

微波殺菌和微波凍乾牛樟菌固態發酵產物之研究

陳淑德* 黃琮祐

國立宜蘭大學食品科學系

摘 要

野生牛樟芝珍貴且稀有不易取得，因此可改用皿培式固態發酵、太空包固態培養、液態發酵或椴木培養等生產方式。為加速牛樟菌皿培式固態發酵的後段殺菌和乾燥製程，故本研究分別分析(1)牛樟菌之耐熱性、(2)利用微波加熱殺菌方式對縮短牛樟菌固態發酵產物殺菌時間的影響及(3)利用微波冷凍乾燥牛樟菌固態發酵產物，並分析有效成分含量。結果顯示，牛樟菌在 70、80 和 90°C 分別經過 100、80 和 40 s 加熱即能停止牛生長。最佳製程為將牛樟菌以秈稻的精白米及糙米作為基質，並以培養皿在 28°C 下進行固態培養 4 週後，經過 1000 W 微波加熱殺菌 120 s，再經 50 W 微波冷凍乾燥 75 min，微波冷凍乾燥製程可較傳統冷凍乾燥節省 90% 以上的能源消耗。牛樟菌固態發酵精白米和糙米產物的粗多醣含量分別為 51.12% 和 57.62%，而粗三萜含量分別為 0.38% 和 2.05%，故以糙米較適合作為牛樟菌固態發酵的基質。

關鍵詞：微波、殺菌、冷凍乾燥、固態發酵、牛樟菌

*通訊作者。E-mail: sdchen@niu.edu.tw

Study of Microwave Pasteurization and Microwave Freeze-Drying *Antrodia cinnamomea* Solid-State Fermented Products

Su-Der Chen*, Cong-You Huang

Department of Food Science, National Ilan University

Abstract

Wild *Antrodia cinnamomea* is a traditional Taiwanese fungus; it is very expensive, rare and difficult to obtain. Therefore, it can be produced by the dish type solid-state fermentation or bag type cultivation, liquid fermentation and wood cultivation. To accelerate downstream processing such as pasteurization and dehydration after dish type solid-state fermentation of *Antrodia cinnamomea*, the objectives of this study were (1) to study the heat resistance of *Antrodia cinnamomea*, (2) to apply microwave pasteurization in order to reduce the pasteurization time of *Antrodia cinnamomea* dish solid-state fermented product, and (3) to dry *Antrodia cinnamomea* dish solid-state fermented product by microwave freeze-drying and then to analyze their active compound contents. The results showed that the *Antrodia cinnamomea* in the 70, 80, and 90°C hot water bath for 100, 80, and 40 s could be pasteurized, respectively. Finally the *Antrodia cinnamomea* solid-state fermented rice products could be obtained after 28 °C cultivation for 4 weeks, 1000 W microwave pasteurization for 120 s, and then 50 W microwave freeze-drying for 75 min. Microwave freeze-drying process could save more than 90% of the energy consumption than conventional freeze-drying. The crude polysaccharides of microwave freeze-dried solid-state fermented polished rice and brown rice were 51% and 57%, respectively; moreover, their crude triterpenoids were 0.38% and 2.05%, respectively. Therefore, brown rice was more suitable medium for *Antrodia cinnamomea* solid-state fermentation.

Keywords: microwave, pasteurization, freeze-drying, solid-state fermentation, *Antrodia cinnamomea*

*Corresponding author. sdchen@niu.edu.tw

壹、前言

牛樟芝 (*Antrodia cinnamomea*) 為台灣特有真菌，牛樟樹為牛樟芝之主要宿主。近年來台灣山林地區過度開發，濫墾牛樟樹，造成牛樟樹及牛樟芝日漸稀少，牛樟樹已被列為台灣保育類物種。牛樟芝稀有、珍貴且生長緩慢，野生牛樟芝子實體一年約只生長五公分，價格昂貴，每斤牛樟芝可達五十多萬元，極具高商業價值，因此目前常以人工方法培養出牛樟芝之子實體或菌絲體 (Chen *et al.*, 2008)。

牛樟芝具有多種活性成分，例如：多醣、固醇、三萜類、半萜類等 (程, 1994; 楊, 1990)，使得牛樟芝擁有生理活性功能，如：抗氧化 (Hseu *et al.*, 2008; Huang and Mau, 2007; Lin *et al.*, 2010)、抗發炎 (Liu *et al.*, 2007; Shen *et al.*, 2004)、抗腫瘤 (陳等, 2001; Huang *et al.*, 2010) 及保肝 (Hsu *et al.*, 2007) 等功能。

很多研究和專利探討牛樟菌之液態發酵、固態發酵製程或利用椴木栽培牛樟芝子實體；利用控制液態培養基中碳源、氮源及氧氣量以生產牛樟芝菌絲體和代謝產物 (Shih *et al.*, 2006)，預活化牛樟菌添加於 250 mL 錐形瓶裝有 50 mL 培養液在 25°C 下以 100 rpm 進行搖瓶培養，在基質中的氮源分別添加 0.5%、1% 和 3% 麥芽萃取物、酵母萃取物和玉米漿粉時，以發酵 10 天後 3% 時氮源可產生較多的菌絲體及胞外多醣，而以 3% 玉米漿粉發酵 14 天後可獲得較多的三萜物質。另外在基質中的碳源分別添加 1、2 和 4% 的葡萄糖、蔗糖、乳糖、麥芽糖和果糖，以添加 4% 的麥芽糖和 4% 葡萄糖發酵 10 天後可產最高量的菌絲體，添加 4% 蔗糖和 4% 乳糖發酵 10 天後可產生最高量的胞外多醣，然而添加 2% 葡萄糖發酵 14 天可產生最高量的三萜物質，在氧氣的供應濃度增加可增加菌絲體和多醣的重量，但卻抑制三萜物質的產生 (Shih *et al.*, 2006)。另外若要增加二級代謝產物的生成，可利用固態發酵以皿培式、太空包或椴木栽培方法取得牛樟菌的菌絲體或子實體 (陳等, 2001; Lin *et al.*, 2006)。然而針對發酵產品的後段工程，包括殺菌以停止發酵並避免種菌外流和乾燥保存等製程開發研究反而稀少。尤其是固態培養基，熱傳導效果較液態熱對流差，雖置於 121°C 高溫高壓狀態的殺菌釜下殺菌，但需要殺菌的時間遠較液態發酵長。

微波是電磁波的一種，其頻率範圍大約介於 300 MHz 至 30000 MHz。為不至於干擾通訊，在工業上微波使用頻率有其規範，可使用的微波頻率為 2450 MHz 和 915 MHz。微波可解決熱能傳導上的問題，微波加熱與傳統加熱最大差別在於熱源供應方式不同。當微波照射到介電物質時，可以使介電物質產生快速分子內震動摩擦生熱，宛若熱源是

由食品內部所產生。故微波加熱可直接加熱食品，裝置本身並不被加熱，熱效率高，可節省能源且操作方便（陳，2008）。且微波加熱食品的同時，也使得微生物快速升溫導致菌體蛋白質變性，甚至可使微生物的細胞膜破裂，使微生物失去生理功能，適合應用於殺菌（王和錢，2005）。

傳統加熱方式耗時久，且遇到熱傳不易的物質，熱量無法傳送至中心部位，造成殺菌不完全，Lau 和 Tang（2002）分析蘆筍罐頭使用水浴加溫 30 分鐘及微波 2000 W 加熱 9 分鐘，罐頭中心溫度分別達 88°C 和接近 100°C。另外蘋果酒使用 2000 W 的微波功率可將溫度提升至 73°C，使大腸桿菌顯著下降（Gentry and Roberts, 2005）；蘋果汁用微波殺菌殺死大腸桿菌（Cañumir *et al.*, 2002）；微波加熱法蘭克福香腸後，可使李斯特菌有效被消滅，且此較熱水加熱殺菌時間短（Huang and Sites, 2007）；在中藥製程中微波殺菌可以取代原有的放射照殺菌（韓，2004）。

在美國已有研究將微波殺菌應用於連續式的無菌加工製程（Coronel *et al.*, 2008）。先測量微波殺菌的食品之介電常數（Wang, *et al.*, 2003）和預估微波殺菌過程中的食品冷點（Pandit *et al.*, 2007），且由 Dr. Tang, Juming 所領導的團隊於 FDA 取得微波殺菌在食品工業上的認證，並進一步將微波輔助巴式滅菌系統（MAP）應用於包裝前的紅蘿蔔的巴式殺菌，以縮短加工時間且可以改善傳統熱水殺菌的品質和加熱的均勻性（Peng *et al.*, 2017）。在美國為降低即食冷凍食品的食物中毒風險，改在即食餐盒冷凍前即利用 MAP 微波殺菌，以避免後續因為加熱不完全而造成的食物中毒（Tang *et al.*, 2018）。

微波真空冷凍乾燥機是直接利用微波在真空乾燥機中作為冷凍食品中冰晶昇華的熱源，再利用真空泵將昇華的水蒸氣吸附於-60°C 的冷凍系統，此設備包括微波、密閉乾燥室、真空泵、與冷凝系統。微波真空乾燥過程可在 40~50 分鐘將食品中的水分含量由原先的 90% 左右降至 15% 以完成食品的乾燥（陳，2008; Clary *et al.*, 2006）。不過系統抽真空時要注意將系統的絕對壓力降至 85 Pa 以下，以避免微波放電所產生的電暈現象（Duan *et al.*, 2010）。另一方面，由於食品中冰和水的介電性質中的損失因子相差甚大，故施予微波功率不可太大，否則會造成冰吸熱而融化（Wang *et al.*, 2003）。微波真空冷凍乾燥大約可使冷凍乾燥時間節省 75%。且此冷凍乾燥過程會以恆率乾燥期進行，而沒有呈現減率乾燥期，此可大幅解決利用熱板作為食品冷凍乾燥時熱傳導障礙所造成製程的瓶頸（Abbasi & Azari, 2009; Wang *et al.*, 2001 a & b; Duan *et al.*, 2010; Fan *et al.*, 2019）。

本研究之目的為解決熱傳障礙的問題，將微波技術應用於皿培式培養的牛樟菌固態發酵產物的巴斯德殺菌和冷凍真空乾燥，並進行產品之成分分析。因發酵產物內部的極

性水分子可吸收微波產生共振摩擦生熱，可以克服傳統以蒸氣或熱板作為熱源的熱傳導障礙，進而加速殺菌和乾燥的時間。

貳、材料與方法

一、牛樟菌菌株之培養與活化

由拜寧生物科技股份有限公司提供牛樟菌 (*Antrodia cinnamomea* BCRC 35398)，以馬鈴薯葡萄糖洋菜培養基 (PDA, potato dextrose agar, Difco) 於 28°C 恆溫培養，每個月於無菌操作台內繼代一次。長出菌落後將菌絲連同 PDA 培養基，以接種環切成 1 cm² 之方塊 3 塊移至具有檔板之三角瓶的馬鈴薯葡萄糖液體培養基 (PDB, potato dextrose broth, Difco) 培養液中進行活化，並以 120 rpm 震盪、28°C 恆溫培養 14 天。

二、牛樟菌皿培式固態發酵

將預活化牛樟菌液 2 mL 接種於已滅菌的 30 g 基質當中，基質含水量為 50%，米基質分別有秈稻的精白米和糙米 (購自冬山鄉農會) 以培養皿進行培養，培養條件為 28°C 恆溫培養 28 天。

三、牛樟菌熱殺菌實驗

牛樟菌發酵製程需經殺菌處理，故先探討牛樟菌液態 PDB 培養基在不同溫度加熱後對牛樟菌生長存活影響，首先，以微量吸管吸取 2 mL PDB 置於體積 4 mL 之玻璃樣品瓶內，分別於不同溫度 (70、80 和 90°C) 的水浴槽中加熱，加熱 120 s，並以熱電偶記錄溫度之變化。

玻璃樣品瓶先以殺菌釜滅菌，然後在無菌操作台中以微量吸管吸取 2 mL 已活化之 PDB 牛樟菌的菌液置於玻璃小管內，由上面實驗測得之升溫曲線設計不同溫度及不同時間於水浴槽中進行加熱，70°C 加熱 125 s、80°C 加熱 120 s 及 90°C 加熱 80 s 後，冰浴冷卻至室溫，再於無菌操作台中將加熱過 2 mL 菌液接入 PDA 平板中，於 28°C 恆溫培養十四天，並觀察生長情形。

四、牛樟菌固態基質微波殺菌和微波冷凍乾燥

1、微波固態基質升溫曲線

將玻璃培養皿盛裝 30 g 含水量 50% 之米基質，先以殺菌釜進行加熱，待冷卻後以

微波爐輸出功率 1000 W (NN-J993, Panasonic)，進行微波加熱 150 s 並記錄溫度變化，以作為後續微波殺菌操作的參考。

2、牛樟菌固態發酵產物之殺菌及微波冷凍乾燥

配合牛樟菌熱殺菌及微波固態基質升溫曲線實驗，將固態發酵完成之牛樟菌基質放在微波爐 (NN-J993, Panasonic) 以微波功率 1000 W 進行滅菌。冷凍後再分別以 50 W 微波冷凍乾燥 (自組微波凍乾設備，其中包括可控制輸出功率的微波爐，內有一可抽真空的玻璃容器，外接至真空泵和冷凍冷凝設備) 進行快速乾燥 75 min 和傳統冷凍乾燥機 (上述自組設備，無微波輸入) 乾燥 24 hr。乾燥過程中於電源端裝置電力監測器 (SPG-26MS, 變電家)，記錄過程中各耗能單元的功率變化，包含：微波爐、真空泵、壓縮機，分析其能耗。磨粉後進行後續品質分析。

五、基本成分分析

1、水分測定

稱量瓶乾燥至恆重，精秤，然後加入 2 g 米基質，以烘箱常壓加熱乾燥方法於 105°C 乾燥 24 小時至恆重，重量之損失除以原樣品重即為水分含量。

2、灰分 (CNS 5034 N6115)

精秤坩鍋重量並紀錄，加入 3 g 米基質，移入灰化爐中，經高溫 550°C 灰化 48 小時，將樣品移入乾燥器內並秤重，以計算總灰分含量 (%)。

3、粗脂肪 (CNS 5036 N6117)

使用快速脂肪萃取器 (Soxtec System HT1043 Extraction Unit, Tecator, USA)，利用萃取溶劑將已乾燥樣品直接浸泡於沸騰的溶劑中萃取出粗脂肪。精秤 3 g 已乾燥基質放入圓筒濾紙中，並於圓筒濾紙洞口塞入脫脂棉花；另一方面將鋁杯精秤並記錄，加入 25 mL 正己烷，將圓筒濾紙放入萃尿管中，鋁杯放入圓筒濾紙下方，加熱 1 小時。萃取結束後將鋁杯拿出，以烘箱 50°C 趕去多餘正己烷溶劑，然後精秤鋁杯重量，再計算萃取的脂肪含量 (%)。

4、粗蛋白 (CNS 5035, N6116)

凱氏氮法 (Kjeldahl) 可分為三個步驟；分解、蒸餾、滴定。利用強酸將樣品分解成銨鹽，經過蒸餾將氨氣收集於標準酸中，在經過滴定測定含氮量。精秤 0.5 g 米基質，加入 5.5 g 催化劑 (硫酸鉀與硫酸銅比例為 10:1)，加入 15 mL 硫酸於凱氏分解瓶中分解消化 5 小時，分解後所產生的硫酸銨，加入蒸餾水 30 mL、50% NaOH 溶液 100 mL 及

4%硼酸溶液 20 mL 進行蒸餾，蒸餾完成後加入 0.2%甲基紅及溴甲酚綠指示劑，以 0.01 N 硫酸滴定，計算分析樣品中蛋白質的含量。

5、碳水化合物

碳水化合物含量是以 100 g 扣除 100 g 中可食部分之水分、粗蛋白、粗脂肪及灰分等含量計算而得。

六、粗多醣分析 (Dubois *et al.*, 1956)

稱取 0.5 g 乾燥發酵產物置於 100 mL 燒杯，加入 30 mL 去離子超純水，於 100°C 水浴槽進行萃取。收集萃取液於 50 mL 離心管，再以 8000 × g 離心分離不溶顆粒，取上清液 0.3 mL 置於 1.2 mL 微量離心管，加入 1.2 mL 95% 乙醇（和光純藥工業株式會社，日本）沉澱多醣再離心（8000 × g）去除上清液。重覆酒精沉澱及離心去除上清液動作兩次以去除小分子糖類干擾，於 60°C 乾浴器烘乾，再加入 0.1 M NaOH（和光純藥株式會社，日本）溶解多醣沉澱物，並以酚-硫酸比色法測定多醣濃度，取 1 mL 稀釋樣品，加入 1 mL 酚溶液 5%（和光純藥株式會社，日本）和 5 mL 濃硫酸（和光純藥株式會社，日本），震盪均勻後，冰浴冷卻 2 分鐘，於分光光度計（U-2001, Hitachi）在 488 nm 下測吸光值，並以葡萄糖溶液作為標準溶液製作檢量線。

七、粗三萜分析（孫等，2010）

取 0.05 g 牛樟菌樣品溶於 10 mL 乙酸乙酯以超音波萃取 40 分鐘，取 0.1 mL 萃取液於 100°C 乾浴中揮發，加入 0.4 mL 5%香草醛（vanillin, Sigma）-醋酸溶液和 1 mL 過氧酸，於 60°C 乾浴加熱 15 分鐘後冰浴至室溫，再加入 5 mL 醋酸混合均勻，靜置 15 min 後於 548 nm 測吸光。另外取齊墩果酸（oleanolic acid, Sigma）標準品 1.15 mg 溶於 10 mL 乙酸乙酯，混合均勻得標準溶液。分別吸取 0、0.1、0.2 和 0.4 mL 齊墩果酸標準溶液，在 100°C 乾浴中揮發。加入 0.4 mL 5%香草醛-醋酸溶液和 1 mL 過氧酸，於 60°C 乾浴加熱 15 min 後冰浴至室溫，再加入 5 mL 醋酸混合均勻，靜置 15 min 後於 548 nm 測吸光，並製作檢量線。

八、統計分析

實驗結果三重複，並以平均值±標準偏差表示，所得之數據使用 Statistical Package for Social Science（SPSS, SPSS INC. 宏德國際軟體諮詢顧問股份有限公司）14.0 版統計套裝軟體進行統計分析，以多元全距檢定分析平均值（Duncan's multiple Range test），

以顯著水準為 $\alpha=0.05$ ，比較其差異之顯著性。

參、結果與討論

一、微波殺菌牛樟菌固態發酵產物

發酵製程中，當發酵完成後可用加熱方式終止真菌生長，故瞭解牛樟菌之耐熱程度可作為殺菌之參考。首先將牛樟菌預活化所使用之液態培養基 2 mL 置於小玻璃瓶中，並插入的熱電偶記錄溫度，分別置於已達設定 70、80 和 90°C 的水浴槽中，其升溫曲線列於圖 1，結果顯示 120 s 可達水浴槽的溫度。

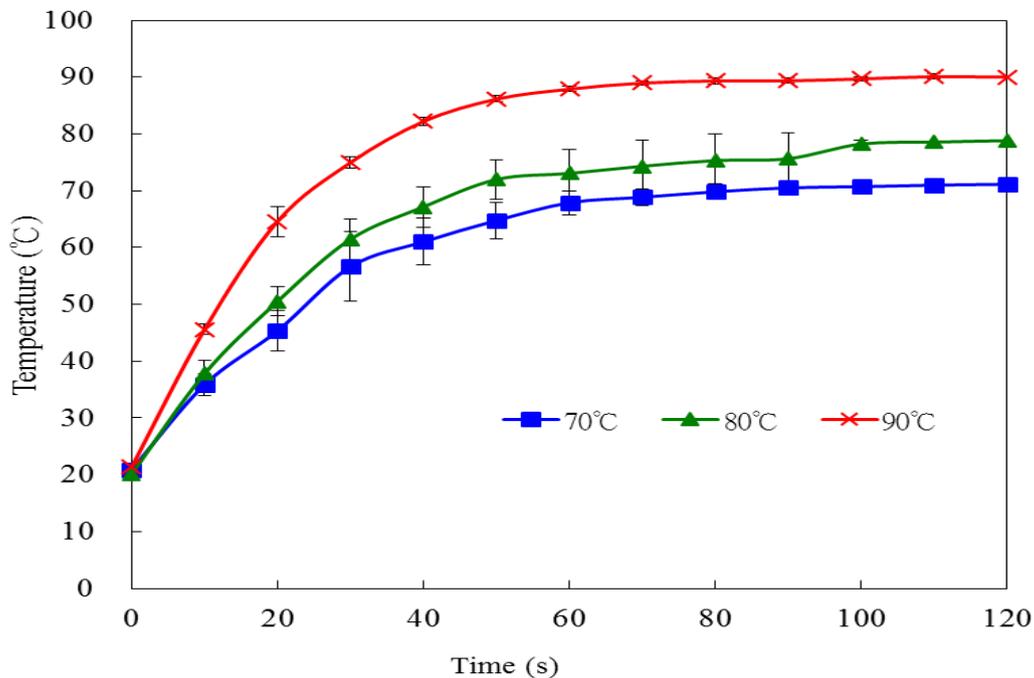


圖 1. 2 mL PDB 不同溫度下升溫曲線。

Fig. 1. The temperature profiles of 2 mL PDB during different temperature heating. Data are expressed as mean \pm S.D. (n=3).

然後在玻璃小瓶添加 2 mL 預活化牛樟菌液，置於 70、80 和 90°C 的水浴槽中，分別加熱 125、120 和 80 s 以進行牛樟菌的巴斯德殺菌，並於殺菌完成後接種至 PDA 培養基觀察後續培養 14 天牛樟菌生長情形。結果顯示若無放置於水浴槽中加熱，經過 14 天培養後，會產生很多牛樟菌的菌落，隨著加熱時間增長，會使得生長菌落漸漸減少，最後無法長出菌落，且隨著溫度增加，加熱時間會縮短；溫度 70°C 在 50 s 時牛樟菌可生長，而在 100 s 後，牛樟菌開始停止生長（圖 2）；80°C 在 80 s 後無法生長（圖 3）；90°C 於 40 s 後便無生長情形（圖 4），由此可看出，水浴槽溫度的升高，將使牛樟菌殺菌時間

縮短 (表 1)。由此得知，將固態基質發酵完成後之牛樟菌，並不需要以 121°C 殺菌釜殺菌，而改用 100°C 以下的巴斯德殺菌即可使牛樟菌停止生長，以進行後續乾燥加工。

表 1. 70~90°C 加熱 2 mL BCRC35398 牛樟菌液經 14 天培養之生長情形

Table 1. The survival condition of BCRC35398 *A. cinnamomea* in heating 2 mL PDB at 70~90 °C after 14-days cultivation

Temperature (°C)	Time (s)					
	0	25	50	75	100	125
70	0	25	50	75	100	125
	Y	Y	Y	Y	N	N
80	0	20	40	60	80	120
	Y	Y	Y	Y	N	N
90	0	20	40	60	80	120
	Y	Y	N	N	N	N

Y: growth, N: death

為瞭解米基質於微波爐中加熱情形，以四片各為 30 g 總共 120 g 之米基質培養皿置入微波爐內加熱，所採用微波功率為 1000 W，進行升溫測試。圖 5 為以微波輸出功率 1000 W 對於米基質加熱之升溫情形，在 100 s 時溫度可達 90°C。結果顯示以微波功率 1000 W 加熱 120 s 可以完成牛樟菌固態發酵米產物的微波殺菌製程。

Lau 和 Tang (2002) 亦曾作過微波殺菌之研究，微波的快速升溫效果在 1.8 kg 的蘆筍罐頭僅需 9 min 可加熱達 100°C。法蘭克福香腸以 65、75 和 85°C 熱水殺菌，時間分別為 20、12 和 10 min，香腸內李斯特菌的菌量從 log 9 CFU/pk 加熱後降至 log 2 CFU/pk，若採用微波加熱 65、75 和 85°C，分別只需要 17、10 如 6 min 即可達到同樣的殺菌效果 (Huang and Sites, 2007)。蘋果汁內的大腸桿菌以微波進行殺菌，分別使用 270、450、720 和 900 W 微波功率進行殺菌，最後結果大腸桿菌從原先 100000 CFU/mL 下降至 0.1 CFU/mL (Cañumir *et al.*, 2002)，故微波巴斯德殺菌可快速使食品升溫，進而縮短殺菌的時間即可達到殺菌的效果。

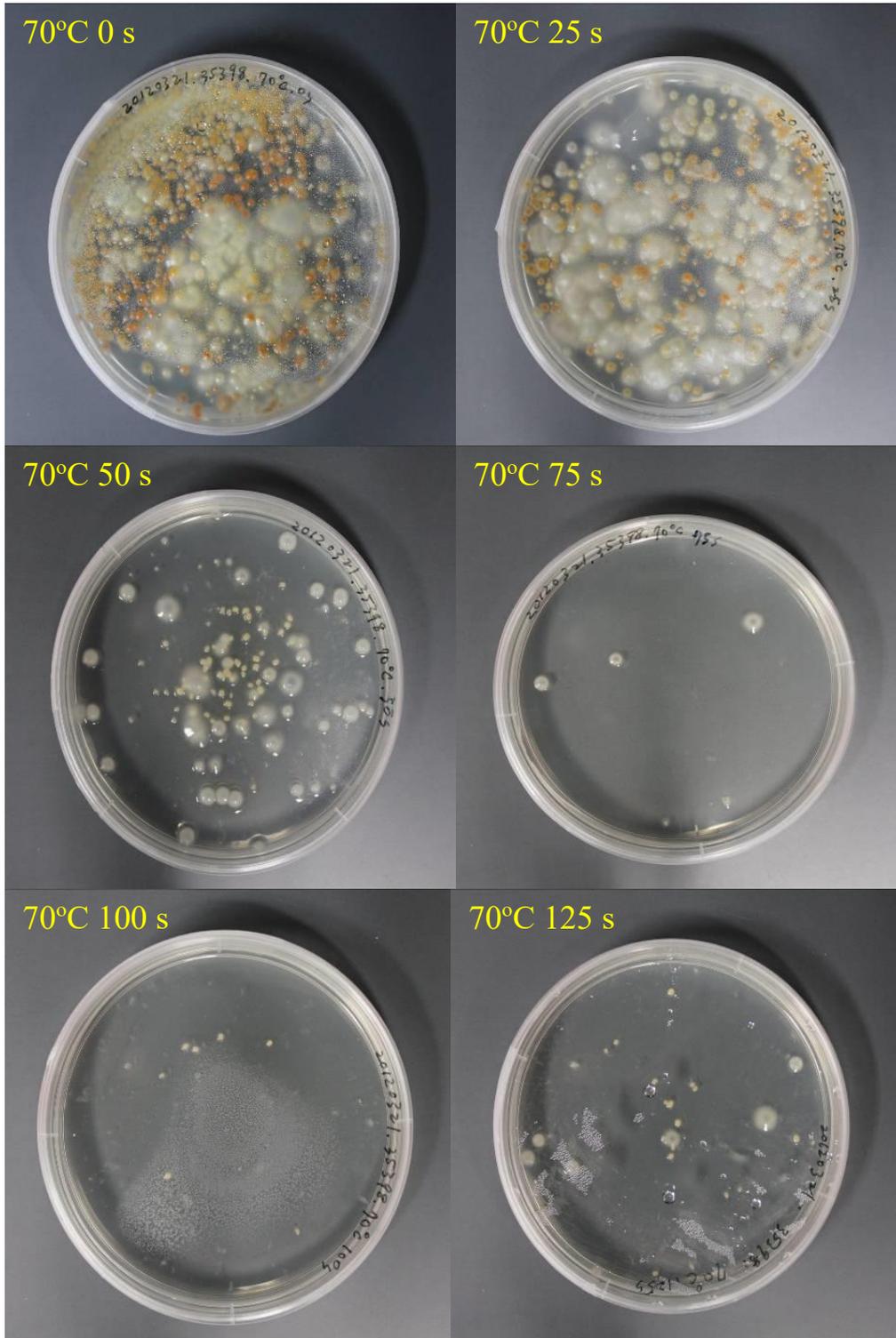


圖 2. 70°C 加熱後BCRC35398牛樟菌培養14天之生長情形。

Fig. 2. The pictures of heating at 70°C on *A. cinnamonomea* BCRC 35398 in PDB after 14-days cultivation.

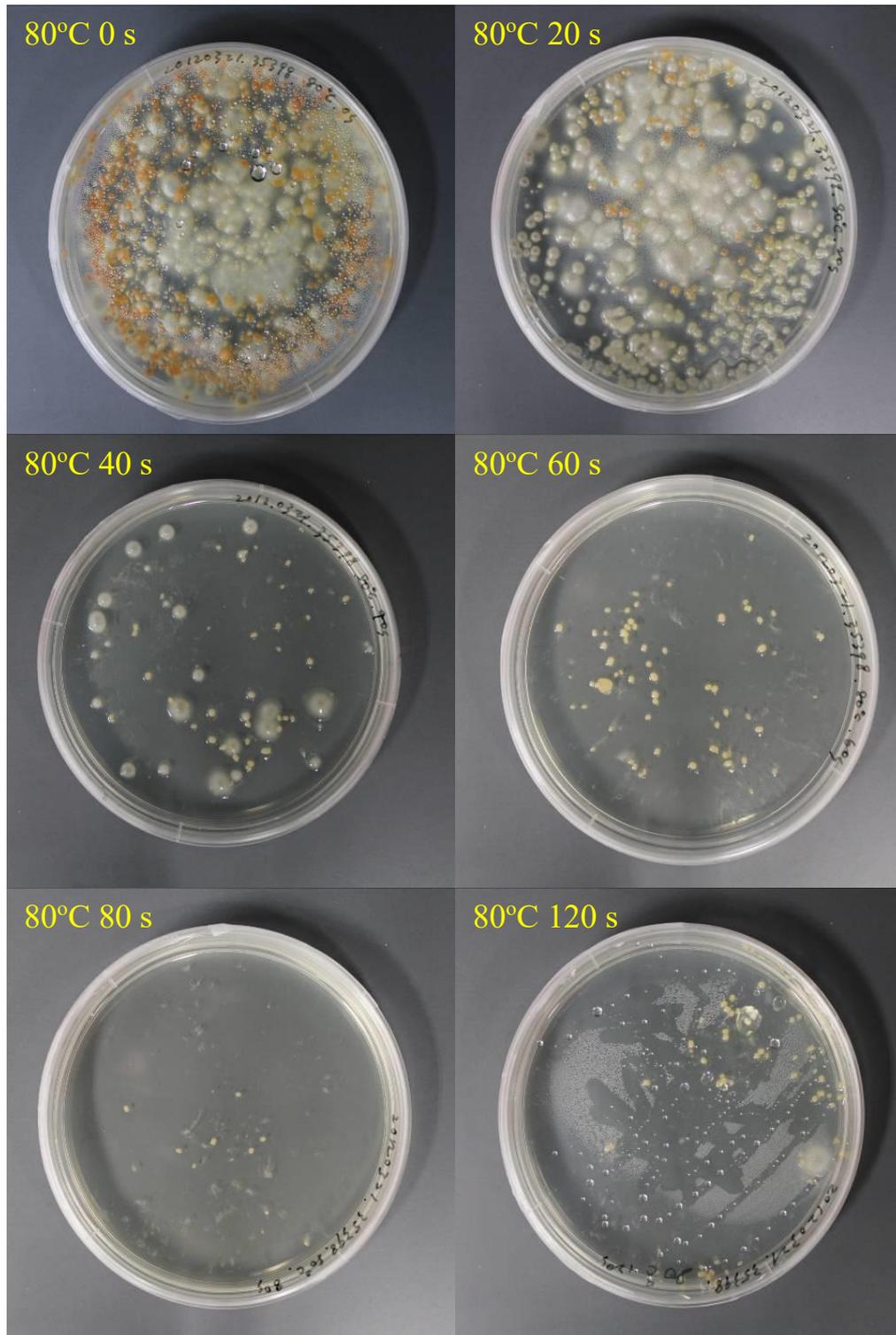


圖 3. 80°C 加熱後BCRC35398牛樟菌培養14天之生長情形。

Fig. 3. The pictures of heating at 80°C on *A. cinnamomea* BCRC 35398 in PDB after 14-days cultivation.

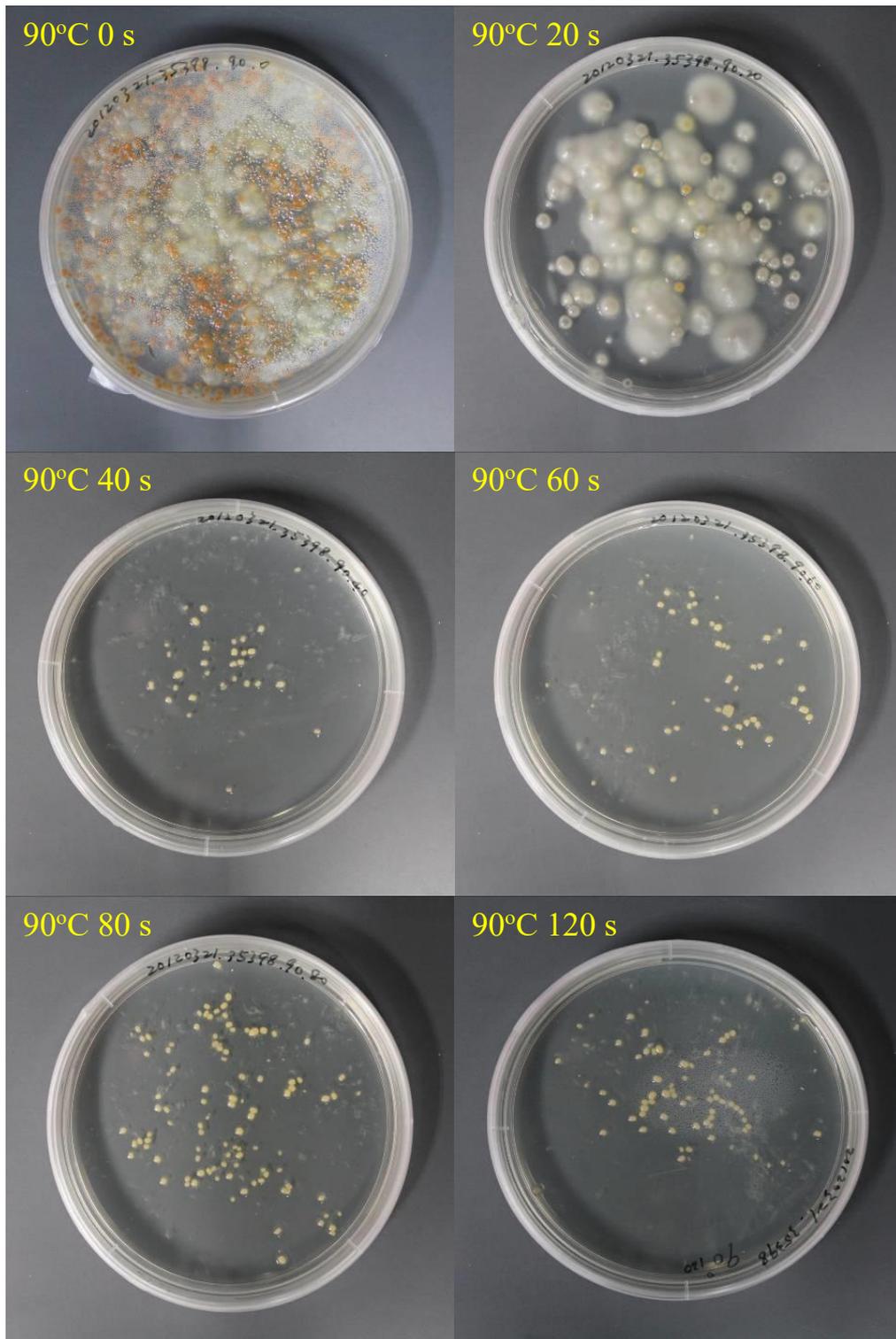


圖 4. 90°C 加熱後 BCRC35398 牛樟菌培養 14 天之生長情形。

Fig. 4. The pictures of heating at 90°C on *A. cinnamomea* BCRC 35398 in PDB after 14-days cultivation.

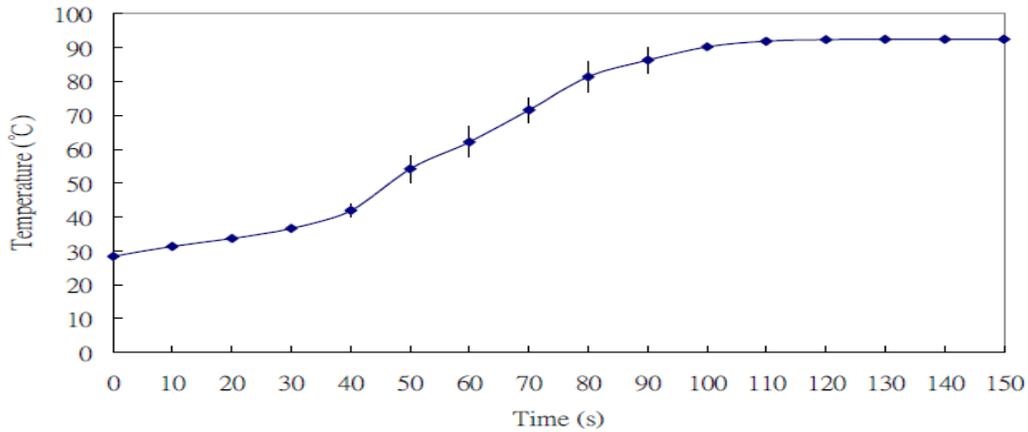


圖 5. 微波輸出功率1000 W加熱米基質升溫曲線。

Fig. 5. Temperature curves of rice medium under microwave power 1000 W. Data are expressed as mean \pm S.D. (n=3).

二、微波冷凍乾燥牛樟菌固態發酵產物及其成分分析

微波殺菌完成後的牛樟菌精白米和糙米基質發酵產物，原含水率分別為 65.29%及 60.99%，經 50 W 微波冷凍乾燥 75 min 的乾燥曲線如圖 6。而傳統冷凍乾燥時間至少 24 小時，為微波冷凍乾燥時間的 19.2 倍。二者的凍乾過程皆需要配合真空泵和冷凍冷凝系統，而真空和冷凝系統的耗能分別是 21.84 kJ/min 和 25.08 kJ/min，故 50 W 微波冷凍乾燥 30 g 牛樟菌發酵產物 75 min 需耗能 4284 kJ，且乾燥過程中樣品的溫度低於 30°C。而傳統冷凍乾燥 24 小時需耗能 67564.8 kJ。以微波加快乾燥速率，可縮短真空泵及冷凝裝置的運作時間，達到節能之目的，故此微波冷凍乾燥製程可節省 93.65%以上能源（表 2）。

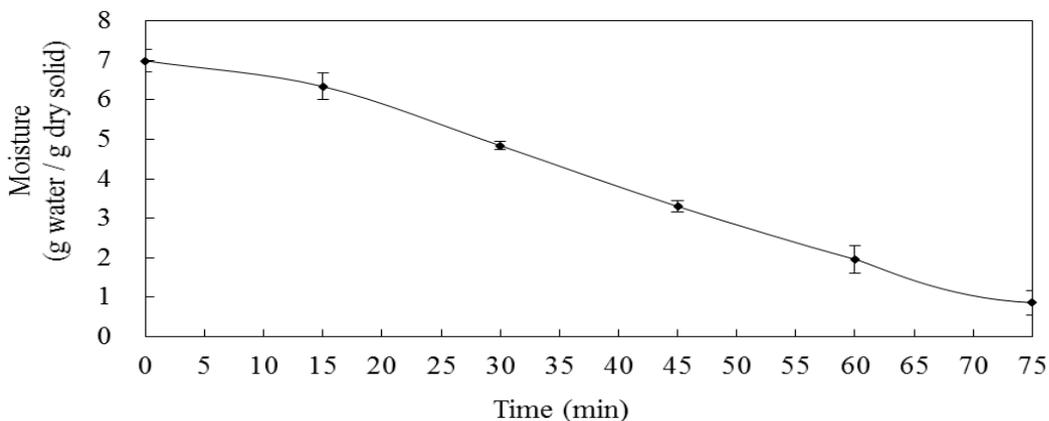


圖6. 50 W微波冷凍乾燥30 g米基質的乾燥曲線。

Fig. 6. Drying curves of 50 W microwave freeze-drying 30 g rice medium. Data are expressed as mean \pm S.D. (n=3).

表 2. 微波冷凍乾燥和傳統冷凍乾燥牛樟菌固態發酵產物之耗能情形

Table 2. Energy consumption of 30 g *A. cinnamomea* solid-state fermented products by microwave and conventional freeze-drying.

Power (W)	Drying time (min)	Energy consumption (kJ)			
		Vacuum pump	Condenser	Microwave	Total
50	75	1638	1881	765	4284
FD*	1440	31449.6	36115.2	0	67564.8

*FD: freeze-drying without microwave power input

在外觀上，在牛樟菌已長滿整個皿培式固態發酵精白米和糙米產物，在微波冷凍乾燥前和微波冷凍乾燥後的顏色仍呈現黃棕色，外表並無明顯差異，不過在微波冷凍乾燥後牛樟菌體積呈現往內略縮收現象（圖 7）。

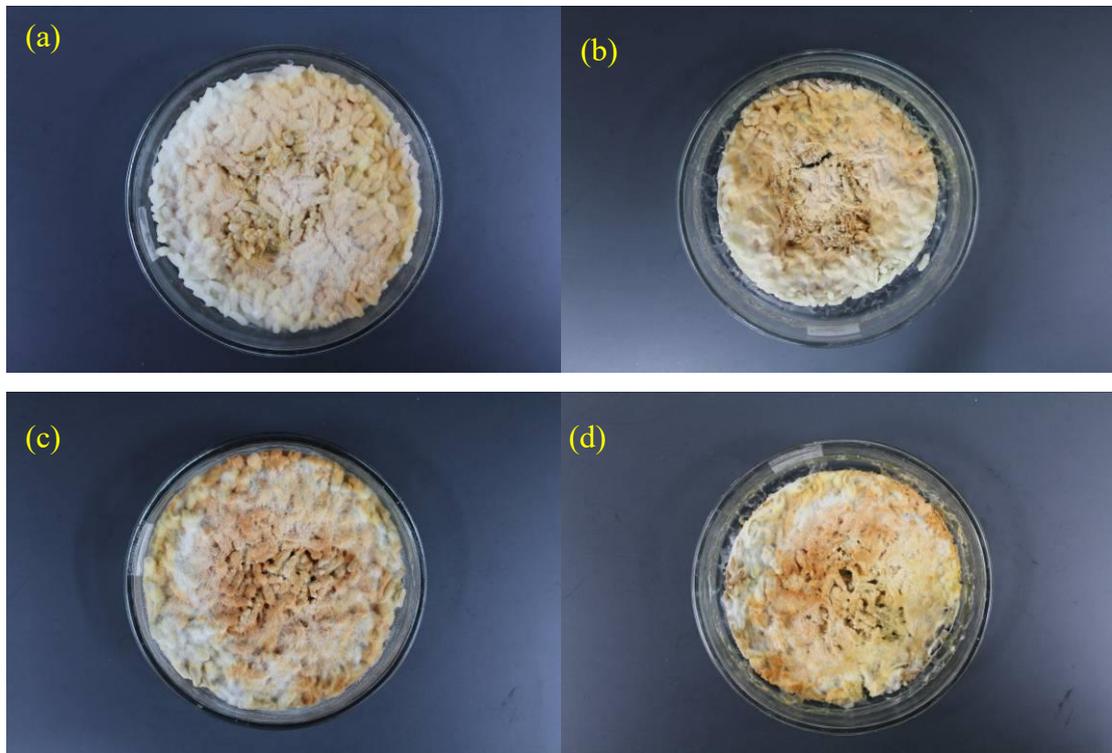


圖7. 乾燥前後牛樟菌固態發酵米產物 (a) 乾燥前精白米 (b) 乾燥後精白米 (c) 乾燥前糙米 (d) 乾燥後糙米。

Fig. 7. Pictures of *A. cinnamomea* solid-state fermented product by microwave freeze-drying. (a) before drying polished rice (b) after drying polished rice (c) before brown rice (d) after drying brown rice

比較在 Duan 等 (2010) 所輸入微波功率為 1.6、2 和 2.3 W/g，而本次研究的微波輸出功率則控制約在 1.6 W/g。Duan 等 (2010) 針對 300 g 的海參分別以熱風乾燥、冷凍乾燥、輸出微波功率 1.6 W/g 之微波冷凍乾燥，分別需耗時 8、18 和 12 小時。分析微波

冷凍乾燥海參的製程，較傳統冷凍乾燥節省 70% 的能源消耗，且可能由於後段乾燥之微波輸出功率較大，造成海參乾燥終點的溫度已高達 80°C。故未來微波的輸出功率仍可能再降低，使微波的能量和冰晶昇華的能量平衡。

微波冷凍乾燥完成後，磨粉製備，並進行一般成分分析，牛樟菌發酵的精白米及糙米產物之灰分含量分別為 0.47% 及 1.82%、脂質含量分別為 0.19% 及 3.42%、蛋白質含量分別為 2.84% 及 3.16%，除水分含量外，糙米的一般成分含量均比精白米較多，此應是糙米多了一層米糠層所致，精白米和糙米的碳水化合物分別為 31.21 及 30.6% (表 3)。牛樟菌所含活性成分粗多醣及粗三萜類含量，以精白米培養的牛樟菌發酵產物之粗多醣為 51.12%，而糙米之粗多醣為 57.62%，而二者的粗三萜類含量以精白米培養含量為 0.38%，糙米含量為 2.05% 較高 (表 4)，由於糙米比精白米多了米糠層，其營養較豐富，在油脂、蛋白質含量均較高，甚至含有米糠油，Shih 等 (2006) 的研究中，亦有提到添加油脂可以增加三萜的含量，故不論以粗多醣或粗三萜含量皆以糙米作為牛樟菌的皿培式的基質為佳。

表 3. 精白米和糙米基質及牛樟菌固態發酵精白米和糙米產物的一般成分分析

Table 3. Proximate composition of polished rice, *A. cinnamomea* (AC) solid-state fermented polished rice, brown rice, *A. cinnamomea* (AC) solid-state fermented brown rice

Content (%)	Polished rice	AC polished rice	Brown rice	AC brown rice
Moisture	53.23 ± 0.90	65.29 ± 3.13	52.62 ± 1.09	60.99 ± 2.11
Crude ash	0.39 ± 0.01	0.47 ± 0.04	1.42 ± 0.05	1.82 ± 0.05
Crude fat	0.12 ± 0.04	0.19 ± 0.01	2.48 ± 0.05	3.42 ± 0.18
Crude protein	1.98 ± 0.22	2.84 ± 0.20	2.46 ± 0.48	3.16 ± 0.25
Carbohydrate	44.28 ± 0.74	31.21 ± 2.96	41.02 ± 1.60	30.60 ± 2.19

Data are expressed as mean ± S.D. (n=3).

表 4. 牛樟菌固態發酵米產物活性成分含量

Table 4. Contents of active components in *A. cinnamomea* solid-state fermented rice products

Content (%)	<i>A. cinnamomea</i> polished rice	<i>A. cinnamomea</i> brown rice
Crude triterpenoids	0.38 ± 0.02	2.05 ± 0.01*
Crude polysaccharides	51.12 ± 5.74	57.62 ± 4.60*

Data are expressed as mean ± S.D. (n=3).

肆、結論

在牛樟菌耐熱試驗中，以 2 mL PDB 牛樟菌預活化菌液進行殺菌，牛樟菌 BCRC 35398 在 70、80 和 90°C 分別需 100s、80 s 和 40 s 即可將牛樟菌致死。以秈稻的精白米和糙米作為固態基質培養牛樟菌四週，再以微波功率 1000 W 對於四片皿培式 30 g 牛樟菌米固態發酵產物進行微波殺菌，加熱至 90°C 需 100 s 達到殺菌效果，而後將產物冷凍，以 50 W 微波冷凍乾燥 75 min 後即可完成乾燥，此可節省約 90%以上的能耗。最後磨粉進行分析，基本成分中皿培式牛樟菌固態發酵精白米產物的水分含量、灰分、脂肪、蛋白質、碳水化合物分別為 65、0.47、0.19、2.84 和 31%，而皿培式牛樟菌固態發酵糙米產物分別為 61、1.82、3.42、3.16 和 30.6%；牛樟菌的活性成分粗多醣及粗三萜，在牛樟菌固態發酵精白產物為 51%和 0.38%，而牛樟菌固態發酵糙米產物為 57%和 2.05%，表示以糙米較適合作為牛樟菌之固態發酵基質。

致 謝

本研究感謝行政院衛生署中醫藥委員會 CCMP100-RD-022 支持研究經費和拜寧生物科技股份有限公司提供牛樟菌，使本試驗得以順利完成，特此致謝。

參考文獻

- 王紅梅、錢建應。2005。微波技術在食品工業中的應用。揚州大學烹飪學報 3：61-64。
- 孫中文、劉漢青、黃一平、鞠建明。2010。藏藥印度獐芽菜總三萜和齊墩果酸的含量測定。中國民族民間醫藥 1：21。
- 陳淑德。2008。食品微波乾燥技術的應用。台北國食品展&台北國際食品機械暨包裝展專刊 57-61。食品資訊雜誌社出版，台北。
- 陳啟楨、蘇慶華、藍明煌。2001。樟芝固體栽培及其生物活性之研究。菌類科學 16：65-72。
- 程一華。1994。樟芝之成份研究。國立台灣師範大學化學學系碩士論文。台北。台灣。
- 楊書威。1990。中藥樟菇活性成分之研究。國立台灣大學藥學研究所碩士論文。台北。台灣。
- 韓德權。2004。微波殺菌在中藥生產中的應用研究。黑龍江大學自然科學學報 21：138-140。

- 經濟部中央標準局。1984。食品中粗灰份之檢驗法，CNS 5034 N6115。
- 經濟部中央標準局。1986。食品中粗蛋白質之檢驗法，CNS 5035 N6116。
- 經濟部中央標準局。1984。食品中粗脂肪之檢驗法，CNS 5036 N6117。
- Abbasi S, and S. Azari. 2009. Novel microwave-freeze drying of onion slices. *Int. J. Food Sci. Tech.* 44: 974-979.
- Cañumir, J. A., J. E. Celis, J. de Bruijn, and L.V. Vidal. 2002. Pasteurisation of Apple Juice by Using Microwaves. *LWT - Food Sci. Technol.* 35: 389-392.
- Chen Y. S., J. H. Pan, B. H. Chiang, F. J. Lu and L. Y. Sheen. 2008. Ethanolic extracts of *Antrodia cinnamomea* mycelia fermented at varied times and scales have differential effects on hepatoma cells and normal primary hepatocytes. *J. Food Sci.* 73: H179-185.
- Clary C., A Gamache, M. Cliff, J. Fellman, and C. Edwards. 2006. Flavor and aroma attributes of riesling wines produced by freeze concentration and microwave vacuum dehydration. *J. Food Process. Pres.* 30: 393-406.
- Coronel P., J. Simunovic, K. P. Sandeep, G. D. Cartwright, and P. Kuma. 2008. Sterilization solutions for aseptic processing using a continuous flow microwave system. *J. Food Eng.* 85: 528-536.
- Duan X., M. Zhang, A. S. Mujumdar, and S. Wang. 2010. Microwave freeze drying of sea cucumber (*Stichopus japonicas*). *J. Food Eng.* 96: 491-497.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- Fan, K. M. Zhang, and A. S. Mujumdar. 2019. Recent developments in high efficient freeze-drying of fruits and vegetables assisted by microwave: A review. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 59: 1357-1366.
- Gentry, T. S. and J. S. Roberts. 2005. Design and evaluation of a continuous flow microwave pasteurization system for apple cider. *LWT - Food Sci. Technol.* 38: 227-238.
- Hsu, Y. L., P. L. Kuo, C. Y. Cho, W. C. Ni, T. F. Tzeng, L. T. Ng, Y. H. Kuo and C. C. Lin. 2007. *Antrodia cinnamomea* fruiting bodies extract suppresses the invasive potential of human liver cancer cell line PLC/PRF/5 through inhibition of nuclear factor κ B pathway. *Food Chem. Toxicol.* 45: 1249-1257.
- Huang, C. H., C. C. Chang, C. M. Lin, S. T. Wang, M. T. Wu, E. I. C. Li, H. C. Chang, and C.

- C. Lin. 2010. Promoting effect of *Antrodia camphorata* as an immunomodulating adjuvant on antitumor efficacy of HER-2/neu DNA vaccine. *Cancer Immunol. Immunother.* 59: 1259-1272.
- Huang, L. and J. Sites. 2007. Automatic control of a microwave heating process for in-package pasteurization of beef frankfurters. *J. Food Eng.* 80: 226-233.
- Huang, S. J. and J. L. Mau. 2007. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Antrodia camphorata* with various doses of γ -irradiation. *Food Chem.* 105: 1702-1710.
- Lau, M. H. and J. Tang. 2002. Pasteurization of pickled asparagus using 915 MHz microwaves. *J. Food Eng.* 51: 283-290.
- Lin, E. S., C. T. Yang, H. J. Chou, and T. T. Chang. 2010. Screening of antioxidant activities by the edible basidiomycete *Antrodia cinnamomea* strains in submerged culture. *J. Food Biochem.* 34: 1141-1156.
- Lin, J. Y., T. Z. Wu, and J. C. Chou. 2006. In vitro induction of fruiting body in *Antrodia cinnamomea*-a medicinally important fungus. *Bot. Stud.* 47: 267-272.
- Liu, D. Z., H. J. Liang, C. H. Chen, C. H. Su, T. H. Lee, C. T. Huang, W. C. Hou, S. Y. Lin, W. B. Zhong, P. J. Lin, L. F. Hung, and Y. C. Liang. 2007. Comparative anti-inflammatory characterization of wild fruiting body, liquid-state fermentation, and solid-state culture of *Taiwanofungus camphoratus* in microglia and the mechanism of its action. *J. Ethnopharmacol.* 113: 45-53.
- Pandit, R. B., J. Tang, F. Liu, and G. Mikhaylenko. 2007. A computer vision method to locate cold spots in foods in microwave sterilization processes. *Pattern Recogn.* 40: 3667-3676.
- Peng, J., J. Tang, D. Luan, F. Liu, Z. Tang, F. Li., and W. Zhang. 2017. Microwave pasteurization of pre-packaged carrots. *J. Food Eng.* 202: 56-64.
- Shen, Y. C., C. J. Chou, Y. H. Wang, C. F. Chen, Y. C. Chou, and M. K. Lu. 2004. Anti-inflammatory activity of the extracts from mycelia of *Antrodia camphorata* cultured with water-soluble fraction from five different *Cinnamomum* species. *FEMS Microbiol. Lett.* 23: 137-143.
- Shih, I. L., K. Pan, and C. Hsieh. 2006. Influence of nutritional components and oxygen supply on the mycelial growth and bioactive metabolites production in submerged culture of *Antrodia cinnamomea*. *Process Biochem.* 41: 1129-1135.

- Tang, J. Y.-K. Hong, S. Inanoglu, and F. Liu. 2018. Microwave pasteurization for ready-to-eat meals. *Curr. Opin. Food Sci.* 23: 133–141.
- Wang Y., T. D. Wig, J. Tang, and L. M. Hallberg. 2003. Dielectric properties of foods relevant to RF and microwave pasteurization and sterilization. *J. Food Eng.* 57: 257-268.
- Wang R., M. Zhang, and A. S. Mujumdar. 2010a. Effect of food ingredient on microwave freeze drying of instant vegetable soup. *LWT - Food Sci. Tech.* 43: 1144-1150.
- Wang R., M. Zhang, and A. S. Mujumdar. 2010b. AS: Effects of vacuum and microwave freeze drying on microstructure and quality of potato slices. *J Food Eng.* 101: 131-139.

108年 10月 27日 投稿

109年 12月 31日 接受

