

非熱超音波技術在食品萃取與發酵製程上之應用

楊珺堯

摘要 超音波是屬於非熱加工技術的一種，可應用於食品工業和生物技術之製程中。在食品工業中，超音波可輔助食品加工製程和表面清潔與消毒，是一種相對簡單、便宜和節能的技術，且公認為良性的、較安全與無毒的處理技術。超音波對過濾、消泡、烹煮、脫氣、切割、乾燥、萃取、肉類嫩化、均質化、結晶及發酵等食品加工程序常有顯著的促進效果，本文即在針對超音波的特性及其在食品加工之萃取與發酵製程的新興應用與發展做一綜述。在食品工業的萃取製程是以分離純化為最主要目的，將所要的目標物自原料中分離並提純來提高其食用功效。以超音波來輔助萃取可改善質傳作用，使溶劑能更有效地滲透到多孔材料中，及使細胞壁破裂而促進細胞內容物之釋放，在高成本原料的製程中使用超音波輔助萃取可經濟性地替代傳統萃取方法，符合可持續發展的食品工業需求。此外，發酵製程是藉由微生物所產生的酵素或有機催化物的參與，將複雜有機化合物轉化為更簡單的化合物，而超音波具有影響生物轉化過程中酵素和微生物活性的潛力，因此可藉由改善質傳和細胞滲透的特性來影響發酵過程，進而提高食品發酵之效率和產率。

關鍵詞：超音波、食品萃取、發酵

Application of Non-thermal Ultrasonic Technology in Food Extraction and Fermentation

Chun-Yao Yang

ABSTRACT Ultrasound is one of the non-thermal processing technologies, and can be applied in the processes of food industry and biotechnology. In food industries, ultrasound is used to assist the food processing and surface cleaning in a relatively simple, cheap and energy-saving way and is recognized as a benign, safer and non-toxic technology, providing significant promotion in filtration, defoaming, cooking, degassing, cutting, drying, extraction, meat tenderization, homogenization, crystallization and fermentation of the food processing. In this review, the characteristics of ultrasound and its emerging application and development in extraction and fermentation of food processing are discussed. In the food industry, the main function of extraction is to separate and purify the desired product from the raw material for enhancing the food efficacy. The mass transfer effect in extraction can be improved by ultrasound that leads to the solvent penetrating into porous materials more effectively and the release of cell contents more efficiently from breaking cell walls. For the high-cost feedstock, ultrasound-assisted extraction can economically replace the traditional extraction method to meet the requirement of sustainable development in food industry. In addition, the process of fermentation involves the conversion of complex organic compounds into simpler ones via the participation of enzymes that are produced by microorganisms, or other organic catalysts. Thus, ultrasound has the potential

天主教輔仁大學食品科學系

Department of Food Science, Fu Jen Catholic University, Taiwan (R.O.C)

Corresponding author's email: 133810@mail.fju.edu.tw

to affect the activity of enzymes and microbes during biotransformation, giving the enhancement of efficiency and yield for the fermentation process due to the improvement of mass transfer and penetration characteristics in cells.

Key Words: Ultrasound, Food extraction, Fermentation

一、前言

在傳統的食品加工製程上，以熱處理 (thermal treatment) 和水活性的降低 (reduction of water activity) 是處理和保存食物的最常用的兩種技術。然而，在這些方法中所使用高溫雖會使產品中的微生物與酵素失活，但也會影響產品的品質 (顏色、味道、質地、風味等) 和營養物含量。因此，近年來，許多研究擬發展非熱加工 (non-thermal processing) 之新興技術來取代傳統的熱加工技術，例如：超音波 (ultrasound, US)、高壓處理 (high pressure processing, HPP) 和脈衝電場 (pulsed electric fields, PEF) 不僅能以類似「非生物應激 (abiotic stresses)」機制來活化營養保健食品之生物合成 [16]，也具有確保食品安全性的潛在優點。

超音波是屬於非熱加工技術的一種，可被應用於食品工業和生物技術之製程中，如圖 1. 所示，其對食品加工程序之過濾、消泡、烹煮、脫氣、切割、乾燥、萃取、肉類嫩化、均質化和結晶等常有顯著的促進效果[11]。此外，超音波應用於食品工業的一個主要優點為超音波相

較於其他技術 (如：微波、伽馬射線輻射與脈衝電場等) 是公認為良性的處理技術，是較安全與無毒的，因此，超音波應用在食品科技是屬於對環境友善的技術[33]。以下針對超音波的特性及其在食品加工之萃取與發酵製程的應用與發展做一回顧探討。

二、超音波

(一) 超音波的特性

超音波是一種高頻波，藉由在介質中不斷地壓縮與擴張來傳遞能量，是一種由壓力波所組成的聲波，其頻率通常超過 20 kHz，可應用於許多領域，如食品技術、生物技術、醫療技術、表面技術等。在超音波放射 (ultrasonic irradiation) 下，於液相流體中產生空穴 (cavity)，經由空泡的成長和崩裂現象之「空穴效應 (cavitation)」，這些振盪的空泡可誘導流體中產生壓力和速度波動，並在流體中產生微細的噴流 (liquid jet)，稱為「空穴化微流 (cavitation microstreaming)」[18]。在超音波作用下，空泡不對稱地崩裂，使流體湧流而入，流體的微噴流從空泡中被放射出來，並且朝向固體表面，從

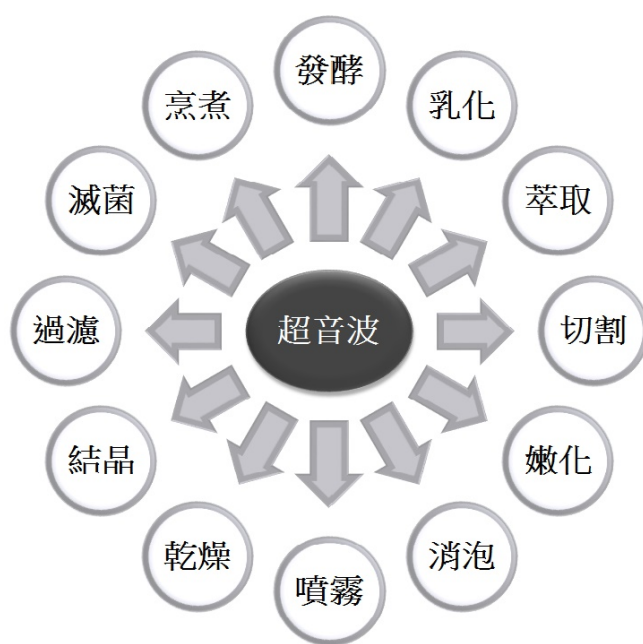


圖 1. 超音波在食品科學上之應用 (資料參考自 Chemat 等人[11])

Fig. 1. Application of ultrasound in food science (Referenced from Chemat et al. [11])

而導致點蝕和侵蝕，這種表面動作可以除去在表面上附著的粒子，並且分解大的聚集體成為較小的顆粒[18]。另一方面，當空泡裡的氣體受到周圍壓力的壓縮而破裂的瞬間，會產生許多的局部熱點 (hot-spot)，這些局部熱點的生命週期非常的短且溫度極高，但因為這些熱點區域所佔的體積極微小，所以散熱速度也非常快，因此對於化學反應的進行是非常有利的且有效的。

根據頻率範圍的分類，超音波的應用可分成兩種，即低能量超音波 (低功率、低強度、高頻率) 與高能量超音波 (高功率、高強度、低頻率)。低能量超音波的目的通常是在鑑別介質中一些看不見的物质，而高能量超音波則常聚焦於改變介質的某些部分或促進化學反應[6]。此外，高頻率 1-10 MHz 且功率強度低於 1 W/cm^2 的低能量超音波，可應用在非侵入性的分析 (non-invasive analysis)、監測不同食品材料之加工 (冷凍、乳化、乾燥等) 及儲存，以確保其高品質與安全性。相對地，低頻率 20 - 100 kHz 且功率強度高於 10 W/cm^2 的高能量超音波，可引起食品的物理、機械、化學和生化特性的效應[4, 6, 29]。

(二) 超音波的設備種類

一般而言，超音波的設備可分為三種類型，即超音波探針系統 (通常為 20 kHz)、超音波槽 (通常為 28 kHz 或 40 kHz)、及裝配到玻璃反應器中的超音波轉能器 (從 300 至 1100 kHz) [20]。在食品工業上所使用的超音波系統通常有兩種類型，如圖 2. 所示，其一為用探針頭 (horn 或 probe) 作為超音波產生器，另一為超音波槽 (bath)[43]。超音波槽由於容易取得，在食品加工上已被使用，其是藉由液體的傳送，將能量從發射區域傳送至反應容器而間接作用於反應混合物上；而超音波探針系統是藉由探針產生的超音波直接作用於反應器中，其在許多領域普遍被應用，如食品加工、生物技術等[6]。在食品工業中，超音波是一種相對簡單、便宜和節能的技術，可作為加工製程的輔助和表面清潔與消毒，但許多超音波的應用仍在被研究中，例如：微生物發酵、乳化、過濾、黏度改質、萃取、嫩化等[6, 20]。

三、超音波輔助萃取

「萃取 (extraction)」被應用於在許多領域中，包含化學工業與食品工業，在食品工業的製程裡是以分離純化為最主要的目的，將所要的目標物自原料中分離，並以

提純操作來提高濃度與食用品質之功效。一般傳統的萃取方式為溶劑萃取 (solvent extraction) 技術，是指將液體溶劑加入至固相物質或另一液相中進行溶取溶質的方法，是屬於耗時並使用大量溶劑的方法。因此，近年來提出了一些新穎性取代技術來改善一般傳統的溶劑萃取技術，例如：超音波輔助萃取 (ultrasound-assisted extraction, UAE) 是屬於其中一種新興技術，以下將針對此技術的機制與在食品工業上之應用做一探討。

(一) 超音波輔助萃取的機制

超音波輔助萃取 (UAE) 應用於食品加工技術中是屬於一種非熱加工技術，近年來，已經有許多研究針對 UAE 對不同的植物或動物原料之萃取進行探討，不僅能增強從植物和動物原料中萃取成分，如多酚、花青素、芳香化合物、多醣、油和功能性化合物等，UAE 亦可作為預處理 (pretreatment) 之步驟。從食品工業觀點來說，以較低的成本而可獲致萃取效率的提昇是重要的，使用

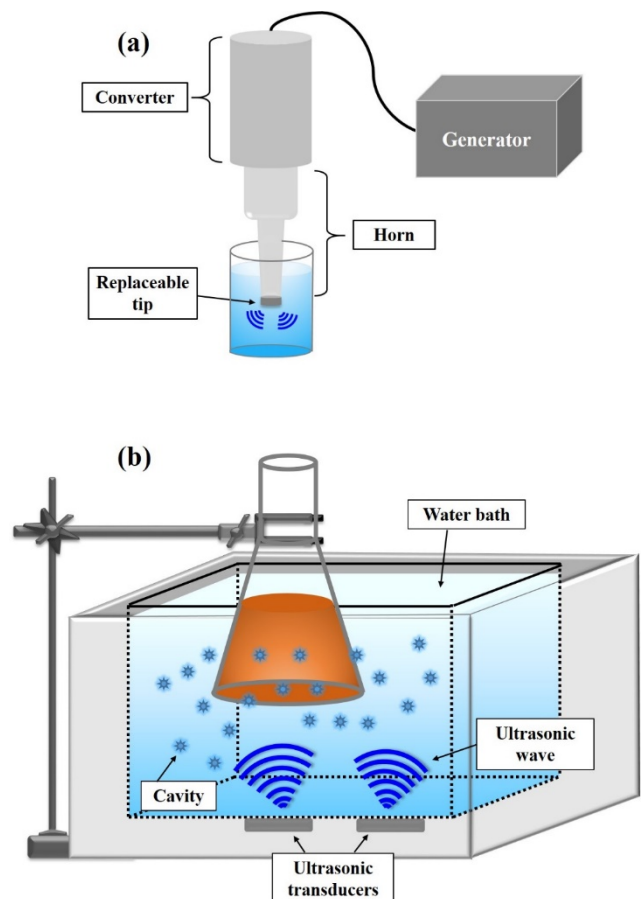


圖 2. 超音波的設備種類：(a) 探針式超音波、(b) 槽式超音波(資料參考自 Yang 等人[43])

Fig. 2. The types of ultrasonic equipment: (a) ultrasonic probe/ horn; (b) ultrasonic bath (Referenced from Yang et al. [43])

UAE 方法則可顯著地獲得較高的產品產率，這是因為 UAE 技術是對現有萃取方法的「補充」步驟，具有最小的改變，且有利於縮短萃取時間及提高萃取效率；而 UAE 之所以可提高萃取效率，主要是歸因於利用超音波在溶劑中所產生的空穴效應所致[31]，空穴效應產生之微噴流會導致原料表面上的剝離、腐蝕與顆粒破壞，如圖 3. 所示，這種效應不僅提供了新表面的暴露，也導致細胞內的成分釋出，更進一步增加了質傳 (mass transfer) 作用 [11]。

UAE 除了提供包括改善質傳作用，使溶劑能更有效地滲透到多孔材料中，亦具有使細胞壁破裂而促進細胞內容物釋放的益處。在高成本原料中使用超音波輔助萃取可經濟性地替代傳統萃取方法，符合可持續發展的食品工業需求[36]；因此，超音波被視為是一種可實現永續「綠色化學 (green chemistry)」和萃取目標的關鍵技術

[10]。在 UAE 過程中涉及了許多不同的作用機制，包括碎裂 (fragmentation)、破壞 (destruction)、侵蝕 (erosion)、毛細作用 (capillarity)、局部剪切應力 (local shear stress) 和聲孔效應 (sonoporation) 等，而影響這些 UAE 作用機制的因素則包含超音波的功率、超音波的頻率、超音波的強度、超音波的反應器型式、萃取溫度、萃取時間、萃取溶劑的特性[10, 34]。表 1. 為彙整超音波輔助萃取的影響因素與主要的效應，由於超音波屬於機械波 (mechanical wave)，其功率、頻率、強度的特性皆可以影響空穴效應並因而影響萃取效率，超音波反應器的形狀和種類也會影響萃取過程。此外，萃取的條件 (溫度與時間) 及萃取溶劑之種類與用量都會影響空穴效應，進而影響萃取效率；因此，在超音波輔助萃取的製程設計需考慮到上述的影響因子。

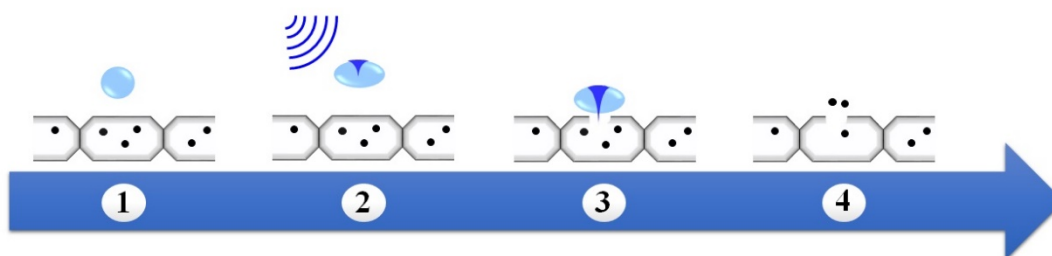


圖 3. 超音波輔助萃取示意圖 (資料參考自 Chemat 等人[11])

Fig. 3. The schematic diagram of ultrasound-assisted extraction (Referenced from Chemat et al. [11])

表 1. 超音波輔助萃取的影響因素

Table 1. Factors affecting ultrasound-assisted extraction

影響因素	造成之效應
超音波的功率	高功率可誘導更大的剪切力進而引起原料的主要改變。
超音波的頻率	在低頻率範圍 (20 - 40kHz) 中具有較高的萃取產率。
超音波的強度	高強度可促進萃取的化合物的降解。
超音波的反應器	(1) 反應器的種類 (槽式超音波、探針式超音波)。 (2) 反應器的形狀與尺寸。
萃取溫度	(1) 高溫有助於破壞溶劑和反應基質的相互作用。 (2) 高溫可促進溶劑的擴散速率。 (3) 低溫增強了空穴效應。
萃取時間	(1) 較長的萃取時間可提高萃取產率。 (2) 較長的萃取時間可能誘導萃取化合物的變化。
萃取溶劑的特性	(1) 黏性溶劑會降低空穴效應。 (2) 揮發性溶劑如在較高溫度下長時間進行萃取則可能蒸發。 (3) 目標化合物在溶劑中的極性和溶解度。 (4) 蒸汽壓和表面張力會影響空穴效應。

(二) 超音波輔助萃取的應用

目前新的 UAE 加工方法，包括：(a) 修飾植物細胞材料以提供改進的微量營養素的生物利用度，並同時保持天然品質的潛力；(b) 同時萃取與封裝；(c) 在含水溶液系統中的聲化學之驟冷以避免生物活性物的降解；(d) 具有使用自由基聲化學以達到羥基化（如：多酚和類胡蘿蔔素）來增加生物活性的潛力[36]。在食品工業上 UAE 應用如表 2. 所示，不同的萃取原料所得到的萃取產物不同，但以 UAE 較一般傳統的方法更易促進其萃取效率；以含油種子（大豆、向日葵種子、油菜籽等）為萃取原料而言，超音波可以輔助一般傳統的索氏萃取（Soxhlet extraction）製程，並可有效地減少索氏萃取所需的循環數[19]。Jovanovic-Malinovska 等人（2015）使用 UAE 技術自不同種類的水果（藍莓、油桃、覆盆子、西瓜）與蔬菜（大蒜、菊芋、韭蔥、蔥、白洋蔥）中萃取寡糖，發現到以 UAE 萃取較一般乙醇萃取方法，萃取的總寡糖含量增加範圍為 2 - 4 倍，證實 UAE 可以提高萃取效率與產率[17]。

UAE 對於食品工業上所提供的益處包含：(a) 提高整體的萃取產率或速率，縮短萃取時間；(b) 增強不能使用溶劑萃取的水萃取製程，例如果汁濃縮物加工；(c) 提供藉由改進其萃取性能來取代使用一般認為安全（generally recognized as safe, GRAS）的溶劑的機會；(d) 能夠以更便宜的原料或品種來採購或取代並同時維持生物活性的水平；(e) 增加熱敏感組成分之萃取[36]。

表 2. 在不同食品原料之超音波輔助萃取

Table 2. Ultrasound-assisted extraction in various food sources

原料	UAE 萃取之產物與優點	參考文獻
水果和蔬菜	(1) 主要萃取產物有抗氧化劑、色素、脂質、寡糖或植物化學物質（多酚類化合物等）。 (2) 縮短萃取時間。 (3) 增加萃取產率。	[10, 17]
香料植物	(1) 主要萃取的目標化合物有抗氧化劑、芳香化合物、辣椒素化合物、香味物質或揮發性化合物。 (2) 較傳統方法更容易回收萃取成分。	[10]
含油種子	(1) 以油脂類成分為主要的萃取產物。 (2) 超音波可被應用於索氏萃取（Soxhlet extraction）的製程上。 (3) 縮短萃取時間。	[19]

四、超音波與食品發酵

「發酵 (fermentation)」是古老的食物保鮮和製備方法之一；然而，這個詞有不同的定義，目前較符合「食品發酵」之定義是指在嫌氧與好氧的環境下，將碳水化合物之類似物加以分解，此過程涉及到利用酵素 (enzyme) 與微生物的作用將複雜有機化合物轉化為更簡單的化合物。如今超音波在食品工業上正成為一種新興技術，其發展的目的是在於加工製程的最小化與提高品質以確保食品安全；因此，超音波作用對生物效應的應用已經引起關注，包括對微生物細胞的「增殖效應 (proliferation effect)」與「失活效應 (inactivation effect)」及對酵素活性 (enzyme activity) 的影響。以下將分別針對超音波對酵素與微生物之影響，以及目前超音波在發酵製程上之應用與未來發展潛力進行探討。

(一) 超音波對酵素之影響

超音波具有影響生物轉化過程中酵素和微生物活性的潛力，超音波的處理已早被研究及應用於酵素失活 (enzyme inactivation)，這是由於超音波在壓縮階段所產生的空穴現象會伴隨著產生熱、化學與機械效應，而這些效應可能導致酵素的不可逆分解或失活現象。酵素的超音波失活反應取決於超音波相關的參數，包含超音波的頻率、超音波的功率、酵素的類型、濃度、培養基的 pH 與溫度[22]。另一方面，超音波可以對酵素、基質 (substrate)、酵素與基質及其周圍環境之間的反應

提供促進或損傷作用。在低強度和適當頻率的條件下，超音波會產生空穴效應、磁致伸縮效應 (magnetostrictive effect) 和機械振盪效應 (mechanical oscillation effect)，進而改變酵素的構型以增加酵素和基質之間的接觸，促進了酵素的生物活性；此外，超音波亦可以改變基質的特性，甚至有助於為酵素和基質之間的反應提供最佳環境[15]。由上述可知，在適當的頻率和強度的條件下，使用超音波處理可以引起酵素活性的增加，此乃來自數個物理效應和生化效應[22]，這些效應的個別敘述與討論如下：

- (1) 質傳與微混合：酵素反應往往是因為基質的結構配置而受制於缺乏可用基質[7]或基質至酵素之擴散受到限制[41, 42]，然而以不同頻率的超音波可以藉由誘導流體運動以增加質量傳送來克服此限制，用以確保酵素之基質可用率，及從酵素順利移去產物並回收。質傳速率之提高可用較低頻率超音波由空穴的產生或在較高的頻率通過微噴流的產生而獲得[5, 42]。
- (2) 酵素的釋放：酵素在細胞內的空間限制會導致酵素活性受到限制或阻礙其被萃取；因此，在低頻率高強度的超音波作用下，可促使細胞破裂並使細胞內容物(包括酵素)釋出[1, 13]。以此種應用超音波程序來克服細胞膜間之傳送阻力限制，不僅可使酵素活性增強，亦可改善從細胞萃取酵素之效率。不過若比較前述(1)(2)兩者之個別效應，利用超音波來增加質傳作用以增強酵素活性的效應相較於以超音波促使釋放酵素來增加活性的效應來得更顯著，這種情況很可能是由於克服細胞中酵素的空間限制所需能量強度要高得多的緣故。
- (3) 提高酵素活性的預處理程序：酵素反應結合超音波的程序不僅可以改善酵素活性，而且以超音波來預處理基質或固定化載體也能顯著提高基質之轉化，主要是由於可利用的基質表面積增加了，例如，掩蓋基質的物質被降解，因而顯露出基質可供利用[2, 41]。
- (4) 生化效應：超音波也能誘導在活細胞中的生化效應，進而增加某些特定酵素的產生[21, 40]。依照超音波的特性，這種觸發特定酵素的產生類似於以高的靜水壓處理細胞後發生的情況；此種生物應激回應 (biological stress response) 是產生酵素並增強活性的原因，而經過修改後的代謝活動顯然屬於組織

的應激回應，如果沒有再更進一步的超音波刺激，則組織會恢復到正常的新陳代謝[40]。因此，在進行超音波作用於微生物的情況下，為了維持微生物增加酵素產生之穩定性，以適當的超音波作用方式及控制最適的微生物培養條件等也是影響酵素活性之因素。

(二) 超音波對微生物之影響

超音波對微生物之影響可分為對微生物的「增殖效應」與「失活效應」，目前的研究已經發現到以適當的超音波處理可以促進微生物細胞的生長，而這是取決於超音波對微生物細胞及其周圍環境提供的效果。低強度的超音波所產生穩定的空穴效應，可對細胞提供修復損傷，它改變微生物細胞的生活狀態，因而促進微生物的「增殖效應」；相對地，高強度超音波則不能對微生物細胞提供修復損害。

在超音波對微生物的「增殖效應」方面，超音波的作用機制與所造成的影響如下：(1) 超音波作用在微生物培養過程中所形成的鬆散的細胞團，可增強微生物細胞的營養利用並提高目標物質的產率；(2) 超音波提高細胞膜的滲透性，加速質傳作用與促進細胞生長和繁殖；(3) 超音波可用於調節培養基，為微生物生長提供最佳環境；(4) 超音波提供對細胞成分、功能性和遺傳學的影響，藉以加速微生物的增殖[15]。

另一方面，超音波是可導致微生物「失活效應」的新興技術之一，也被建議作為熱處理的替代技術。而超音波對微生物的「失活效應」的主要機制是藉由空穴效應所產生的物理力作用，空泡不對稱地崩裂，使流體湧流而入導致流體的微噴流從空泡中被放射出來；然而，微生物具有疏水性表面，這將促進表面上空泡的破裂 (空穴效應)，導致對細胞壁的嚴重損傷，另外，微噴流可導致細胞壁的侵蝕，進一步導致微生物的失活[8]。超音波對細胞成分的損傷效應取決於超音波的條件，包括頻率、功率和溫度[15]。在乳品製程中，以超音波作為微生物滅菌的加工技術來避免由一般傳統的熱處理所引起的不良影響，Gao 等人 (2014) 使用低頻率 (20 kHz) 和高頻率 (850 kHz) 超音波對脫脂牛奶中的 *Enterobacter aerogenes* 進行滅菌，發現到低頻率超音波的空穴效應可導致對 *E. aerogenes* 的致死損傷[14]。

(三) 超音波在發酵製程上之應用

發酵製程 (fermentation processes) 是藉由一系

列微生物 (包括酵母、黴菌和細菌) 所產生的酵素或有機催化物的參與，將複雜有機化合物轉化為更簡單的化合物之化學轉化過程。隨著科技的發展，食品發酵工業需要創新性的技術來提高發酵產品的產率和品質，同時也需要新的分析工具來研究和監測複雜的發酵過程。超音波可用於促進發酵，主要來自刺激三個主要因素，即微生物、酵素和質傳作用；低頻率超音波 (20 - 50 kHz) 可藉由改善質傳作用和細胞滲透的特性來影響發酵過程，進而提高發酵過程效率和產率，或可作為巴氏滅菌 (pasteurisation) 之應用。除此之外，超音波亦可應用於監測發酵過程的進展；高頻率超音波 (> 2 MHz) 已被廣

泛應用於監測發酵過程中化學成分變化的非破壞性分析技術，並可提供關於反應過程的即時訊息[27]。

近年來，超音波應用在食品發酵已經吸引了很多研究興趣，有許多研究針對低頻率超音波在食品發酵加工製程中之應用進行探討，並指出其應用的主要目的在於改善酵素與微生物性能、泡沫破壞、乳化、改善最終產品質量和發酵食品的安全性。在超音波輔助食品發酵方面，常見的發酵製程為乳製品的乳酸菌發酵製程，表 3 列出過去針對超音波用於乳製品的乳酸菌 (例如：*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. acidophilus*,

表 3. 超音波應用於乳製品的乳酸菌發酵製程

Table 3. Application of ultrasound in dairy fermentation

發酵原料	超音波條件	主要結果	參考文獻
還原脫脂乳	頻率: 20 kHz 功率: 60 W 時間: 20 min	超音波處理可促進乳糖水解反應。	[35]
脫脂奶粉 (12%, w/v)	頻率: 200 kHz 溫度: 37 ± 0.2 °C 強度: 17.2 kW m ⁻²	(1) 超音波處理可增加牛奶中乳糖水解。 (2) 超音波處理降低細胞存活率。	[32]
脫脂奶粉 (10%, w/v)	頻率: 200 kHz 強度: 17.2 kW m ⁻² 連續時間: 0, 2, 4 h 週期時間: 2, 4, 6, 8 h 溫度: 37 ± 0.1 °C	(1) 連續超音波處理導致細胞存活率降低。 (2) 在超音波處理後，以靜態培養之活菌數 (活細胞數) 再度增加。	[38]
脫脂奶粉 (10%)	頻率: 200 kHz 強度: 17.2 kW m ⁻² 溫度: 37 ± 0.2 °C	促使 β-galactosidase 從乳酸菌細胞被釋放至培養基中而導致較高的 β-galactosidase 活性。	[37]
鮮牛乳	頻率: 20 kHz 功率: 500 W	(1) 接種菌種後以超音波處理可減少總發酵時間。 (2) 接種前提高超音波振幅可顯著提升保水能力和黏度，及降低脫水。	[39]
還原脫脂乳 (15%)	頻率: 20 kHz 振幅: 50% (約 100 W) 時間: 7, 15, 30 min 溫度: 30 - 40 °C	促使菌體破裂釋放出 β-galactosidase，促進乳糖水解，並提升其他菌種在牛奶發酵過程中的生長。	[23]
還原脫脂乳 (15%, w/v)	頻率: 20 kHz 振幅: 30% (約 100 W) 時間: 7, 15, 30 min 溫度: 30 - 40 °C	超音波作用加速牛奶中乳糖水解及 trans-galactosylation 反應。	[24]

Bifidobacterium breve, *B. infantis*, *B. longum*, *B. animalis* ssp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus*) 發酵的相關研究，超音波的處理可以增加牛乳中乳糖水解並改善乳製品的發酵過程[24, 32, 35]；此外，超音波處理也會使乳製品發酵菌種的膜滲透性增強，促使酵素 (β -galactosidase) 從細胞中被釋放出來[23, 37]。在過去的研究中指出，由於超音波在微生物中的作用模式與細胞壁結構有關，超音波的空穴效應伴隨著剪切破壞可破壞細胞壁；因此，超音波具有引起細胞膜變薄，打破細胞壁釋放細胞質內容物之潛力[6, 28]。Wang 等人 (1996) 探討以不同類型的超音波處理方式 (連續式超音波處理、週期式超音波處理) 對乳製品發酵的影響，發現到以連續使用超音波處理會引起細胞活性降低，但在超音波處理後，靜態培養之活性細胞數再度增加[38]。此外，在牛乳均質與發酵的物理特性進行探討，也發現到超音波對牛乳發酵過程中的 pH 變化以及所產生的保水能力、黏度和脫水均有影響[39]。

除了乳製品發酵外，表 4. 也彙整出一些以其他原料與菌種對於超音波輔助發酵的相關研究。在豆奶發酵製程的研究上，以探針式超音波 (30 kHz, 100 W) 分別作用於益生元-豆奶(prebiotic-soymilk)與補充生物素之豆奶的發酵進行探討，發現超音波可提高益生菌的 β -glucosidase 活性，促進益生元-豆奶與補充生物素之豆奶中之 isoflavone glucosides 生物轉化成 bioactive

aglycones [12, 44]；Chang 與 Chen (2002) 探討以超音波處理對米酒陳化 (陳熟) 的影響，並發現到以 20 kHz 超音波作用可促進米酒陳化[9]。由上述可知，使用超音波於微生物發酵反應，預期可以加快生物轉化速率，縮短發酵時間。

另一方面，高頻率超音波也被應用於發酵製程的監測上，是屬於非侵入性、非破壞性、快速和精確的潛在監測工具。傳統上，藉由以固定時間間隔取樣來監測或控制發酵過程，評估關鍵發酵參數包括微生物生長、pH、酸度、濁度和化學組成，但這些分析方法是耗時的並不易於即時監控；採用高頻率超音波可以即時提供有用的訊息來監測發酵過程，並可應用於同相或多相系統中，此方法對發酵培養基並不會產生降解或化學變化[27]。目前有研究以高頻率超音波的速度分別用於推斷不同的樣品 (包括水-乙醇-蔗糖混合物、紅酒、水-乙醇-蘋果酸-乳酸混合物) 在不同發酵過程 (如：alcoholic fermentation 與 malolactic fermentation) 中的變化情況[3, 25, 30]。另外，Ogasawara 等人 (2006) 也採用非接觸的 acoustic transducers (3.7 MHz) 監測，藉由測試由液體轉變為膠體的相 (phase) 之差異來確定酸凝酪生產過程的終點 [26]。

由上述，在食品發酵過程中，超音波技術可使用在分析和控制發酵過程中的加工和監測，目前大多數的研究也已經證實在實驗室的規模下超音波在食物發酵之應用，

表 4. 超音波於其他食品之發酵應用

Table 4. Application of ultrasound in the fermentation of other foods

發酵基質與菌種	超音波條件	主要結果	參考文獻
米酒 <i>Aspergillus awamori</i> <i>Saccharomyces sake</i>	頻率: 20 kHz 時間: 1 週	經超音波處理可促進米酒陳化。	[9]
豆奶 <i>L. casei</i> <i>B. longum</i> <i>Lactobacillus</i> sp. <i>Bifidobacterium</i>	頻率: 30 kHz 功率: 20, 60, 100 W 溫度: 25 °C 時間: 1, 2, 3 min	超音波處理可提升生物活性物質 (aglycones) 濃度來產生具生物活性的 synbiotic-soymilk。	[43]
補充生物素之豆奶 <i>L. acidophilus</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. gasseri</i>	頻率: 30 kHz 功率: 100 W 不同振幅: 20%, 60%, 100% 時間: 60, 120, 180 s	增強乳酸菌細胞內和胞外酵素 β -glucosidase 活性，而促進豆奶中的生物轉化反應。	[12]

且具有工業上應用的潛力。

五、結論

隨著科技的進展，環保意識受到重視，許多新興的綠色技術正逐漸引入至傳統的食品加工製程中，以期能改善傳統製程對產品與環境的影響；超音波是食品工業和生物技術中的一種新興技術，屬於非熱加工技術，目前它除了應用於萃取與發酵的製程外，亦已應用於其他食品加工程序，例如：過濾、消泡、烹煮、脫氣、切割、乾燥、肉類嫩化、均質化和結晶；另外，由於超音波的空穴效應會影響微生物與酵素對食品的作用，也被認為是在食品品質保證和食品安全中的可行的技術。目前，超音波在不同食品加工製程應用中的潛力已被於實驗室規模下證實，而在商業可行性和工業應用上仍需克服實驗室規模之技術上限制，例如：大尺寸超音波反應器中之空泡活性均勻分布、幾何尺寸與轉能器 (transducers) 位置之效應、不同食品系統作用機制之強度需求、批式或連續式操作或再循環操作模式等。因此，設計超音波設備應用於工業化的放大製程則是未來發展的趨勢；藉由超音波系統在食品製程之放大技術發展，未來可提高食品加工製程的經濟效益。

參考文獻

- [1] Agrawal, P.B. and A.B. Pandit. 2003. Isolation of α -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*: cell disruption and adsorption. *Biochem. Eng. J.* 15:37-45.
- [2] Aliyu, M. and M.J. Hephher. 2000. Effects of ultrasound energy on degradation of cellulose material. *Ultrason. Sonochem.* 7:265-268.
- [3] Amer, M.A., Novoa-Díaz, D., Puig-Pujol, A., Capdevila, J., Chávez, J.A., Turó, A., García-Hernández, M.J., and J. Salazar. 2015. Ultrasonic velocity of water-ethanol-malic acid-lactic acid mixtures during the malolactic fermentation process. *J. Food Eng.* 149:61-69.
- [4] Awad, T.S., Moharram, H.A., Shaltout, O.E., Asker, D. and M.M. Youssef. 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Res. Intern.* 48:410-427.
- [5] Bengtsson, M. and T. Laurell. 2004. Ultrasonic agitation in microchannels. *Anal. Bioanal. Chem.* 378:1716-1721.
- [6] Bermúdez-Aguirre, D., Mobbs, T., and G.V. Barbosa-Cánovas. 2011. Ultrasound applications in food processing. In Feng, H., Barbosa-Cánovas, G.V., and J. Weiss (Eds.). *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*, pp.65 - 105. Springer, New York.
- [7] Cadoret, A., Conrad, A., and J.C. Block. 2002. Availability of low and high molecular weight substrates to extracellular enzymes in whole and dispersed activated sludges. *Enzyme Microb. Technol.* 31:179-186.
- [8] Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., and M. Ashokkumar. 2012. Ultrasonics in food processing - Food quality assurance and food safety. *Trends Food Sci. Technol.* 26:88-98.
- [9] Chang, A.C. and F.C. Chen. 2002. The application of 20 kHz ultrasonic waves to accelerate the aging of different wines. *Food Chem.* 79:501-506.
- [10] Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S., and M. Abert-Vian. 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrason. Sonochem.* 34:540-560.
- [11] Chemat, F., Zill-e, H., and M.K. Khan. 2011. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrason. Sonochem.* 18:813-835.
- [12] Ewe, J.A., Abdullah, W.N.W., Bhat, R., Karim, A.A., and M.T. Liong. 2012. Enhanced growth of lactobacilli and bioconversion of isoflavones in biotin-supplemented soymilk upon ultrasound-treatment. *Ultrason. Sonochem.* 19:160-173.
- [13] Farkade, V.D., Harrison, S.T.L., and A.B. Pandit. 2006. Improved cavitation cell disruption

- following pH pretreatment for the extraction of β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. *Biochem. Eng. J.* 31:25-30.
- [14] Gao, S., Hemar, Y., Lewis, G.D., and M. Ashokkumar. 2014. Inactivation of *Enterobacter aerogenes* in reconstituted skim milk by high- and low-frequency ultrasound. *Ultrason. Sonochem.* 21:2099-2106.
- [15] Huang, G., Chen, S., Dai, C., Sun, L., Sun, W., Tang, Y., Xiong, F., He, R., and H. Ma. 2017. Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity. *Ultrason. Sonochem.* 37:144-149.
- [16] Jacobo-Velazquez, D.A., del Rosario Cuéllar-Villarreal, M., Welti-Chanes, J., Cisneros-Zevallos, L., Ramos-Parra, P.A., and C. Hernández-Brenes. 2017. Nonthermal processing technologies as elicitors to induce the biosynthesis and accumulation of nutraceuticals in plant foods. *Trends Food Sci. Technol.* 60:80-87.
- [17] Jovanovic-Malinovska, R., Kuzmanova, S., and E. Winkelhausen. 2015. Application of ultrasound for enhanced extraction of prebiotic oligosaccharides from selected fruits and vegetables. *Ultrason. Sonochem.* 22:446-453.
- [18] Kentish, S. and M. Ashokkumar. 2011. The physical and chemical effects of ultrasound, In Feng, H., Barbosa-Cánovas, G.V., and J. Weiss (Eds.). *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*, pp.1-12. Springer, New York.
- [19] Koubaa, M., Mhemdi, H., Barba, F.J., Roohinejad, S., Greiner, R., and E. Vorobiev. 2016. Oilseed treatment by ultrasounds and microwaves to improve oil yield and quality: An overview. *Food Res. Intern.* 85:59-66.
- [20] Kwiatkowska, B., Bennett, J., Akunna, J., Walker, G.M., and D.H. Bremner. 2011. Stimulation of bioprocesses by ultrasound. *Biotechnol. Adv.* 29:768-780.
- [21] Liu, Y., Yoshikoshi, A., Wang, B., and A. Sakanishi. 2003. Influence of ultrasonic stimulation on the growth and proliferation of *Oryza sativa* Nipponbare callus cells. *Colloids and Surf. B Biointerfaces* 27:287-293.
- [22] Mawson, R., Gamage, M., Terefe, N.S., and K. Knoerzer. 2011. Ultrasound in enzyme activation and inactivation, In Feng, H., Barbosa-Cánovas, G.V., and J. Weiss, J. (Eds.). *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*, pp.369-404. Springer, New York.
- [23] Nguyen, T.M.P., Lee, Y.K., and W. Zhou. 2009. Stimulating fermentative activities of bifidobacteria in milk by high intensity ultrasound. *Intern. Dairy J.* 19:410-416.
- [24] Nguyen, T.M.P., Lee, Y.K., and W. Zhou. 2012. Effect of high intensity ultrasound on carbohydrate metabolism of bifidobacteria in milk fermentation. *Food Chem.* 130:866-874.
- [25] Novoa-Díaz, D., Rodríguez-Nogales, J.M., Fernández-Fernández, E., Vila-Crespo, J., García-Álvarez, J., Amer, M.A., Chávez, J.A., Turó, A., García-Hernández, M.J., and J. Salazar. 2014. Ultrasonic monitoring of malolactic fermentation in red wines. *Ultrasonics* 54:1575-1580.
- [26] Ogasawara, H., Mizutani, K., Ohbuchi, T., and T. Nakamura. 2006. Acoustical experiment of yogurt fermentation process. *Ultrasonics* 44:e727-e730.
- [27] Ojha, K.S., Mason, T.J., O' Donnell, C.P., Kerry, J.P., and B.K. Tiwari. 2017. Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrason. Sonochem.* 34:410-417.
- [28] Piyasena, P., Mohareb, E., and R.C. McKellar. 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *Intern. J. Food Microb.* 87:207-216.
- [29] Povey, M.J.W. and T.J. Mason. 1998. *Ultrasound in food processing*. Blackie Academic & Professional, New York.
- [30] Resa, P., Elvira, L., Montero de Espinosa, F., and Y. Gómez-Ullate. 2005. Ultrasonic velocity in

- water-ethanol-sucrose mixtures during alcoholic fermentation. *Ultrasonics* 43:247-252.
- [31] Rostagno, M.A., Villares, A., Guillamón, E., García-Lafuente, A., and J.A. Martínez. 2009. Sample preparation for the analysis of isoflavones from soybeans and soy foods. *J. Chromatogr. A* 1216:2-29.
- [32] Sakakibara, M., Wang, D., Ikeda, K., and K. Suzuki. 1994. Effect of ultrasonic irradiation on production of fermented milk with *Lactobacillus delbrueckii*. *Ultrason. Sonochem.* 1:S107-S110.
- [33] Sillanpää, M., Pham, T.D., and R.A. Shrestha. 2011. *Ultrasound Technology in Green Chemistry*. Springer, New York.
- [34] Tiwari, B.K. 2015. Ultrasound: A clean, green extraction technology. *Trends in Analyt. Chem.* 71:100-109.
- [35] Toba, T., Hayasaka, I., Taguchi, S., and S. Adachi. 1990. A new method for manufacture of lactose-hydrolysed fermented milk. *J. Sci. Food Agric.* 52:403-407.
- [36] Vilkhov, K., Mawson, R., Simons, L., and D. Bates. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9:161-169.
- [37] Wang, D., and M. Sakakibara. 1997. Lactose hydrolysis and β -galactosidase activity in sonicated fermentation with *Lactobacillus* strains. *Ultrason. Sonochem.* 4:255-261.
- [38] Wang, D., Sakakibara, M., Kondoh, N., and K. Suzuki. 1996. Ultrasound - enhanced lactose hydrolysis in milk fermentation with *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 65:86-92.
- [39] Wu, H., Hulbert, G.J., and J.R. Mount. 2001. Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 1:211-218.
- [40] Wu, J. and L. Lin. 2002. Ultrasound - induced stress responses of *Panax ginseng* cells: enzymatic browning and phenolics production. *Biotechnol. Prog.* 18:862-866.
- [41] Yang C.Y. and T.J. Fang. 2014. Combination of ultrasonic irradiation with ionic liquid pretreatment for enzymatic hydrolysis of rice straw. *Bioresour. Technol.* 164:198-202.
- [42] Yang, C.Y. and T.J. Fang. 2015. Kinetics for enzymatic hydrolysis of rice hulls by the ultrasonic pretreatment with a bio-based basic ionic liquid. *Biochem. Eng. J.* 100:23-29.
- [43] Yang, C.Y., Sheih, I.C., and T.J. Fang. 2012. Fermentation of rice hull by *Aspergillus japonicus* under ultrasonic pretreatment. *Ultrason. Sonochem.* 19:687-691.
- [44] Yeo, S.K. and M.T. Liong. 2011. Effect of ultrasound on the growth of probiotics and bioconversion of isoflavones in prebiotic-supplemented soymilk. *J. Agric. Food Chem.* 59:885-897.

2017年03月06日 收稿

2017年09月25日 修正

2017年10月11日 接受

