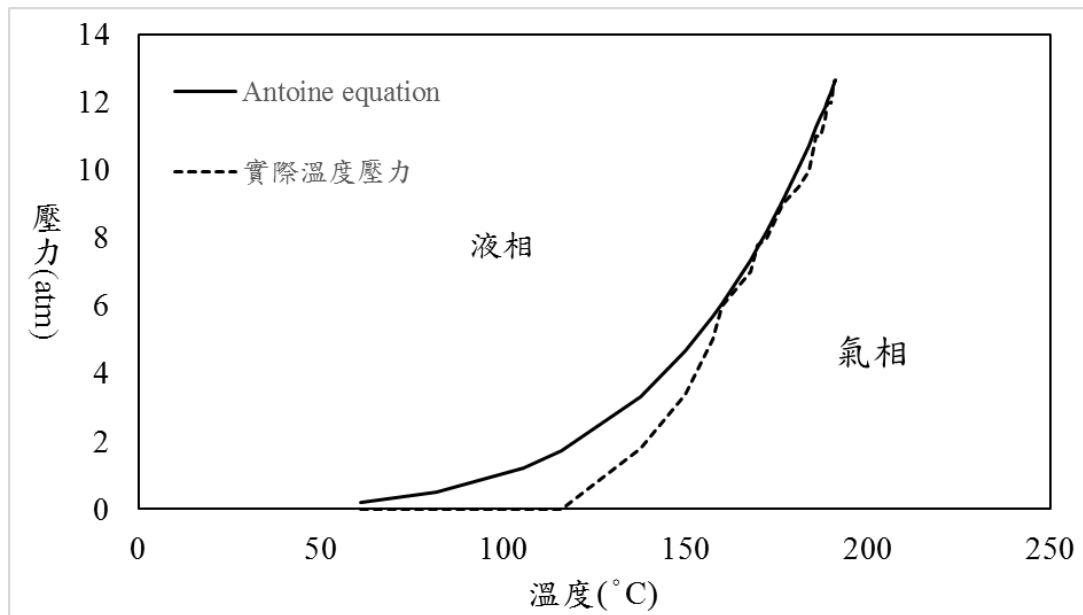


圖 4-14 批次式亞臨界水系統處理 50 mL 去離子水之溫壓紀錄

#### 4.4.2 以 3g 米飯進行系統測試之結果

以水測試系統後，改以 3g 米飯進行實際測試，其結果如圖 4-15 所示，實線為將當時系統內部之溫度代入 Antoine 方程式中求得壓力後，以溫度對壓力做圖之結果；虛線則是以 3g 米飯置入系統之溫度壓力做圖

明顯可觀察出米飯進入系統時相較於水，整個系統更偏向非理想狀態，而在溫度逐漸升高後虛線雖較接近於理想狀態中之實線，但還是相差一段距離，推測為 3 g 米飯內部之水分所能達成之壓力尚不足以到達 Antoine equation 之理想狀態。

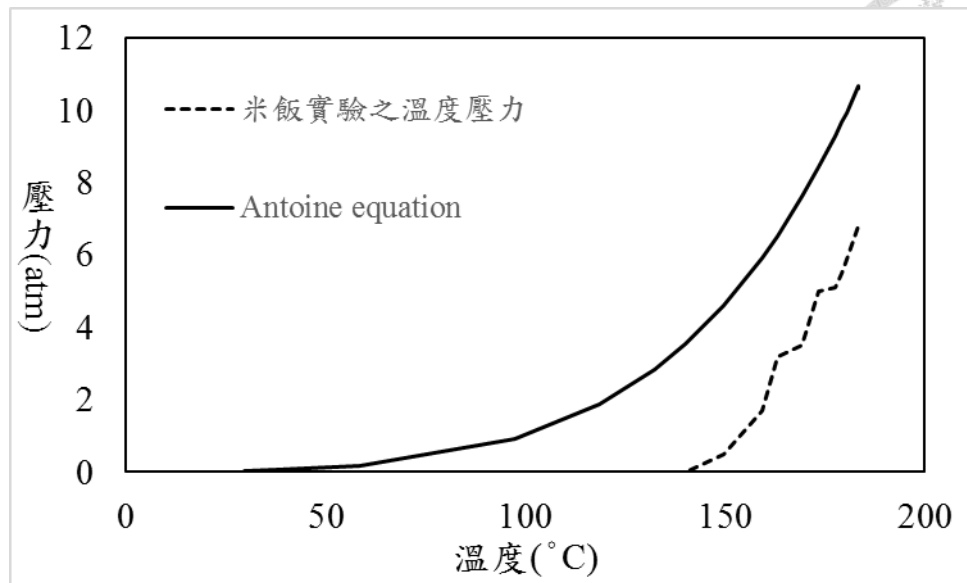


圖 4-15 批次式亞臨界水系統處理 3 g 米飯之溫壓紀錄

#### 4.4.3 米飯以批次式亞臨界水系統定溫排水

##### 4.4.3.1 溫壓紀錄及排去水分統計

批次式亞臨界水系統中，溫度參數以電子式面板顯示，而壓力參數則以指針式顯示，由於電子式顯示較能信賴，因此本研究首先嘗試以溫度作為開閥指標，探討不同溫度下開閥所能排除之水分以及耗電量多寡，進而決定最佳開閥溫度。

開閥溫度及排水量關係如表 4-1 所示。三組實驗分別在溫度不同時進行開閥，分別為 150°C、160°C、170°C。實驗結果明顯發現隨著開閥溫度愈高，排出水分亦有愈高趨勢，推測原因為愈高溫開閥時對應之壓力亦愈高，而壓力代表容器內水蒸氣含量，因此壓力愈高代表能排去水分愈多。



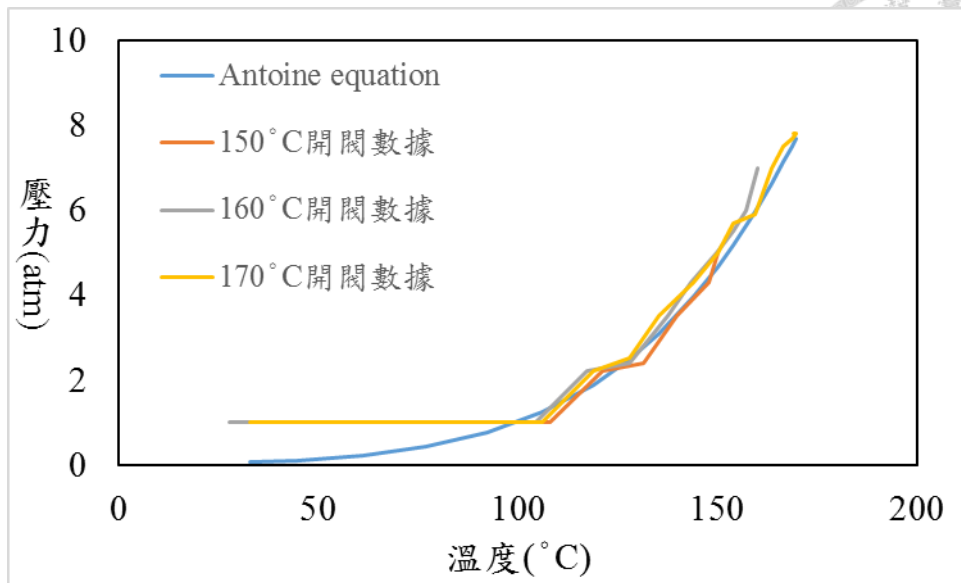
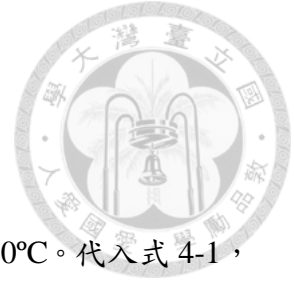


圖 4-16 批次式亞臨界水系統處理 65 g 米飯之溫壓紀錄

由表 4-1 得知在 160°C 時進行第一次開閥其單位克重耗電量為最低。因此若以定溫開閥的方式，160°C 為較好的開閥參數。

表 4-1 不同溫度對應之排水量關係

開閥溫度 (°C)	150	160	170
開閥壓力 (atm)	5	7	7.8
排去水分 (g)	3.68	6.2	7.21
耗電量 (kWh)	0.21	0.25	0.3
單位克重耗電量 (kWh/g)	0.057	0.040	0.042



#### 4.4.3.2 定溫開閥之理論耗能和實際耗能比較

$$H = MS\Delta T \cdots \text{式 4-1}$$

理論耗能以兩步驟計算，第一步驟為將 25°C 之水加熱至 150°C。代入式 4-1，H 為能量，單位為焦耳 (J)；M 為質量，單位為克 (g)；S 為比熱，單位為焦耳/克\* $\Delta$ 絕對溫度 (J/g\*K)； $\Delta T$  為溫度差。第二步驟為在加熱過程中水之潛熱，由於其為溫度之函數，若要精準計算則須以積分方式，因此此部分僅以概略計算，不同溫度之潛熱數值參考 engineering toolbox 網站而得，100°C 之潛熱為 2255 J/g；而 150°C 之潛熱為 2110 J/g。以 150°C 開閥實驗所排出水分重量為 3.68 g，將其代入上述公式中，得到理論耗能介於  $9.69 \times 10^3$  J 至  $1.02 \times 10^4$  J 之間。實際耗能为加熱至 150°C 並開閥後所得到之耗電量，參考表 4-1 可得到耗電量为 0.21 kWh，換算能量為  $7.56 \times 10^5$  J，因此以 150°C 開閥之能量利用率为  $9.69 \times 10^3$  (J) /  $7.56 \times 10^5$  (J) = 1.28% 至  $1.02 \times 10^4$  (J) /  $7.56 \times 10^5$  (J) = 1.35% 之間。

同理，以相同方式計算 160°C 開閥之能量利用率为  $1.64 \times 10^4 / 9 \times 10^5 = 1.8\%$  至  $1.75 \times 10^4 / 9 \times 10^5 = 1.94\%$  之間；170°C 開閥之能量利用率为  $1.91 \times 10^4 / 1.08 \times 10^6 = 1.77\%$  至  $2.06 \times 10^4 / 1.08 \times 10^6 = 1.91\%$  之間。

計算出之能源利用效率和單位克重耗電量比較後具有相同趨勢。表 4-2 為不同溫度之能源效率比較，為了表格簡潔，只取數值較大之值。

表 4-2 不同溫度之能源效率比較

開閥溫度 (°C)	150	160	170
理論耗能 (J)	$1.02 \times 10^4$	$1.75 \times 10^4$	$2.06 \times 10^4$
實際耗能 (J)	$7.56 \times 10^5$	$9 \times 10^5$	$1.08 \times 10^6$
能量利用率 (%)	1.35	1.94	1.91



#### 4.4.4 米飯以批次式亞臨界水系統進行定時多次開閥結果

實驗前米飯平均含水率為 57.03%，變異係數為 3%，並且每隔 60 min 開閥，開閥次數為三次。

實驗後排去 33 g 水分，剩餘米飯重量為 32 g，以紅外線水分儀測定含水率，共測定三次，含水率皆小於 10%，實驗後平均含水率為 9.1%，含水率數據其標準差為 0.46、變異係數則為 5%。

以排去水分計算，實驗後之理論含水率為 9.25%，和實際以紅外線水分儀測得之結果亦相符合。

表 4-3 多次開閥實驗前後含水率結果比較

排水實驗前測定 米飯重量(g)	排水實驗前含水 率(%)	排水實驗後測定 米飯重量(g)	排水實驗後含水 率(%)
1.096	57.53%	0.981	8.57
1.900	58.50%	1.055	9.40
1.222	55.08%	0.818	9.33

#### 4.4.5 去離子水以批次式亞臨界水系統定壓排水結果

由 4.4.4 節得知，使用多次開閥方式能夠有效地減少米飯實驗前後之含水率，但若像 4.4.3 節以溫度為開閥指標，則僅適用於一次開閥的方式，第一次開閥後由於系統失去平衡，因此再達成指定溫度時系統中不一定會存在水蒸氣。因此此節使用壓力作為開閥指標，固定壓力進行多次開閥實驗。

圖 4-17 為去離子水以批次式亞臨界水系統進行定壓開閥實驗紀錄，由圖上觀察出在愈後面開閥，其狀態則愈偏離理想值，因此真正較接近亞臨界水狀態僅為第一次開閥之前。

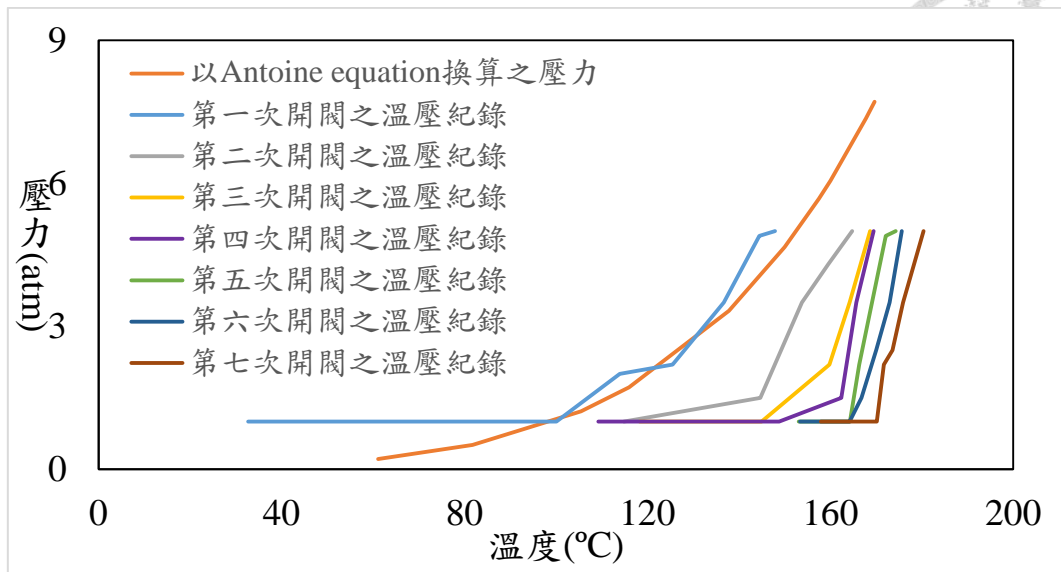


圖 4-17 去離子水以批次式亞臨界水系統定壓開閥之溫壓紀錄

不同顏色曲線可對應至不同開閥次數，而橘線則為氣液共存之理想狀態，在第一次開閥狀態最接近理想值，而愈後面開閥則愈偏離理想值。

表 4-4 則為將 100 g 去離子水放入批次式亞臨界水系統後，在定 5 atm 時每次開閥對應當時溫度、排去水分、耗電量之表格，在第一次開閥時排去 10.14 g 水分，而第二次開閥後，每次達到 5 atm 時所對應開閥溫度愈高，但排去水分卻愈來愈少。參考圖 4-17 發現第二次開閥後之狀態皆落在氣相區，若皆視為理想氣體，套入理想氣體方程式  $PV = nRT$ ，理想氣體方程式之 P 在此實驗為固定值 (5 atm)、而假設體積 V 為固定值、氣體常數 R 亦為固定值、如此看來氣體莫耳數 n 及溫度 T 應呈現反向關係，因此溫度愈高，所排出水分會愈少，理論及實驗結果為合理現象。

由表 4-4 另可得知在經過七次開閥後，總耗電量則為 0.61 kWh，將第三列每次開閥排去水分數據加總可得總排水量為 92.81 g，而原本置入 100 g 去離子水，因此排水率為 92.81%，排水顯著。

表 4-4 以 100 g 水進入批次式亞臨界水系統，定 5 atm 開閥下之數據紀錄

第幾次開閥	1	2	3	4	5	6	7
開閥溫度 (°C)	147.9	164.8	168.7	169.5	174.3	175.6	180.4
排去水分 (g)	10.14	17.72	16.43	14.68	13.06	11.06	9.72
耗電量 (kWh)	0.22	0.06	0.05	0.05	0.07	0.06	0.1
單位克重耗電量 (kWh/g)	0.0217	0.0034	0.0030	0.0034	0.0054	0.0054	0.0103

#### 4.4.6 米飯以批次式亞臨界水系統定壓排水結果

4.4.5 節以去離子水為樣品並以定壓開閥方式成功排去大部分之水分，因此本節以米飯實際進行排水實驗。實驗前之米飯重量為 65.1 g，溫控器溫度設定為 200°C，並且每隔固定壓力開閥，開閥次數為三次。

圖 4-18 為實驗過程之溫壓紀錄圖，橘線為理想狀態下之溫壓曲線；灰線為第一次開閥前之溫壓紀錄；黃線為第二次開閥前之溫壓紀錄、藍線則為第三次開閥前之溫壓紀錄。實驗結果相似於與以水測試之結果，第一次開閥最接近於理想狀態，而愈後面愈偏離理想狀態。

表 4-6 為實驗前後含水率比較，實驗前米飯平均含水率為 62.6%，變異係數為 0.4%；而實驗後米飯平均含水率為 8.77%，變異係數為 9.8%。實驗後平均含水率較高之原因推測為鐵氟龍杯內部熱傳不均勻所致。

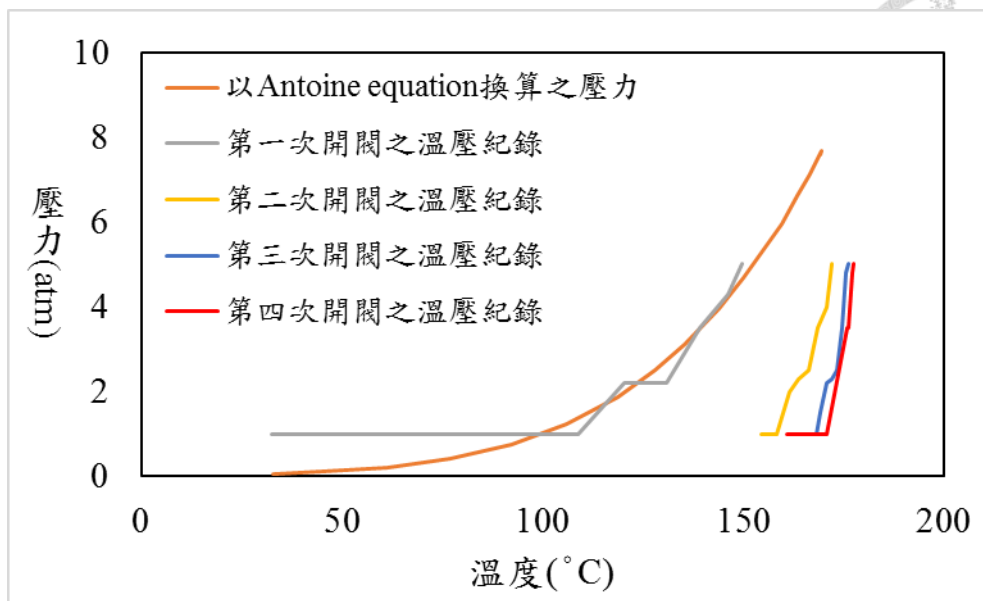


圖 4-18 米飯以批次式亞臨界水系統定 5 atm 下排除之溫壓紀錄

表 4-5 為以 65 g 米飯進行定 5 atm 開閥實驗，開閥次數為四次，由數據可得知，和去離子水實施開閥的結果一樣，在第二次開閥所能排除之水分反而會大於第一次開閥，推測原因為在第一次開閥時所排出之氣體，內部並不全部是水蒸氣，而是包括了空氣中的氮氣及氧氣成分，因此排出之水蒸氣其實不足 5 atm，故排去水分較少為正常現象。而第一次開閥後，已經將空氣中成分排除，因此在第二次開閥時能確保系統內排出的皆是水蒸氣，故第二次開閥後所能排去水分皆較第一次多。較表 4-4 不同的是以米飯進行第二及第三次開閥時，第三次開閥所排去水分較第二次開閥多。

表 4-5 定 5 大氣壓開閥之數據紀錄

第幾次開閥	1	2	3	4
開閥溫度(°C)	149.5	171.9	176.2	177.4
排去水分(g)	2.78	10.96	11.24	10.21
耗電量(kWh)	0.21	0.08	0.1	0.14
單位克重耗電 量(kWh/g)	$76 \times 10^{-3}$	$7.3 \times 10^{-3}$	$8.9 \times 10^{-3}$	$13.7 \times 10^{-3}$

表 4-6 分別為使用定壓進行開閥之實驗前後比較結果，與表 4-3 使用時間當作開閥指標相比較下，兩者在實驗後含水率皆有明顯下降，皆能夠達成明顯的排水效果，因此米飯皆適合定時及定壓兩種開閥方式。



表 4-6 定壓多次開閥實驗前後含水率結果比較

排水實驗前測定 米飯重量(g)	排水實驗前含水 率(%)	排水實驗後測定 米飯重量(g)	排水實驗後含水 率(%)
1.101	62.36%	1.05	9.63
1.056	62.65%	1.026	8.78
1.143	62.88%	1.09	7.9

## 第五章 結論及未來展望

本研究利用流動式及批次式亞臨界水系統應用於檸檬桉葉內部防蚊成分香茅醛之提取並與乙酸乙酯萃取法做比較，以流動式亞臨界水系統處理 2 g 檸檬桉葉後所檢測到之最高訊號強度為 15 pA，代入檢量線中得到其濃度為 31.98  $\mu\text{g/mL}$ ，萃取效率為 0.048%；而以批次式亞臨界水系統處理 20 g 檸檬桉葉後所檢測到之訊號強度為 20 pA，帶入檢量線中得到其濃度為 41.77  $\mu\text{g/mL}$ ，萃取效率為 0.021%；以乙酸乙酯 15mL 萃取 2 g 檸檬桉葉後所檢測到之訊號強度為 600 pA，代入檢量線中得到其濃度為 1177  $\mu\text{g/mL}$ ，萃取效率為 0.88%。相比下，流動式之萃取效率高於批次式，但兩者之萃取效率皆未高於有機溶劑萃取，甚至低了許多。以標準品進行測試後推測其原因為香茅醛在高溫環境下會發生降解反應，因此造成其萃取率低落。

未來擬於動態式亞臨界水系統之萃接管前再加一段預熱管，將液體先於預熱管中加熱至亞臨界狀態後，再將亞臨界水導入後端放有樹葉粉末的萃接管柱中，期望將樹葉粉末暴露於高溫狀態的時間降低，以避免其降解，進而能達成較好的萃取效率。未來研究之架構圖如 5-1 所示。

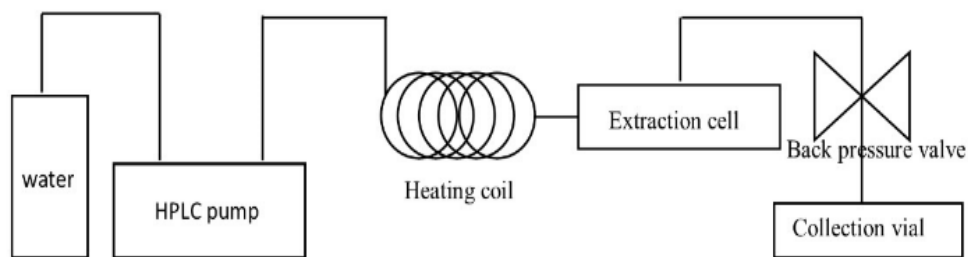
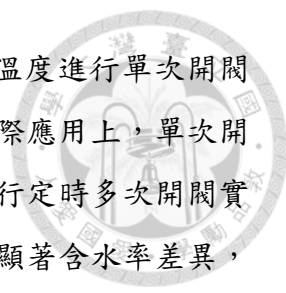


圖 5-1 未來擬使用之亞臨界水架構圖

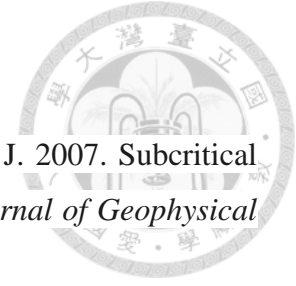





以批次式亞臨界水系統處理廚餘部分，本研究嘗試以不同溫度進行單次開閥實驗並比較其結果，發現 160°C 時能源利用效率最佳，但在實際應用上，單次開閥所排去水分過少。因此以含水率 55%，重量為 65 g 之米飯進行定時多次開閥實驗，實驗後含水率降至 10% 以下，重量為 32 g，而實驗前後具有顯著含水率差異，證明了多次開閥在實際應用上具有可行性。亦以 5 atm 為標準進行定壓開閥實驗，將米飯進行定壓開閥實驗，亦成功將含水率由實驗前的 62% 降至 10% 以下。因此目前初步實驗結果顯示以批次式亞臨界水系統處理廚餘可能具有可行性，但目前亦有能源利用效率低落之問題。

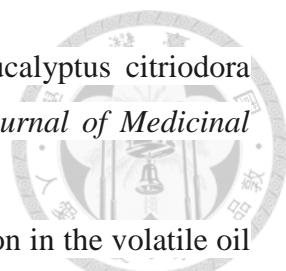
未來擬以更多具有代表性之廚餘，例如纖維素類及蛋白質類，重複此實驗；並必須增加能源利用之效率，才有進一步商品化成為處理社區廚餘系統之可能性。

## 參考文獻

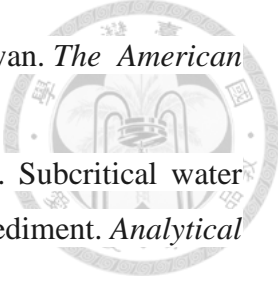


1. Amashukeli, X., Pelletier, C. C., Kirby, J. P., & Grunthaner, F. J. 2007. Subcritical water extraction of amino acids from Atacama Desert soils. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 112 ( G4 ) .
2. Arapitsas, P., & Turner, C. 2008. Pressurized solvent extraction and monolithic column-HPLC/DAD analysis of anthocyanins in red cabbage. *Talanta*, 74 ( 5 ) , 1218-1223.
3. Areprasert, C., Ma, D., Prayoga, P., & Yoshikawa, K. 2016. A Review on Pilot-Scale Applications of Hydrothermal Treatment for Upgrading Waste Materials. *International Journal of Environmental Science and Development*, 7 ( 6 ) , 425.
4. Barnard, D. R., Bernier, U. R., Posey, K. H., & Xue, R. D. 2002. Repellency of IR3535, KBR3023, para-menthane-3, 8-diol, and deet to black salt marsh mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Everglades National Park. *Journal of medical entomology*, 39 ( 6 ) , 895-899.
5. Barnard, D. R., & Xue, R. D. 2004. Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 41(4), 726-730.
6. Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256 ( 12 ) , 2166-2174.
7. Bossou, A. D., Ahoussi, E., Ruysbergh, E., Adams, A., Smagghe, G., De Kimpe, N., ... & Mangelinckx, S. 2015. Characterization of volatile compounds from three *Cymbopogon* species and *Eucalyptus citriodora* from Benin and their insecticidal activities against *Tribolium castaneum*. *Industrial Crops and Products*, 76, 306-317.
8. Carroll, S. P., & Loye, J. 2006. PMD, a registered botanical mosquito repellent with deet-like efficacy. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22 ( 3 ) , 507-514.
9. Drapeau, J., Rossano, M., Touraud, D., Obermayr, U., Geier, M., Rose, A., & Kunz, W. 2011. Green synthesis of para-Menthane-3, 8-diol from *Eucalyptus citriodora*: Application for repellent products. *Comptes Rendus Chimie*, 14 ( 7 ) , 629-635.
10. Gbashi, S., Adebo, O. A., Piater, L., Madala, N. E., & Njobeh, P. B. 2017.

- 
- Subcritical water extraction of biological materials. *Separation & Purification Reviews*, 46 (1), 21-34.
11. Hawthorne, S. B., Trembley, S., Moniot, C. L., Grabanski, C. B., & Miller, D. J. 2000. Static subcritical water extraction with simultaneous solid-phase extraction for determining polycyclic aromatic hydrocarbons on environmental solids. *Journal of Chromatography A*, 886 (1), 237-244.
  12. Husain, S. S., & Ali, M. 2013. Volatile oil constituents of the leaves of *Eucalyptus citriodora* and influence on clinically isolated pathogenic microorganisms. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 2 (5), 852-858.
  13. Ibanez, E., Kubátová, A., Señoráns, F. J., Cavero, S., Reglero, G., & Hawthorne, S. B. 2003. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary plants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51 (2), 375-382.
  14. Jaenson, T. G., Garboui, S., & Pålsson, K. 2006. Repellency of oils of lemon eucalyptus, geranium, and lavender and the mosquito repellent MyggA natural to *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. *Journal of medical entomology*, 43 (4), 731-736.
  15. Jimenez-Carmona, M. M., & Luque de Castro, M. D. 1999. Isolation of eucalyptus essential oil for GC-MS analysis by extraction with subcritical water. *Chromatographia*, 50 (9), 578-582.
  16. Khajenoori, M., Asl, A. H., Hormozi, F., Eikani, M. H., & Bidgoli, H. N. 2009. Subcritical water extraction of essential oils from *Zataria multiflora* Boiss. *Journal of food process engineering*, 32 (6), 804-816.
  17. Lenardão, E. J., Botteselle, G. V., de Azambuja, F., Perin, G., & Jacob, R. G. 2007. Citronellal as key compound in organic synthesis. *Tetrahedron*, 63(29), 6671-6712.
  18. Liu, J., Chen, P., Yao, W., Wang, J., Wang, L., Deng, L., ... & Lei, J. 2015. Subcritical water extraction of betulinic acid from birch bark. *Industrial Crops and Products*, 74, 557-565.
  19. Lucia, A., Licastro, S., Zerba, E., & Masuh, H. 2008. Yield, chemical composition, and bioactivity of essential oils from 12 species of *Eucalyptus* on *Aedes aegypti* larvae. *Entomologia experimentalis et applicata*, 129 (1), 107-114.
  20. Manika, N., Mishra, P., Kumar, N., Chanotiya, C. S., & Bagchi, G. D. 2012. Effect

- 
- of season on yield and composition of the essential oil of *Eucalyptus citriodora* Hook. leaf grown in sub-tropical conditions of North India. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6 ( 14 ) , 2875-2879.
21. Mann, T. S., Babu, G. K., Guleria, S., & Singh, B. 2013. Variation in the volatile oil composition of *Eucalyptus citriodora* produced by hydrodistillation and supercritical fluid extraction techniques. *Natural product research*, 27 ( 7 ) , 675-679.
  22. McGowin, A. E., Adom, K. K., & Obubuafo, A. K. 2001. Screening of compost for PAHs and pesticides using static subcritical water extraction. *Chemosphere*, 45 ( 6 ) , 857-864.
  23. Mpuhlu, Batsho. *Synthesis of p-menthane-3, 8-diol*. Diss. Nelson Mandela Metropolitan University, 2007.
  24. Nathan, S. S. 2007. The use of *Eucalyptus tereticornis* Sm. ( Myrtaceae ) oil ( leaf extract ) as a natural larvicidal agent against the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston ( Diptera: Culicidae ) . *Bioresource technology*, 98 ( 9 ) , 1856-1860.
  25. Ozel, M. Z., Gogus, F., & Lewis, A. C. 2003. Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*. *Food Chemistry*, 82 ( 3 ) , 381-386.
  26. Peker, H., Srinivasan, M. P., Smith, J. M., & McCoy, B. J. 1992. Caffeine extraction rates from coffee beans with supercritical carbon dioxide. *AIChE Journal*, 38 ( 5 ) , 761-770.
  27. Plaza, M., & Turner, C. 2015. Pressurized hot water extraction of bioactives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 39-54.
  28. Pulavarty, A., Kukde, S., Shinde, V. M., & Sarangi, B. K. 2016. Morphological, physiological and biochemical adaptations of *Eucalyptus citriodora* seedlings under NaCl stress in hydroponic conditions. *Acta physiologiae plantarum*, 38 ( 1 ) , 20.
  29. Ramezani, H., Singh, H. P., Batish, D. R., Kohli, R. K., & Dargan, J. S. 2002. Fungicidal effect of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* and its major constituent citronellal. *New zealand plant protection*, 327-330.
  30. Saldana, M. D., & Valdivieso-Ramírez, C. S. 2015. Pressurized fluid systems: Phytochemical production from biomass. *The Journal of Supercritical Fluids*, 96, 228-244.
  31. Satoh, A., Utamura, H., Nakade, T., & Nishimura, H. 1995. Absolute configuration

- of a new mosquito repellent, (+) -eucamalol and the repellent activity of its epimer. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 59 ( 6 ) , 1139-1141.
32. Siddique, Y. H., Mujtaba, S. F., Jyoti, S., & Naz, F. 2013. GC–MS analysis of Eucalyptus citriodora leaf extract and its role on the dietary supplementation in transgenic Drosophila model of Parkinson's disease. *Food and chemical toxicology*, 55, 29-35.
33. Singh, H. P., Kaur, S., Negi, K., Kumari, S., Saini, V., Batish, D. R., & Kohli, R. K. 2012. Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of Eucalyptus citriodora ( lemon-scented Eucalypt; Myrtaceae ) and its major constituents. *LWT-Food Science and Technology*, 48 ( 2 ) , 237-241.
34. Singh, H. P., Mittal, S., Kaur, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. 2009. Characterization and antioxidant activity of essential oils from fresh and decaying leaves of Eucalyptus tereticornis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57 ( 15 ) , 6962-6966.
35. Specos, M. M., Garcia, J. J., Tornesello, J., Marino, P., Della Vecchia, M., Tesoriero, M. D., & Hermida, L. G. 2010. Microencapsulated citronella oil for mosquito repellent finishing of cotton textiles. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 104 ( 10 ) , 653-658.
36. Su, Y. C., Ho, C. L., Wang, E. I., & Chang, S. T. 2006. Antifungal activities and chemical compositions of essential oils from leaves of four eucalypts. *Taiwan J For Sci*, 21 ( 1 ) , 49-61.
37. Sudakin, D. L., & Trevathan, W. R. 2003. DEET: a review and update of safety and risk in the general population. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 41 ( 6 ) , 831-839.
38. Tian, Y., Liu, X., Zhou, Y., & Guo, Z. 2005. Extraction and determination of volatile constituents in leaves of Eucalyptus citriodora. *Se pu= Chinese journal of chromatography*, 23 ( 6 ) , 651.
39. Vargaftik, N. B., Volkov, B. N., & Voljak, L. D. 1983. International tables of the surface tension of water. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 12 ( 3 ) , 817-820.
40. Wang, S. F., Wang, W. H., Chang, K., Chen, Y. H., Tseng, S. P., Yen, C. H., ... &

- 
- Chen, Y. M. A. 2016. Severe dengue fever outbreak in Taiwan. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 94 ( 1 ) , 193-197.
41. Yang, Y., Bowadt, S., Hawthorne, S. B., & Miller, D. J. 1995. Subcritical water extraction of polychlorinated biphenyls from soil and sediment. *Analytical Chemistry*, 67 ( 24 ) , 4571-4576.
42. Yang, Y., Bowadt, S., Hawthorne, S. B., & Miller, D. J. 1995. Subcritical water extraction of polychlorinated biphenyls from soil and sediment. *Analytical Chemistry*, 67 ( 24 ) , 4571-4576.
43. Yuasa, Y., Tsuruta, H., & Yuasa, Y. 2000. A Practical and Efficient Synthesis of p-Menthane-3, 8-diols. *Organic Process Research & Development*, 4 ( 3 ) , 159-161.
44. Zakaria, S. M., & Kamal, S. M. M. 2016. Subcritical water extraction of bioactive compounds from plants and algae: applications in pharmaceutical and food ingredients. *Food Engineering Reviews*, 8 ( 1 ) , 23-34.