

# 臺東大學綠色科學學刊

第十四卷第二期 2024 年 11 月刊  
實際刊登時間：2025 年 11 月 03 日

---

發行人：鄭憲宗 國立臺東大學 校長  
主編：胡焯淳 國立臺東大學理工學院 院長  
副主編：林志輝 國立臺東大學生命科學系 副教授  
校內編委：陳孟炬 國立臺東大學應用科學系 副教授  
吳慶堂 國立臺東大學應用數學系 教授  
賴盈勳 國立臺東大學資訊工程學系 教授  
黃協弘 國立臺東大學資訊管理學系 教授  
林志輝 國立臺東大學生命科學系 副教授  
朱力民 國立臺東大學綠能與資訊科技學系 教授  
楊繼江 國立臺東大學生物醫學碩士學位學程 教授  
執行編輯：黃彥皓 國立臺東大學綠能與資訊科技學系助理教授兼任院長特助  
方培文 理工學院行政助理

---

出版者：國立臺東大學綠色科學學刊編輯委員 地址：95092 臺東市大學路二段 369 號  
電話：089-318855 轉 6001 E-MAIL：[greenscience@nttu.edu.tw](mailto:greenscience@nttu.edu.tw)

經銷編印：國立臺東大學理工學院 帳號：5492713060133  
電話：089-318855 轉 6001 銀行：合作金庫商業銀行台東分行  
戶名：國立臺東大學校務基金 401 專戶

(完成匯款後，請備註單位、姓名，回傳繳費收據至 089-517509，以利查核)

定價：單冊新臺幣 300 元  
一年二期個人：新臺幣 600 元；機構：新臺幣 1200 元(均含郵資)

---

GPN：2010002853

ISSN：2223-6961

(版權所有，轉載刊登本刊文章需先獲得本刊同意，翻印必究)

# 目 錄

<u>以元啟發式演算法實現氫能燃料電池之參數最佳化</u> / 鄭瑞鈞、劉恩睿*.....	1
<u>具備自動偵測重量與送貨通知之智慧米缸座</u> / 張仲軒、蘇柏仲、吳亦超*...	19
<u>具備深度學習之愛文芒果等級區分影像辨識無人機</u> / 黃佳信、許弘維、吳亦超*.....	36
<u>紅麴菌 <i>Monascus purpureus</i> NTU 568 電轉型基因操作平台開發</u> / 潘意凌、林志輝*.....	53
<u>真菌固態發酵反應器之進展</u> / 林姿杏、林志輝*.....	68
<u>茗葉純露之成分分析</u> / 鍾誼昀，黃啟瑞，楊繼江*.....	86
<u>天然發酵番茄產品開發及其消費者感官品評研究</u> / 陳惠枝、李宗輝、陳振義、李俊霖、劉錦澤*.....	95

# Contents

<b><u>Parameter Optimization of Hydrogen Fuel Cells Using Metaheuristic Algorithm</u></b> / Jui-Chun Cheng, En-Jui Liu* .....	1
<b><u>Smart Rice Jar with Automatic Weight Detection and Delivery Notification</u></b> / Chung Hsuan Chang, Bo Jhong Su, Yi-Chao Wu* .....	19
<b><u>Aiwen Mango Grade Classification by UAV with Deep Learning Image Recognition</u></b> / Chia-Hsin Huang, Hung-Wei Hsu, Yi-Chao Wu* .....	36
<b><u>Development of <i>Monascus purpureus</i> NTU 568 Gene Manipulation Platform Using Electroporation Method</u></b> / Yi-Ling Pan, Chih-Hui Lin* .....	53
<b><u>Technological Advances and Industrial Application Challenges of Solid-State Fermentation Reactors</u></b> / Tzu-Hsing Lin, Chih-Hui Lin* .....	68
<b><u>Composition Analysis of Piper betle Linn Leaf Hydrosol</u></b> / Hsuan-Yun Chung, Chi-Ruei Huang, Chi-Chiang Yang* .....	86
<b><u>Development and Sensory Evaluation of Spontaneously Fermented Tomato Products</u></b> / Hui-Chih Chen, Tsung-Huey Lee, Chen-I Chen, Chun-Lin Lee, Chin-Feng Liu* .....	95

## 以元啟發式演算法實現氫能燃料電池之參數最佳化

鄭瑞鈞、劉恩睿\*

### 摘要

質子交換膜燃料電池 (Proton exchange membrane fuel cell, PEMFC) 憑藉低噪音、無污染、壽命長等優勢，已成為我國推動淨零轉型的關鍵能源技術之一。然而，燃料電池的運作機制使其放電特性呈現高度非線性，這使得精確計算燃料電池的效能表現成為一大挑戰。為克服此困難點，本研究以基於美洲獅獵食行為的元啟發式演算法，針對兩種類型的質子交換膜燃料電池系統進行參數最佳化，並將其結果與五種新型元啟發式演算法進行比較。結果顯示，美洲獅演算法在兩種類型燃料電池系統的參數最佳化過程中，在最佳適應值以及平均適應值皆為最佳值。這一結果表明美洲獅演算法在處理多維度非線性問題方面具備極高的適用性，能夠精確地估算系統參數，從而準確預測燃料電池的最佳功率點，進一步提升系統的效能與穩定性，為推動國家氫能技術的落地實現提供重要助力。

**關鍵字：**氫能、質子交換膜燃料電池、元啟發式演算法、美洲獅演算法、參數最佳化

---

鄭瑞鈞，國立臺東大學綠能與資訊科技碩士學位學程學，Email: 11202205@gm.nttu.edu.tw  
劉恩睿(通訊作者)，國立臺東大學綠能與資訊科技學系助理教授，Email: ejliu@nttu.edu.tw

## Parameter Optimization of Hydrogen Fuel Cells Using Metaheuristic Algorithm

Jui-Chun Cheng , En-Jui Liu\*

### Abstract

Proton exchange membrane fuel cell (PEMFC), known for its low noise, zero emissions, and long lifespan, has become a key energy technology in the nation's push towards net-zero emissions. However, the nonlinear discharge characteristics of fuel cells present significant challenges in accurately predicting their performance. To address this, the study utilizes a metaheuristic algorithm inspired by the hunting strategy of pumas to optimize the parameters of two distinct PEMFC systems. The performance of the puma optimizer was compared with five other advanced metaheuristic algorithms. The results show that the puma optimizer outperformed the others, delivering superior results for both optimal and average fitness in parameter optimization across both fuel cell systems. These findings demonstrate the puma optimizer's strong ability to solve complex, multidimensional nonlinear problems, enabling precise estimation of system parameters and accurate prediction of the optimal power output. This method not only improves the performance and stability of PEMFC systems but also offers substantial support for advancing national hydrogen energy technologies.

**Keywords:** Hydrogen energy, Proton exchange membrane fuel cell, Metaheuristic algorithm, Puma optimizer, Parameter optimization

---

Jui-Chun Cheng, student, Master Program of Green Energy and Information Technology, National Taitung University. Email: 11202205@gm.nttu.edu.tw

En-Jui Liu (Corresponding Author), Assistant Professor, Master Program of Interdisciplinary Program of Green and Information Technology, National Taitung University. Email: ejliu@nttu.edu.tw

## 壹、前言

現如今全球環保課題趨勢朝向淨零排放以及淨零轉型，將溫室氣體排放量盡力降至零，且其餘排放量能夠讓自然環境重新吸收，若能在 2050 年前達成淨零，全球升溫幅度就不會超過 1.5°C，淨零轉型以「能源轉型」、「產業轉型」、「生活轉型」、「社會轉型」為主要方向來達成目標(方俊德, 2023)，因此氫能與燃料電池技術發展與產業化也應該備受重視、積極發展。燃料電池是一種將化學能轉化為電能的可再生能源，質子交換膜燃料電池(Proton exchange membrane fuel cell, PEMFC)是其中一種常見的燃料電池類型，它更加堅固、成本更低(Turgut et al.,2016)。PEMFC 早已應用在許多地方，如運輸、攜帶型發電以及便攜式電子產品的電池，燃料電池 (FC)可將電化學能轉化為電能，它被公認為一種替代的乾淨能源 (Yan et al.,2019)，因此，它也可以更好得應用於家庭利用、工業發電站和運輸應用和快速發展中。質子交換膜是一種高效能的薄膜，一開始用於燃料電池和其他能源技術中，用「綠氫」產生乾淨的能源，在燃料電池中，質子交換膜有著關鍵的作用，它將氫氣中的質子與氧氣中的電子進行反應後，產生電能、水和熱能，能夠在高溫和高壓下長時間穩定運行 (Dannenberg et al.,2000)，質子交換膜還有著高效的催化反應、能量轉換效率高、環保、能在相對低溫的環境下操作等優點，只要使用氫氣搭配空氣中的氧氣，就可以運用在各種地方，並且只會排出無害的高純度水(Gamburzev et al.,2002)，這讓 PEM 成為燃料電池技術中非常關鍵的部分，也被廣泛應用於其他能源技術之中。

近年來，燃料電池的參數估計是人們競爭研究的方向，質子交換膜燃料電池被認為是能將化學能轉化為電能最有前途的裝置之一(Zhao et al.,2020)。而用於 PEMFC 參數估計的模型是 Mann 模型，這是一個具有七個未知參數的半經驗模型 (Mann et al.,2000)，因 PEMFC 為非線性的函數，很難進行簡單、有效又準確的預測，所以提取 PEMFC 的參數變得非常必要，目前有許多解析電池特徵的方式，如元啟發式優化演算法或傳統啟發式演算法等，然而啟發式演算法有許多缺點，例如它們依賴於問題的初始條件，而被困在局部解的可能等。許多研究人員開始使用元啟發式演算法，因為它們較無上述問題限制，且可以用於各種實際工程問題(Selem et al.,2020)，利用多種元啟發式演算法來獲取不確定參數的最優值，如 grey wolf optimization (GWO)、Manta rays foraging optimizer (MRFO)等演算法(Riad et al.,2023)，目的在計算數據表中 PEMFC 模型不確定參數的最佳近似解，實驗之電化學半經驗參數會直接影響 PEMFC 的數學建模，可使用演算法來計算最佳適應度函數值(Best Fitness)來決定參數值。本研究使用美洲獅最佳化演算法(Puma Optimizer)來估算 PEMFC 參數的最佳近似值，燃料電池模型選用 NedStack PS6 和 BCS 500W 兩種電池模組，並將 PO 演算法應用於計算兩個電池模組的實驗電壓和估計電壓之間差值誤差平方和(Sum-Square-Error, SSE)和標準差 (Standard Deviation, Std.)以及其他參數，並與上述提到的演算法和其他先進演算法進行誤差比對，來驗證 PO 演算法與不同演算法的計算結果。

## 貳、文獻探討

PEMFC 可應用於許多地方，例如微熱電聯產( $\mu$ CHP)應用，Budak 提出在實驗中使用  $\mu$ CHP 後，HT-PEMFC 以及 LT-PEMFC 兩種系統的效率都有所提高 (Budak & Devrim,2018)，HT-PEMFC 效率提高了 48-92%，LT-PEMFC 效率提高了 48-78%，HT-PEMFC 具有較低的功率密度，但當與  $\mu$ CHP 系統結合時，可以提高效率。微電網應

用，Gong et al 等人為質子交換膜燃料電池開發了一個模型，以檢索運行時產生的不需要的熱能，利用燃料電池的空置容量來生產、儲存氫氣備用且提高其效率，並結合他們所提出的一種用於智慧混合 AC-DC 微電網最佳運行的架構，使用驗算法來解決混合微電網中的最佳功率調度 (Gong et al.,2020)。和家庭應用方面，Bizon 等人使用 real-time optimization (RTO)演算法找到用於住宅建築的燃料電池混合動力系統 (FCHPS)燃料流量的最佳值 (Bizon et al.,2018)。

Mann 等人提出的廣義穩態電化學模型 GSSEM 比早期的 SSEM 模型更具廣泛的適用性，此模型能夠以更理想的方式處理 Nafion 膜的質子交換膜 (PEM)燃料電池，並且可在相對較高的電流密度下應用，GSSEM 的實用性在於能夠靈活應用於各種操作條件，通過調整係數 $\lambda$ 的公式來計算膜電阻，應足以模擬所有使用 Nafion 膜的電池 (Mann et al.,2000)。

有關演算法的準確程度與效率，Kriegel 在研究中內文提到關於演算法效率評估的建議 (Kriegel et al.,2017)，經過他們使用不同演算法運算一些相同的工程問題，或是運算一些相同的數據集的實驗後，他們發現演算法的準確程度不能單憑計算時間以及運算過程來直接判斷，且每個實驗都有其局限性，無法適配於所有問題，而研究人員的一些無意識的假設可能已經對結果產生了相當大的影響，為進一步解釋演算法的探索機制，本研究將探索階段與開發階段的執行次數分別計算出來，觀察美洲獅演算法中探索與開發階段之間的比重。

在 Hasaniien 等人的實驗中，對 TSO 演算法進行了增強，以有效地利用新開發的 ETSO 演算法提取 PEMFC 的不確定參數，實驗結果證明 ETSO 擁有優於 TSO、HHO、SSO 等的性能 (Hasaniien et al.,2022)。本實驗使用 PO 演算法應用於計算 NedStack 與 BCS 500 W 兩種電池的參數，與其他演算法進行比較，證明 PO 的性能與用於燃料電池的可行性。

## 參、研究方法

### 一、質子交換膜燃料電池建模

質子交換膜燃料電池 (PEMFC)中含有陰極和陽極兩個電極，由帶有聚合物電解質的膜隔離開來，如圖 1 所示，陽極注入氫氣，陰極注入氧氣，薄膜形成電解質，電解質傳導離子並阻止電子通過，當離子流過電解質時，會產生輸出電壓，而外部電路允許離子通過。

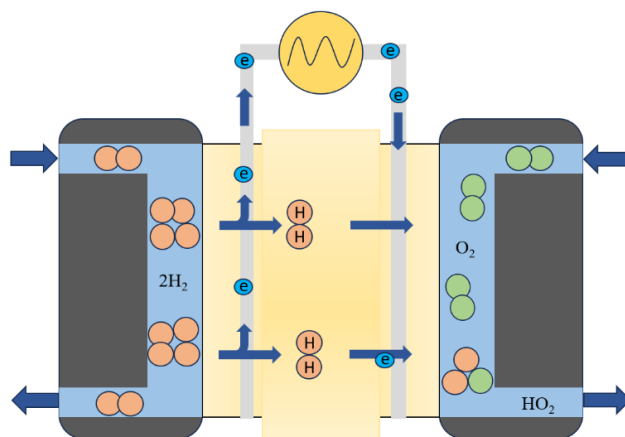


圖 1. PEMFC 示意圖

陽極 (Anode):



陰極 (Cathode):



化學反應式:



質子交換膜燃料電池  $V_{cell}$  的輸出電壓是由可逆開路電壓  $E_{Nernst}$  和轉換過程中的三種損耗所產生 (Duan et al.,2023):

$$V_{cell} = E_{Nernst} - V_{act} - V_{ohm} - V_{con} \quad (4)$$

在實際系統中,通常將多個電池堆疊在一起,產生的電堆壓  $V_{stack}$  可以計算為:

$$V_{stack} = n \cdot V_{cell} = n \cdot (E_{Nernst} - V_{act} - V_{ohm} - V_{con}) \quad (5)$$

其中  $n$  為電池的數量,可逆開路電壓  $E_{Nernst}$  取自方程式 (6),它取決於氫氣 ( $P_{H_2}$ ) 和氧氣 ( $P_{O_2}$ ) 的分壓以及溫度 (T in Kelvin):

$$E_{Nernst} = 1.229 - 8.5 \times 10^{-4} (T - 298.15) + 4.3085 \times 10^{-5} T \ln [P_{H_2} + 0.5(P_{O_2})] \quad (6)$$

氫氣 ( $P_{H_2}$ ) 和氧氣 ( $P_{O_2}$ ) 的分壓計算方法如下方程式(7 和 8) (Ayyarao et al.,2024):

$$P_{H_2} = \frac{R_{Ha} P_{H_2O}}{2} \left[ \left( \exp \left( \frac{1.635 \left( \frac{I}{A} \right)}{T^{1.334}} \right) \frac{R_{Ha} P_{H_2O}}{P_a} \right)^{-1} - 1 \right] \quad (7)$$

$$P_{O_2} = R_{Hc} P_{H_2O} \left[ \left( \exp \left( \frac{4.192 \left( \frac{I}{A} \right)}{T^{1.334}} \right) \frac{R_{Hc} P_{H_2O}}{P_c} \right)^{-1} - 1 \right] \quad (8)$$

$$\log_{10}(P_{H_2O}) = 2.95 \times 10^{-2} (T - 273.15) - 9.18 \times 10^{-5} (T - 273.15)^2 + 1.44 \times 10^{-7} (T - 273.15)^3 - 2.18 \quad (9)$$

活化損耗 ( $V_{act}$ ) 的計算方法如下:

$$V_{act} = - [\zeta_1 I + \zeta_2 T + \zeta_3 T \ln (C_{O_2}) + \zeta_4 T \ln (I_{cell})] \quad (10)$$

其中  $I_{cell}$  是燃料電池當前的電流值,  $\zeta_1$ 、 $\zeta_2$ 、 $\zeta_3$ 、 $\zeta_4$  表示不確定參數值,  $C_{O_2}$  表示在陰極溶解氧的濃度 (mol/cm<sup>3</sup>) 定義如下:

$$C_{O_2} = P_{O_2} / (5.08 \times 10^6 \times e^{-\left(\frac{498}{T}\right)}) \quad (11)$$

歐姆損耗 ( $V_{ohm}$ ) 是由電阻  $R_m$  和  $R_c$  兩端的電壓  $V_{ohm}$  使用公式 (12) 計算:

$$V_{ohm} = I_{cell} \times (R_m + R_c) \quad (12)$$

其中  $R_c$  表示連接電阻,  $R_m$  表示膜電阻, 定義如下:

$$R_m = (\rho_m \cdot l) / A \quad (13)$$

$$\rho_m = \frac{181.6 \left[ 1 + 0.03 \left( \frac{I_{cell}}{A} \right) + 0.062 \left( \frac{T}{303} \right)^2 \left( \frac{I_{cell}}{A} \right)^{2.5} \right]}{\left[ \lambda - 0.634 - 3 \left( \frac{I_{cell}}{A} \right) \right] \exp \left[ 4.18 \left( T - \frac{303}{T} \right) \right]} \quad (14)$$

其中 $\rho_m$ 表示膜的電阻 ( $\Omega\cdot\text{cm}$ )， $l$  表示膜的厚度 (cm)， $A$  為膜的表面積 ( $\text{cm}^2$ )， $\lambda$  為其中一個不確定參數。

濃度損耗  $V_{con}$  值使用方程式 (15) 計算 (Rezk et al.,2022)：

$$V_{con} = -b \ln(1 - (I_{cell}/A)/I_{max}) \quad (15)$$

其中  $b$  為不確定參數， $I_{max}$  表示當前最大電流密度 ( $\text{A}/\text{cm}^2$ )。

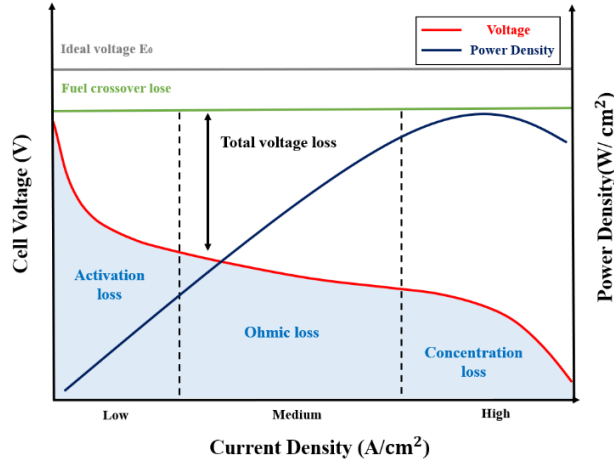


圖 2. 燃料電池內部極化作用。

## 二、美洲獅演算法

美洲獅演算法(Puma Optimizer, PO)是利用自然界中美洲獅的狩獵行為概念來創建一個數學模型 (Abdollahzadeh et al.,2024)，PO 演算法使用了一種創新的機制來改變探索和開發階段，這種階段變化機制為首次提出。PO 主要分成四個階段：

### (一) 無經驗階段：

PO 演算法在無經驗階段的時候會先迭代三次來取得在前三次反覆運算中，探索和開發同時進行，直到完成初始化，由於每次反覆運算中都有探索和開發階段，因此使用了兩個函數 ( $f1$  和  $f2$ )，計算方式如下：

$$f1_{Explor} = PF_1 \times \left( \frac{Seq_{CostExplor}^1}{Seq_{Time}} \right) \quad (16)$$

$$f1_{Exploit} = PF_1 \times \left( \frac{Seq_{CostExploit}^1}{Seq_{Time}} \right) \quad (17)$$

$$f2_{Explor} = PF_2 \times \left( \frac{Seq_{CostExplor}^1 + Seq_{CostExplor}^2 + Seq_{CostExplor}^3}{Seq_{Time}^1 + Seq_{Time}^2 + Seq_{Time}^3} \right) \quad (18)$$

$$f2_{Exploit} = PF_2 \times \left( \frac{Seq_{CostExploit}^1 + Seq_{CostExploit}^2 + Seq_{CostExploit}^3}{Seq_{Time}^1 + Seq_{Time}^2 + Seq_{Time}^3} \right) \quad (19)$$

$Seq_{Cost}$  的變數值與探索和開發階段有關，由公式(16-19)計算，而  $Seq_{Time}$  是一個具有常數值的變數，將其視為 1。 $PF_1$  和  $PF_2$  都是具有固定值的參數，且在整個過程之前設置，用來確定  $f1$  和  $f2$  兩個函數的優先順序。

$$Seq_{CostExplor}^1 = |Cost_{Best}^{Initial} - Cost_{Explor}^1| \quad (20)$$

$$Seq_{CostExplor}^2 = |Cost_{Explor}^2 - Cost_{Explor}^1| \quad (21)$$

$$Seq_{CostExplor}^3 = |Cost_{Explor}^3 - Cost_{Explor}^2| \quad (22)$$

$$Seq_{CostExploit}^1 = |Cost_{Best}^{Initial} - Cost_{Exploit}^1| \quad (23)$$

$$Seq_{CostExploit}^2 = |Cost_{Exploit}^2 - Cost_{Exploit}^1| \quad (24)$$

$$Seq_{CostExploit}^3 = |Cost_{Exploit}^3 - Cost_{Exploit}^2| \quad (25)$$

在方程式(20 和 23)中，初始化階段產生七個變數 $Cost_{Best}^{Initial}$ 、 $Cost_{Explor}^1$ 、 $Cost_{Explor}^2$ 、 $Cost_{Explor}^3$ 、 $Cost_{Exploit}^1$ 、 $Cost_{Exploit}^2$ 、 $Cost_{Exploit}^3$ ，而其中的 $Cost_{Best}^{Initial}$ 為最好的解，每一個 Cost 的最佳解來自探索和開發階段重複 1、2 和 3 在第三次反覆運算結束時計算函數  $f1$  和  $f2$  後，從這裡開始只選擇探索或開發階段其一，開發階段和探索階段的分數是使用方程 (26 和 27)計算：

$$Score_{Explor} = (PF_1 \times f1_{Explor}) + (PF_2 \times f2_{Explor}) \quad (26)$$

$$Score_{Exploit} = (PF_1 \times f1_{Exploit}) + (PF_2 \times f2_{Exploit}) \quad (27)$$

在計算  $Score_{Explor}$  和  $Score_{Exploit}$  之後，根據分數大小來決定進入探索還是開發階段，如果  $Score_{Exploit} \geq Score_{Explor}$  進入開發階段，反之則進入探索階段，但是在第 3 次反覆運算結束時，每個階段都會有一個獨立的解決方案，而這會比總人口數還要多，為了解決這個問題，在這兩個階段所生成的解決方案的成本是在第三次反覆運算的最後階段才計算的，並且只有新的最佳解小於舊的解時才可替換當前的解決方案。

## (二) 有經驗階段：

在經過三代之後，美洲獅有了足夠的經驗來決定改變階段，並且在反覆運算中，他們只選擇一個階段進行最佳化操作。在此階段，使用  $f1$ 、 $f2$  和  $f3$  三個不同的函數進行評分，第一個函數偏向於探索階段，主要用來決定探索和開發的兩個階段的優先順序，第一個函數使用方程式 (28 和 29)計算。

$$f1_t^{exploit} = PF_1 \times \left| \frac{Cost_{old}^{exploit} - Cost_{new}^{exploit}}{T_t^{exploit}} \right| \quad (28)$$

$$f1_t^{explor} = PF_1 \times \left| \frac{Cost_{old}^{explor} - Cost_{new}^{explor}}{T_t^{explor}} \right| \quad (29)$$

在方程式(28 和 29)中， $f1_t^{exploit}$  和  $f1_t^{explor}$  表示於開發或探索階段的第一函數的數量，其中 t 表示當前的反覆運算數。 $Cost_{old}^{explor}$  和  $Cost_{old}^{exploit}$  是最佳解改進之前的成本，而另一方面， $Cost_{new}^{explor}$  和  $Cost_{new}^{exploit}$  是最佳解改進之後的成本。 $T_t^{explor}$  和  $T_t^{exploit}$  是從前一個選定內容到當前選定內容的反覆運算次數。 $PF_1$  是可調整的參數，在操作之前必須將其值設置為 0 到 1 之間，此參數確定第一個函數的重要性，並且隨著此函數的值的增加或減少而確定其優先順序。第二個函數導致階段執行比其他優先的階段更好，且可以幫助其選擇中的階段，使用方程式 (30 和 31)計算：

$$f2_t^{exploit} = PF_2 \times \left| \frac{(Cost_{old,1}^{exploit} - Cost_{new,1}^{exploit}) + (Cost_{old,2}^{exploit} - Cost_{new,2}^{exploit}) + (Cost_{old,3}^{exploit} - Cost_{new,3}^{exploit})}{T_{t,1}^{exploit} + T_{t,2}^{exploit} + T_{t,3}^{exploit}} \right| \quad (30)$$

$$f2_t^{explor} = PF_2 \times \left| \frac{(Cost_{old,1}^{explor} - Cost_{new,1}^{explor}) + (Cost_{old,2}^{explor} - Cost_{new,2}^{explor}) + (Cost_{old,3}^{explor} - Cost_{new,3}^{explor})}{T_{t,1}^{explor} + T_{t,2}^{explor} + T_{t,3}^{explor}} \right| \quad (31)$$

在方程式(30 和 31)中， $f2_t^{exploit}$  和  $f2_t^{explor}$  代表與探索或開發階段相關的第二個函數，其中  $t$  代表當前的反覆運算數， $Cost_{old}$  為探索和開發階段的最佳解決方案改進前的成本， $Cost_{new}$  探索和開發階段改進後獲得的最佳解決方案的成本，也就是無經驗階段中的三次運算分別的成本。 $T$  為探索和開發階段三次運算之間從前一個到當前的反覆運算次數。 $PF_2$  是一個參數，在操作之前，須將其值設置為介於 0 和 1 之間，此參數用來確定第二個函數的權重，當此函數的值增加時，它將被優先考慮，而隨著其優先順序的降低而減少。

第三個函數確保在多次重複選擇中未被選中的階段也有機會被選中，因為只選擇一個階段會導致陷入到局部最優的陷阱中，該函數用方程式 (32 和 33) 計算：

$$f3_t^{exploit} = \begin{cases} \text{if selected, } f3_t^{exploit} = 0 \\ \text{otherwise, } f3_t^{exploit} + PF_3 \end{cases} \quad (32)$$

$$f3_t^{explor} = \begin{cases} \text{if selected, } f3_t^{explor} = 0 \\ \text{otherwise, } f3_t^{explor} + PF_3 \end{cases} \quad (33)$$

在方程式(32 和 33)中， $f3_t^{exploit}$  和  $f3_t^{explor}$  代表與開發和探索階段的第三個函數，其中  $t$  代表當前反覆運算數。如果未選擇其中一個階段，則每個探索和開發階段的第三個函數的值將在每次反覆運算中按參數  $PF_3$  增加，否則將設置為零。 $PF_3$  參數是使用者可調整的參數，在操作之前須設置其值介於 0 和 1 之間， $PF_3$  參數的值越接近 1，分數低的階段被選中的機率越高，而選擇的機率隨著值的減小而降低，使用方程式 (34 和 35) 計算階段函數改變的成本：

$$F_t^{exploit} = (\alpha_t^{exploit} \times (f1_t^{exploit})) + (\alpha_t^{exploit} \times (f2_t^{exploit})) + (\delta_t^{exploit} \times (lc \times f3_t^{exploit})) \quad (34)$$

$$F_t^{explor} = (\alpha_t^{explor} \times (f1_t^{explor})) + (\alpha_t^{explor} \times (f2_t^{explor})) + (\delta_t^{explor} \times (lc \times f3_t^{explor})) \quad (35)$$

$$lc = \{ \{|Cost_{old} - Cost_{new}| \}^{exploit}, \{|Cost_{old} - Cost_{new}| \}^{explor} \}, 0 \notin lc \quad (36)$$

$$\delta_t^{exploit} = 1 - \alpha_t^{exploit} \quad (37)$$

$$\delta_t^{explor} = 1 - \alpha_t^{explor} \quad (38)$$

使用方程式(34 和 35)，計算每個探索和開發階段的最終成本，參數  $\alpha$  和  $\delta$  都是探索和開發階段的變數，優先考慮多樣性  $f_3$ ，否則， $f_3$  的優先權會減小，如果參數  $\alpha$  的值接近 1，則優先處理  $f_2$ 。如果探索階段函數的成本大於開發階段函數的成本，則開發階段函數的參數  $\alpha$  的值將降至值為 0.01，而另一方面，開發階段的參數  $\alpha$  的最大值將趨近於 1，但是如果開發階段函數的成本高於探索階段函數的成本，則上述過程將相反。 $lc$  是從開發和探索階段改進過程中獲得的一組計算成本差異，其中包括一組非零的值 ( $0 \notin lc$ )。

### (三) 探索階段：

在探索階段，受到美洲獅尋找食物行為的啟發，可能去舊的領域之中尋找，也可能到全新的領域。在這個階段，美洲獅在他們的領土上隨機搜索以尋找食物，或者隨機靠近其他美洲獅並使用它們的獵物，因此，美洲獅會隨機跳入搜索空間或在美洲獅之間的空間中尋找食物，首先將整個種群按升冪排序，然後在探索階段使用方程式(39)改進其解決方案：

$$\begin{aligned} & \text{If } rand_1 > 0.5, Z_{i,G} = R_{dim} \times (ub - lb) + lb \\ & \text{Otherwise, } Z_{i,G} = X_{a,G} + G \times (X_{a,G} - X_{b,G}) + G \times \left( \left( (X_{a,G} - X_{b,G}) - (X_{c,G} - X_{d,G}) \right) + \right. \end{aligned} \quad (39)$$

$$\left. \left( (X_{c,G} - X_{a,G}) - (X_{e,G} - X_{f,G}) \right) \right) \\ G = 2 \times rand_2 - 1 \quad (40)$$

在方程式(39)中， $ub$  和  $lb$  是整個矩陣的上下限， $R_{dim}$  是隨機生成範圍在 0 和 1 之間的數， $rand_1$  和  $rand_2$  兩者都是隨機生成介於 0 和 1 之間的數。 $X_{a,G}$ 、 $X_{b,G}$ 、 $X_{c,G}$ 、 $X_{d,G}$ 、 $X_{e,G}$ 、 $X_{f,G}$  是整個總體中隨機選擇的其他個體， $G$  使用方程式(40)計算。根據式(39)，根據現有條件選擇兩個方程式中的一個方程式來產生不同的解，然後應用新的解來改進當前解。

$$X_{new} = \begin{cases} Z_{i,G}, & \text{if } j = j_{rand} \text{ or } rand_3 \leq U \\ X_{a,G}, & \text{otherwise} \end{cases} \quad (41)$$

$$NC = 1 - U \quad (42)$$

$$p = \frac{NC}{Npop} \quad (43)$$

$$\text{if } CostX_{new} < CostX_i, U = U + p \quad (44)$$

在方程式(41)中， $Z_{i,G}$  來自方程式(39)， $j_{rand}$  是矩陣維度範圍內隨機的整數， $rand_3$  也是一個介於 0 和 1 之間的隨機數， $NC$  來自方程式(42)， $U$  是在整個過程之前設置的參數，其值介於 0 到 1 之間。在方程式(43)中， $Npop$  是美洲獅的總數，根據方程式(44)中的條件改進，如果滿足此條件，則僅更新解的維度，這個動作可以避免陷入局部最優，且具有好的多樣性，另外，考慮到在探索階段每次反覆運算開始時，搜索的代理個體根據其成本按升冪排序，高品質的解決方案優先，然後根據方程式(42-44)，一開始，由於  $U$  參數的值很小，因此解決方案不會發生太多變化，後來隨著該參數的增加，具有較高成本的解會發生變化，這種方法導致探索出更差解，目的是在空間中找最佳解，另外，如果找到的美洲獅不比現在的美洲獅好，那麼就不會做方程式(44)，因為如果已經得到改進，就沒有必要增加多餘的發現，但是高品質的解決方案幾乎沒有發生變化和只是避免陷入局部最優。最後，使用方程式(45)將新生成的解替換為當前解：

$$X_{a,G} = X_{new}, \text{ if } X_{i,new} < X_{a,G} \quad (45)$$

根據方程式(45)，如果新的解比當前解具有更好的成本，則該解決方案將取代當前解決方案。

#### (四) 開發階段：

在開發階段，PO 演算法利用兩個不同的算子來改進解決方案，這兩種機制是基於美洲獅的伏擊和衝刺進行狩獵，在自然界中，美洲獅會試圖在各種環境中伏擊獵物，在某些情況下它會追趕獵物，這些行為是使用方程式(46)來判斷的：

$$\left\{ \begin{aligned} & X_{new} = \\ & \text{if } rand_4 \geq 0.5, X_{new} = \frac{\left( \frac{\text{mean}(\text{Sol}_{total})}{Npop} \right) \times X_1^i - (-1)^\beta \times X_1}{1 + (\alpha \times rand_5)} \\ & \text{otherwise, if } rand_6 \geq L, X_{new} = Puma_{male} + 2rand_7 \times \exp(randn_1) \times (X_2^i - X_1) \\ & \text{otherwise, } X_{new} = 2rand_8 \times \frac{F_1 \times R \times X(i) + F_2 \times (1-R) \times Puma_{male}}{2rand_9 - 1 + randn_2} - Puma_{male} \end{aligned} \right. \quad (46)$$

方程式(46)顯示了 PO 開發階段中使用的三種策略，如果  $rand_5$  (介於 0 和 1 之間的隨機數)大於 0.5，執行開發階段中方程式(46)中的案例 1 快速奔跑策略，否則選擇伏擊策略，該策略由兩種不同的操作組成，短跳以及長跳，方程式(46)中的案例 2 用於模擬美洲獅進行短跳的狩獵，方程式(46)中的案例 3 用於模擬美洲獅進行長跳的狩獵。 $mean$  表示函數的均值， $Sol_{total}$  表示所有解的總和， $N_{pop}$  是執行的總體總數。 $X_1^r$  是整個總體中隨機選擇的解， $\beta$  是隨機產生的 0 或 1。 $X_i$  是當前反覆運算中的當前解， $\alpha$  和  $L$  是在整個過程之前必須調整的靜態參數， $Puma_{male}$  是整個總體的最佳解， $rand_4$ 、 $rand_5$ 、 $rand_6$ 、 $rand_7$ 、 $rand_8$  和  $rand_9$  是介於 0 到 1 之間的隨機數， $exp$  表示指數函數， $randn_1$  和  $randn_2$  是常態分佈和問題維度的隨機數， $X_2^r$  是於方程式 (47)隨機選擇的解：

$$X_2^r = round (1 + (N_{pop} - 1 ) \times rand_{10}) \quad (47)$$

在方程式(47)中，將  $X$  的每個元素四捨五入到最接近的整數， $rand_{10}$  是介於 0 到 1 之間的隨機數， $N_{pop}$  是美洲獅的總數，最後， $R$ 、 $F1$  和  $F2$  由方程式 (48-50) 計算：

$$R = 2 \times rand_{11} - 1 \quad (48)$$

$$F_1 = randn_3 \times \exp \left( 2 - Iter \times \left( \frac{2}{maxIter} \right) \right) \quad (49)$$

在方程式(49)中， $randn_2$  是常態分佈和問題維度的隨機數， $Iter$  表示當前的反覆運算次數， $maxIter$  表示最大的反覆運算次數， $exp$  表示指數函數。

$$F_2 = randn_4 \times (randn_5)^2 \times \cos ( (2 \times rand_{12}) \times randn_4) \quad (50)$$

在方程式(50)中， $randn_4$  和  $randn_5$  都是常態分佈和問題維度的隨機數， $Cos$  代表餘弦函數， $rand_{12}$  是介於 0 到 1 之間的隨機數。最後，在此階段結束時，如果新生成的解決方案的成本低於當前解決方案，則將其替換，取低成本解決方案。圖 3 為 PO 演算法運作流程之示意圖。

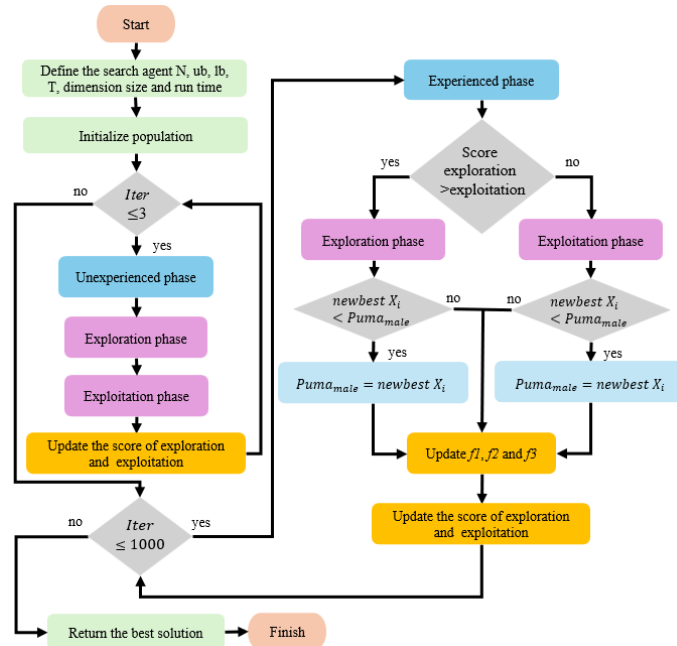


圖 3. PO 運作流程圖。

### 三、PEM 燃料電池參數估計

使用 PO 演算法調整 PEMFC 的最佳參數值，其中含有七個參數值 ( $\xi_1$ 、 $\xi_2$ 、 $\xi_3$ 、 $\xi_4$ 、 $\lambda$ 、 $R_c$  和  $b$ )。在決定待估參數的解的優劣，會以誤差平方和 (Sum Square Error, SSE) 評估的演算法之適應度 (Fitness)，方程式(51)的  $V_{exp}$  和  $V_{est}$  表示實驗電壓和估計電壓， $k$  表示指數，而  $N$  是可用數據集的數量 (Singla et al.,2023)。

$$SSE = \sum_{k=1}^N (V_{exp} - V_{est})^2 \quad (51)$$

根據滿足條件初始化初始隨機解，並輸入 PO 演算法的模組，由 PO 演算法輸出最佳解決方案 (Best Solution)和相應的最佳的 SSE。

### 四、演算法計算階段的多樣性平衡

元啟發式演算法需要在探索和開發之間取得適當的平衡才能取得較好的搜尋策略，其中一種就是通過觀察當前的種群多樣性來量化演算法中的探索和開發階段，參考 Mirjalili 研究中提出的維度多樣性測量 (Mirjalili et al.,2014)。

對於每種元啟發式演算法，探索和開發階段各代表了演算法在計算過程中的工作方向，探索階段是指演算法搜索分佈在設定空間中不同區域的能力，屬於全域搜索。另一方面，開發階段則是加強搜索過程的解，以找到更好的解或改進現有的解，屬於區域探索。探索與開發能力與其收斂率之間存在很緊密的關係，雖然開發階段可以提高向最佳解的收斂速度，但同時也會增加陷入局部最優的可能性。相反，更傾向於探索而不是開發的演算法會增加在空間中找到全域最佳解更有可能所在的區域的可能性，但代價是演算法的收斂速度惡化。

元啟發式演算法使用一組候選解決方案以及代理人來探索空間，目的是為了找到最佳的解決方案，在過程中，擁有最佳解決方案的搜索代理會傾向於將搜索過程引導到他們身上，在這種情況下，搜索代理之間的距離減小，而開發效果增加。另一方面，當搜索代理之間的距離增加時，探索階段的結果則更加明顯。為了計算探索/開發百分比，本研究將探索階段與開發階段在最大迭代次數內的執行次數計算出來，並觀測 PO 演算法的兩種階段運行分布結果。

## 肆、結果與討論

本實驗首先使用 NedStack PS6 的數據集和 BCS500W 的數據集來評估 PO 演算法用於 PEMFC 的效率，表 1 給出了每個參數的邊界(即下限  $lb$  和上限  $ub$ ) (Kandidayeni et al.,2019)，表 2 為 NedStack PS6 電堆的規格 (Cao et al.,2019)，要輸入到燃料電池的數學模型中做計算，為了證明 PO 的能力，將燃料電池的數學模型套入其演算法計算所獲得的七個最佳的參數 ( $\xi_1$ 、 $\xi_2$ 、 $\xi_3$ 、 $\xi_4$ 、 $\lambda$ 、 $R_c$  和  $b$ )、適應度 (Fitness)、以及標準差 (Std.)，並與其他演算法進行了比較，包括 GWO (Mirjalili et al.,2014)、MRFO (Selem et al.,2020)、HHO、LHHO、HBA (Haddad et al.,2024)每種演算法的參數值都是根據每種演算法初始化分配的，但個體總數和反覆運算次數等標準參數分別都為 30 和 1000，表 3 為 PO 與其他每種演算法計算 NedStack PS6 所獲得的最佳參數、計算之適應度以及標準差，從這些結果可以看出，在測試數據集中，PO 的 Fitness 數值以及 Std 值優於其他演算法，也就是說使用 PO 演算法可以獲得最佳的解，用來估算七個參數值較為準確。表 4 為 NedStack PS6 理論實驗電流  $I_{cell}$ 、電壓  $V_{exp}$  與用 PO 演算法所獲得的估計電壓  $V_{est}$  (Abd Elaziz et al.,2023)，可以看到使用 PO 演算法計算出來的估計電壓

$V_{est}$  非常接近理論實驗電壓  $V_{exp}$ ，圖 4 (a) 可以看出 PO 在搜尋解答的速度非常快，圖 4 (b) 繪出 PO 演算法比對實際燃料電池數據之 I-V 數值。

表 1. PEMFC 參數的範圍 (Kandidayeni et al.,2019)。

Parameter	lb	ub
$\xi_1$	-1.1997	-0.8532
$\xi_2 (10^{-3})$	0.8	6
$\xi_3 (10^{-5})$	3.6	9.8
$\xi_4 (10^{-4})$	-2.6	-0.954
$\lambda$	10	23
$R_c (10^{-4})$	1	8
b	0.0136	0.5

表 2. NedStack PS6 電堆規格 (Cao et al.,2019)。

PEMFC stacks	NedStack PS6
n	65
l ( $\mu\text{m}$ )	178
A ( $\text{cm}^2$ )	240
$I_{\text{max}}$ ( $\text{A}/\text{cm}^2$ )	1.4
T (K)	343
$P_{\text{H}_2}$ (atm)	1
$P_{\text{O}_2}$ (atm)	1

表 3. NedStack PS6 燃料電池以 PO 其他演算法的參數比較 (Riad et al.,2023; Haddad et al.,2024)

	PO	GWO	MRFO	HHO	LHHO	HBA
$\xi_1$	-0.8532	-0.892956	-0.9381	-0.8532	-0.8532	-0.8647
$\xi_2 (10^{-3})$	2.98616	3.28997	3.4861	2.9249	3.0449	2.5666
$\xi_3 (10^{-5})$	7.8	9.14197	9.512	7.366	8.229	4.5764
$\xi_4 (10^{-4})$	-0.954	-0.954	-0.9544	-0.954	-0.954	-0.954
$\lambda$	13.0947	13.6364	13.096	18.532	13.4056	10
$R_c (10^{-4})$	1	1.01276	1	3.4467	3.2791	3.111
b	0.0136	0.0234776	0.01451	0.15553	0.15847	0.16109
Fitness	<b>2.0792</b>	2.1052	2.136	2.304	2.29328	2.288128
Std.	<b>0.02265</b>	0.18417	0.0326	2.502033	1.655048	0.95129

表 4. NedStack PS6 實驗電流、電壓與 PO 計算之電壓。

NedStack PS6		
$I_{\text{cell}}$ (A)	$V_{\text{exp}}$ (V)	$V_{\text{est}}$ (V)
2.25	61.64	62.3539
6.75	59.57	59.7798
9	58.94	59.0483
15.75	57.54	57.4961
20.25	56.8	56.7175
24.75	56.13	56.0442
31.5	55.23	55.157
36	54.66	54.6204
45	53.61	53.6329

NedStack PS6		
$I_{cell}$ (A)	$V_{exp}$ (V)	$V_{est}$ (V)
51.75	52.86	52.9439
67.5	51.91	51.4396
72	51.22	51.0271
90	49.66	49.4188
99	49	48.6281
105.8	48.15	48.0323
110.3	47.52	47.638
117	47.1	47.0497
126	46.48	46.2551
135	45.66	45.453
141.8	44.85	44.8404
150.8	44.24	44.019
162	42.45	42.9766
171	41.66	42.1201
182.3	40.68	41.0171
189	40.09	40.347
195.8	39.51	39.6534
204.8	38.73	38.7128
211.5	38.15	37.9945

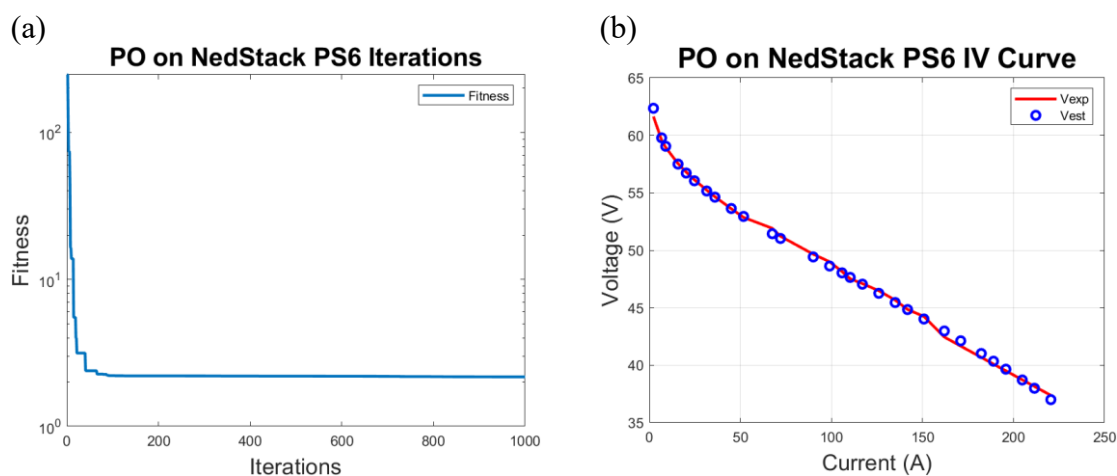


圖 4. NedStack PS6 系統的 (a)參數辨識迭代圖與 (b)估測電壓與實驗電壓對比圖。

當 PO 應用於 NedStack PS6 電池模組時，分別計算探索與開發的比例，最大迭代次數為 1000，無經驗階段分別各運行 3 次，有經驗階段為第 4 次到第 1000，表 5 中在有經驗階段，探索總共執行了 558 次，為 55.9%，開發執行了 439 次，為 44%，由圖 5 可見其過程中的比例變化，Flag1 為探索階段，Flag2 為開發階段。

表 5. NedStack PS6 探索以及開發階段占比。

Phase	Exploration	Exploitation
無經驗	3	3
有經驗	558	439
百分比	55.9%	44%

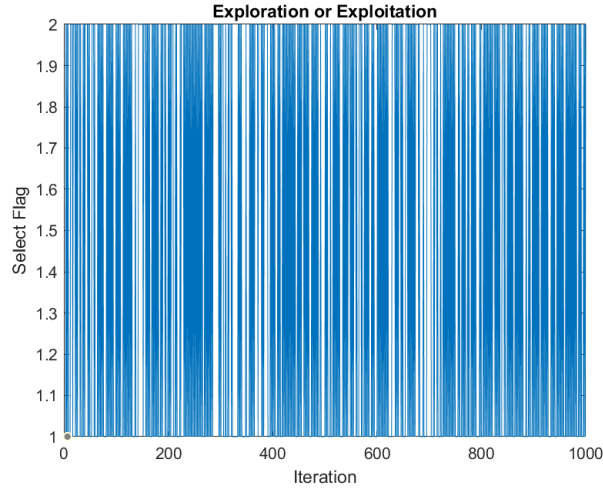


圖 5. PO-NedStack PS6 運算中切換探索或開發階段的狀態分布。

使用 BCS 500 W 的數據集與實驗結果比對來評估 PO 演算法用於 PEMFC 的效果，表 6 為 BCS 500 W 電堆規格 (Sultan et al.,2021)，要輸入到燃料電池的數學模型中做計算，表 7 為 PO 與其他演算法 GWO、WOA、COA、HHO、LHHO 計算 BCS 500 W 之所獲得的最佳參數及計算之適應度和標準差，從表 7 可以看出，在 BCS 500 W 的測試數據集中，PO 的 *Fitness* 以及 *Std* 值皆優於其他演算法，PO 演算法能為這個系統算出最佳的解，用來估算七個參數值較為準確。表 8 為 BCS 500 W 理論實驗電流  $I_{cell}$ 、電壓  $V_{exp}$  與用 PO 演算法所獲得的估計電壓  $V_{est}$  (Abd Elaziz et al.,2023)，可以看到使用 PO 演算法計算出來的估計電壓  $V_{est}$  非常接近理論實驗電壓  $V_{exp}$ ，這表示使用 PO 演算法計算的準確度很高，圖 6 (a)可以看出 PO 在 BCS 500 W 系統搜尋最佳解的狀況，圖 6 (b)繪出 PO 演算法比對實際燃料電池數據之 I-V 數值。

表 6. BCS 500 W 電堆規格 (Sultan et al.,2021)。

PEMFC stacks	BCS 500 W
n	32
l (μm)	178
A (cm <sup>2</sup> )	64
I <sub>max</sub> (A/cm <sup>2</sup> )	0.469
T (K)	333
P <sub>H2</sub> (atm)	1
P <sub>O2</sub> (atm)	0.2095

表 7. 基於 BCS 500 W 與其他演算法的參數比較 (Riad et al.,2023; Haddad et al.,2024)。

	PO	GWO	WOA	COA	HHO	LHHO
ξ1	-1.15768	-1.10556	-0.927045	-0.862256	-1.1747	-1.0812
ξ2 (10 <sup>-3</sup> )	3.85806	3.08595	2.48206	2.96136	3.7964	3.726
ξ3 (10 <sup>-5</sup> )	9.72608	5.31237	4.75249	9.66927	7.7614	9.1478
ξ4 (10 <sup>-4</sup> )	-1.92863	-1.92121	-1.93062	-1.88069	-1.9242	-1.9203
λ	22.1933	21.191	21.5094	23	12.8019	12.263
R <sub>c</sub> (10 <sup>-4</sup> )	2.17198	2.1986	1.56128	6.297	2.2064	1.911
b	0.0162455	0.0154543	0.0193433	0.0144618	0.013729	0.016813
Fitness	<b>0.011556</b>	0.011809	0.032762	0.011768	0.046078	0.0129385
Std.	<b>0.00011003</b>	0.0025672	0.97891	0.0040944	2.950069	0.0674357

表 8. BCS 500 W 實驗電流、電壓與用 PO 獲得的估計電壓 (Abd Elaziz et al.,2023)。

BCS 500 W		
I <sub>cell</sub> (A)	V <sub>exp</sub> (V)	V <sub>est</sub> (V)
0.6	29	28.9964
2.1	26.31	26.3065
3.58	25.09	25.0946
5.08	24.25	24.2559
7.17	23.37	23.3768
9.55	22.57	22.5859
11.39	22.06	22.0618
12.54	21.75	21.7597
13.73	21.45	21.4624
15.73	21.09	20.9887
17.02	20.68	20.6953
19.11	20.22	20.2316
21.2	19.76	19.7713
23	19.36	19.3662
25.08	18.86	18.8665
27.17	18.27	18.2746
28.06	17.95	17.9531
29.26	17.3	17.2929

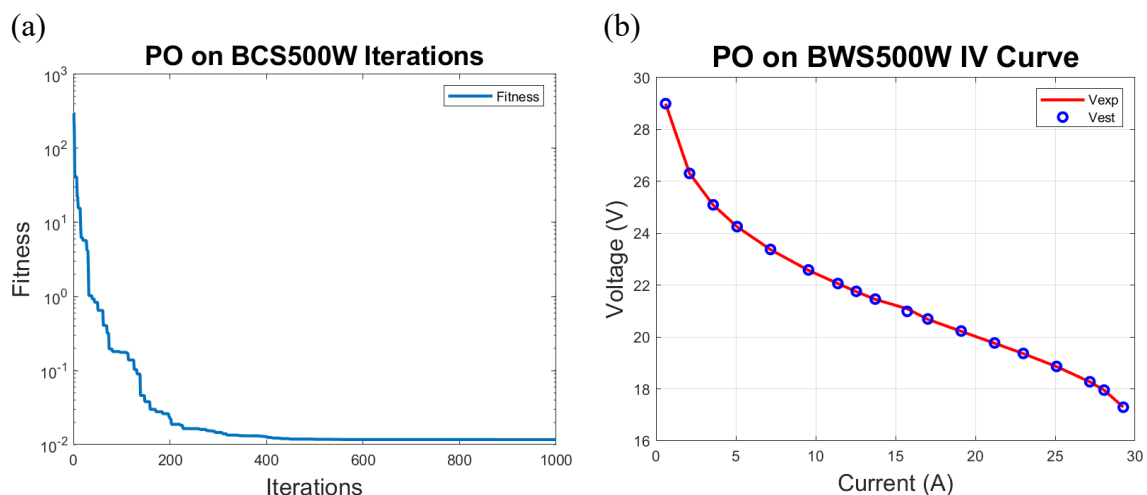


圖 6. BCS500W 系統的 (a) PO 參數辨識迭代圖與 (b) 估測電壓與實驗電壓對比圖。

當 PO 應用於 BCS500W 電池模組時，分別計算探索與開發的比例，最大迭代次數為 1000，無經驗階段分別各運行 3 次，有經驗階段為第 4 次到第 1000，表 9 中在有經驗階段，探索總共執行了 577 次，為 57.8%，開發執行了 420 次，為 44%，由圖 7 可見其過程中的比例變化，Flag1 為探索階段，Flag2 為開發階段。

表 9. BCS500W 探索以及開發階段占比。

Phase	Exploration	Exploitation
無經驗	3	3
有經驗	577	420
百分比	57.8%	42.1%

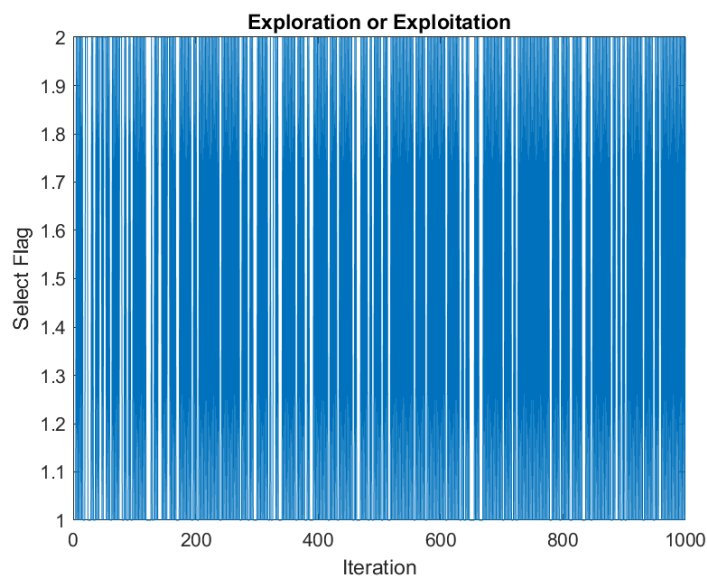


圖 7. PO-BCS500W 運算中切換探索或開發階段的狀態分布。

為了進一步研究 PO 作用於 PEMFC 模型的性能，計算了兩種統計指標，如表 3 所示的 *Fitness* 和標準差 *Std*，從這些數據中，可以注意到 PO 的適應度 (*Fitness*) 值和標準差 *Std* 值比其他演算法還要好，證明 PO 運用在這兩種燃料電池的系統上比其他演算法更具有找到最佳參數的能力，PO 在運算中進行探索階段的次數皆大於開發階段，證明 PO 開發階段相對較弱，對於探索與開發的平衡還有探討的空間。

## 伍、結論

演算法應用於燃料電池的性能對於系統設計、模擬和預測效能極為重要，由於 PEMFC 的特性非常複雜多變，因此尋找到適合的優化方法對於建模技術而言至關重要。本研究發展以 Puma Optimizer (PO) 鑑定 PEMFC 的模組參數方法，進一步推估出燃料電池系統的最大功率點。透過演算法快速求解 PEMFC 的未知參數，並與其他演算法進行比較，以驗證 PO 方法的適配性，燃料電池類型使用了 NedStack PS6 和 BCS 500 W 兩種不同案例。計算結果顯示，PO 在 *SSE* 以及標準差方面均優於其他演算法，證實 PO 方法在處理燃料電池的非線性特徵時具有高度適配的搜索能力。

PO 擁有與燃料電池高度適配的能力，在兩種不同電池系統的運算中，探索階段皆大於開發階段，推測是因為演算法的開發能力較弱所導致，演算法在開發階段中進行運算的方式若較不完全，若要提升 PO 的開發階段，可以直接進行開發階段算法的修改，或是與不同演算法混合應用，以提升演算法整體搜尋性能，為未來可關注的研究方向。

## 引用文獻

- 方俊德(2023)。台灣淨零碳排路徑初探。 *臺灣經濟研究月刊*, 46 (1), 13-20。
- Abdollahzadeh, B., Khodadadi, N., Barshandeh, S., Trojovský, P., Gharehchopogh, F. S., El-kenawy, E. S. M., ... & Mirjalili, S. (2024). Puma optimizer (PO): A novel metaheuristic optimization algorithm and its application in machine learning. *Cluster Computing*, 1-49.
- Abd Elaziz, M., Abualigah, L., Issa, M., & Abd El-Latif, A. A. (2023). Optimal parameters extracting of fuel cell based on Gorilla Troops Optimizer. *Fuel*, 332, 126162.
- Agushaka, J. O., Ezugwu, A. E., & Abualigah, L. (2023). Gazelle optimization algorithm: a novel nature-inspired metaheuristic optimizer. *Neural Computing and Applications*, 35 (5), 4099-4131.
- Ayyarao, T. S., Polumahanthi, N., & Khan, B. (2024). An accurate parameter estimation of PEM fuel cell using war strategy optimization. *Energy*, 290, 130235.
- Bizon, N., Mazare, A. G., Ionescu, L. M., & Enescu, F. M. (2018). Optimization of the proton exchange membrane fuel cell hybrid power system for residential buildings. *Energy Conversion and Management*, 163, 22-37.
- Budak, Y., & Devrim, Y. (2018). Investigation of micro-combined heat and power application of PEM fuel cell systems. *Energy Conversion and Management*, 160, 486-494.
- Cao, Y., Li, Y., Zhang, G., Jermsittiparsert, K., & Razmjoooy, N. (2019). Experimental modeling of PEM fuel cells using a new improved seagull optimization algorithm. *Energy Reports*, 5, 1616-1625.
- Dannenber, K., Ekdunge, P., & Lindbergh, G. (2000). Mathematical model of the PEMFC. *Journal of Applied Electrochemistry*, 30, 1377-1387.
- Duan, F., Chen, C., Song, F., Zhang, S., Li, X., & Eslami, M. (2023). An optimal parameters estimation for the proton exchange membrane fuel cells based on amended deer hunting optimization algorithm. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 58, 103364.
- El-Fergany, A. A. (2018). Extracting optimal parameters of PEM fuel cells using Salp Swarm Optimizer. *Renewable Energy*, 119, 641-648.
- Fathy, A., Abd Elaziz, M., & Alharbi, A. G. (2020). A novel approach based on hybrid vortex search algorithm and differential evolution for identifying the optimal parameters of PEM fuel cell. *Renewable Energy*, 146, 1833-1845.
- Gamburzev, S., & Appleby, A. J. (2002). Recent progress in performance improvement of the proton exchange membrane fuel cell (PEMFC). *Journal of power sources*, 107 (1), 5-12.
- Gouda, E. A., Kotb, M. F., & El-Fergany, A. A. (2021). Jellyfish search algorithm for extracting unknown parameters of PEM fuel cell models: Steady-state performance and analysis. *Energy*, 221, 119836.
- Gong, X., Dong, F., Mohamed, M. A., Abdalla, O. M., & Ali, Z. M. (2020). A secured energy management architecture for smart hybrid microgrids considering PEM-fuel cell and electric vehicles. *Ieee Access*, 8, 47807-47823.
- Hasanien, H. M., Shaheen, M. A., Turky, R. A., Qais, M. H., Alghuwainem, S., Kamel, S., ... & Jurado, F. (2022). Precise modeling of PEM fuel cell using a novel Enhanced Transient Search Optimization algorithm. *Energy*, 247, 123530. Kandidayeni, M.,

- Macias, A., Khalatbarisoltani, A., Boulon, L., & Kelouwani, S. (2019). Benchmark of proton exchange membrane fuel cell parameters extraction with metaheuristic optimization algorithms. *Energy*, *183*, 912-925.
- Haddad, S., Benganem, M., Hassan, B., Soukkou, A., Lekouaghet, B., & Soukkou, Y. (2024). Parameters optimization of PEMFC model based on gazelle optimization algorithm. *International Journal of Hydrogen Energy*, *87*, 214-226.
- Kriegel, H. P., Schubert, E., & Zimek, A. (2017). The (black) art of runtime evaluation: Are we comparing algorithms or implementations?. *Knowledge and Information Systems*, *52*, 341-378.
- Mann, R. F., Amphlett, J. C., Hooper, M. A., Jensen, H. M., Peppley, B. A., & Roberge, P. R. (2000). Development and application of a generalised steady-state electrochemical model for a PEM fuel cell. *Journal of power sources*, *86* (1-2), 173-180.
- Mirjalili, S., Mirjalili, S. M., & Lewis, A. (2014). Grey wolf optimizer. *Advances in engineering software*, *69*, 46-61.
- Qais, M. H., Hasanien, H. M., Turkey, R. A., Alghuwainem, S., Loo, K. H., & Elgendy, M. (2022). Optimal PEM fuel cell model using a novel circle search algorithm. *Electronics*, *11* (12), 1808.
- Rezk, H., Olabi, A. G., Ferahtia, S., & Sayed, E. T. (2022). Accurate parameter estimation methodology applied to model proton exchange membrane fuel cell. *Energy*, *255*, 124454.
- Riad, A. J., Hasanien, H. M., Turkey, R. A., & Yakout, A. H. (2023). Identifying the PEM fuel cell parameters using artificial rabbits optimization algorithm. *Sustainability*, *15* (5), 4625.
- Selem, S. I., Hasanien, H. M., & El-Fergany, A. A. (2020). Parameters extraction of PEMFC's model using manta rays foraging optimizer. *International Journal of Energy Research*, *44* (6), 4629-4640.
- Singla, M. K., Hassan, M. H., Gupta, J., Jurado, F., Nijhawan, P., & Kamel, S. (2023). An enhanced efficient optimization algorithm (EINFO) for accurate extraction of proton exchange membrane fuel cell parameters. *Soft Computing*, *27* (14), 9619-9638.
- Sultan, H. M., Menesy, A. S., Kamel, S., Turkey, R. A., Hasanien, H. M., & Al-Durra, A. (2021). Optimal values of unknown parameters of polymer electrolyte membrane fuel cells using improved chaotic electromagnetic field optimization. *IEEE Transactions on Industry Applications*, *57* (6), 6669-6687.
- Sun, S., Su, Y., Yin, C., & Jermsittiparsert, K. (2020). Optimal parameters estimation of PEMFCs model using converged moth search algorithm. *Energy Reports*, *6*, 1501-1509.
- Turgut, O. E., & Coban, M. T. (2016). Optimal proton exchange membrane fuel cell modelling based on hybrid Teaching Learning Based Optimization–Differential Evolution algorithm. *Ain Shams Engineering Journal*, *7* (1), 347-360.
- Yan, C., Chen, J., Liu, H., & Lu, H. (2019). Model-based fault tolerant control for the thermal management of PEMFC systems. *IEEE Transactions on Industrial Electronics*, *67* (4), 2875-2884.
- Zhao, Y., Mao, Y., Zhang, W., Tang, Y., & Wang, P. (2020). Reviews on the effects of contaminations and research methodologies for PEMFC. *International journal of hydrogen energy*, *45* (43), 23174-23200.

## 具備自動偵測重量與送貨通知之智慧米缸座

張仲軒<sup>1,2</sup> 蘇柏仲<sup>2</sup> 吳亦超<sup>3\*</sup>

### 摘要

目前市面上所提供的智慧米桶或米缸，僅僅具有防潮、顯示目前米量及可透過按鈕自動調整每次出米量，並無法達到本論文開發之智慧米缸座之米缸內米量自動偵測及自動送貨補給，更無提供對應之 APP 提供相關操作與設定，以針對米量不足提供送出警告訊息以及大數據分析，更無相關雲端資料庫的建置，以儲存相關米量使用與米量送貨的大數據資料。因此本論文結合網路通訊、嵌入式系統及行動應用開發等資通訊相關技術，開發一嵌入式系統之智慧米缸座，將家中既有的米缸放置此米缸座上，並設計可達到整體最短送貨時間送貨補暨交貨確認 APP。同時亦由此 APP 完成自動送貨補給，讓合作店家在米缸米重量低於使用者設定的門檻值時，自動發出送貨通知給店家，完成自動送貨。此外亦建立雲端資料庫，將補給資料及米量使用量數據化，並上傳到雲端資料庫，以了解不同使用者對於米的需求，提供商家在米量購買與配置能夠達到客制化與最佳化。

**關鍵字：**智慧米缸座、雲端資料庫、嵌入式系統、最短送貨時間、交貨確認

---

<sup>1,2</sup> 張仲軒，國立臺灣師範大學電機工程系研究生，國立臺東大學綠色與資訊科技學士學位學程畢業生，  
E-mail：setinsgate@gmail.com

<sup>2</sup> 蘇柏仲，國立臺東大學綠色與資訊科技學士學位學程畢業生，E-mail：keddy8520123@gmail.com

<sup>3</sup> 吳亦超(通訊作者)，國立臺北科技大學電子工程系副教授，E-mail：alanwu@ntut.edu.tw

# Smart Rice Jar with Automatic Weight Detection and Delivery Notification

Chung Hsuan Chang<sup>1,2</sup>, Bo Jhong Su<sup>2</sup>, Yi-Chao Wu<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Electrical Engineering, National Taiwan Normal University, <sup>2</sup> Interdisciplinary Program of Green and Information Technology, National Taitung University, <sup>3</sup> Department of Electronic Engineering, National Taipei University of Technology

## Abstract

The current smart rice buckets and rice jars on the market are only moisture-proof, display the current meter amount, and output the meter amount automatically. Hence, the current smart rice buckets and rice jars cannot be applied for the automatic detection of the amount of rice in the rice vat and automatic delivery and replenishment. In addition, no APP is developed for smart mobile device and no cloud databased is developed for data analysis. Therefore, a smart embedded rice cylinder with automatic weight detection and delivery notification was proposed by combining with network communication, embedded systems and mobile application development in this paper. The APP with shortest overall delivery time and delivery confirmation for our smart embedded rice cylinder is also designed in this paper. While the weight of the rice cylinder is lower than the threshold value, a delivery notification is sent to the store automatically. Moreover, a cloud database was built to record the rice usage understand the needs of rice for different users. The merchants thus could achieve customization and optimization in rice purchase and configuration.

**Keywords:** Smart Rice Cylinder, Cloud Database, Embedded System, Shortest Overall Delivery Time, Delivery Confirmation

---

<sup>1,2</sup>Chung Hsuan Chang, Graduate Student, Department of Electrical Engineering, National Taiwan Normal University. Interdisciplinary Program of Green and Information Technology, National Taitung University, E-mail: M11117033@yuntech.edu.tw

<sup>2</sup> Bo Jhong Su, Graduate Student, Interdisciplinary Program of Green and Information Technology, National Taitung University, E-mail: F111152133@nkust.edu.tw

<sup>3</sup> Yi-Chao Wu (Corresponding Author), Associate Professor, Department of Electronic Engineering, National Taipei University of Technology, E-mail: alanwu@ntut.edu.tw

## 壹、導論

由於東部交通地理環境位置的差異，尤其是花東地區，其超商、超市、雜貨店，甚至賣場的分布比例並不高，尤其在偏鄉地區，一般民眾每次的日常生活用品補給並無法在家裡附近購買到。有鑑於此，本論文以米缸內米量自動偵測及雲端自動送貨APP為研究動機，希望透過結合網際網路、嵌入式系統、雲端資料庫及行用應用開發，開發一嵌入式系統之智慧米缸座，並設計一可達到整體最短送貨時間之送貨補給APP。

本論文提出的嵌入式系統之智慧米缸座可即時偵測米缸內的米重量，並透過設定門檻值，在米缸內米重量低於此門檻值時，會提醒店家自動送貨。除了嵌入式系統之智慧米缸座的開發，本論文亦開發智慧米缸座專用APP，在智慧米缸座偵測到米缸內米量不足要送貨補給時，店家可透過此APP獲得通知，並利用此APP規劃各送貨員的最短時間送貨路徑。

在完成送貨後，為了確保貨物確實交付使用者身上，送貨員會透過此APP拍照，證明貨物確實交付使用者身上，在完成拍照後，將會發送通知訊息至使用者APP，在使用者按下確認按鈕後，APP將會自動將此照片上傳至雲端資料庫，並自動標記當下拍照的位址、日期與時間。透過此功能，除了確保東西交付到使用者身上外，商家亦可確認貨物是否正確送達。為了符合實際的使用需求，在系統完成後，將透過3D列印方式，完成機構設計與組裝，以讓家中既有的米缸完全不需要做任何更改，只需將空的米缸或米槽放置在本論文所開發的智慧米缸座上，即可達到米缸或米槽內的米量偵測，並在米量有變化時，自動通知店家完成送貨補給。

有鑑於此，本論文提出具備自動偵測重量與送貨通知之智慧米缸座，來解決上述之問題，其系統功能架構如圖1所示。未來亦將藉由智慧米缸座實際建置與APP上架方式，透過使用者的回饋，來持續改善與修正，實際應用至臺東偏鄉部落，以回饋於社會，藉此爭取產學合作的機會，落實理論與實務的結合。



## 貳、文獻探討

從文獻[1]可得知，台東縣的聯外交通運輸工具的選擇性及利用度遠不及都會型的其它縣市來得便利，而交通上的不便利也間接降低了生活的便利性。說明台東在購物便利方面並沒有達到居民的預期，需要耗費許多人力去進行清點以及補貨的部分，且台東的人力資源其實相當匱乏的，所以在有限的人力資源下，應妥善力分配人力資源。

近年來，更由於疫情因素，外送產業蓬勃發展，政府為防疫需求採取國境封鎖與社交管制措施，衝擊既有日常消費與產業營運模式，包括交通運輸、餐飲服務、觀光旅遊等成長穩健行業，其營業規模縮減60%以上，但同時也為電子商務產業帶來意外成長契機，尤其餐飲外送平台營業額成長將近300%，成為疫情期間最耀眼的產業，各地的外送需求日益增加[2]。

智慧米缸座利用 HX711 壓力重量感測模組[3]定時監測米缸上的重量，並利用 Arduino 撰寫程式，以確認米缸量測重量符合使用者要求，並利用程式將重量上傳至雲端數據庫[4]，在重量不足時予以補貨，也會記錄下該次補貨的成果，以便日後的查詢功能，這個過程會透過 Arduino UNO WiFi Rev.2 [5]內建的硬體接收 WiFi [6]訊號，他是基於 Arduino 基礎上，直接將 WiFi 模組焊接在上面的板子，能夠透過其安全的 ECC608 加密芯片加速器將其連接到 WiFi 網路，該 WiFi 訊號可以透過使用者自行選取來連接。

在開發手機 App 上選擇使用 Android Studio [7]，並與嵌入式系統[8]進行連線，讀取資料並將數據上傳至雲端資料庫，在資料庫上選擇了 Google 的 Firebase [9-10]，因為他能夠連帶儲存使用者的個人信息，並能夠把送貨員送達時所拍下來留存的照片儲存下來，利用實時資料庫來傳輸資料與發送通知[11]。

## 參、研究方法

智慧米缸座包含二大部分，首先是智慧米缸座之開發與實作，這邊包含嵌入式系統設計、嵌入式系統程式撰寫、機構設計及3D 列印。開發智慧米缸座主要以 Arduino 嵌入式系統為主要開發板，整合「重量感測器模組」、「WiFi 通訊模組」及「電池模組」，達到米缸內的重量偵測，並透過 WiFi 無線傳輸方式，讓偵測到的米缸內米量自動上傳至建置的雲端資料庫，以提供 APP 使用，如圖2所示。為了符合實際的使用需求，在系統完成後，將透過3D 列印完成機構設計與組裝，為了讓家中既有的米缸完全不需要做任何更改，只需將空的米缸或米槽放置在本專題所開發的智慧米缸座上，即可達到米缸或米槽內的米量偵測，並在米量有變化時，自動將米量資訊上傳至雲端資料庫。



圖1.利用無線網路將米缸內重量上傳至資料庫流程圖

在 APP 設計部分，可透過 APP 完成智慧米缸座的相關設定。除此之外，送貨員在完成送貨後，會透過此 APP 中的送貨拍照按鈕，完成拍照，並送出確認是否收到物品的通知至使用者端的 APP 上，在使用者按下確認無誤後，將同步上傳照片，以及拍照當時之地址、日期與時間至雲端資料庫。因此在 APP 使用上，將會依據住戶、店家、送貨員三種不同的角色登入後有不同的使用者操作介面。其角色的訂定將會在一開始註冊填寫資料時，由使用者勾選，確認自己的角色。

本論文所開發之 APP 除了可應用在缺乏超商、超市、雜貨店及賣場的地方外。偏鄉獨居老人由於無法自行去市區補給日常生活用品，主要是由照服員的定期訪視，來了解其日常生活用品需求，再給予補充。然而這樣的方式，在米缸米量不足時，並無法立即的通知照服機構。因此本論文所提出的 APP 亦可應用於偏鄉獨居老人家中的自動米量偵測及自動送貨補給，讓照服員便不用再定期訪視獨居老人，而是依據 APP 的通知，便可知道哪位老人的米不足，即送米過去。以減少人力與物力的成本。依據上述的研究問題，將描述其研究方法與步驟：

- 一、**Arduino 板、壓力重量感測模組、通訊模組及電源模組之電路系統整合設計：**透過壓力重量感測模組計算米缸內之米重量，以確認米缸內之米量是否低於使用者自行設定的門檻值。接著，透過無線通訊模組將米缸內米量之數據，自動上傳至雲端資料庫。由於本系統主要採電池供應電源，因此在電路系統整合上亦須整合電池模組。
- 二、**機構設計與組裝：**為了符合實際的使用需求，在完成電路系統整合後，將透過3D列印方式，完成機構設計與組裝，以讓家中既有的米缸完全不需要做任何更改，只需將空的米缸或米槽放置在本專題所開發的智慧米缸座上，即可達到米缸或米槽內的米量偵測，並在米量有變化時，自動通知店家完成送貨補給的動作。
- 三、**Arduino C++程式設計：**除了硬體設計外，還須透過軟體的程式撰寫，才得以讓硬體功能驅動。
- 四、**雲端資料庫規劃與建置：**本雲端資料庫主要儲存剩餘米量歷史資料及送貨米量歷史資料，亦包含完成送貨時之圖片、地址、日期及時間之資料上傳，如圖3的示意圖。此外，亦儲存住戶、店家及送貨員之相關資訊。
- 五、**APP 開發：**由於住戶、店家及送貨員所需要的功能需求不同，本專題所開發的

APP 也因應不同的登入角色，分為三種介面，如圖4、圖5、圖6所示。其各角色之功能結果畫面示意圖，如圖7、圖8、圖9所示。

- 六、**確認送貨員完成送貨**：在送貨員完成拍照，並在使用者按下確認收到後，將完成送貨時之圖片、地址、日期及時間上傳至雲端資料庫，以確認住戶確實收到送貨員的物品。
- 七、**系統實際建置與效能分析**：此系統完成後，除了透過實際測試，確認相關功能正確無誤外，亦會透過使用者實際體驗，確實了解使用者對於本系統的需求及需要改善的地方。

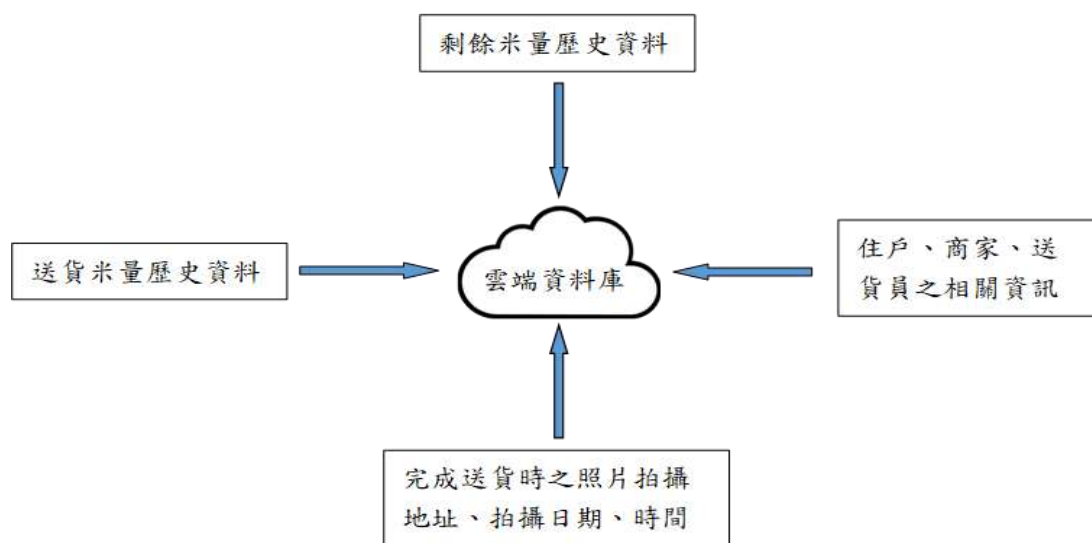


圖3.雲端資料庫儲存



圖4.住戶登入流程



圖 5.商家登入流程



圖 6.送貨員登入流程



圖7.住戶更改店家流程



圖8.住戶與商家查詢歷史訂單過程



圖 9.商家查看目前送貨員之過程

#### 肆、實驗結果

圖 10 為智慧米缸座所用模組架構，左為 HX711 壓力感測器模組，可以將偵測的重量回傳，右邊則是 Arduino UNO WiFi Rev.2，可以自動收發 WiFi，並利用特定的程式庫來上傳重量跟時間到資料庫。



圖10.智慧米缸座所用模組

而 APP 方面，由於角色分成三位，住戶、送貨員、商家，故 APP 需設計三種不同的使用者介面，各角色主介面如圖 11 所示。如果使用者還未擁有登入帳號，可在登入介面中點選註冊，在選擇身分並填完基本資料之後，資料就會自動上傳至資料庫，流程如圖 12。利用 Firebase 資料庫的 Authentication 功能便可記錄並管理所有使用者

帳號，而其他資料包含姓名、聯絡資訊、住址等用戶資料將記錄在實時資料庫。



圖 11.各使用者註冊畫面，由左至右依序為住戶、送貨員、商家



圖12.使用者註冊流程圖

在登入介面輸入帳號密碼後，系統會將所輸入帳號轉為字串，如果此字串與資料庫上帳號節點名稱相同，便可讀取該帳號資訊，再確認密碼與所輸入之密碼相同及該帳號身分後即可進入該身分之主介面，如圖 13。

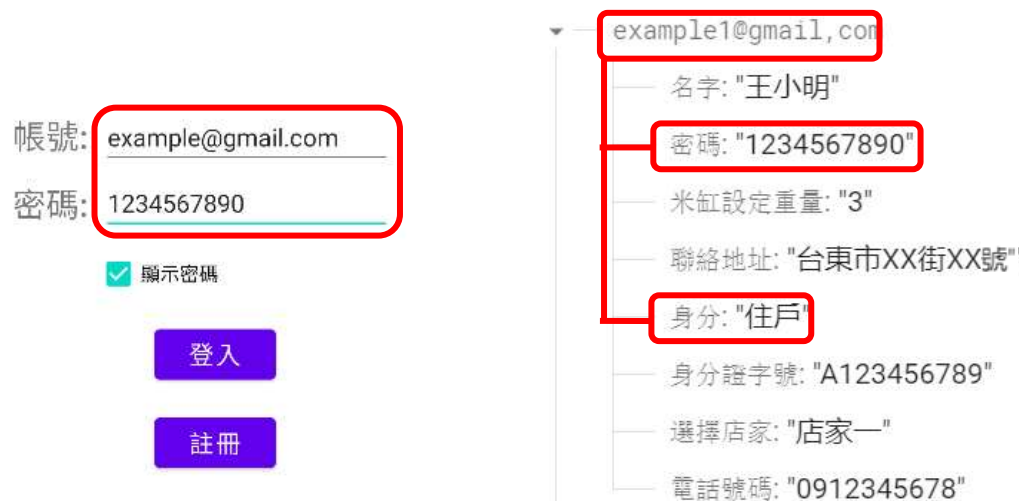


圖 13.判斷帳號密碼及身分之方式

Firestore 資料庫的 Authentication 功能除了能夠方便管理帳號，還能利用其函式庫所提供之方法來確認用戶註冊帳號是否有重複，以及告知用戶其密碼長度是否足夠，如果註冊時發現帳號已被使用，或是密碼長度小於 6，系統將會顯示快顯訊息告知使用者，使用者必須修改才可繼續註冊，如圖 14。



圖 14.帳號已被使用與密碼過短警告

住戶、送貨員皆可以隨時利用「更改店家」按鈕來變更當前所選擇商家，住戶可以利用此功能向不同商家傳送配送需求；送貨員則可利用此功能成為所選商家的送貨員，並在變更成功後立即更新資料庫，如圖 15、圖 16。



圖15.住戶更改店家實機圖

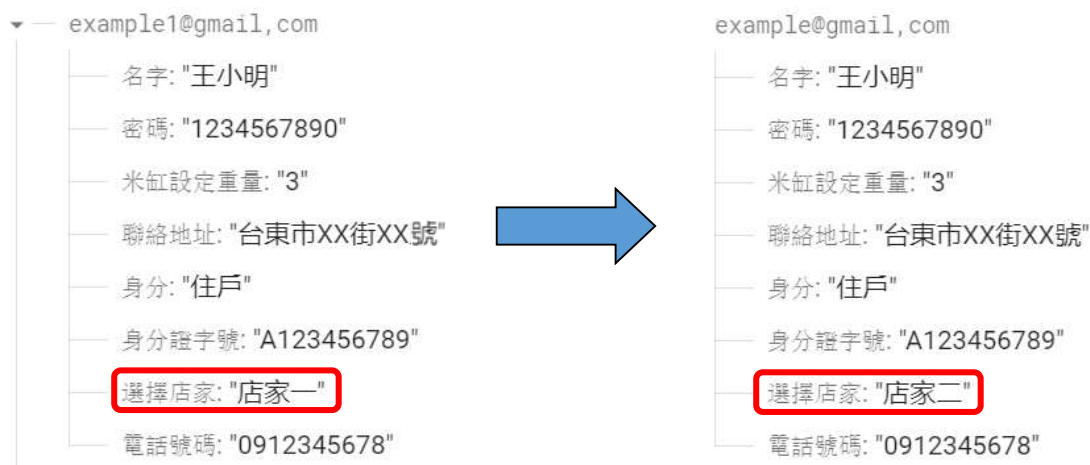


圖16.更改店家成功後資料庫變化

當住戶的米缸重量低於所設定的重量，住戶會發送通知給選擇的商家，店家可在主介面看見各住戶所缺少的米量，按下「開始外送」即可將訂單依照順序分給每個送貨員，如果訂單數多於送貨員數量，那送貨員將被分配到多筆訂單，訂單分配會回到第一位送貨員繼續分配，如圖 17。

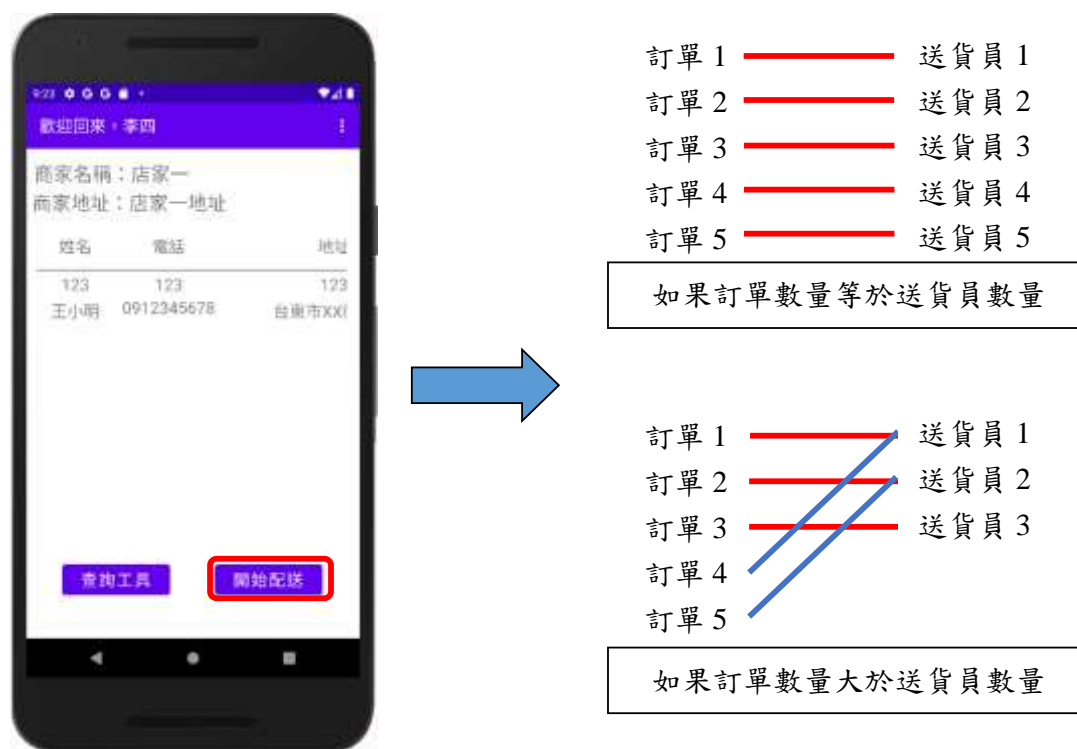


圖17.商家分配訂單給送貨員方法

店家可在主介面檢視選擇該店家的住戶資訊與該配送的米量，如果商家認為某一送貨員不適合為該店家服務，可從介面右上角選單點擊「查看外送員」，選擇不適合的送貨員後可將其剔除，而送貨員被剔除後則會再下次登入時看到所選店家為空字串，送貨員只要重新選擇其他店家即可，該功能如圖 18 所示。



圖 18.店家剔除送貨員之方法

當商家選擇開始配送後，便會將住戶資訊分配給選擇該店家的送貨員們，送貨員則可在主介面看到住戶的配送資訊，包含姓名、住址與該配送重量。住戶與商家可以點擊「查詢工具」搜尋所設定時間內的所有訂單資訊，設定完日期後，系統會從資料庫中讀取資料，並將該時段內所有訂單資料顯示於介面，如圖 19 所示。



圖19.使用查詢功能搜尋訂單

送貨員在確認住戶資訊後可開啟 Google 地圖來規劃送貨路線，並在送貨完成後拍照傳送給住戶並上傳拍攝照片的時間、日期與地址至資料庫儲存，如圖 20 所示。

考量台東等偏鄉地區住戶的生活便利性不完整，缺少如信用卡支付、電子支付等多元支付方式，本專題設計之服務規定商家、送貨員、住戶三方皆以現金進行交易。當外送員成功將貨物送至住戶處時，住戶需以現金支付所需費用，外送員取得對應金額後再將金額轉交至商家，或是外送員在取貨同時先代替住戶方進行支付，待完成送貨任務後再與住戶收取款項。

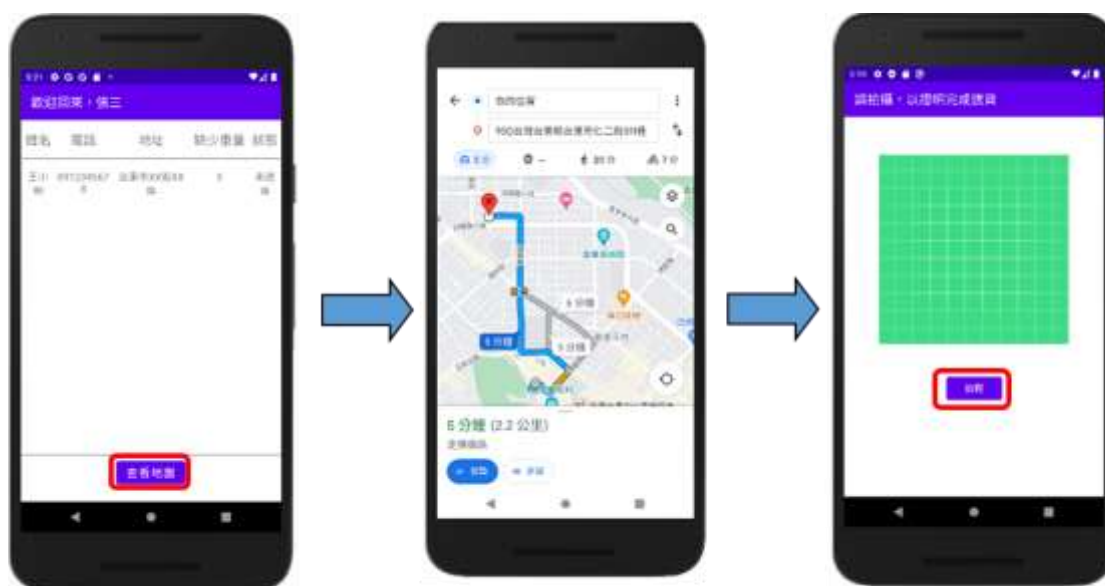


圖 20.外送員完成訂單後上傳照片至資料庫之流程

## 伍、結論

本研究開發了一款具備自動偵測重量與送貨通知功能的智慧米缸座，透過嵌入式系統、雲端資料庫與行動應用技術，實現米量即時監測與自動補貨通知。系統能提升偏鄉地區的生活便利性，優化送貨流程，並透過數據分析協助商家進行更精確的庫存管理。同時，專屬 APP 提供三種角色介面，使住戶、店家與送貨員能夠高效互動，確保補貨流程順暢且可追蹤。

未來本系統可進一步擴展至其他食品管理，並透過人工智慧優化補貨預測，提升智能管理能力。此外，整合電子支付與擴展商業應用模式，將使該技術在更廣泛的場域發揮效益。本研究為智慧家庭與供應鏈管理提供創新方案，為偏鄉居民帶來更便捷的生活體驗。

## 參考文獻

- [1] 莊晨 (2009), 台東移居鄉村者生活型態與生活調適之研究, 國立臺東大學身心整合與運動休閒管理學系碩士論文。
- [2] 李昶德(2021), 台灣民眾在新冠疫情期間使用餐飲外送平台意向之研究, 亞洲大學經營管理學系碩士論文。
- [3] W.-J. Li, C. Yen, Y.-S. Lin, S.-C. Tung, and S. Huang, "JustIoT Internet of Things based on the Firebase Real-time Database", in *Proceedings of the IEEE International Conference on Smart Manufacturing, Industrial and Logistics Engineering*, Hsinchu, Taiwan, 08-09 February 2018.
- [4] 廖文淵、何翊、張啟祥, 以 Arduino 發展平台為基礎之智慧生活監控系統, 德霖學報, 第 27 期, 2014。
- [5] 林君翰 (2015), 基於 Arduino 之感測器量測資料擷取裝置, 國立中央大學土木工程系碩士論文。
- [6] 洪若偉 (2016), Android 智慧型裝置於 Wi-Fi 區域網路之實作, 朝陽科技大學資訊工程系碩士論文。
- [7] 陳俞君 (2016), 多功能動態 NFC 廣告系統之研究, 國立臺灣師範大學資訊工程系碩士論文。
- [8] 林致任 (2012), 嵌入式 Android 系統之 App 開發與應用, 清雲科技大學電機工程系碩士論文。
- [9] 黃柏森 (2018), 以 Firebase 實現物聯網智能監控系統, 國立臺灣海洋大學機械與機電工程學系碩士論文。
- [10] 陳信介 (2019), 基於聊天機器人之校園自動化客服設計與實作, 國立中央大學資訊工程學系在職專班碩士論文。
- [11] 范謹驛 (2019), MQTT 推播通知應用, 中原大學電子工程系碩士論文。

## 具備深度學習之愛文芒果等級區分影像辨識無人機

黃佳信<sup>1</sup>、許弘維<sup>2</sup>、吳亦超<sup>3\*</sup>

### 摘要

水果一直是臺灣農產品外銷的重大主力，其中愛文芒果更是外銷水果中之一大主力。隨著臺灣人口高齡化，加上投入農業產業活動的人口較為稀少，導致需要大量人力支援的生產、包裝與運送成本都大幅提高。在包裝的過程中，除了需要大量人力外，當中的芒果等級辨識更需要繁瑣細心的工作流程。因此芒果等級辨識已成為農民們除了品種改良及行銷外，最為煩惱的問題。為此，許多研究提出結合 AI 影像辨識方式來解決此問題。然而目前的 AI 芒果影像等級辨識仍多以手持攝像裝置來完成芒果等級辨識，並無法適用於果園內之芒果等級辨識。有鑑於此，本論文結合 UAV 與 AI 影像辨識，提出「具備深度學習之愛文芒果等級區分影像辨識無人機」，透過 UAV 在不用跑遍果園的情況下，便能確實辨識樹上芒果的等級，並透過真實 UAV 攝像方式，來驗證本論文所提出方法的有效性。透過實驗結果，本論文在愛文芒果等級辨識可達到 70%，證明本論文提出之「具備深度學習之愛文芒果等級區分影像辨識無人機」可適用於愛文芒果等級區分，並可降低大量人力成本。

**關鍵字：**愛文芒果、芒果等級辨識、深度學習、影像辨識、無人機

---

<sup>1</sup> 黃佳信，國立雲林科技大學 資訊工程系碩士班研究生，E-mail：M11117033@yuntech.edu.tw

<sup>2</sup> 許弘維，國立高雄科技大學 電子工程系碩士班研究生，E-mail：F111152133@nkust.edu.tw

<sup>3</sup> 吳亦超（通訊作者），國立臺北科技大學電子工程系副教授，E-mail：alanwu@ntut.edu.tw

# Aiwen Mango Grade Classification by UAV with Deep Learning Image Recognition

Chia-Hsin Huang<sup>1</sup>, Hung-Wei Hsu<sup>2</sup>, Yi-Chao Wu<sup>3\*</sup>

## Abstract

In Taiwan, fruits are the major contribution of agricultural exports. Aiwen mango is one of the main export fruits of agricultural exports. Since the population involved in agricultural industry activities is relatively small due to aging population in Taiwan, the cost of production, packaging and shipping with a lot of manpower support is increased significantly. As of 2023, Taiwan's mango plantation area is about 16,000 hectares with an annual output of about 167,000 metric tons. However, the population engaged in agricultural industrial activities is relatively sparse with a high age group by mostly manual harvesting and quality screening to lead to a lack of more convenient and standardized processes. Therefore, an Aiwen mango grade classification by image recognition UAV with YOLO deep learning, AMGCIR, was proposed to address the above issues. In AMGCIR, the UAV could be operated with a laptop to detect the mango's grade without running through the orchard and the manual quality screening in orchard before mango harvest. The experimental results showed that the accurate rate of grade classification could be over 70%. It proved that AMGCIR could be used for Aiwen mango grade classification to reduce the manpower and avoid the manual quality screening in orchard before mango harvest. The export and transportation of high-grade fruits thus could be arranged in advance.

**Keywords:** Aiwen Mango, Grade Classification, Image Recognition, UAV, YOLO, Deep Learning.

---

<sup>1</sup> Chia-Hsin Huang, Graduate Student, Department of computer science and information engineering, National Yunlin University of Science and Technology, E-mail: M11117033@yuntech.edu.tw

<sup>2</sup> Hung-Wei Hsu, Graduate Student, Department of Electronic Engineering, National Kaohsiung University of Science and Technology, E-mail: F111152133@nkust.edu.tw

<sup>3</sup> Yi-Chao Wu (Corresponding Author), Associate Professor, Department of Electronic Engineering, National Taipei University of Technology, E-mail: alanwu@ntut.edu.tw

## 壹、前言

由於台灣農業技術的進步，加上地理天候的獨厚優勢，芒果已成為台灣重要的內外銷農業產品之一，但時常發生因天候改變，產量突然暴增，造成供需失衡芒果在市場上的價格暴跌，農民因整體利潤不符採收成本，選擇將大量高級美味的芒果，拋棄使之腐爛在果園，時則非常可惜，若能建立一套系統，在芒果還高掛在樹上時，收集數據並統計出，預計本季採收的芒果等級與產量數據，就能提早進行戰略性應變，例如與農會討論調度更多運輸與行銷資源將芒果輸出國際市場，避免國內市場暴跌。但若直到已將芒果採摘下來才得知水果等級與產量數據的話，此時水果早已開始熟成，若未在時間內調度完成行銷事宜，將會有大量水果過度成熟，賣像變得奇差無比，影響原本預計可獲得利潤。

有鑑於此，本論文提出「具備深度學習之愛文芒果等級區分之影像辨識無人機 (Aiwen Mango Grade Classification by UAV with Deep Learning Image Recognition, UAVDLIR)」來解決上述問題，本論文具視覺辨識之無人機，在愛文芒果尚未採摘時，就在果園進行即時等級辨識與後續整理數據並建立統計圖表，能趕在愛文芒果過度熟成前，先將後續行銷、運輸等等的事宜，提前安排完畢。

截至目前文獻中尚未有團隊提出無人機視覺辨識中針對愛文芒果等級辨識進行開發的研究，大多文獻目前的研究都朝向在運輸帶中，以人工方式進行等級辨識與自動分類，尚未有利用無人機在果園處直接進行芒果辨識，使愛文芒果在採摘前就能提早進行數據收集並進行分析統計得出結果[1-7]。

## 貳、文獻探討

本研究以 YOLO (You Only Look Once) 監督式學習演算法建構深度學習模型，該演算法廣泛應用於各種視覺辨識應用，如車流檢測、水果品質分類等。雖然自 YOLOv1 問世後，其版本已演進至第 11 代，具有更高的精度與更快的速度，但本論文在 2022 年完成時，考量到研究環境、相容性以及無人機運算效率等多重因素，最終選用 YOLOv2 作為基礎模型進行芒果品質等級的辨識。回顧 YOLO 各版本[17]，YOLOv2 在辨識速度上相較 YOLOv3 更快，但準確度稍低；這是因為 YOLOv3 神經網路層數較多，導致其在推論過程中的速度較慢。對於需在無人機上執行的影像串流，即使飛行中容易產生晃動或干擾，仍須保持即時且穩定的辨識效能，因此 YOLOv2 相對更為適合。此外，YOLOv4 經過神經網路重新設計後，雖然在速度與準確度都有顯著的提升，但由於本論文使用的 Darkflow 套件和 YOLOv4 彼此並不相容，導致無法順利整合；再加上本論文之研究環境及開發時程都落在 2022 年，技術選擇上無法及時使用到更新的 YOLO 版本。在當時研究條件限制下，使用 YOLOv2 能夠兼顧即時性與穩定性，並符合無人機應用所需的辨識效率，也因此成為本論文最終採用的技術基礎。

Model	Input size	Train set	Test set	mAP	FPS
YOLOv1	448x448	VOC 2007+2012	VOC 2007	63.4%	45
Fast YOLOv1	448x448	VOC 2007+2012	VOC 2007	52.7%	155
YOLOv2	416x416	VOC 2007+2012	VOC 2007	76.8%	67
tiny-YOLOv2	416x416	VOC 2007+2012	VOC 2007	57.1%	<b>207</b>
YOLOv2	608x608	COCO	COCO	48.1%	40
YOLOv3	608x608	COCO	COCO	<b>57.9%</b>	20

圖 1. YOLO 各版本比較[8]

將芒果等級視覺辨識模型以 YOLOv2 演算法訓練建置完成後，以 Darkflow 套件在程式中讀取深度學習模型和 Tellopy 無人機程式 Yello (Yolo + DJI Tello) 連接[9]，此無人機視覺辨識橋接程式限定 YOLO 版本為 YOLOv2 以下的版本，因 YOLOv2 之後的版本神經網路差異太大所以無法執行。本論文用上述所需的要素，完成具備 YOLO 深度學習之愛文芒果等級區分之影像辨識無人機。使用的 Ryze Tello 迷你無人機，具有 100 公尺的遙控距離和 720p 畫質以及 13 分鐘的電池續航力。

### 參、研究方法

如圖 2 所示，YOLO 首先將影象大小調整到 448×448，輸入神經網路後，再執行卷積神經網路，並提取影象特徵及輸出特徵張量，最後對特徵張量進行非極大抑制優化 (Non-Maximum Suppression, NMS)。YOLO 神經網路模型如圖 3 所示，包含 24 個卷積層和 2 個全連線層。其中，卷積層主要用來提取特徵，全連線層主要用來預測類別機率和座標[10]。

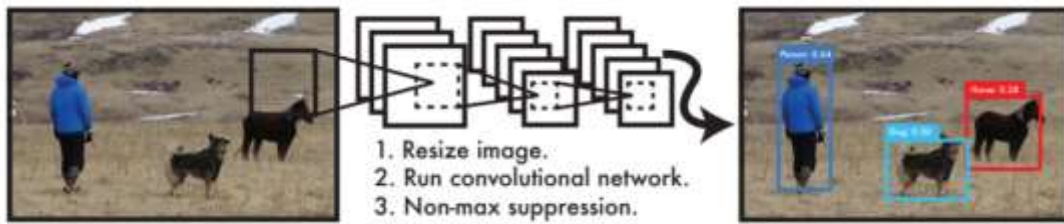


圖 2. YOLO 偵測流程[10]

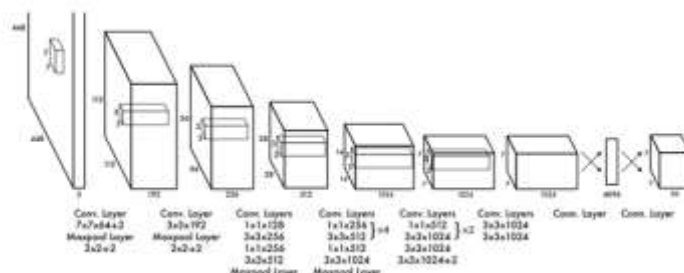


圖 3. YOLO 神經網路架構[10]

本論文在進行愛文芒果等級區分模型的訓練與測試時，主要採用了 Intel Core i7-10700K 處理器、NVIDIA GeForce RTX 3090 (24GB RAM) 顯示卡、Z490 系列主機板以及 64GB 系統記憶體，並於軟體方面整合了 TensorFlow、OpenCV、Darkflow 與 Tellopy 等套件。若使用者的環境中並無 GPU，也可改以 CPU 模式執行，但推論速度會相對減慢，準確度則不受影響。研究所使用的愛文芒果等級資料集，則是取自台灣高經濟作物—AI CUP 2020 愛文芒果影像辨識雙項競賽[11]，共計約 45,000 張芒果影像及其標註檔，以 YOLO 深度學習網路[5]完成訓練。

本論文所使用之「愛文芒果等級資料集」主要取自台灣高經濟作物的公開競賽平台 AI CUP 2020—愛文芒果影像辨識雙項競賽。該資料集附有對應的標註檔 (Annotation) 與標籤檔，包含芒果的等級標註 (A、B、C) 以及邊界框(Bounding Box) 標註資訊，並由競賽主辦單位已事先提供完整之標籤文件[11]。

此外，本論文採用 YOLOv2 內建的「動態色彩增強」功能(在 cfg 檔中設定 saturation、exposure、hue 等)，使模型在讀取每一張影像時，都會隨機改變其亮度、飽和度與色相，藉此增加影像的多樣性。然而，我們並未額外對影像進行「旋轉、翻轉」等其他類型的資料增強；故硬碟中實際影像檔維持約 51,990 張不變，每次訓練讀入影像時雖會因動態增強出現不同變化，但不會在資料夾中生成更多檔案。未來若要進一步提升精度，會考量加入更多元的資料擴增方法。

為了更完整地評估模型效能，研究將資料分為訓練集 (TRAIN) 與測試集 (TEST)，並在訓練階段自訓練集再切割出約 10%作為驗證集 (Validation Set)。在 A Class 中，訓練集為 28,585，測試集為 5,388，合計 33,973，測試集比例 15.86%，訓練集比例 84.14%；B Class 訓練集為 11,140，測試集為 1,016，合計 12,156，測試集比例 8.36%，訓練集比例 91.64%；C Class 訓練集為 5,275，測試集為 596，合計 5,871，測試集比例 10.15%，訓練集比例 89.85%。合計的訓練集為 44,990，測試集為 7,000，總數 51,990，測試集約佔 13.26%，訓練集約佔 86.74%。其中 A Class 的測試集比例最高 (15.86%)，B Class 則最低 (8.36%)；驗證集則在訓練過程中再由訓練集隨機抽取約 10%用來調整模型參數。最終，研究透過 Darkflow 套件讀取經訓練完成之 YOLOv2 深度學習模型，並使用 Tellopy 無人機程式連接通訊套件[9]無人機程式進行通訊連接，無人機 Ryze Tello 迷你無人機其飛航資訊傳輸距離 100m、起飛重量 87g 可在具備本論文章式安裝環境下搭載訓練模型的筆電進行愛文芒果辨識。本論文成功整合出具備 YOLO 深度學習之愛文芒果等級區分影像辨識無人機。此流程約於 2022 年初完成，也因此採用當時相容性最佳的 YOLOv2 演算法與上述硬體環境和軟體工具，作為實際應用與研究開發之基礎。

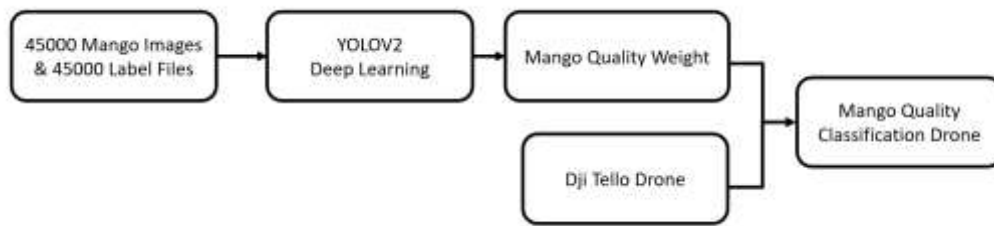


圖 4.愛文芒果等級區分影像辨識無人機 建置架構圖

## 肆、實驗結果與分析

本論文使用 YOLOv2 模型對影像進行辨識，整體辨識正確率為 0.63。在調整非極大值抑制(Non-maximum suppression, NMS)與信賴度(confidence)門檻值時，若將 NMSThreshold 設得較高，篩選條件會相對寬鬆，容易產生多重框選，甚至同一物件可能被重複框選；反之，若 NMSThreshold 過高，則可能無法偵測到任何物件，導致報錯。至於信賴度(confidence)門檻值，當辨識結果於圖片左上方顯示時，英文字母 A、B、C 各代表不同品質等級，標籤旁的數字則為辨識的信心程度；如果不希望過低的信心值干擾結果，可以在 ConfThreshold 設定較高的數值(例如 0.9)，只顯示大於此閾值的物件。由於 YOLOv2 本身在訓練流程中內建了動態色彩增強，可透過在 cfg 檔中設定 saturation=1.5、exposure=1.5 和 hue=0.1 等參數，使模型在讀入每張訓練影像時，自動改變其亮度、飽和度與色相，因此能在不改變硬碟中實際影像數量(約 51,990 張)的情況下，為模型提供更多樣化的影像變異。然而，我們並未使用旋轉或翻轉等其他常用影像擴增方法，因此實體影像檔數量並沒有額外增加，仍維持原始的 51,990 張；每次訓練時模型所見的影像雖然會因動態色彩增強而產生差異，但並不會在資料夾中額外生成新影像檔案。儘管本研究的整體辨識正確率為 0.63，透過動態色彩增強的方式在一定程度上增加了影像的多樣性，但模型仍有優化空間。若適度微調 NMSThreshold 與 ConfThreshold，就能在減少錯誤框選的同時維持較佳的辨識效率，也可進一步考量加入更豐富的資料擴增方法，以期在未來提升愛文芒果品質辨識的準確度。實驗中 CPU 與 GPU 的裝置規格如下：

- CPU：Intel Core i7-10700K。
- GPU：NVIDIA GeForce RTX 3090 (24GB RAM)。
- 主機板：Z490 系列。
- 系統記憶體：64GB。

在圖 5 與圖 6 中，NMSThreshold 均設定為 0.1，而 Inputsize 皆為 608×608，圖 5 的 ConfThreshold 為 0.1，圖 6 的 ConfThreshold 則為 0.9。因此可以看到，圖 6 中信賴度低於 0.9 的框都不會出現，導致可見的物件框大幅減少。接著，圖 7 雖然將 ConfThreshold 維持在 0.1，但將 NMSThreshold 提高至 0.9，於是框的數量隨之增加。綜合來看，ConfThreshold 的提高會減少偵測框顯示的數量，而 NMSThreshold 的提高

則會使系統更寬鬆地保留框，進而增加顯示數量。透過比較圖 5、圖 6 與圖 7，可以清楚看出兩個參數對偵測框結果的影響。

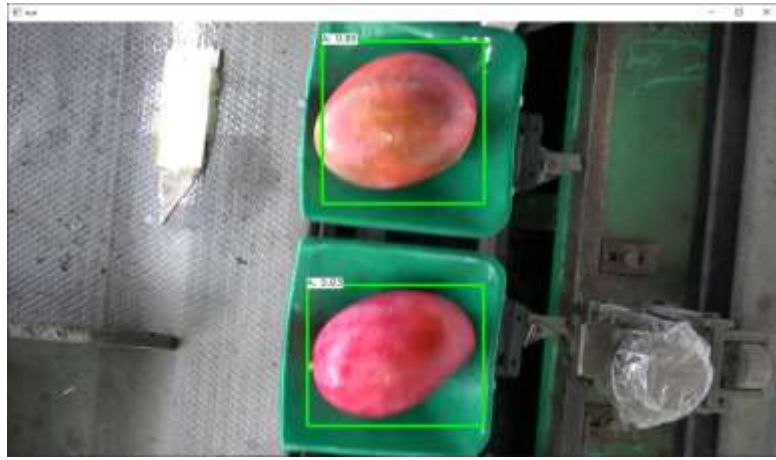


圖 5. ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.1、Inputsize = 608×608



圖 6. ConfThreshold = 0.9、NMSThreshold = 0.1、Inputsize = 608×608



圖 7. ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.9、Inputsize = 608×608

圖 8 至圖 10 則是顯示在 ConfThreshold 與 NMSThreshold 不變的情況下，隨著 Inputsize 改變時，辨識框所出現的差異。可以看到，當 Inputsize 為  $416 \times 416$  (圖 8) 時，系統無法完整辨識出全部的芒果，縱使將所有影響結果的參數調至最低，依然存在遺漏。相較之下，當 Inputsize 為  $608 \times 608$  (圖 10) 時，則是本次測試中辨識效果最理想的參數組合。此時只要將 NMSThreshold 下調至 0.1，便能如圖 5 所示，進一步排除多餘的物件選取框。因此，後續將以 ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.1、Inputsize =  $608 \times 608$  作為主要的參數設定值。



圖 8. ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.9、Inputsize =  $416 \times 416$



圖 9. ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.9、Inputsize =  $512 \times 512$



圖 10. ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.9、Inputsize = 608×608

本論文使用 OpenCV 讀取模型方法及參數，透過修改這些方法以及參數，使用不同方式去讀取模型，匯入測試集圖片資料，分析並歸納出最適合的方法與參數，並將其結果透過統計圖表呈現。OpenCV-dnn 套件提供兩種不同方式讓電腦硬體執行模型預測：預設使用 CPU 來執行模型預測，若額外安裝 OpenCV-gpu 套件則可強制使用 GPU 執行模型預測。實驗中，匯入測試集圖片進行預測，比較使用不同硬體在預測模型上的表現，GPU 在預測速度上比 CPU 快上數倍，如圖 11 所示。

在參數相同時，使用 CPU 及 GPU 之辨識率差異，如圖 12 所示。從圖 12 可以看出，使用不同硬體進行預測對其結果並無影響；在此前提下，使用者即可在系統中加入不同選項：若有 GPU，便能以更快速的運算能力來即時預測圖片；若無 GPU，則仍可使用 CPU 進行預測，並不會影響最終結果。

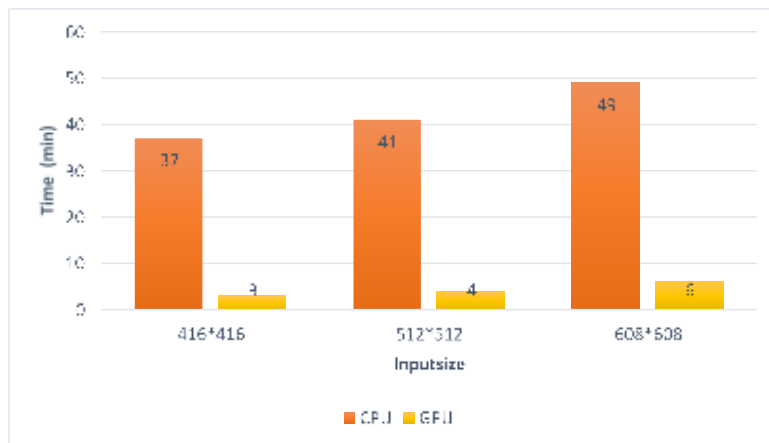


圖 11. GPU 與 CPU 在 7000 張圖片辨識時間

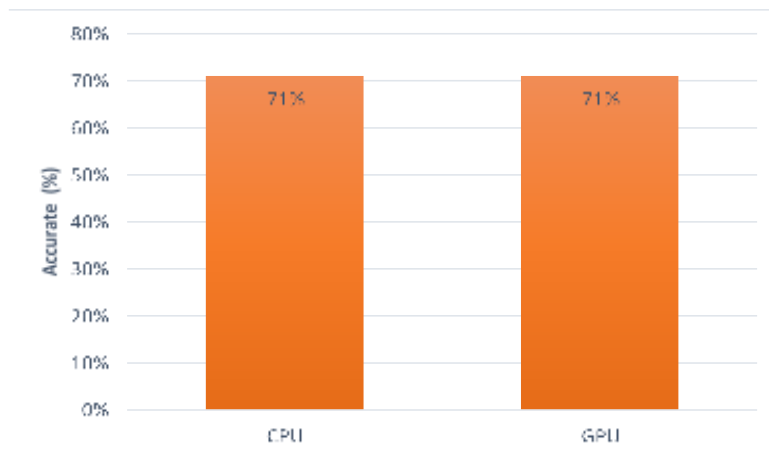


圖 12. GPU 與 CPU 在參數相同情況下之辨識準確率

比較不同圖片輸入大小在整體辨識率上的差異，常見的 YOLOv2 輸入圖片大小為 416、512、608。此處以這三種輸入規格尺寸進行比較，期間固定 ConfThreshold 為 0.1、NMSThreshold 為 0.1，如圖 13 所示。從圖 13 得知，Inputsize 越大，辨識率越高，因此本系統中應使用 608×608 作為 Inputsize 的最佳參數值。

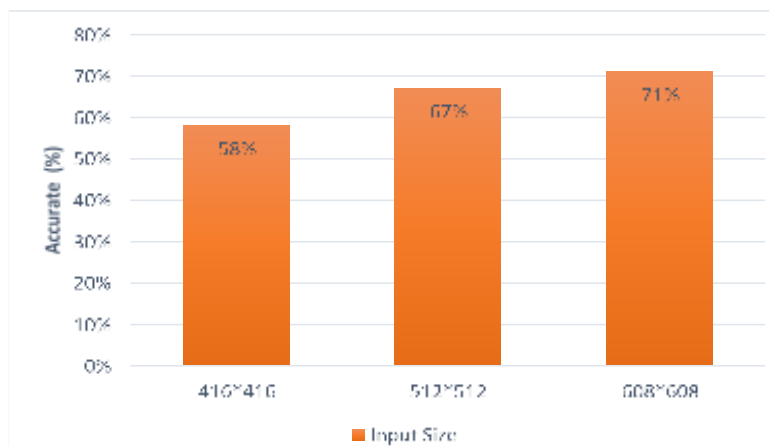


圖 13. 不同 InputSize 之辨識準確率

在使用 OpenCV-dnn 套件讀取模型時，可以設定在最後輸出圖片物件選取框時的相關參數閾值。其中一個為 NMSThreshold (非極大值抑制)，此值會影響物件選取框的數量：NMSThreshold 值越大，限制就越嚴格；反之，則可能在同一物件上出現多個重疊的物件選取框。以下實驗針對不同的 NMSThreshold 值，固定其他參數後，觀察其對於辨識率的影響，結果如圖 14 所示。

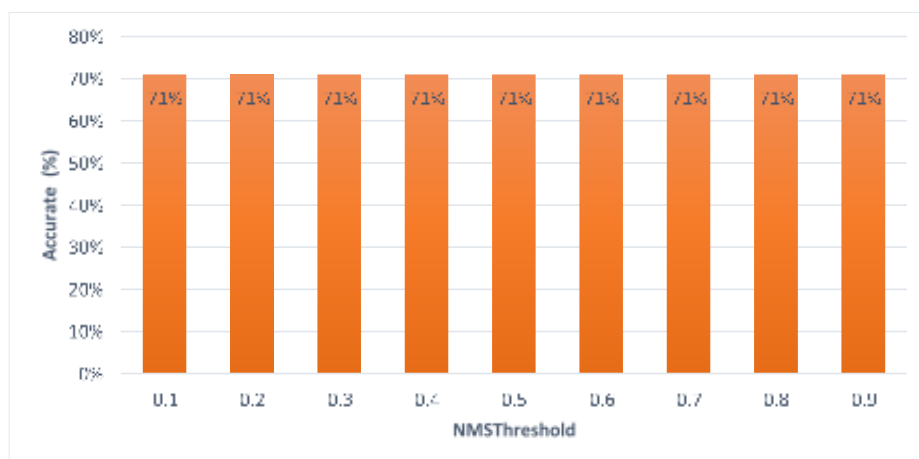


圖 14. 不同 NMSThreshold 之辨識準確率 (Inputsize = 608×608、ConfThreshold = 0.1)

從圖 14 得知，調整 NMSThreshold 對最終辨識率並沒有影響；在讀取圖片時，系統一定會有一個最佳判斷結果的物件選取框，所以光從辨識率的角度並無法看出差異。然而，若改用實際預測單張圖片的情境來觀察，會更為明顯。例如，當 NMSThreshold 較大時，容易產生較多的物件選取框，甚至有重複情形；當降低此值之後，選取框則較為正常。為防止出現過多且重疊的物件選取框，並在不影響最終結果的前提下，NMSThreshold 建議設置低一些，以避免造成視覺上的混淆。

Opencv-dnn 讀取模型時，可以調整 ConfThreshold，這個參數可以限制模型在回傳找到物件標籤時的「最低信賴度閾值」，也就是必須大於此信賴度才會被顯示。信賴度反映模型對此物件為特定標籤的確信程度，也會呈現在圖中。如圖 15 所示，若 ConfThreshold 值越高，會導致整體辨識率下降；而當 Inputsize 越小且 ConfThreshold 越高時，情況會更嚴重，如圖 16 所示。因此本論文最終選擇將 ConfThreshold 設定為 0.1。



圖 15. 多物件選取框 (ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.9、Inputsize = 608×608)



圖 16. 單物件選取框 (ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.1、Inputsize = 608×608)

比較不同的 ConfThreshold 對辨識準確率的影響，如圖 17 (Inputsize = 608×608，NMSThreshold = 0.1) 與圖 18 (Inputsize = 416×416，NMSThreshold = 0.1) 所示，可觀察到隨著 ConfThreshold 提升，容易使部分低信賴度的物件失去辨識，導致整體準確率下降。

當單一物件產生多個重疊偵測框時，YOLO 演算法會取一個信心度最高 (confidence score 最高) 的結果作為最終輸出。多物件的情況下，系統會嘗試與每個目標物匹配，並透過 NMS (非極大值抑制) 演算法剔除過多或重疊的框，最後保留相對最佳的框與其類別結果。

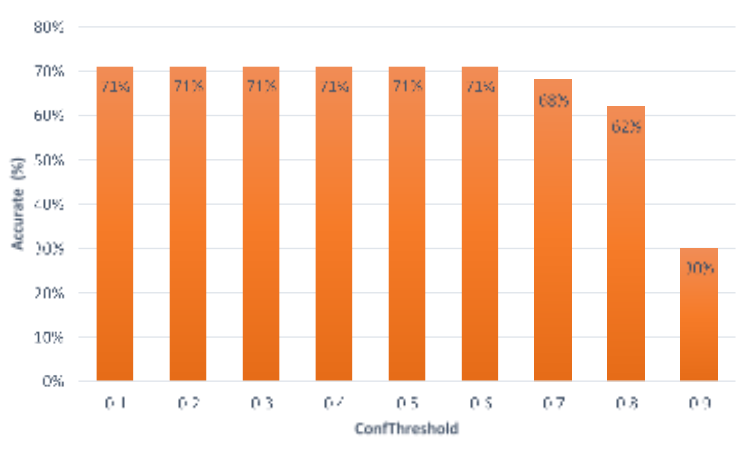


圖 17. Inputsize = 608×608 之不同 ConfThreshold 之辨識準確率 (NMSThreshold = 0.1)

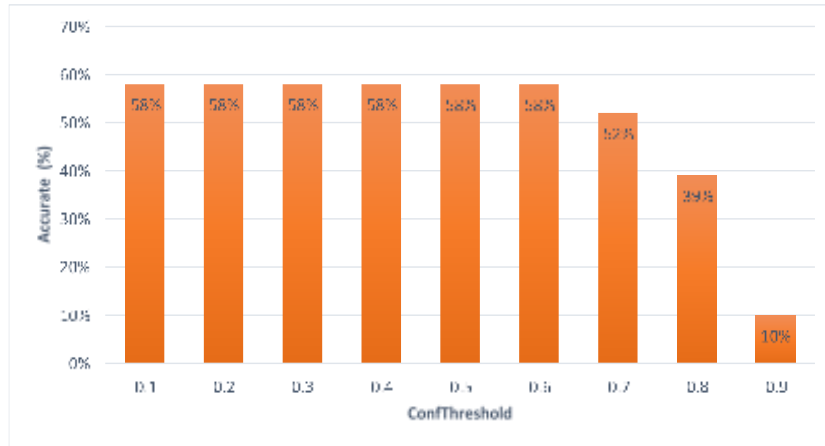


圖 18. Inputsized = 416x416 之不同 ConfThreshold 之辨識準確率 (NMSThreshold = 0.1)

模針對模型在判斷錯誤的部分，本論文也進行分析，並依照分類錯誤的情形，分別以「A 辨識為 B」、「A 辨識為 C」、「B 辨識為 A」、「B 辨識為 C」、「C 辨識為 A」及「C 辨識為 B」六項進行統計。圖 19「A 辨識為 B」顯示不同圖片輸入大小之間的差異不大，仍有一定比例的 A 品質被辨識為 B 品質，原因在於 A 與 B 在外觀上並非絕對差異，B 僅在色澤或完整度稍遜於 A，故模型有可能出現誤判。圖 20「A 辨識為 C」顯示相同條件下，這類錯誤比例為六種分類錯誤中最高；主因在於 C 品質通常外觀有明顯損壞、黑點或其他較顯眼的問題，一旦圖片模糊或拍攝環境陰暗，易使模型將原本應為 B 或 A 的芒果誤判成 C。圖 21「B 辨識為 A」也與圖 19「A 辨識為 B」情況相似，皆是因為 A 與 B 的外觀界線不夠明確，而導致模型出現誤判。從圖 22「B 辨識為 C」可看出，不同圖片輸入大小的差異同樣不大。在測試集圖片中，若芒果損壞部位拍攝不夠明顯或與原先標記的標籤不符，即容易造成模型誤判。這些情況若能在前置作業中剔除或修正，可減少此類誤判發生。圖 2「C 辨識為 A」顯示在測試集裡，若損壞部位並未清楚出現在照片中，便有機會被辨識成 A。圖 24「C 辨識為 B」則顯示此類誤判比率雖低，但仍可能在拍攝環境過度模糊或失焦時發生，實際使用上應盡量避免。

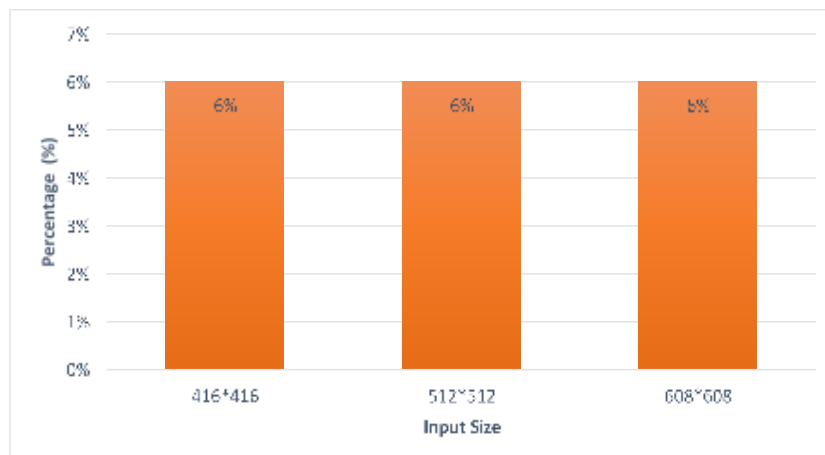


圖 19. A 判斷成 B 之判斷錯誤 (ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.1)

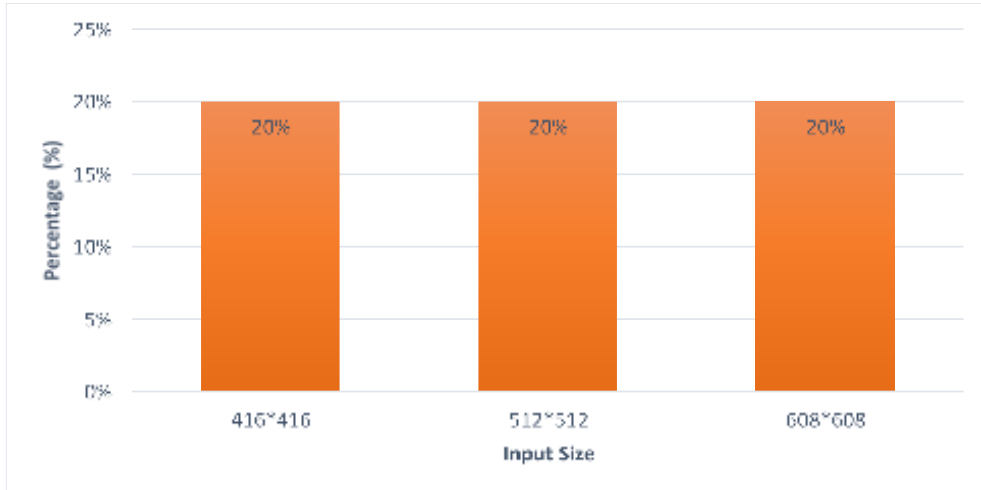


圖 20. A 判斷成 C 之判斷錯誤 (ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.1)

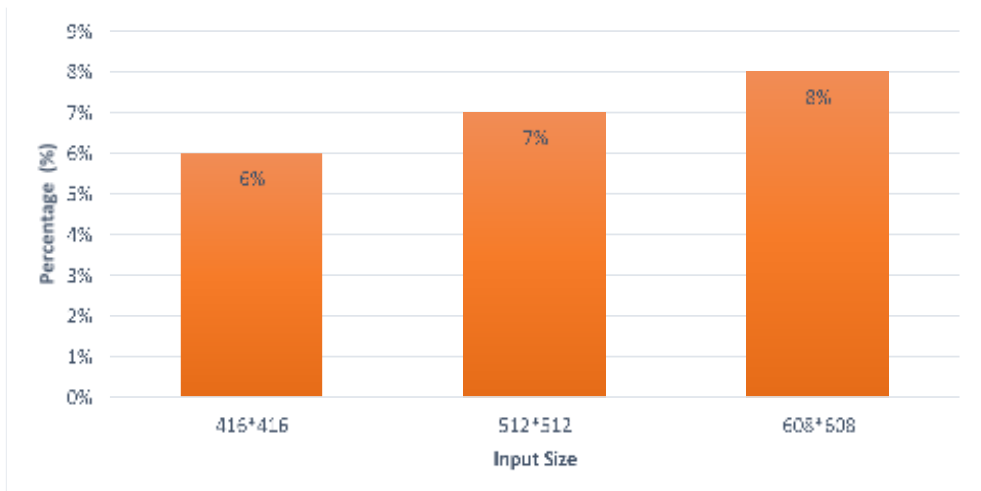


圖 21. B 判斷成 A 之判斷錯誤 (ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.1)

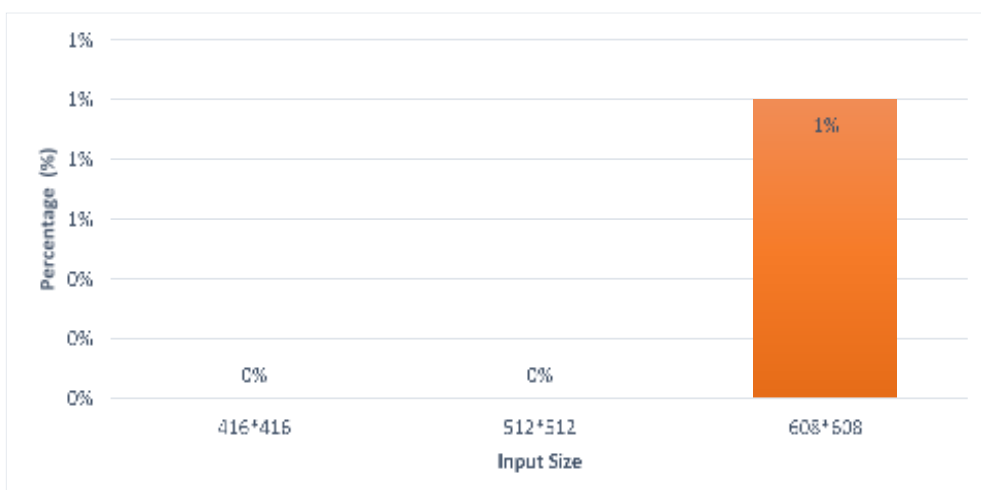


圖 22. B 判斷成 C 之判斷錯誤 (ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.1)

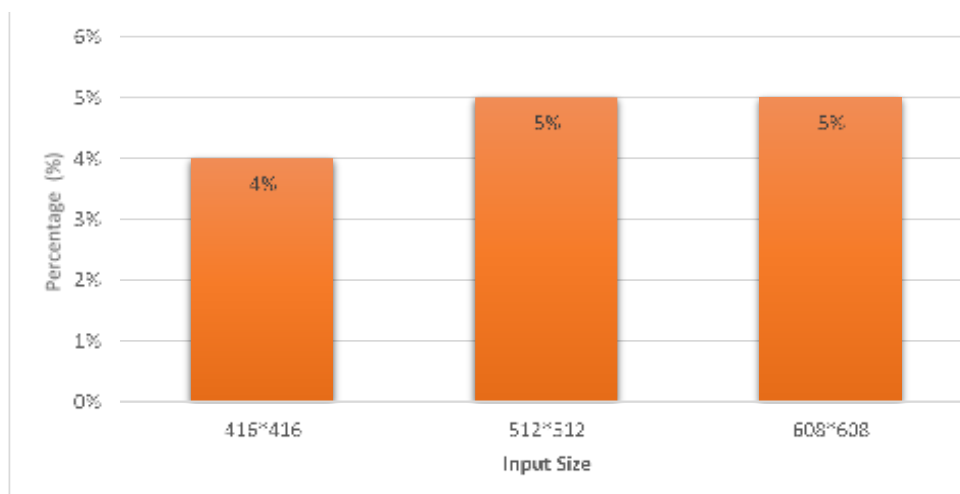


圖 23. C 判斷成 A 之判斷錯誤 (ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.1)

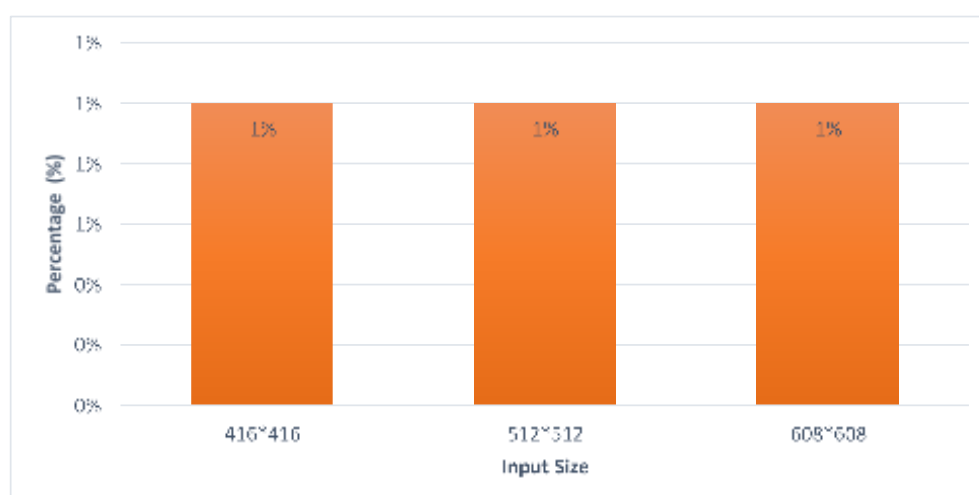


圖 24. C 判斷成 B 之判斷錯誤 (ConfThreshold = 0.1、NMSThreshold = 0.1)

如圖 25 所示，無人機可在模擬背景中（有綠葉等干擾）成功且正確地辨識出芒果為 C 等級。本系統在實驗室測試時，也能在畫面出現複數芒果時如圖 26 所示，正確顯示各芒果分別為 B 等級。由此可推斷，若將本系統實際帶入果園使用，整體流程與實驗條件相似時，系統仍能順利運作；且目前無人機只需透過鍵盤做基本操作即可，毋須額外添購手把等設備，使用方式相對簡易。本研究在測試時，會計算「偵測到的總芒果數」與「實際上標記為芒果的總數」，並統計「哪一類芒果被誤判或漏判」。因此，「漏檢」與「誤檢」皆納入整體效能指標中。

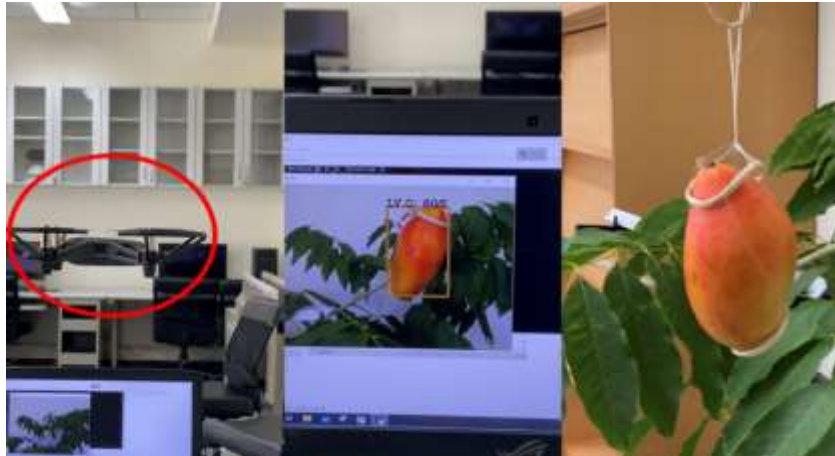


圖 25. 在背景有綠葉干擾下，無人機成功辨識芒果為等級 C

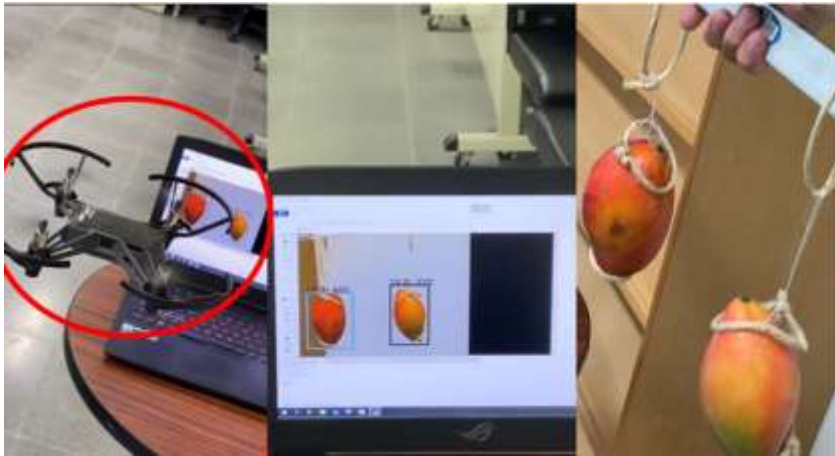


圖 26. 在複數芒果情況下，無人機成功辨識芒果為等級 B

## 伍、結論

傳統農業往往需要投入大量時間與人力，像是採收以及篩選，傳統人工經營方式導致效率低落，相對地，智慧農業可以透過結合如物聯網、智慧監測、數據分析等技術，來提升農業效率，減少多餘的勞力支出，更加精準的辨別農場經營情形，並且降低投身於農業的門檻，是近代農業發展的重要方向。若將視覺辨識大量引進農業，將可使農業更加智慧化。利用本論文之愛文芒果等級辨識無人機系統，進行愛文芒果等級辨識數據收集，將等級與產量數據收集進資料庫中，將來累積大量的數據，可進行針對愛文芒果的大數據分析，例如：比對氣候資料或肥料等作物照顧的資料，可找出讓愛文芒果等級提升之方法，並開發出高級愛文芒果種植之必勝公式，使農業轉型成高科技產業。

本論文提出之「具備深度學習之愛文芒果等級區分之影像辨識無人機」除了可輔助收集芒果等級資料外，更可使目前從事愛文芒果種植的人口，免於在坐落於在低海拔小山丘中的愛文芒果園，進行地毯式等級數據收集的工作，省下大量勞力，並且避免蚊蟲和毒蛇的威脅，只需在無人機與筆記型電腦的 100 公尺圖傳距離範圍內，動動

手指頭即可開始進行收集數據的工作。

未來若能建立芒果智慧履歷資料庫讓使用者能統一回傳各地芒果產量與等級數據，便能收集不只一戶農家而是整個區域甚至全台的芒果大數據，並可在此平台，讓農民分享體驗本論文的使用經驗，藉由這些回傳的使用數據增加，後續可開採這座累積下來的芒果大數據金礦，將可為農業研究開啟新的一扇大門。未來也期望能與更多農家或公部門合作，蒐集更大規模的真實果園影像以做測試與分析，提升模型泛化能力。

## 參考文獻

- [1] 巫易翰 (2009)，即時水果辨識系統之實現，南台科技大學資訊工程系碩士論文。
- [2] 曾宜菁 (2016)，影像辨識應用於鑑別天然枸杞之研究(碩士論文)。亞洲大學資訊工程學系碩士在職專班碩士論文。
- [3] 劉峻瑜 (2019)，使用 YOLO 演算法之水果品質分類系統實作，高雄科技大學電子工程系碩士論文。
- [4] 董昱廷 (2015)，適用於 iOS 裝置之植物辨識系統-以第一科大校園為例，國立高雄第一科技大學電腦與通訊工程研究所碩士論文。
- [5] 詹秉學 (2021)，使用 YOLO 演算法之水果品質分類系統設計，國立高雄科技大學電子工程系碩士論文。
- [6] A. Safonova, Y. Hamad, A. Alekhina, and D. Kaplun, "Detection of Norway Spruce Trees (Picea Abies) Infested by Bark Beetle in UAV Images Using YOLOs Architectures," IEEE Access, vol. 10, pp. 10384-10392, 2022.
- [7] E. Reyes, C. Gómez, Es. Norambuena, and J. Ruiz-del-Solar, "Near Real-Time Object Recognition for Pepper based on Deep Neural Networks Running on a Backpack", arXiv:1811.08352
- [8] J. Redmon and A. Farhadi, "YOLO9000: Better, Faster, Stronger", arXiv:1612.08242.
- [9] Yello (Yolo + DJI Tello), <https://github.com/adriacabeza/Yello>.
- [10] J. Redmon, S. Divvala, R. Girshick, and A. Farhadi, "You Only Look Once: Unified, Real-Time Object Detection", arXiv:1506.02640.
- [11] 台灣高經濟作物 - 愛文芒果影像辨識正式賽，[https://aidea-web.tw/aicup\\_mango](https://aidea-web.tw/aicup_mango).

## 紅麴菌 *Monascus purpureus* NTU 568 電轉型基因操作平台開發

潘意凌<sup>1</sup>、林志輝<sup>\*2</sup>

### 摘要

絲狀真菌因其能合成多種對人類有益的蛋白質和次級代謝物，而成為高商業價值的工業生產者。紅麴菌是亞洲發酵食品的重要菌種，其產品廣泛用於膳食補充品和食品著色劑。隨著全基因體序列的揭露，紅麴菌的次級代謝物生合成基因研究逐漸深入，為功能性基因研究奠定了基礎。然而過去紅麴菌基因的主流操作工具—農桿菌轉型法，由於其隨機嵌入的特性，並不適合進行需要精確操作的功能基因體研究。因此在深入探討紅麴菌基因機制之前，開發一個精確有效的基因操作平台是必要的。本研究構建了同源重組剔除質體 pHRL，針對紅麴菌 NTU 568 中的 *pksCT* 基因進行同源重組剔除，成功降低了 89% 的 citrinin 產量。研究結果顯示，去除細胞壁、使用線型質體以及電轉後的再生培養時間是 NTU568 電轉型效率的關鍵因素，未來可進一步探討替換啟動子或更有效的篩選標記基因，以提高穩定轉型株的篩選效率。

**關鍵詞：**紅麴菌、次級代謝物、同源重組、電轉型效率

---

潘意凌，國立臺東大學生命科學系學生

林志輝 (通訊作者)，國立臺東大學生命科學系副教授，E-mail：chlin@nttu.edu.tw

## Development of *Monascus purpureus* NTU 568 Gene Manipulation Platform Using Electroporation Method

Yi-Ling Pan<sup>1</sup>, Chih-Hui Lin<sup>\*2</sup>

### Abstract

Filamentous fungi have become important industrial producers with high commercial value due to their ability to synthesize various beneficial proteins and secondary metabolites. Among them, *Monascus* is a key strain in Asian fermented foods, with its products widely used as dietary supplements and food coloring agents. As the whole genome sequence has been deciphered, research into the biosynthesis genes of secondary metabolites in *Monascus* has gradually deepened, laying the foundation for precise genetic studies. However, the current gene manipulation tool for *Monascus* - *Agrobacterium* transformation method has limitations due to its random insertion characteristics, making it unsuitable for functional genomic research that requires precision. Therefore, developing an effective gene manipulation platform is essential before delving into the genetic mechanisms of *Monascus*. This study constructed a homologous recombination deletion plasmid, pHRL, targeting the *pksCT* gene in *Monascus* NTU 568, successfully reducing citrinin yield by 89%. The results indicate that cell wall removal, the use of linear plasmids, and regeneration culture time post-electroporation are key factors influencing the electroporation efficiency of NTU 568. Future research may explore alternative promoters or more effective selection markers to enhance the screening efficiency of stable transformants.

**Keywords:** *Monascus*, Secondary metabolites, Gene manipulation, Electroporation efficiency

---

Yi-Ling Pan, Student, Department of Life Science, National Taitung University.

Chih-Hui Lin (Corresponding Author), Associate professor, Department of Life Science, National Taitung University. E-mail: chlin@nttu.edu.tw

## 壹、前言

紅麴菌(*Monascus purpureus*)是一種廣泛存在於穀類、澱粉、新鮮牧草、泥土、魚乾及松樹根組織中的絲狀真菌。這一菌種於 1884 年由法國學者 van Tieghem 首次分離，並建立了紅麴菌屬(陳等, 2003)。紅麴菌的特徵包括無色、褐色或紅色的菌絲，且具有橫隔菌絲(septate hypha)，其末端可產生有性的厚壁子囊。作為雌雄同體(homothallic)的生物，紅麴菌能以不規則的方式進行有性和無性繁殖，這使其在自然環境中具備良好的適應能力(蘇等, 1970)。

### 一、重要次級代謝物

紅麴菌的次級代謝物對人類健康有著重要影響，其中主要包括以下三種：

#### (一) Monacolin K (MK)

Monacolin K 是紅麴米的主要活性成分，最早由日本學者遠藤教授於 1979 年從 *Monascus ruber* 中分離出來(Endo, 1979)。MK 是一種膽固醇合成抑制劑，具有顯著的降血脂效果，並被認為有助於預防和治療癌症、具備神經保護、抗發炎及抗菌作用(Xiong et al., 2019)。

#### (二) 紅麴色素 (Monascus pigments, MPs)

紅麴菌中已知有 25 種紅麴色素，這些色素不僅在食品著色上應用廣泛，還被發現具有降血脂、抗癌和抗疲勞等多重功效(Zhu et al., 2019)。主要的紅麴色素包括紅色素(monascorubramine 和 rubropunctamine)、橘色素(monascorubrin 和 rubropunctatin) 與黃色素 (ankaflavin 和 monascin)，它們的化學結構屬於真菌次級代謝物的 azaphilones 類。紅麴色素的安全性高，近年來的研究表明，其在多個領域的應用潛力不容忽視，尤其是黃色素 monascin 與 ankaflavin (Feng et al., 2012)。

#### (三) 橘黴素 (Citrinin)

橘黴素是一種黴菌毒素，通常存在於 *Penicillium*、*Aspergillus* 及 *Monascus* 屬中(Kováč et al., 1961)。這種毒素對肝臟和腎臟有毒性，能引發一系列健康問題，包括血管擴張、血壓急降等。由於紅麴色素與橘黴素的合成過程存在關聯，因此如何在生產紅麴色素的同時控制橘黴素的產生成為研究的重點。

### 二、轉型研究

紅麴菌的轉型研究自 2003 年以來逐步展開，當時研究者首次成功應用染色體媒介轉型法(genomic DNA-mediated transformation, GDMT)進行紅麴菌的基因改造。隨後，基因槍法、PEG-原生質體轉型法(PEG-protoplast mediated transformation, PEG-PMT)、農桿菌轉型法(*Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation, ATMT)和限制酶媒介整合方法(restriction enzyme-mediated integration)等技術相繼被引入，進一步推進了紅麴菌的轉型研究(Lakrod et al., 2003; Campoy et al., 2003; Chen et al., 2008)。然而，這些方法各有其局限性，例如隨機插入基因的特性影響了基因操作的精確性，且轉型效率參差不齊。

因此，發展高效且精確的基因操作平台對於紅麴菌的研究至關重要。未來的研究方向將集中在如何提高 MK 和 MPs 的產量，同時降低橘黴素的生成，以促進紅麴菌在食品和醫療領域的應用潛力。透過這些研究，紅麴菌有望在健康食品及藥物開發中發揮更大的作用，滿足市場對天然產品的需求。

## 貳、材料與方法

### 一、供試菌種

本研究所使用之紅麴菌株 *Monascus purpureus* NTU 568 (DSM 28072) 由國立台灣大學生化科技系潘子明教授實驗室所提供。*E. coli* pCAMBIA1380 購自 pCambia Labs (Canberra, Australia)。

### 二、培養

紅麴菌 *M. purpureus* NTU 568 接種於 PDA 平板培養基並培養在 28°C。*E. coli* pCAMBIA 1380：取 5 µL 保存於 -80°C 甘油冷凍菌保管之解凍菌液接種至 5 mL LB 培養基，於 37°C，150 rpm，培養 18 小時活化菌株。再接種於含 25 µg/mL kanamycin 之 LA 平板培養基並培養在 37°C。

### 三、實驗方法

#### (一) 抽取質體 DNA

在本實驗中，*E. coli* 在含有 25 µg/mL ampicillin (質體 pHRL) 或 25 µg/mL kanamycin (質體 pCAMBIA 1380) 的 LB 培養基中培養 14-16 小時。使用 FavorPrep™ Plasmid Extraction Mini Kit 抽取質體，並以 Qubit® dsDNA BR Assay Kit 測定質體 DNA 濃度，最後將其保存於 -20°C。

#### (二) 構築質體

本研究針對橘黴素生合成核心基因 *pksCT* 進行剔除。質體構築使用 pCAMBIA 1380 作為篩選標記，*pyT&A* 作為骨架，並連接來自 *Monascus purpureus* NTU 568 的 *pksCT* 同源重組片段 (*pksCT*-L 和 *pksCT*-R)。快速篩選轉型株使用抗生素 hygromycin B phosphotransferase gene (*hph*) 抗性基因作為篩選標記。首先將 *pksCT* 基因的 5' 片段 (*pksCT*-L) 和 3' 片段 (*pksCT*-R) 與從 *E. coli* pCAMBIA 1380 擴增出的 35ST-*Hph*-35SP 片段進行 overlapping PCR 連接。接著，利用 T-A cloning 將該片段接入 *yT&A* vector，並通過熱休克處理將其轉型至 *E. coli* JM109 菌株，以進行保存和定序。表 1 列出了本研究設計的引子資訊。

表 1. 本研究設計的引子。

Table 1. Primers designed in this study.

Oligo ID	Target gene	Sequence (5'→3')	Amplicon size
<i>pksCT</i> -L R	<i>pksCT</i>	CAGTCCGCTATCTATCCATG	654 bp
<i>pksCT</i> -L F		AGATCTCGACCCGTTTAAAG	

Oligo ID	Target gene	Sequence (5'→3')	Amplicon size
<i>pksCT</i> -R R		TTGGCATAGACATCAGTGAC	656 bp
<i>pksCT</i> -R F		CATTGACAATCAGGAGGACA	
<i>Hph</i> OE F		CATGGATAGATAGCGGACTGCTTAGA	2598 bp
<i>Hph</i> OE R	<i>hph</i>	CAACTTAATAACACATTGC	
1380 <i>hph</i> F		TGTCCTCCTGATTGTCAATGTCTAATA	2585 bp
1380 <i>hph</i> R		AACGCTCTTTTCTCTTAG	
GML F	<i>GML</i>	CTTAGACAACTTAATAACACATTGC	416 bp
GML R		TCTAATAAACGCTCTTTTCTCTTAG	
<i>pkCT</i> -M F	<i>pksCT</i>	AGGGCAAGTTTCCACCTATGTT	855 bp
<i>pksCT</i> -M R		TAGGGTTTCGCTCATGTGTTGA	
		TTGGTTATCAAGACGCATCCCA	
		CCTCACGAGCATCAAAAGCAAA	

### (三) 分生孢子培養與計數

將紅麴菌之菌塊接種於產孢培養基(conidiation medium: 100 g sucrose、1 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.5 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O、2 g NaNO<sub>3</sub>、0.5 g KCl、0.01 FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O、3 g yeast extract、5 g casamino acid and 1.5% agar per 1 L medium)中，並於 28 °C，150 rpm 下培養 5 天後，以無菌 PP 茶包袋過濾菌體。將過濾之菌液以 3,420 xg 離心 10 分鐘，去除上清液後以 5 mL 無菌水重新懸浮為孢子懸浮液。於將孢子液稀釋 10 倍，取 20 μL 在顯微鏡下以血球計數器計數，最後以無菌水將孢子數調整至接種量為 10<sup>6</sup> spore/mL。

### (四) 電穿孔轉型

本研究電穿孔操作方法參考 Dobrowolska and Staczek (2009)的操作步驟並加以修改。將分生孢子於室溫靜置沉澱，移除懸浮色素後，加入 20 mL YG 培養基 (0.5% yeast extract、2% glucose)，在 28°C、150 rpm 下培養 2 小時促使發芽。離心 3 分鐘收集發芽孢子，並用甘露醇清洗，再用 lysing buffer 處理 2 小時，完成原生質體的製備(圖 1)。

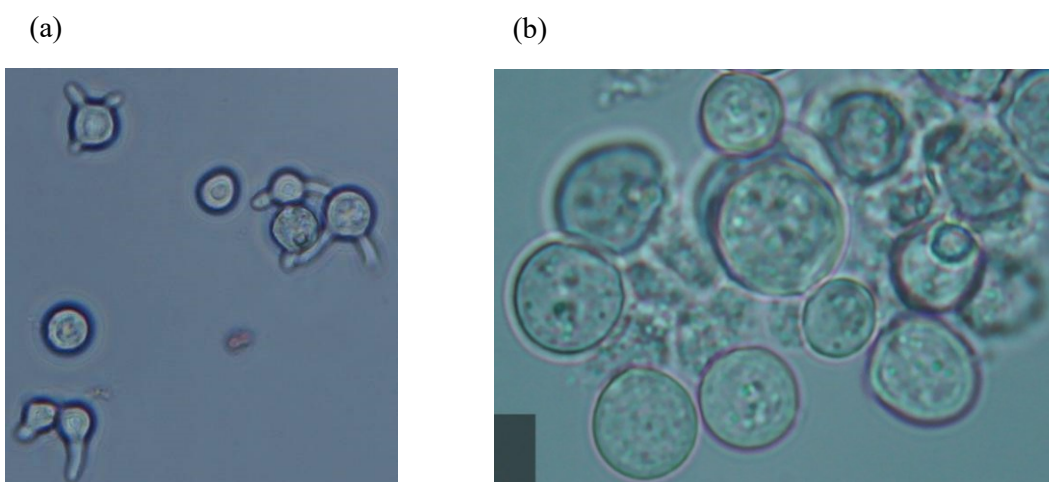


圖 1. 勝任細胞 (a)發芽分生孢子。(b)原生質體。  
Figure 1. Competent cell. (a) Germinated conidia. (b) Protoplasts.

#### (五) 電轉型試驗流程

將電轉型緩衝液 (1 mM HEPES、0.6 M mannitol, pH 7.5) 與  $1 \times 10^9$  spore/mL 的勝任細胞混合, 冰浴 15 分鐘後加入 4  $\mu$ g 質體 DNA, 總體積達 200  $\mu$ L, 再冰浴 15 分鐘。使用 BioRad MicroPulser™ 進行電轉型 (2.5 kV/cm), 電擊後立即加入 1 mL YED 培養基, 轉移至 1.5 mL 微量離心管中冰浴 30 分鐘, 再於 28°C 下旋轉震盪培養 1 小時。

#### (六) 轉型株確認分析

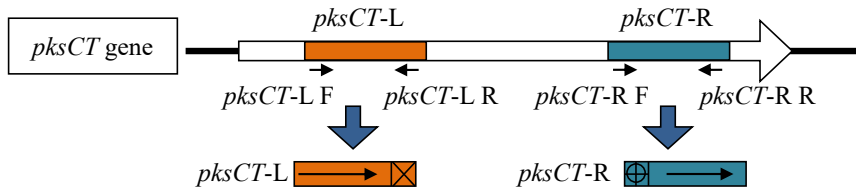
將轉型株在含有 hygromycin B 的 PDB 培養基中於 28°C 培養七天後抽取染色體 DNA。使用引子 GML-F、GML-R 和 *pkscT*-M F、*pkscT*-M R 進行 PCR, 以確認菌株是否攜帶外源基因及野生型 *pkscT* 基因。PCR 產物經電泳確認後送至基龍米克斯生物科技股份有限公司進行定序。

## 參、結果

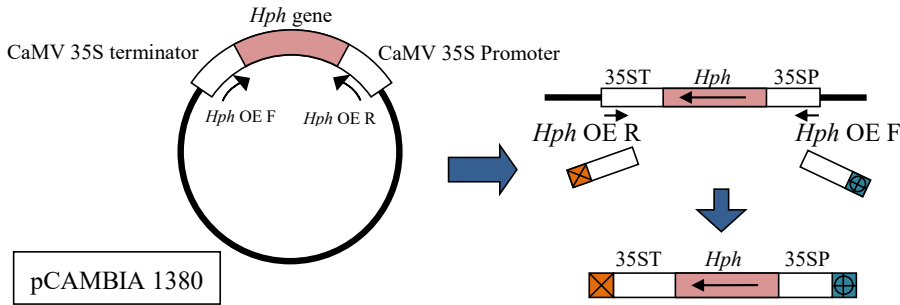
### 一、*pkscT* 基因剔除 cassette 構築

對橘黴素生合成核心基因 *pkscT* 進行了兩段序列擴增, 分別為 *pkscT*-R (654 bp) 和 *pkscT*-L (656 bp), 結果顯示符合預期的單一條帶。PCR 產物純化後與 pyT&A 選殖載體連接, 轉型至 *E. coli* JM109 進行定序。針對 pCAMBIA 1380 質體進行 35ST-*Hph*-35SP 序列擴增, 產物 2638 bp 並伴隨約 200 bp 副產物。經 1% 瓊脂糖凝膠分離, 切膠純化 2638 bp 目標片段, 與 pyT&A 選殖載體連接後轉型至 *E. coli* JM109 並定序。將 35ST-*Hph*-35SP 序列與 *pkscT*-R 及 *pkscT*-L 片段進行連接 PCR, 結果顯示 OE HR (3253 bp) 和 OE HL (3251 bp) 出現約 700 bp 的條帶, 可能因未純化的連接產物影響專一性。切膠純化後再次連接, 轉型至 *E. coli* JM109 並進行定序。最終, OE HR 及 OE HL 的純化產物與 *pkscT*-R 及 *pkscT*-L 進行連接 PCR, 成功獲得 HRL 產物, 序列全長 3908 bp, 並進行切膠純化、連接及轉型至 *E. coli* JM109 進行保存和定序 (圖 2)。

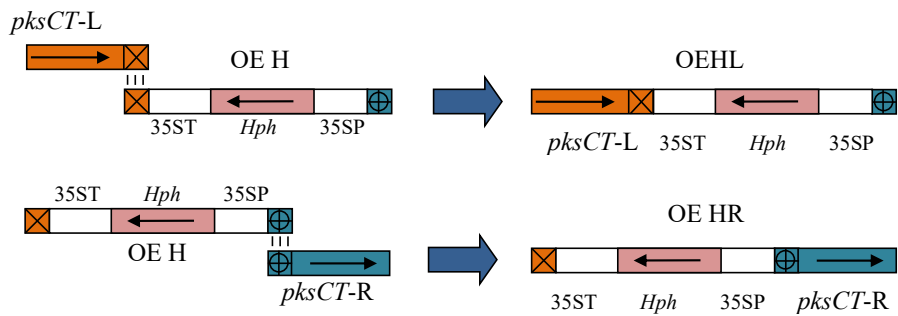
Step 1. amplification of *pksCT-L* and *pksCT-R* sequence.



Step 2. amplification of 35ST-*Hph*-35SP sequence.



Step 3. ligation of OE H on *pksCT-L* or *pksCT-R* sequence.



Step 4. ligation of OE HR and *pksCT-L*.

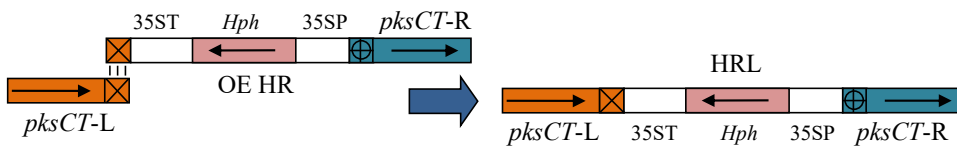


圖 2. 本研究基因剔除 cassette 構築步驟。

Figure 2. Gene knockout cassette construction steps in this study.

## 二、電轉型條件測試

本研究的電轉型最適條件旨在達到最高轉型效率（每  $\mu\text{g}$  DNA 的轉型株數量）。起初使用發芽分生孢子作為宿主細胞，並使用環形的 pHRL 質體進行電轉型試驗。起始轉型條件為發芽分生孢子密度  $1 \times 10^6$ 、 $4 \mu\text{g}$  載體 DNA、總體積  $200 \mu\text{L}$  和再生培養時間 1 小時。電轉型電場條件包含 2.5、5、7.5、10、12.5 和 15 kV，轉型株於含有  $40 \mu\text{g/mL}$  hygromycin B 的 PDA 篩選培養基培養七天，結果無法獲得任何轉型株。隨後改用經 *XbaI* 剪切過的 pHRL 線形質體進行電轉型，轉型條件同上，結果仍無法獲得轉型株。考慮紅麴菌細胞壁可能阻礙外源 DNA 進入細胞內，改用原生質體作為宿主細胞，並將勝任細胞數量調整為  $1 \times 10^8$ 。結果於電場 2.5 kV/cm、使用經 *XbaI* 剪切的  $4 \mu\text{g}$  載體 DNA、原生質體  $1 \times 10^8$ 、總體積  $200 \mu\text{L}$  和再生培養時間 1 小時的條件下成功獲得轉型株，轉型效率為每  $\mu\text{g}$  DNA 可產生  $77 \pm 10.2$  個轉型株，顯示細胞壁為 NTU 568 主要的電轉型阻礙。

測試在不同電場下（1、4.5、8、11.5 和 15 kV/cm）使用 *XbaI* 和 *KpnI* 剪切的 pHRL 線性質體的轉型效率，原生質體數量  $1 \times 10^8$ 、 $4 \mu\text{g}$  DNA、總體積  $200 \mu\text{L}$  和再生培養時間 1 小時。轉型株於含有  $60 \mu\text{g/mL}$  hygromycin B 及 1.2 M sucrose 的 PDA 篩選培養基培養七天後，計算菌落數並將其轉移至含有  $50 \mu\text{g/mL}$  hygromycin B 的 PDA 抗生素培養基進行繼代培養。

經由 *XbaI* 及 *KpnI* 剪切 pHRL 線性質體試驗組於電場 1、4.5、8、11.5 和 15 kV/cm 皆可獲得候選轉型株，但在 15 kV/cm 電場下因電弧自動保護啟動而沒有完成放電過程。使用 *XbaI* 剪切的質體轉型在電場 15 kV/cm 下有最高的轉型效率 ( $205.2 \pm 108.6$  transformants/ $\mu\text{g}$  DNA)，但電場強度和轉型效率之間無顯著的趨勢。經由 *KpnI* 剪切的質體在電場 1 kV/cm 下有最高的轉型效率 ( $183.2 \pm 27.9$  transformants/ $\mu\text{g}$  DNA)，但與其餘電場的轉型效率相比無顯著差異，顯示不同的剪切位置會顯著的影響電場和轉型效率間的關連（圖 3）。

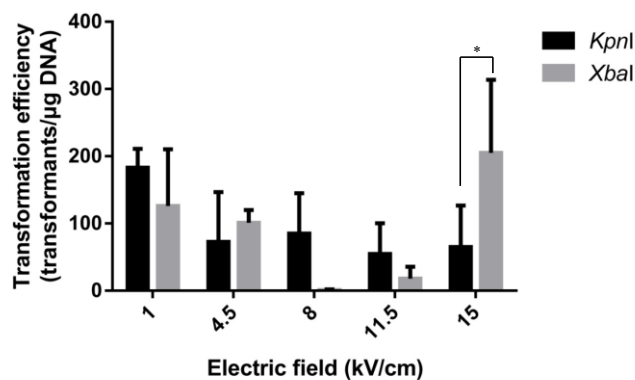


圖 3. 限制酶 *KpnI* 和 *XbaI* 剪切的質體於不同電場下的 NTU 568 轉型效率。

Figure 3. The transformation efficiency of restriction enzymes *KpnI* and *XbaI* under different electric fields on NTU 568.

本研究使用經 *KpnI* 剪切的質體 pHRL 測試不同的原生質體數量、質體 DNA 濃度、緩衝液體積和再生時間對轉型效率的影響。電轉型基本條件為原生質體數量  $1 \times 10^9$ 、4  $\mu\text{g}$  質體 DNA、總體積 200  $\mu\text{L}$  和再生培養時間 1 小時。Hygromycin B 篩選濃度 70  $\mu\text{g}/\text{mL}$  可達到最高轉型效率( $0.50 \pm 0.36$  個轉型株/ $\mu\text{g}$  DNA)；200  $\mu\text{L}$  緩衝液體積獲得最高轉型效率( $0.58 \pm 0.66$  個轉型株/ $\mu\text{g}$  DNA)，但各體積間無顯著差異；添加 4  $\mu\text{g}$  pHRL DNA 可得最高轉型效率( $0.58 \pm 0.51$  個轉型株/ $\mu\text{g}$  DNA)，但各組間無顯著差異(表 2)；於再生培養時間的研究中，經過 4 小時再生培養可得最高的轉型效率( $0.42 \pm 0.24$  個轉型株/ $\mu\text{g}$  DNA)，顯著高於培養 0 小時和 3 小時(表 3)。

同樣地，本研究也使用經 *XbaI* 剪切的質體 pHRL 分析不同的原生質體數量、質體 DNA 濃度、緩衝液體積和再生時間對轉型效率的影響。電轉型基本條件保持不變，為原生質體數量  $1 \times 10^9$ 、4  $\mu\text{g}$  DNA、總體積 200  $\mu\text{L}$  和再生培養時間 1 小時。Hygromycin B 篩選濃度為 60  $\mu\text{g}/\text{mL}$  時，原生質體數量  $1 \times 10^7$  cells 時可獲得最高轉型效率( $2.20 \pm 2.55$  個轉型株/ $\mu\text{g}$  DNA)，但組間無顯著差異；緩衝液體積 400  $\mu\text{L}$  可得最高轉型效率( $5.00 \pm 5.32$  個轉型株/ $\mu\text{g}$  DNA)，但各體積間無顯著差異；添加 4  $\mu\text{g}$  pHRL DNA 質體 DNA 可得最高轉型效率( $8.50 \pm 7.04$  個轉型株/ $\mu\text{g}$  DNA)，但各組間無顯著差異(表 4)；再生培養時間方面，以 6 小時有顯著最高的轉型效率( $448.08 \pm 28.91$  個轉型株/ $\mu\text{g}$  DNA)(表 5)。

**表 2.** 在篩選抗生素濃度 70 µg/mL hygromycin B 下測試不同原生質體數量、緩衝液體積、質體 DNA 濃度對於由 *KpnI* 剪切的 pHRL 線形質體電轉型 NTU 568 轉型效率的影響。

**Table 2.** Effects of different protoplast number, buffer volume and plasmid DNA concentration on the transformation efficiency of pHRL linearized plasmid by *KpnI* electroporation on NTU 568 was tested at the screening antibiotic concentration of 70 µg/mL hygromycin B.

Plasmid DNA (µg)	Volume(µL)	Protoplast (cells)	Voltage (kV)	Electric field (kV/cm)	Time constant (ms)	Number of transformants	Transformation efficiency (transformants/µg DNA)
4 µg	200 µL	1×10 <sup>6</sup>	2.3	11.5	5.2 ± 0.05	0.3 ± 0.47	0.08 ± 0.12 <sup>ab</sup>
4 µg	200 µL	1×10 <sup>7</sup>	2.3	11.5	5.2 ± 0.05	0	0 <sup>b</sup>
4 µg	200 µL	1×10 <sup>8</sup>	2.3	11.5	5.2 ± 0.05	0	0 <sup>b</sup>
4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	5.1 ± 0.00	2.0 ± 1.40	0.50 ± 0.36 <sup>a</sup>
4 µg	100 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	5.3 ± 0.05	1.3 ± 1.25	0.30 ± 0.31 <sup>a</sup>
4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	5.0 ± 0.08	2.3 ± 2.62	0.58 ± 0.66 <sup>a</sup>
4 µg	300 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.8 ± 0.09	0.3 ± 0.47	0.08 ± 0.12 <sup>a</sup>
4 µg	400 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.6 ± 0.09	1.7 ± 1.70	0.42 ± 0.42 <sup>a</sup>
2 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	5.2 ± 0.05	0	0 <sup>a</sup>
4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	5.2 ± 0.05	2.3 ± 2.05	0.58 ± 0.51 <sup>a</sup>
6 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	5.0 ± 0.00	0.7 ± 0.94	0.10 ± 0.14 <sup>a</sup>
8 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.9 ± 0.00	0	0 <sup>a</sup>

The data are presented as the means ± SD (n=3). Means followed by the same letter within each column do not differ significantly from each other (Tukey's multiple comparisons test, p<0.05).

**表 3.** 在篩選抗生素濃度 80µg/mL hygromycin B 下測試再生時間對於由 *KpnI* 剪切的 pHRL 線形質體電轉型 NTU 568 轉型效率的影響。  
**Table 3.** Effect of recover time on the transformation efficiency of pHRL linearized plasmid by *KpnI* electroporation on NTU 568 was tested at the screening antibiotic concentration of 80 µg/mL hygromycin B.

Recover time (HR)	Plasmid DNA (µg)	Volume (µL)	Protoplast (cells)	Voltage (kV)	Electric field (kV/cm)	Time constant (ms)	Number of transformants	Transformation efficiency (transformants/µg DNA)
0	4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.1 ± 0.09	0	0
1	4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.1 ± 0.05	0	0
2	4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.2 ± 0.05	0	0
3	4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.1 ± 0.09	0	0
4	4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.1 ± 0.12	0	0
5	4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.1 ± 0.05	0	0
6	4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.2 ± 0.05	0	0
7	4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.2 ± 0.09	0	0
8	4 µg	200 µL	1×10 <sup>9</sup>	2.3	11.5	4.0 ± 0.09	0	0

The data are presented as the means ± SD (n=3). Means followed by the same letter within each column do not differ significantly from each other (Tukey's multiple comparisons test, p< 0.05).

表 4. 不同原生質體數量、緩衝液體積、質體 DNA 濃度對於由 *Xba*I 剪切的 pHRL 線形質體電轉型 NTU 568 轉型效率的影響。  
**Table 4.** Effects of different protoplast number, buffer volume and plasmid DNA concentration on the transformation efficiency of pHRL linearized plasmid by *Xba*I electroporation on NTU 568.

Plasmid DNA (μg)	Volume(μL)	Protoplast (cells)	Voltage (kV)	Electric field (kV/cm)	Time constant (ms)	Number of transformants	Transformation efficiency (transformants/μg DNA)
4 μg	200 μL	1×10 <sup>6</sup>	0.9	4.5	5.4 ± 0.05	2.0 ± 1.63	0.50 ± 0.41 <sup>a</sup>
4 μg	200 μL	1×10 <sup>7</sup>	0.9	4.5	5.4 ± 0.08	8.7 ± 10.21	2.20 ± 2.55 <sup>a</sup>
4 μg	200 μL	1×10 <sup>8</sup>	0.9	4.5	5.3 ± 0.12	7.3 ± 9.67	1.83 ± 2.42 <sup>a</sup>
4 μg	200 μL	1×10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	3.5 ± 0.08	5.3 ± 6.85	1.33 ± 1.71 <sup>a</sup>
4 μg	100 μL	1×10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	3.6 ± 0.05	1.3 ± 1.25	0.30 ± 0.31 <sup>a</sup>
4 μg	200 μL	1×10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	3.6 ± 0.17	0.7 ± 0.94	0.17 ± 0.24 <sup>a</sup>
4 μg	300 μL	1×10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	3.7 ± 0.16	18.3 ± 25.93	4.60 ± 6.48 <sup>a</sup>
4 μg	400 μL	1×10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	3.6 ± 0.08	20.0 ± 21.28	5.00 ± 5.32 <sup>a</sup>
2 μg	200 μL	1×10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	3.6 ± 0.05	0.3 ± 0.47	0.17 ± 0.24 <sup>a</sup>
4 μg	200 μL	1×10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	3.6 ± 0.21	34.0 ± 28.18	8.50 ± 7.04 <sup>a</sup>
6 μg	200 μL	1×10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	3.5 ± 0.21	4.3 ± 5.44	0.72 ± 0.91 <sup>a</sup>
8 μg	200 μL	1×10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	3.5 ± 0.14	0.3 ± 0.47	0.04 ± 0.06 <sup>a</sup>

The data are presented as the means ± SD (n=3). Means followed by the same letter within each column do not differ significantly from each other (Tukey's multiple comparisons test, p<0.05).

表 5. 再生時間對於由 *Xba*I 剪切的 pHRL 線形質體電轉型 NTU 568 轉型效率的影響。  
 Table 5. Effect of recover time on the transformation efficiency of pHRL linearized plasmid by *Xba*I electroporation on NTU 568.

Recover time (HR)	Plasmid DNA ( $\mu$ g)	Volume ( $\mu$ L)	Protoplast (cells)	Voltage (kV)	Electric field (kV/cm)	Time constant (ms)	Number of transformants	Transformation efficiency (transformants/ $\mu$ g DNA)
0	4 $\mu$ g	200 $\mu$ L	1 $\times$ 10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	4.9 $\pm$ 0.17	2.0 $\pm$ 1.63	0.50 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>
1	4 $\mu$ g	200 $\mu$ L	1 $\times$ 10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	4.8 $\pm$ 0.05	8.3 $\pm$ 1.89	2.08 $\pm$ 0.47 <sup>b</sup>
2	4 $\mu$ g	200 $\mu$ L	1 $\times$ 10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	4.8 $\pm$ 0.05	87.0 $\pm$ 36.62	21.75 $\pm$ 9.15 <sup>b</sup>
3	4 $\mu$ g	200 $\mu$ L	1 $\times$ 10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	4.8 $\pm$ 0.09	175.0 $\pm$ 55.34	43.75 $\pm$ 13.83 <sup>b</sup>
4	4 $\mu$ g	200 $\mu$ L	1 $\times$ 10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	4.8 $\pm$ 0.0	207.0 $\pm$ 106.95	51.75 $\pm$ 26.74 <sup>b</sup>
5	4 $\mu$ g	200 $\mu$ L	1 $\times$ 10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	4.7 $\pm$ 0.05	1189.0 $\pm$ 541.21	297.25 $\pm$ 135.3 <sup>ca</sup>
6	4 $\mu$ g	200 $\mu$ L	1 $\times$ 10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	4.8 $\pm$ 0.05	1792.3 $\pm$ 115.64	448.08 $\pm$ 28.91 <sup>ac</sup>
7	4 $\mu$ g	200 $\mu$ L	1 $\times$ 10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	4.3 $\pm$ 0.08	367.0 $\pm$ 352.14	91.75 $\pm$ 88.04 <sup>b</sup>
8	4 $\mu$ g	200 $\mu$ L	1 $\times$ 10 <sup>9</sup>	0.9	4.5	4.5 $\pm$ 0.08	26.0 $\pm$ 9.09	6.50 $\pm$ 2.27 <sup>b</sup>

The data are presented as the means  $\pm$  SD (n=3). Means followed by the same letter within each column do not differ significantly from each other (Tukey's multiple comparisons test, p< 0.05).

## 肆、討論

綜觀本研究的結果，細胞壁的去除、使用線型質體以及電擊後再生培養時間是 NTU 568 電轉型效率的關鍵。而勝任細胞密度、質體 DNA 量、緩衝液體積與電場對於 NTU 568 電轉型效率的影響並無顯著的趨勢，也因此無法再以反應曲面法進行條件的最適化。

本研究在限制酶剪切對於 NTU 568 電轉型效率的試驗結果中發現，雖然 *KpnI* 與 *XbaI* 這兩種限制酶切處理的質體 pHRL，在 15 kV/cm 的電場下對於 NTU 568 有不錯的轉型效率，且兩種限制酶處理的質體間轉型效率有顯著的不同，但由於該電場強度下會觸發電轉型裝置的電弧保護機制，未完成整個放電程序，因此難以進一步的使用該電場條件，也無法進一步探討其中的差異。

本研究在試驗過程中發現，許多轉型株的 hygromycin B 抗性並不穩定，無法穩定繼代，且 NTU 568 對於 hygromycin B 的自然抗性有隨著環境刺激改變的現象，因此嘗試提高抗生素濃度進行轉型株的篩選。雖然在較高濃度的 hygromycin B 下篩選出的轉型株數量較少，但並沒有提高穩定轉型株的篩選效率，顯示轉型株 hygromycin B 抗性不穩定的原因並非來自於篩選抗生素的濃度不足，較有可能是暫態表現(transient expression)或是抗生素抗性基因 *hph* 表現受到 RNAi 抑制(Torres-Martínez and Ruiz-Vázquez, 2017)。過去研究中也有使用 *hph* 基因作為篩選標記，在轉型 *Podosphaera xanthii* (Vela-Corcía et al., 2015)、*Rhizoctonia solani* (Robinson and Deacon, 2001)和 *Ceriporiopsis subvermispora* (Honda et al., 2019)等真菌時也有觀察到暫態表現的問題，而本研究所使用的加強型 CaMV 35S 啟動子在基改植物中也常觀察到由 RNAi 機制所引起的基因靜默的問題，因此抗生素抗性基因與啟動子的替換與測試將是未來進一步研究的重點。

## 伍、結論

本研究構築 citrinin 生合成關鍵基因 *pksCT* 的同源重組剔除質體 pHRL，可以成功的進行紅麴菌 NTU 568 中 *pksCT* 基因的同源重組剔除，並降低 89% 的 citrinin 產量，完成紅麴菌電轉型基因操作平台的開發，未來可進一步應用於紅麴菌的基因功能探討、進行異源蛋白表現或應用其他進階技術如 CRISPR 操作。

本研究結果顯示去除細胞壁、使用線型質體以及電擊後再生培養時間是 NTU 568 電轉型效率的關鍵，而勝任細胞密度、質體 DNA 量、反應液體積與電場對於 NTU 568 電轉型效率的影響並無顯著的趨勢。本研究在限制酶 *XbaI* 剪切的 pHRL 質體、原生質體數量  $1 \times 10^7$  cells、4  $\mu$ g 質體 DNA、總體積 400  $\mu$ L 和再生培養時間 6 小時條件下，可以獲得最高的轉型效率( $448.08 \pm 28.91$  transformants/ $\mu$ g DNA)。未來可進一步朝向替換啟動子(例如紅麴菌本身的 GAPDH 啟動子)或是更有效率的篩選標記基因(例如 kanamycin 抗性基因 *ntpII*) 進行探討，提高穩定轉型株的篩選效率。

## 陸、參考文獻

- 陳慶源、莊淑惠(2003)。綜論紅麴產品之開發與應用。食品工業。35, 1-2。
- 蘇遠志、陳文亮、方鴻源、翁浩慶、王文祥(1970)。紅麴菌 (*Monascus anka*) 之菌學研究。中國農業化學會誌。8, 45-58。
- Campoy S, Pérez F, Martin JF, Gutiérrez S, Liras P. (2003) Stable transformants of the azaphilone pigment-producing *Monascus purpureus* obtained by protoplast transformation and *Agrobacterium*-mediated DNA transfer. *Curr Genet* 43, 447-452.
- Chen YP, Tseng CP, Liaw LL, Wang CL, Chen IC, Wu WJ, Wu MD, Yuan GF (2008) Cloning and characterization of monacolin K biosynthetic gene cluster from *Monascus pilosus*. *J Agric Food Chem* 56, 5639-5646.
- Dobrowolska A and Staczek P. (2009) Development of transformation system for *Trichophyton Rubrum* by electroporation of germinated conidia. *Curr Genet* 55(5), 537-542.
- Endo A. (1979) Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. *J. Antibiot* 32, 852-854.
- Feng YL, Shao YC, Chen FS. (2012). *Monascus* pigment. *Appl Microbiol Biotechnol* 96, 1421-1440.
- Honda Y, Tanigawa E, Tsukihara T, Dong XN, Kawabe H, Sakatoku N, Watari J, Sato H, Yano S, Tachiki T, Irie T, Watanabe T, Watanabe T.(2019) Stable and transient transformation, and a promoter assay in the selective lignin-degrading fungus, *Ceriporiopsis subvermispora*. *AMB Expr* 9, 92-104.
- Kováč S, Nemeč P, Betina V, Balan J. (1961) Chemical structure of citrinin. *Nature* 190, 1104-1105.
- Lakrod K, Chaisrisook C, Daniel ZS. (2003) Transformation of *Monascus purpureus* to hygromycin B resistance with cosmid pMocosX reduces fertility. *Electron J Biotechnol* 6, 143-147.
- Robinson HL, Deacon James W. (2001) Protoplast preparation and transient transformation of *Rhizoctonia solani*. *Mycol. Res.* 105 (11), 1295-1303.
- Torres-Martínez S, Ruiz-Vázquez R. (2017) The RNAi Universe in Fungi: A Varied Landscape of Small RNAs and Biological Functions. *Annu Rev Microbiol* 71:371-391.
- Vela-Corcía D, Romero D, Juan Torés A, De Vicente A, Pérez-García A. (2015) Transient transformation of *Podosphaera xanthii* by electroporation of conidia. *BMC Microbiology* 15, 20-31.
- Xiong Z, Cao X, Wen Q, Chen Z, Cheng Z, Huang X, Zhang Y, Long C, Zhang Y, Huang Z. (2019) An overview of the bioactivity of monacolin K/lovastatin. *Food and Chemical Toxicology* 131, 110585.
- Zhu B, Qi FY, Wu JJ, Yin GQ, Hua JW, Zhang QY and Qin LP. (2019) Red yeast rice: a systematic review of the traditional uses, chemistry, pharmacology, and quality control of an important chinese folk medicine. *Front Pharmacol* 10, 1449-1476.

## 固態發酵反應器的技術進展與工業應用挑戰

林姿杏<sup>1</sup>、林志輝\*<sup>2</sup>

### 摘要

固態發酵(Solid-State Fermentation, SSF)是微生物在固態基質中進行發酵的技術，具有操作簡便、設備簡單、廢水少及高產物濃度等優勢，被廣泛應用於食品、飼料、生物燃料及酵素生產等領域。相較於液態發酵(Submerged Fermentation, SmF)，SSF更適合處理低水活性需求的真菌發酵，並在廢棄物處理及環境友好應用上展現出色的潛力。SSF生物反應器主要包括層板式、填充床式、滾筒式及混合式四大類型。其中，層板式反應器以簡單低成本著稱，但熱傳導效率低；填充床反應器通過強制通氣提高效率，但面臨基質壓縮及散熱不均問題。為克服這些挑戰，研究者透過改良設計、控制策略及數學建模優化工藝，例如 Zymotis 生物反應器有效降低溫度梯度，提升生產率。儘管固態發酵技術在低成本、高效益及環境友好性方面具備優勢，但在工業化應用上仍面臨規模放大及過程控制的挑戰。未來需進一步研究動力學理論與發酵監控技術，以突破瓶頸，擴大固態發酵的應用範圍。

**關鍵詞：**固態發酵 (SSF)、真菌發酵、生物反應器

---

<sup>1</sup>林姿杏，國立臺東大學生命科學系研究助理。

<sup>2</sup>林志輝 (通訊作者)，國立臺東大學生命科學系副教授。E-mail：chlin@nttu.edu.tw

## Technological Advances and Industrial Application Challenges of Solid-State Fermentation Reactors

Tzu-Hsing Lin,<sup>1</sup> Chih-Hui Lin\*<sup>2</sup>

### Abstract

Solid-State Fermentation (SSF) is a fermentation technique where microorganisms grow on solid substrates. It offers advantages such as simplicity in operation, minimal equipment requirements, low wastewater production, and high product concentration. SSF has been widely applied in the production of food, feed, biofuels, and enzymes. Compared to Submerged Fermentation (SmF), SSF is better suited for fungal fermentation requiring low water activity and demonstrates significant potential in waste management and eco-friendly applications. SSF bioreactors can be categorized into four main types: tray, packed bed, rotating drum, and mixed reactors. Tray reactors are known for their simplicity and low cost but suffer from poor heat transfer efficiency. Packed bed reactors improve efficiency through forced aeration but face challenges such as substrate compaction and uneven heat dissipation. To address these issues, researchers have optimized designs, control strategies, and mathematical models. For instance, the Zymotis bioreactor effectively reduces temperature gradients, enhancing production efficiency. Despite the advantages of SSF, such as low cost, high efficiency, and environmental friendliness, industrial applications face challenges in scaling up and process control. Future research should focus on developing kinetic theories and fermentation monitoring technologies to overcome these limitations and expand the applications of SSF.

**Keywords:** Solid-State Fermentation (SSF), Fungal fermentation, Bioreactor

---

<sup>1</sup>Tzu-Hsing Lin, Research assistant, Department of Life Science, National Taitung University.

<sup>2</sup>Chih-Hui Lin (Corresponding Author), Associate professor, Department of Life Science, National Taitung University. E-mail: chlin@nttu.edu.tw

## 壹、固態發酵之介紹

在人類過去的歷史，發酵食品與生產酵素是固態發酵技術不斷進步的重要因素。早在公元前 2600 年，埃及人利用發酵作用製作麵包，許多不同的發酵食品已存在百年或數千年，例如傳統東方食品和酒精飲料：印尼的天貝(Tempeh)和 Ontjom、中國的紹興酒和高粱酒，以及日本的味噌、醬油及清酒(Krishna 2005; Sato and Sudo 1999)。

在過去的三十年，固態發酵 (Solid-state fermentation, SSF) 在生物技術領域受到了廣泛關注，因為生物活性次級代謝物 (如抗生素、細菌毒素、免疫藥物和生物鹼)、單細胞蛋白質、酵素、生物燃料、食品、飼料和製藥產品的需求激增。

與傳統液態發酵 (Submerged Fermentation, SmF) 相比，SSF 具有更低的成本，且幾乎不需要自由水，微生物可直接在固體基質表面生長，不僅降低污染風險，減少廢水排放，同時能提高產物濃度。此外，SSF 具備良好的適應性，可適用於多種工業與農業環境，進一步提升廢棄物的再利用價值，使其成為可持續廢棄物管理與資源循環利用的重要技術 (表 1) (Lopez-Calleja et al. 2012; Sun and Xu 2009)。

除了生產高經濟價值的產品外，SSF 技術還廣泛應用於廢棄物處理，包括降解有害物質的生物修復 (bioremediation)、分解農業及工業廢棄物有毒物質的解毒 (detoxification)，以及從礦物質中溶出金屬的生物淋溶 (bioleaching) (Krishna 2005; Motta and Santana 2014) (表 2)。SSF 在農業廢棄物的處理與應用展現優勢，為循環生物經濟提供可行的技術。傳統農業廢棄物處理方法如厭氧消化和堆肥化，往往存在效率低、資源利用率不佳等問題，而 SSF 則能有效將這些廢棄物轉化為高附加價值的產品，如生物刺激素、生物農藥、生物界面活性劑、香氣、色素等。此外，SSF 技術適用於多種有機廢棄物，包括農作物殘渣、食品加工廢棄物及工業副產物，使廢棄物得以資源化，進一步提升其利用價值 (Mattedi et al. 2023; Yafetto 2022)。

## 貳、固態發酵：製程與應用

固態發酵是微生物在沒有或基本沒有游離水的固態基質上的發酵方式，固態基質中固、液和氣三相共存，及多孔性的固態基質中含有水和水不溶性物質。傳統固態發酵具有設備簡單、產物濃度高、操作簡便與低廢水處理需求等特性，使得水活性需求較低的真菌發酵，尤其是大規模發酵生產多以固態發酵進行，是工業應用生物製程和產品開發的關鍵。工業酵素、生物聚合物、色素、次級代謝物等生產的發展，顯示了固態發酵作為大規模生產的潛力。

已有許多學者研究固態發酵技術，改良各式生物反應器設計、操作及放大策略 (Mitchell et al. 2006)，取得長足的進展，現代固態發酵逐漸邁向具備完全無菌操作能力的固態發酵生物反應器，但固態發酵仍具有物質傳遞 (mass transfer) 不均、無法對 pH 值等發酵條件進行精密控制、需要翻拌而造成菌絲斷裂、受基質物理特性限制而無法放大發酵規模、水分控制不易以及不容易量測生長動力參數等缺點，侷限了固態發酵的應用 (Papagianni 2014)。

高效的生物反應器需要專門的工程和設計，投入大量的研發成本。建置可靠且高效的系統還需要研究動力學理論 (kinetic theory) 與輸送現象(transport phenomena)的數學模型，並制定發酵監控技術與控制策略(Arora et al. 2018)。儘管近年來已有一些生物反應器系統的研究，已在某些特定發酵製程部分克服了這些難題，但仍有改良空間，以用於更多固態發酵生物製程。

固態發酵技術因其低成本、高效益及對環境的友好性，逐漸成為液態發酵的替代方案。然而，在大規模工業應用中，固態發酵仍面臨一些挑戰，例如反應器設計和過程控制等方面。液態發酵技術雖然成熟，但其高成本和環境影響使得其在某些應用中的優勢不如固態發酵明顯。

## 參、生物反應器 (Bioreactor)

傳統固態發酵大多以半開放方式進行，因此常用於生產產品品質要求較寬鬆、價格比較低的產品為主，如堆肥和有機酸等。固態發酵過程中使用不同種類的生物反應器，可以分為實驗室級和工業級大型反應器。實驗室規模使用的固態培養基從幾克到幾千克不等，有不同的設計及不同程度的複雜度，而工業級大型反應器的固態培養基使用量可達到幾千克到幾噸。

生物反應器有很多種類型，主要區別在於是否有攪拌和強制通氣(Mitchell et al. 2006)。現行的固態發酵生物反應器主要有四種：

### 一、層板式生物反應器 (tray bioreactor, TB)

是最簡單的類型，將固態基質放置在以金屬、木材或塑膠等惰性材料製成的層板上，層板下方可以打孔提供通氣，將其平放於反應器中，層板之間有適當的間隙，以循環氣流控制溫度與濕度，反應器本體可以視作提供無菌環境的簡單容器 (圖 1)，放大發酵生產規模通常是增加表面積，或是增加層板數量(Kh et al. 2011)。

Dhillon 等人利用黑麴菌 (*Aspergillus niger*) 和里氏木黴 (*Trichoderma reesei*) 進行固態發酵，評估發酵農業廢棄物生產纖維素酶和半纖維素酶的潛力。實驗中，將混合秸稈與麥麩 (3:2) 作為發酵基質，平鋪於 40×25×12 公分的塑膠托盤中，經過 96 小時的發酵，獲得了高產量的纖維素酶 (cellulase) 和 β-葡萄糖苷酶 (β-glucosidase)。利用層板式發酵技術以零成本的農業廢棄物生產纖維素酶，不僅能降低生產成本，還能解決農業廢物造成的環境污染(Dhillon et al. 2011)。

層板式發酵的優點包括簡單和低成本，且在放大培養時具有可預測性；缺點是除提供無菌環境外，與傳統固態發酵技術差異不大。有學者利用黑麴菌 (*Aspergillus niger*) 發酵蘋果渣，並以反應曲面法探討多項變因對酵素產量的影響。研究發現，在發酵過程中，當基質初始含水量 (initial moisture content) 過高 (>70% w/w) 時，會導致氧氣量下降、孔隙量減少及基質聚集，從而降低酵素活性。因此，初始含水量是設計層板式固態發酵系統時的關鍵參數 (Pau et al. 2023; Yafetto 2022)。

Figuroa-Montero 等人研究了強制內部空氣循環對層板式固態發酵熱量傳導的影響。如圖 2 所示，發酵過程中熱量轉移的方式可分為：基質頂部的熱傳導和熱對流轉移熱量 ( $Q_{sen,t}$ )；透過層板底部的熱傳導和熱對流傳遞熱量 ( $Q_{sen,b}$ )；基質表面因蒸發而轉移熱量 ( $Q_{evap}$ )。透過實驗量測層板溫度、濕度含水量、微生物生物量和基質濃度，達到整體發酵系統的能量及水分平衡。能量和質量的傳遞可得知質傳和熱傳導係數，用以計算雷諾數 (Reynolds number,  $NRe$ ) 及生物反應器頂部空間氣流的函數，評估發酵過程中基質堆積的高度、頂部空間及氣流速度 (Figuroa-Montero et al. 2011)。

然而，這些製程參數可能與實際發酵情況存在較大差異，因此需要不斷調整 (Khanahmadi et al. 2006)。商業化的固態發酵製程主要以層板式為主，最大的問題是熱傳導。由於有機物質的導熱率低，散熱效率不佳，基質堆疊高度受到限制。因此，發酵過程必須控制溫度、水分含量和氣體流速，以確保發酵效果。

## 二、填充床生物反應器 (packed bed bioreactor, PBR)

不使用翻拌，而是讓基質靜止堆積成圓柱狀，透過由下端強制通氣的方式補充氧氣及水分，以降低發酵過程中積蓄的熱量與二氧化碳。這種方法的優點是構造簡單，同時具有較高的單位體積產率與控制能力。相較於層板式固態發酵，填充床的基質填充量更多，且圓柱形玻璃或金屬管、鼓圓筒或滾筒的槽體可以設置冷卻板夾層，增加熱傳遞效率 (圖 3) (Arora et al. 2018)。然而，這種方法也有其缺點。隨著規模的放大，基質堆積的高度增加，強制通氣的效率會快速下降。此外，無法避免基質自我壓縮的問題，這會影響氣體和液體的流動，進而影響發酵效率。

為了解決熱量累積和不均勻的問題，學者 Melikoglu 等人模擬了實際發酵製程與控制策略。他們以廢棄麵包作為發酵基質，接種泡盛麴菌 (*Aspergillus awamori*)，生產葡糖澱粉酶 (glucoamylase) 和蛋白酶 (protease)。研究發現，最高產量的通氣量為 1.5 vvm (標準條件下每分鐘每體積基質的空氣體積)，太低和太高的通氣量都會對發酵製程產生不良影響 (Melikoglu et al. 2015)。

在玻璃柱形管中填充壓榨橄欖油和葡萄酒後的廢棄物，由於低水活性 (water activity,  $a_w$ ) 及高剪應力對 *Aspergillus uvarum* 的影響，纖維素酶的產量降低 (Salgado et al. 2015)。高氣體流量會導致基質水分含量降低並增加剪切力，不利於真菌的生長。強制通氣的填充床反應器常遇到的問題包括基質壓縮導致氣流通道變化、填充床層的壓力變化以及熱量累積。這些問題會導致品質異質性。例如，利用 *Bacillus subtilis* 生產抗真菌劑 Iturin A 的製程中，氣體流量上升會刺激聚麩胺酸 ( $\gamma$ -Polyglutamic acid) 的生成，使基質黏度上升，從而降低自由通過的空氣量和攝氧率 (oxygen uptake rate)。

這個問題在利用 *Aspergillus niger* 大規模生產果膠酶 (pectinase) 的製程中也有所體現。在 200 公升的填充床反應器中，充填 20 公斤麥麴，在培養溫度 30°C 與初始水分含量 62% (w/w) 時，最大 PG 生產率為 1350 U/kg·h，低於實驗室規模柱形生物反應器的 1930 U/kg·h。產量減少是因為基質自我壓縮，基質沿著反應器的管壁收縮，導致空氣竄流和溫度上升至 37°C。為了改善發酵條件，將 10% 的麥麴替換成甘蔗渣，增加床層孔隙率，使空氣能均勻分布，避免因散熱不佳導致的溫度上升。然而，減少麥

熱量會使產率大幅下降 (810 U/kg·h)。如果將基質總量增加至 30 公斤，會加劇基質自我壓縮問題，使床層溫度大幅上升，濕度減少。儘管在產熱高峰期間將進氣溫度冷卻至 24°C，產率增加至 1840 U/kg·h，但基質壓縮、熱量累積和不均勻性仍然存在，發酵製程仍有許多困難(Pitol et al. 2016)。

調整發酵基質的參數 (例如熱導率、密度、比熱、基質顆粒尺寸、空隙率) 和動力學參數 (例如比生長速率常數、代謝熱、生物質和細胞濃度)，可能顯著影響代謝物產量和產率。Sangsurasak 和 Mitchell 開發了一個能量平衡模型，納入了對流和蒸發項，模擬結果顯示這兩個因素對熱量累積的影響顯著。他們利用圓柱形填充床反應器進行實驗，研究了不同傳熱機制模式下的能量平衡 (Sangsurasak and Mitchell 1998)。圖四顯示了圓柱形填充床基質的體積元 (volume element) 和不同傳熱機制模式的方向，實現整個系統的能量平衡 (方程式 1)。

$$\rho_b C_{pb} \frac{dT}{dt} + (\rho_a C_{pa} + \rho_a f \lambda) V_Z \frac{dT}{dz} = \frac{k_b}{r} \left( \frac{dT}{dr} \right) + k_b \left( \frac{d^2 T}{dr^2} \right) + k_b \left( \frac{d^2 T}{dz^2} \right) + \rho_s (1 - \epsilon) Y \frac{dX}{dt}$$

Eq. 1

模型中的主要參數包括空氣和床層的比熱 ( $C_{pa}$  和  $C_{pb}$ ) 分別為空氣、床層溫度 ( $T$ )、空氣表觀速度 ( $V_Z$ )、床層熱導率 ( $k_b$ )、空氣的水氣承載量因溫度變化的函數 ( $f$ )、水的汽化焓 ( $\lambda$ )、空隙率 ( $\epsilon$ ) 和代謝熱產率 ( $Y$ )。

Weber 等人使用準穩態近似法 (pseudo-steady-state approximation) 研究了在 *Coniothyrium minitans* 孢子形成時溫度變化對焓和水平衡的影響(Weber et al. 1999)。研究顯示，焓平衡的簡化可用於制定溫度控制策略，其中氣體流率被定義為代謝熱生成速率的函數 (方程式 2)，並且進一步模擬計算床層水含量。。

$$F_{air} = \frac{-r_Q \cdot H}{h_a(T_{out}) - h_a(T_{in})} \quad \text{Eq. 2}$$

當填充床在整個發酵過程中從底部充氣，氣體向上流動，隨著時間的推移，空氣會變得越來越熱，並失去冷卻效果。在頂部區域，常會出現氣體溫度過高的問題，這是無法避免的結果。因此，可以改變空氣單向流動，在不同的時間間隔反轉流向，這對於床層中間區域的溫度控制並沒有顯著幫助，溫度仍維持在臨界值以上，但有利於冷卻整個反應器中的空氣溫度，從而增強熱對流的熱量交換。

為了克服這些熱量問題，Roussos 等人提出了「Zymotis」反應器。該反應器具有獨特的設計，改良了傳統填充床反應器，其設計、操作模式和建模研究值得關注 (Roussos et al. 1993)。該生物反應器獲得了專利，並被德國公司「Prophyta」成功用於生產生質農藥。如圖 5 所示，Zymotis 生物反應器由一個由壓克力板製成的矩形盒子組成，裝置的頂部設有一個丙烯酸圓頂形狀的蓋子，以阻隔外部空氣進入內部。外穹頂設有水循環的入口和出口、排氣口和升降手柄。反應器由多個相鄰部分組成，這些部分被冷卻板 (熱交換器板) 分隔開，每個部分含有發酵培養基，通過控制流量和壓力，可以從每個部分的底部通入潮濕空氣(Mitchell et al. 2006)。

Zymotis 的傳熱機制涉及從基底床到熱交換器的傳導、對流和蒸發熱損失。Von Meien 和 Mitchell 以及 Mitchell 等人建立了 Zymotis 的動態傳熱模型，模擬結果顯示，與傳統填充床反應器相比，基質床層的溫度梯度減小。冷卻板之間需保持最佳間距，才能達到最高生產率。但在工業規模甚至中等規模的發酵製程中，採用與實驗室規模相同的間距，顯然會增加成本，但其設計顯示了在固態發酵過程中管理熱量和水分平衡的重要性，通過創新設計和精確控制，可以提高生產效率並改善產品質量(Mitchell et al. 2002; Von Meien and Mitchell 2002)。

### 三、加壓通氣生物反應器 (Air pressure pulsation bioreactor, APP)

在固態發酵技術中，主動通氣式固態培養是一種有效的方式，尤其是間歇性或週期性加壓通氣結合空氣循環系統，即氣相雙動力固態發酵 (gas double-dynamic solid-state fermentation, GDD-SSF)。這種技術的關鍵在於間歇加壓通氣，能夠提高氧氣分壓並使氣體均勻分散在基質表面，進而提升溶氧濃度。

在 GDD-SSF 中，氧氣分壓上升至設定的壓力，溶氧濃度上升；洩壓時，氣體膨脹使溫度下降，移除發酵過程中的熱量與二氧化碳。這樣的設計不僅改善氣體的分布，還幫助冷卻整個反應器，提高整體的熱對流效率。為了確保氧氣分壓恆定，生物反應器的氣壓會變化。反應器通常由不銹鋼圓筒支撐的多孔托盤組成，通氣頻率對真菌的生長影響顯著，例如 *Trichoderma viride* 在這種環境下生長量增加，纖維素產量隨之上升，相較於層板式固態發酵，產量可提高三倍(Tao et al. 1999)。

壓力的升降過程影響細胞滲透壓，高溶氧濃度促進真菌生長，加壓過程有助於氧氣輸送至胞內；洩壓時胞內壓力大於胞外，細胞壁擴張，幫助代謝物釋出。然而，壓力的變化需考慮菌體的容忍限度，避免過度壓縮基質或破壞菌絲體，造成負面影響。

Aijun 等人研究了壓力振幅 (pressure amplitude, PA) 變化對 *Bacillus pumilus* 生產鹼性蛋白酶的影響。隨著 PA 的增加 (0.05 和 0.1 MPa)，相較於靜態填充床發酵，蛋白酶活性大幅提升 (63% 和 95%)。但 PA 持續時間增加會導致基質水分含量下降，溶氧濃度降低，影響微生物生長。基質應維持鬆散不緊實的狀態，當基質高度從 1.5 公分增高至 6 公分，產量顯著減少(Aijun et al. 2005)。在 Hongzhang 等人的研究中，70 m<sup>3</sup>的不銹鋼圓筒形生物反應器中堆疊多個托盤，加壓通氣上下限設為 1.5 kg cm<sup>-2</sup> 和 0.05 kg cm<sup>-2</sup>，以維持 *Bacillus thuringiensis* 的生長並產生最大酶活性。壓力過高不利於真菌生長和酵素生產(Hongzhang et al. 2002)。Chen 和 He 設計了 Honeycomb Loading Device (HLD)，由九根不銹鋼管組成金屬框架，框架裝有兩個鋼盤作為端板，網格被定位並焊接於鋼管之間(圖 6 a (Chen and He 2013))。鋼管的管壁上有一排小孔，接種過的培養基置於 HLD 中，再放入發酵槽中，形成蜂巢狀結構。這種設計改善了物質傳遞效率，並以橫向強制通氣來維持環境的恆定(圖 6 b)。監測發酵槽內部溫度變化與水套循環系統的溫度，發現 *Bacillus cereus* DM423 的孢子活性與產量皆高於靜態培養，產量提升近兩倍，使 HLD 成功應用於產業化。

生物反應器裝置需要考慮許多變數，填充床高度會影響基質填充量與氣體循環的動力學參數；加壓通氣頻率應根據微生物生長階段進行調整，在適當的條件下可以可

以提升產量，又不影響生長；在基質中添加惰性物質，例如甘蔗渣、聚氨酯(polyurethane)或玻璃纖維等，提高基質孔隙率並減少製程不均勻的問題(Salgado et al. 2015)。開發帶有 APP/GDD-SSF 的模組化生物反應器，確保所有的發酵操作都在監控的條件下進行，具有商業價值。

#### 四、間歇或連續混合的固態發酵生物反應器 (Intermittent or continuously mixed SSF bioreactor)

這類生物反應器包括溫和攪拌和強制攪拌及通氣，以增強熱傳導及微生物生長。混合增強了對流傳導，增加基質表面積暴露於潮濕空氣和/或冷卻液的面積，從而改善了氧氣和養分的傳遞，並幫助控制溫度。可以視為具有機械攪拌的填充床式反應器，雖然改善了缺點，但也將攪拌式反應器的問題引入，無法避免攪拌對於基質物理特性的破壞。

旋鼓式反應器 (Rotating Drum Bioreactor, RDB) 可分為攪拌式和滾筒式。這種圓筒狀反應器裝有旋轉裝置，可以間歇或連續地旋轉，氣體從頂部空間流過。攪拌式反應器利用攪拌槳進行翻拌，而滾筒式則通過滾轉圓筒體本身進行翻拌。這兩種反應器內部通常設有擋板，以防止基質過度集中 (圖 7)。優點是結構簡單且對基質的擠壓力較小，但隨著反應器規模的增大，其重量增加導致耗能不成比例地提高。因此，較大型的旋鼓式反應器多採用攪拌槳式設計。攪拌式反應器在攪拌時會對基質施加一定的擠壓力，可能改變較軟黏基質的物理特性甚至導致結塊，因此在發酵應用上有一定限制。

間歇或連續混合的固態發酵生物反應器 (圖 8) 利用流動床原理，使粒狀基質在特定氣體流動條件下展現流體特性，從而實現良好的物質傳遞效率。雖然流動床化可以有效改善固態發酵過程中的物理特性，但操作需要特定條件。基質特性、水分和氣體流速可能無法配合發酵需求，且發酵過程中因微生物生長導致的基質物理特性改變或水分補充不當，可能導致流動床化失敗，限制了此類反應器的應用 (Mitchell et al. 2006)。

不同產品的固態發酵製程會遇到多方面問題，使得固態發酵過程需要多方妥協，限制了其應用。開發模組化生物反應器有助於控制發酵過程中的培養條件、產品異質性和無菌操作，適合用於大規模商業生產。生技公司 Biocon 設計的模組化反應器 PLAFRACTOR 並獲得專利 (Suryanarayan and Mazumdar)。其設計原理是在盤式反應器中加入冷卻控溫層板和通道夾層，形成密閉夾層堆疊結構，利用冷卻層板控溫以及夾層通道進行通氣、原位殺菌甚至是萃取。裝置由多個模組垂直堆疊 (圖 9a)，每個模組由底板和框架組成的結構堆放基質 (圖 9c)，有兩個獨立管道：連接通道 (添加營養物質、萃取物或無菌液體) 和非連接通道 (冷卻或加熱系統) (圖 9b)。經實際使用測試，可用於蛋白酶、環孢素 (cyclosporine)、澱粉酶和洛伐他汀 (lovastatin) 的無菌生產。其優點是大幅改善盤式反應器對發酵條件的控制能力，但缺點是盤鼓式堆疊結構較為複雜，操作與設備成本較高，且圓盤形狀需要特定的通道分布才能達成均勻的傳遞效果。

## 肆、結論

固態發酵 (SSF) 是一種在固態基質中進行微生物培養的技術，因其操作簡便、設備要求低、廢水排放少且產品濃度高，被廣泛應用於食品、飼料、生物燃料及酵素生產等領域。SSF 特別適合低水活性需求的真菌發酵，適合應用於廢棄物處理及環境友好型產業。

SSF 生物反應器主要分為層板式、填充床式、滾筒式和混合式四種類型，各自具備優勢與挑戰(Eloane et al. 2023; Ye et al. 2021)。研究者通過改良反應器設計、採用最適化控制策略及建立數學模型，有效改良發酵製程，如 Zymotis 生物反應器顯著改善了溫度梯度和生產效率(Suryanarayan and Mazumdar)。儘管 SSF 具備低成本和環境友好的特點，但其在工業化應用中仍面臨規模放大與過程控制的挑戰。未來需深入研究發酵動力學與監控技術，以實現製程改良，進一步擴展其應用範圍，推動可持續發展。

## 伍、參考文獻

- Aijun Z, Hongzhang C, Zuohu L (2005). Air pressure pulsation solid state production of alkaline protease by *Bacillus pumilus* 1.1625. *Process Biochemistry* 40(5), 1547-1551.
- Alias C, Bulgari D, Gobbi E (2022). It Works! Organic-waste-assisted *Trichoderma* spp. solid-state fermentation on agricultural digestate. *Microorganisms* 10, 164.
- Arora S, Rani R, Ghosh S (2018). Bioreactors in solid state fermentation technology: Design, applications and engineering aspects. *Journal of Biotechnology* 269, 16-34.
- Bulgari D, Alias C, Peron G, Ribaud G, Gianoncelli A, Savino S, Bouregghda H, Bouznad Z, Monti E, Gobbi E (2023). Solid-state fermentation of *Trichoderma* spp.: a new way to valorize the agricultural digestate and produce value-added bioproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 71(9), 3994-4004.
- Chen H, He Q (2013). A novel structured bioreactor for solid-state fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 36(2):223-30.
- Demir H, Tari C (2016). Effect of physicochemical parameters on the polygalacturonase of an *Aspergillus sojae* mutant using wheat bran, an agro-industrial waste, via solid-state fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96(10), 3575-82.
- Dhillon GS, Oberoi HS, Kaur S, Bansal S, Brar SK (2011). Value-addition of agricultural wastes for augmented cellulose and xylanase production through solid-state tray fermentation employing mixed-culture of fungi. *Industrial Crops and Products* 34(1), 1160-1167.
- Eloane DGD, Ana CPD, Paula BdM, Juliana FMdS, Fernanda PC, Lina MG (2023). Development of a novel pilot-scale tray bioreactor for solid-state fermentation aiming at process intensification. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification* 193, 109526.
- Fath M, Fazaelpoor MH (2015). Production of proteases in a novel trickling tray bioreactor. *Waste and Biomass Valorization* 6, 475-480.

- Figueroa-Montero A, Esparza-Isunza T, Saucedo-Castañeda G, Ochoa SH (2011). Improvement of heat removal in solid-state fermentation tray bioreactors by forced air convection. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 86(10), 1321-1331.
- Finkler ATJ, Biz A, Pitol LO, Medina BS, Luithardt H, Jr. LFdLL, Krieger N, Mitchell DA (2017). Intermittent agitation contributes to uniformity across the bed during pectinase production by *Aspergillus niger* grown in solid-state fermentation in a pilot-scale packed-bed bioreactor. *Biochemical Engineering Journal* 121, 1-12.
- Hongzhang C, Fujian X, Zhonghou T, Zuohu L (2002). A novel industrial-level reactor with two dynamic changes of air for solid-state fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 93(2), 211-214.
- Kh HQ, Ardekani A, Zulkali MMD (2011). Design aspects of bioreactors for solid-state fermentation: a review. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* 25, 255-266.
- Khanahmadi M, Mitchell DA, Beheshti M, Roostaazad R (2006). Continuous solid-state fermentation as affected by substrate flow pattern. *Chemical Engineering Science* 61(8), 2675-2687.
- Krishna C (2005). Solid-state fermentation systems-an overview. *Critical reviews in biotechnology* 25(1-2), 1-30.
- Lopez-Calleja AC, Cuadra T, Barrios-Gonzalez J, Fierro F, Fernandez FJ (2012). Solid-state and submerged fermentations show different gene expression profiles in cephalosporin C production by *Acremonium chrysogenum*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 22(2), 126-34.
- Mattedi A, Sabbi E, Farda B, Djebaili R, Mitra D, Ercole C, Cacchio P, Del Gallo M, Pellegrini M (2023). Solid-State Fermentation: Applications and Future Perspectives for Biostimulant and Biopesticides Production. *Microorganisms* 11(6)
- Melikoglu M, Lin CSK, Webb C (2015). Solid state fermentation of waste bread pieces by *Aspergillus awamori*: Analysing the effects of airflow rate on enzyme production in packed bed bioreactors. *Food and Bioproducts Processing* 95, 63-75.
- Mitchell DA, Berovič M, Krieger N (2006). *Solid-state fermentation bioreactor fundamentals: introduction and overview*. Springer, Germany.
- Mitchell DA, Meien OFv, Luz LFL, Krieger N (2002). Evaluation of productivity of Zymotis solid-state bioreactor based on total reactor volume. *Food Technology and Biotechnology* 40(2), 135-143.
- Motta FL, Santana MH (2014). Solid-state fermentation for humic acids production by a *Trichoderma reesei* strain using an oil palm empty fruit bunch as the substrate. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 172(4), 2205-17.
- Ortiz GE, Ponce-Mora MC, Nosedá DG, Cazabat G, Saravalli C, Lopez MC, Gil GP, Blasco M, Alberto EO (2017). Pectinase production by *Aspergillus giganteus* in solid-state fermentation: optimization, scale-up, biochemical characterization and its application in olive-oil extraction. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 44(2), :197-211.

- Papagianni M (2014). Recent advances in solid-state fermentation applications for the food industry. *Current Biochemical Engineering* 1(1), 2-8.
- Pau SM, María Paz RF, Cristina RM, Antonio-Jesús GS (2023). Design optimization of a tray bioreactor for solid-state fermentation: study of process parameters through protein modification of by-products. *Fermentation* 9(10), 921.
- Pitol LO, Biz A, Mallmann E, Krieger N, Mitchell DA (2016). Production of pectinases by solid-state fermentation in a pilot-scale packed-bed bioreactor. *Chemical Engineering Journal* 283, 1009-1018.
- Poletto P, Renosto DdR, Baldasso C, Zeni M, Silveira MMd (2015). Activated charcoal and microfiltration as pretreatment before ultrafiltration of pectinases produced by *Aspergillus niger* in solid-state cultivation. *Separation and Purification Technology* 151, 102-107.
- Roussos S, Raimbault M, Prebois J-P, Lonsane BK (1993). Zymotis, a large scale solid state fermenter design and evaluation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 42, 37-52.
- Saithi S, Tongta A (2016). Phytase production of *Aspergillus Niger* on soybean meal by solid-state fermentation using a rotating drum bioreactor. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 11, 25-30.
- Salgado JM, Abrunhosa L, Domínguez JM, Venâncio A (2015). Enhancing the bioconversion of winery and olive mill waste mixtures into lingo-cellulolytic enzymes and animal feed by *Aspergillus uvarum* using a packed-bed bioreactor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63, 9306-9314.
- Sangsurasak P, Mitchell DA (1998). Validation of a model describing two-dimensional heat transfer during solid-state fermentation in packed bed bioreactors. *Biotechnol Bioeng* 60(6), 739-49.
- Sato K, Sudo S (1999). Small-scale solid-state fermentations. manual of industrial microbiology and biotechnology. In: Demain A, Davies, JE (ed). ASM Press, Washington, DC.
- Shahryari Z, Fazaelpoor MH, Shaabani MS, Younes G (2019). Production of fungal phytase in an innovative trickle bed bioreactor. *Waste and Biomass Valorization* 7, 3273-3280.
- Sun SY, Xu Y (2009). Membrane-bound 'synthetic lipase' specifically cultured under solid-state fermentation and submerged fermentation by *Rhizopus chinensis*: a comparative investigation. *Bioresource Technology* 100(3), 1336-42.
- Suryanarayan S, Mazumdar K Solid state fermentation. WIPO Patent WO2000029544A1, 2001
- Tao S, Beihui L, Zuohu L, Deming L (1999). Effects of air pressure amplitude on cellulase productivity by *Trichoderma viride* SL-1 in periodic pressure solid state fermenter. *Process Biochemistry* 34(1), 25-29.
- Von Meien OF, Mitchell DA (2002). A two-phase model for water and heat transfer within an intermittently-mixed solid-state fermentation bioreactor with forced aeration. *Biotechnology and Bioengineering* 79(4), 416-28.

- Weber FJ, Tramper J, Rinzema A (1999). A simplified material and energy balance approach for process development and scale-up of *Coniothyrium minutans* conidia production by solid-state cultivation in a packed-bed reactor. *Biotechnology and Bioengineering* 65(4), 447-58.
- Yafetto L (2022). Application of solid-state fermentation by microbial biotechnology for bioprocessing of agro-industrial wastes from 1970 to 2020: A review and bibliometric analysis. *Heliyon* 8(3), e09173.
- Yang G, Hou LL, Zhang FL (2011). Study on the solid-state fermentation conditions for producing thermostable xylanase feed in a pressure pulsation bioreactor. *Advanced Materials Research* 236-238, 72-76.
- Ye H, Wang J, Shi J, Du J, Zhou Y, Huang M, Sun B (2021). Automatic and intelligent technologies of solid-state fermentation process of Baijiu production: applications, challenges, and prospects. *Foods* 10(3), 680.

**表 1. 固態發酵(SSF)與液態發酵(SmF)優缺點比較**

	固態發酵 (SSF)	液態發酵 (SmF)
發酵規模	反應器體積較小	需要相對較大體積的反應器
發酵基質	成本低，為天然來源，只需補充少量的礦物質	使用高度純化的分析級藥品，成本通常比 SSF 高出數倍
基質含水量	低水活性，不易被細菌污染；發酵過程不會產生泡沫；產生廢水少，處理成本低	高水活性使發酵過程易被細菌污染；會產生大量泡沫；產生廢水多，處理成本高
微生物生長情形	微生物分布於基質表面，與自然環境生長的真菌相似	液態發酵環境均勻，與真菌生長的環境差異大
發酵槽填充量	發酵基質含水量低，填充量較多，產量較高	發酵基質含水量高，填充量較少，產量較低
後續加工	發酵產物濃度高，更易於後續加工	需要濃縮與純化發酵產物，成本較高
對環境的影響	使用天然廢棄物作為基質，有助於生質能轉化、廢棄物管理和污染控制	使用人工合成培養基，無法實現環境永續

**表 2. 固態發酵製程處理廢棄物生產具經濟價值產品之實例**

生物反應器	發酵基質	具經濟價值產品	微生物	參考文獻
層板式	麥麩	Polygalactouronase	<i>Aspergillus oryzae</i>	(Demir and Tari 2016)
層板式	麥麩、橘皮和檸檬皮	Polygalatouronase	<i>Aspergillus giganteus</i>	(Ortiz et al. 2017)
填充床	麥麩、甘蔗渣	Pectinase	<i>Aspergillus niger</i>	(Finkler et al. 2017)
填充床	廢棄的麵包	Glucoamylase Protease	<i>Aspergillus awamori</i>	(Melikoglu et al. 2015)
旋鼓式	豆粕	Phytase	<i>Aspergillus niger</i>	(Saithi and Tongta 2016)
旋鼓式	麥麩	Pectinase	<i>Aspergillus niger</i>	(Poletto et al. 2015)
多層環形層板	麥麩	Fungal biomass	<i>Aspergillus awamori</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	(Melikoglu et al. 2015)
空壓進氣式	玉米穗軸、麥麩	Xylanase	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	(Yang et al. 2011)
滴流層板式	米糠、麥麩、豆粕和麵粉	Protease	<i>Aspergillus oryzae</i>	(Fath and Fazaelpoor 2015)
滴床式	麥稈	Phytase	<i>Aspergillus ficuum</i>	(Shahryari et al. 2019)
填充床	木屑	改良型肥料	<i>Trichoderma</i> spp.	(Alias et al. 2022)
填充床	水果與木材廢料	Cellulose Citric and Malic acids	<i>Trichoderma</i> spp.	(Bulgari et al. 2023)

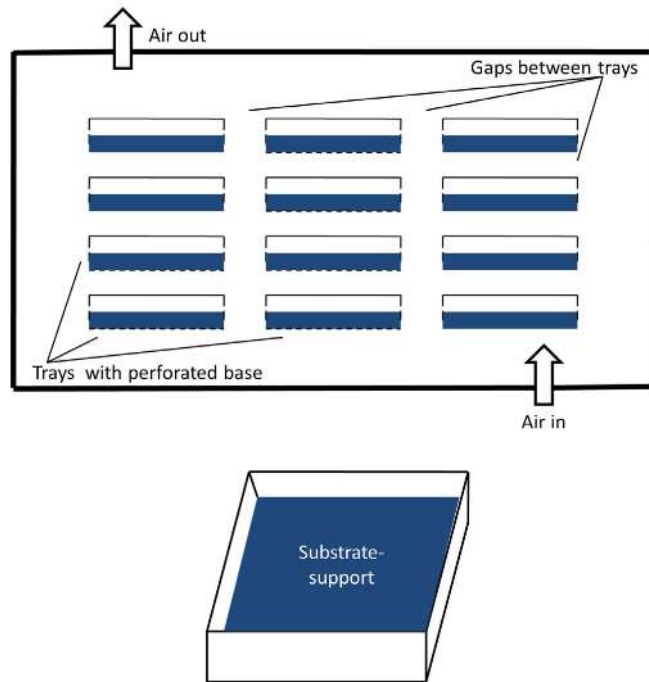


圖 1. 固態發酵生物反應器：層板式生物反應器(tray bioreactor) (Kh et al. 2011)

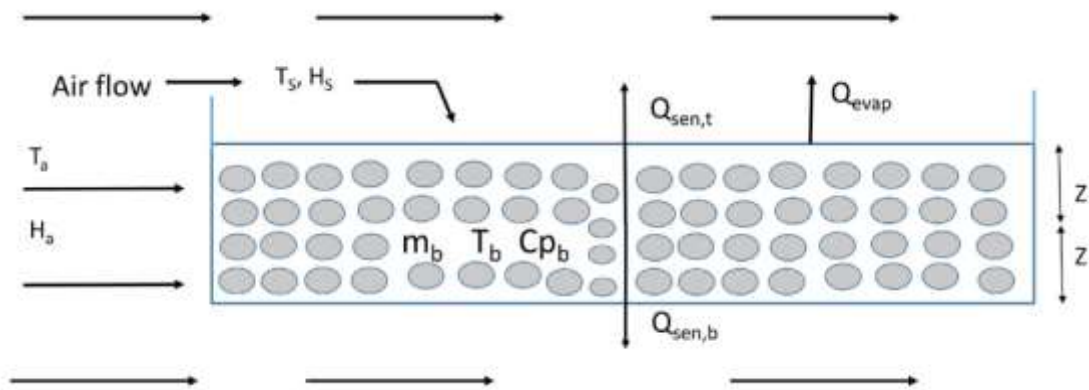


圖 2. 空氣循環對層板式固態發酵熱量傳導的影響(Figueroa-Montero et al. 2011)。  
 $T_a$ 、 $T_s$ 和  $T_b$  分別為進氣、床層表面和床層的溫度， $H_a$ 和  $H_s$ 分別為進氣與床層表面的濕度比， $Z$  為床層高度， $m_b$  為惰性填充物質， $C_{pb}$  為床層的比熱容)。

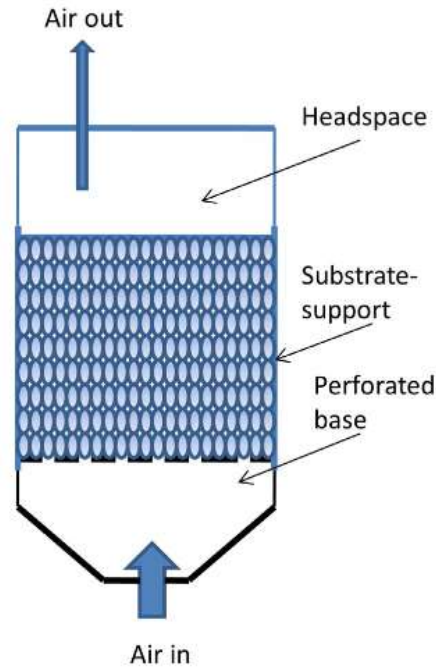


圖 3. 固態發酵生物反應器：填充床式生物反應器(packed bed bioreactor, PBR) (Arora et al. 2018)。

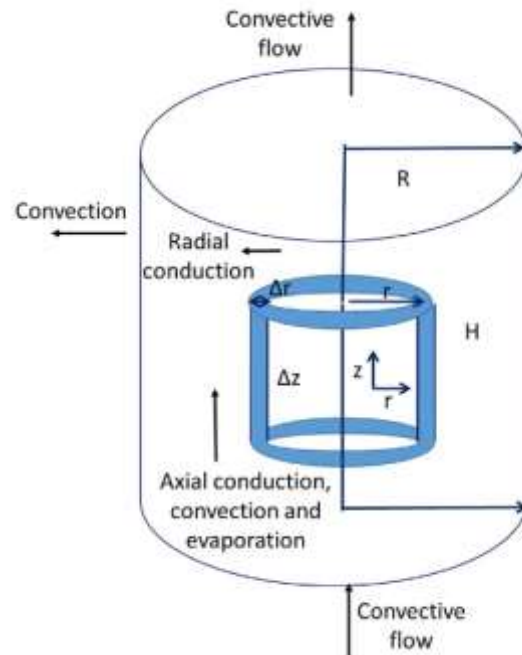


圖 4. 圓柱形填充床基質的體積元(volume element)和不同傳熱機制模式的方向 (Sangsurasak and Mitchell 1998)。

R 和 H 分別表示圓柱形填充床的半徑與高度，熱傳導主要透過基質進行，但由於基質的熱導率較低，整體傳熱受限。箭頭標示不同的熱傳遞機制方向，包括熱對流 (convective flow)、熱輻射 (radial conduction)、軸向熱傳 (axial conduction)、軸流熱傳 (axial convection) 與蒸發熱 (evaporation)，共同維持系統的熱平衡。

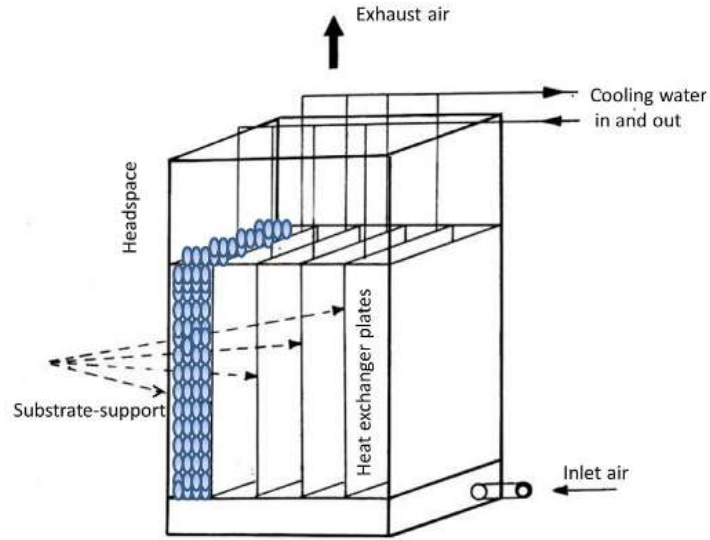


圖 5. 固態發酵生物反應器：Zymotis 填充床生物反應器(Zymotis packed bed bioreactor) (Mitchell et al. 2006)

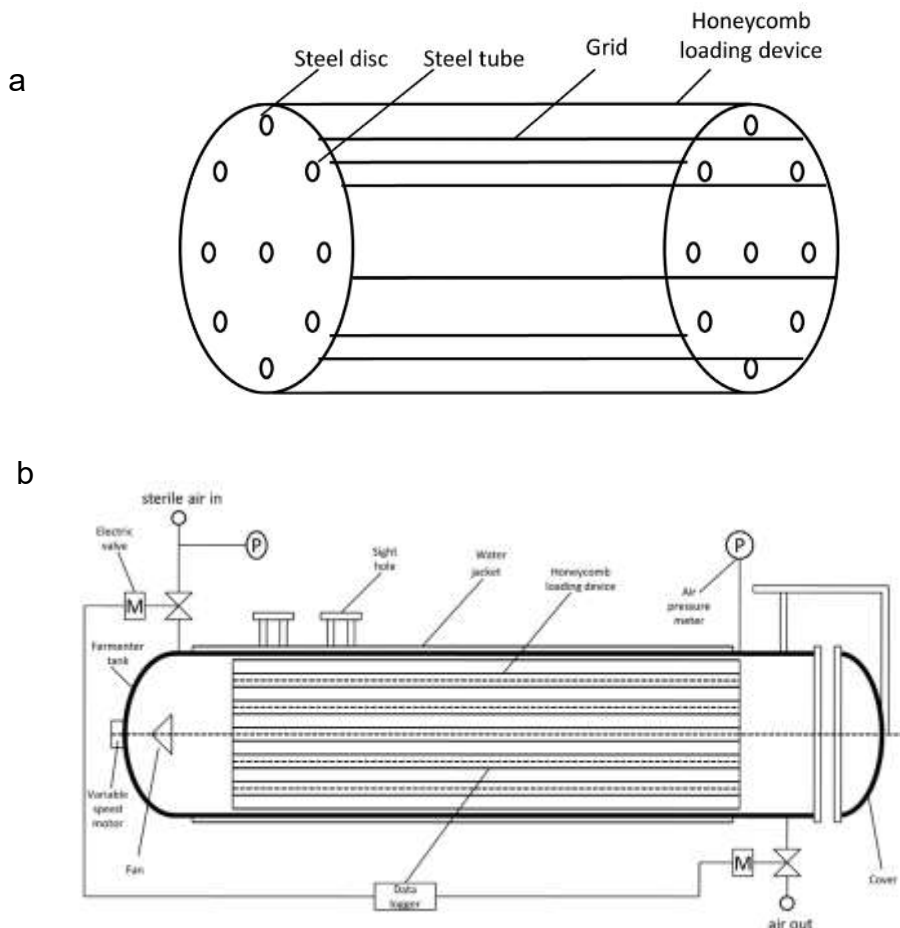


圖 6. 蜂窩裝載式(honeycomb loading device, HLD)生物反應器(Chen and He 2013)

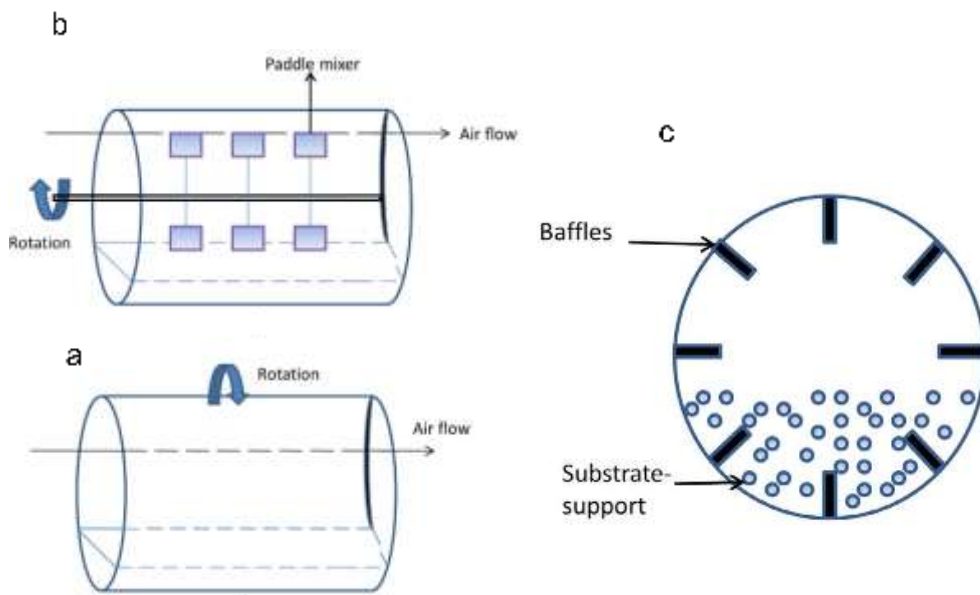


圖 7. (a)旋鼓式生物反應器、(b)旋鼓攪拌式生物反應器、(c)顯示內部擋板排列 (Mitchell et al. 2006)

旋鼓式生物反應器由一個鼓狀容器組成，該容器可安裝在滾輪（旋轉裝置）上，通常包括鼓壁、氣相空間及基質。混合基質主要透過沿其中心軸旋轉鼓可以充分混合基質 (a)，也可用安裝在中央軸上的槳葉攪拌混合，鼓本身保持靜止 (b)。此外，鼓內部可設有不同大小與形狀的螺旋擋板或升降式擋板 (c)，促進混合效果，提高發酵效率。

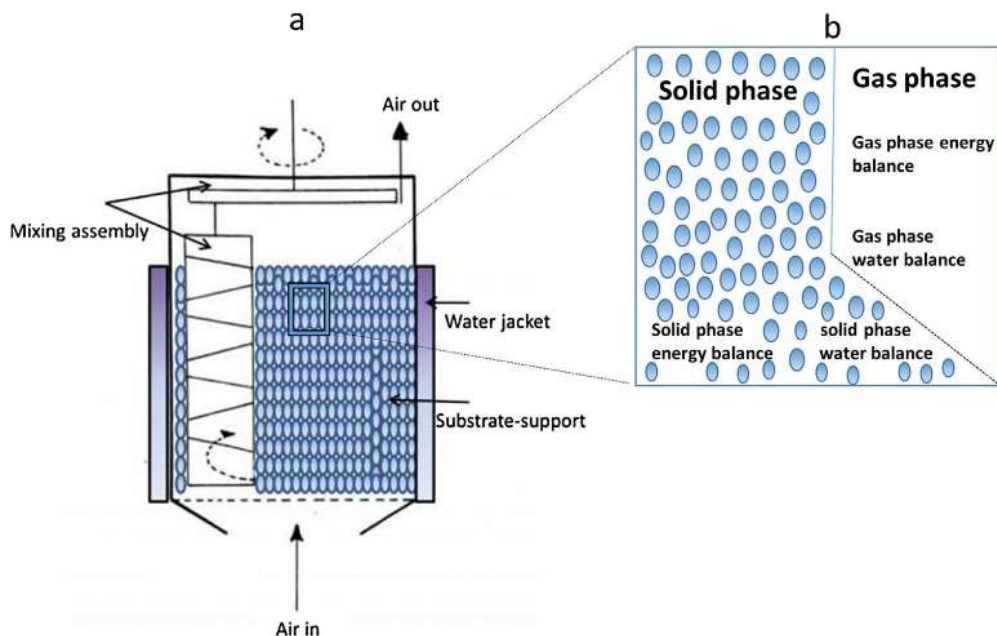


圖 8. (a)間歇或連續混合的固態發酵生物反應器、(b)氣固相混合示意圖 (Mitchell et al. 2006)

該反應器的設計透過間歇性攪拌基質與強制通氣，促進系統內的熱量與質量傳遞。

在攪拌過程中，粒狀基質在特定氣流條件下呈現流體特性，強化對流傳輸，達到提升微生物生長與產物生產效率。在這些系統中，攪拌有助於增加基質與潮濕空氣或冷卻液的接觸面積，但設計上的挑戰是如何最大化產能的同時，將攪拌頻率降至最低，因為過度攪拌可能會損害真菌菌絲結構，並消耗大量能源。

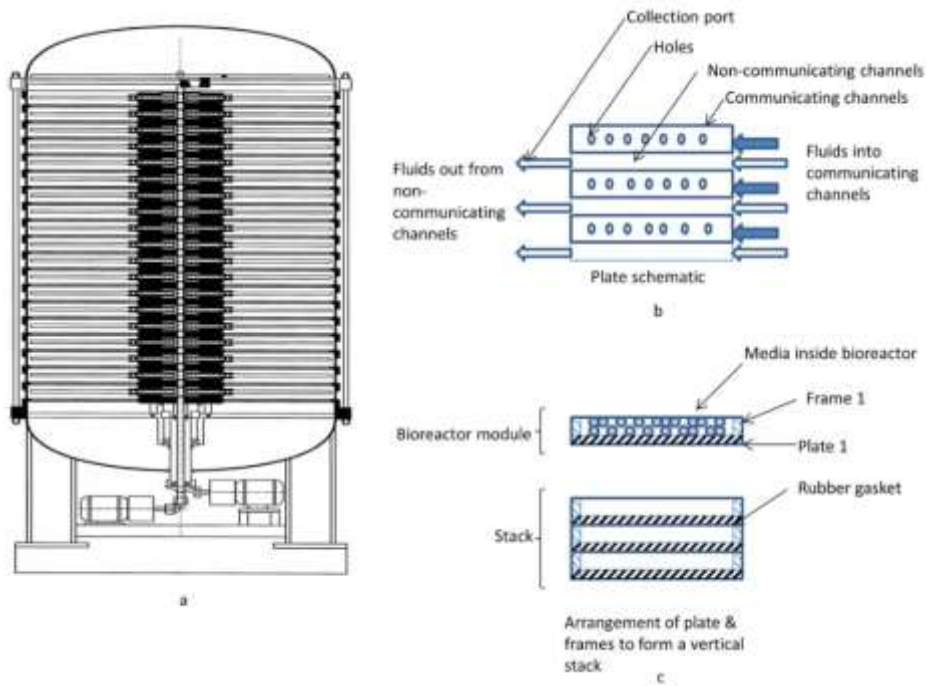


圖 9. PLAFRACTOR 固態發酵生物反應器 **a** 多模組垂直堆疊裝置、**b** 各模組間隔的連接通道和非連接通道、**c** 單一模組組成(由底板和框架組成的結構堆放基質)

## 荖葉 (*Piper betle* Linn) 純露之成分分析

鍾誼昀<sup>1</sup>、黃啟瑞<sup>2</sup>、楊繼江\*<sup>1</sup>

### 摘要

荖葉 (*Piper betle* Linn) 是一種具有經濟和藥用價值的特用作物，被譽為「綠色黃金」。在東南亞國家，荖葉被廣泛運用於民間醫學及作為個人護理產品的原物料（如化妝品）；台灣以臺東地區種植最多，但其應用性有限，相較於其他南島國家，荖葉在台灣仍有很大的發展可能性。研究顯示，荖葉具有抗氧化、抗菌、抗真菌及抗潰瘍等作用。本研究使用高效能液相層析串聯質譜儀進行荖葉純露的成分分析。結果顯示，荖葉純露中含有乙酸丁香油酚酯 (Acetyeugenol)、丁香油酚甲醚 (Methyl eugenol) 和丁香油酚 (Eugenol) 三種化合物，其含量分別為 2.4、0.3 和 1.6 ppm。過去的研究表明，這些化合物具有抗細菌、抗黴菌、麻醉、促進蟲媒授粉等多項生物功能。本研究結果對於臺東地區所種植的荖葉，提供有別以往的應用方式，並認為台灣荖葉產業可朝向生物科技的應用方向發展，開拓荖葉產業新的面貌。

**關鍵字：**荖葉、高效能液相層析串聯質譜儀、抗菌

---

<sup>1</sup>鍾誼昀，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程研究生。E-mail: 11101704@gm.nttu.edu.tw

<sup>2</sup>黃啟瑞，財團法人醫藥工業技術發展中心研究員、國立臺東大學生物醫學碩士學位學程兼任助理教授。  
E-mail: crhuang.ksn@gmail.com

<sup>1</sup>楊繼江(通訊作者)，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程教授兼主任、國立臺東大學醫農食研究中心主任。E-mail: cyang@nttu.edu.tw

## Composition Analysis of *Piper betle* Linn Leaf Hydrosol

Hsuan-Yun Chung<sup>1</sup>, Chi-Ruei Huang<sup>2</sup>, Chi-Chiang Yang\*<sup>1</sup>

### Abstract

Betel leaf (*Piper betle* Linn) is one of special crops with significant economic and medicinal value, often referred to as "green gold" in Taiwan. Betel leaf is widely used in folk medicine in China, India and other countries. Taitung county is the largest cultivated area of betel leaf in Taiwan. Previous studies indicate that betel leaf possesses antioxidant, antibacterial, antifungal, and anti-ulcer properties. In this study, the acetyleugenol, methyl eugenol and eugenol is detected in hydrosol of betel leaf with analysis of high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The contents of acetyleugenol, methyl eugenol and eugenol are 2.4ppm, 0.3ppm and 1.6ppm, respectively; these three chemicals is evidenced in antibacterial, antifungal, anesthetic, promote insect pollination and so on. The results provide a different thinking in application of betel leaves in Taiwan but it still needs more studies to clarify the unique advantages of betel left to support its development.

**Keywords:** *Piper betle* Linn、high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry、Antibacterial

---

<sup>1</sup> Hsuan-Yun Chung, Master's Student, Master's Program in Biomedicine, College of Science and Engineering, National Taitung University. E-mail : 11101704@gm.nttu.edu.tw

<sup>2</sup> Chi-Ruei Huang, Researcher, Medical and Pharmaceutical Industry Technology and Development Center; Adjunct Assistant Professor, Master's Program in Biomedicine, College of Science and Engineering, National Taitung University. E-mail : crhuang.ksn@gmail.com

<sup>1</sup> Chi-Chiang Yang (Corresponding Author), Professor, Master's Program in Biomedicine; Director, Biomedicine, Agriculture and Food Sciences Research Center, College of Science and Engineering, National Taitung University. E-mail : cyang@nttu.edu.tw

## 壹、前言

荖葉 (*Piper betle* Linn)，別名：荖藤、蒟醬，屬於胡椒目 (*Piperales*) 胡椒科 (*Piperaceae*) 胡椒屬 (*Piper*) 的植物。在臺灣全島及蘭嶼低至中海拔森林中，荖葉多生長於山谷密林或疏林之中，並攀生於岩石或樹幹上。臺東市、卑南鄉、太麻里鄉被認為是臺東縣荖葉種植最多的地區，該地區的種植面積與產量佔了全臺 80% 以上，因此在臺東農業中扮演著極其重要的角色 (張育銓, 2022)。荖葉的葉片呈心形且有光澤，長度約為 7 至 15 公分，寬度約為 5 至 11 公分。葉片兩側大小相等或稍有差異，葉腹面無毛，背面沿著脈路有極細的粉狀短柔毛。葉柄長度約為 2 至 5 公分，同樣覆蓋著極細的粉狀短柔毛，葉鞘長度約為葉柄的三分之一。荖葉全年都有花果期，但在 4 月至 11 月為盛產期。在傳統醫學中，荖葉有多種用途，包括治療風寒引起的咳嗽、消化不良、腹脹和濕疹等症狀。荖葉可供咀嚼或搭配檳榔食用，且目前廣泛用於中國和印度的民間醫學中，具有藥用價值。然而，在台灣，荖葉長期以來與檳榔一起被食用，這種飲食習慣導致口腔癌症問題日益嚴重。為了應對口腔癌症發病率逐年上升的情況，政府採取了三不政策：不鼓勵檳榔的食用、不輔導相關產業、不禁止檳榔。此政策對荖葉的產銷也帶來一定影響，因為荖葉與檳榔產業密切相關，檳榔產業受限，荖葉產業也無可避免地受到波及。

本研究以臺東太麻里鄉種植的荖葉為研究對象，將荖葉進行水蒸餾萃取純露，再利用高效能液相層析串聯質譜儀 (high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS) 進行分析，以驗證荖葉純露中含有多種有效成分，進而為荖葉的應用及開發提供基礎。

## 貳、文獻回顧

藥用植物的藥理特性主要歸因於各種具有生物醫學和藥學意義的生物活性成分。先前研究發現，荖葉含有許多不同類別的植物成分，例如生物鹼、醣苷、單寧酸、酚類化合物、類黃酮、萜烯和低聚醣。根據近期資料，荖葉中存在多種植物化學物質，包括：chavicol、chavibetol、hydroxychavicol、eugenol、estragole、methyl eugenol、hydroxycatechol、 $\alpha$ -pinene、caryophyllene、 $\beta$ -pinene、1,8-cineol 等 (Biswas et al., 2022)。

已被證實荖葉含有多種化合物，烯丙基焦性兒茶酚 (Allylpyrocatechol) 在 1% 濃度下具有抑制血鏈球菌 (*Streptococcus sanguinis*) 生長的作用，此細菌經常引發齲齒、牙齦炎、牙周炎等口腔疾病，作者透過紙錠擴散法進行抑菌實驗，抑菌圈為 11.85mm，最小抑制濃度 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 和最小殺菌濃度 (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) 的值分別為 39.1 和 78.1  $\mu\text{g/mL}$ ，也進一步發現烯丙基焦性兒茶酚透過阻斷 UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase (MurA) 活性，導致細菌細胞壁的破壞 (Kurnia et al., 2020)。蒎烯 ( $\alpha$ -pinene 和  $\beta$ -pinene) 對細菌和真菌具抗菌作用，實驗證實對 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)、*Candida*

*albicans*、*Cryptococcus neoformans* 和 *Rhizopus oryzae* 具抗菌作用(Silva et al., 2012)。原兒茶酸 (3,4-Dihydroxybenzoic acid) 又稱 protocatechuic acid (PCA) 為水果和蔬菜中的抗氧化成分,已被證明在體內能夠預防癌症發生或是抑制瘤生長(Lin et al., 2007)。羥基茴香酚 (Hydroxychavicol) 為天然化合物,通常存在植物葉子、果實或根部,具有抗氧化、抗菌和抗發炎等作用,被廣泛運用在傳統醫學中。一項研究中針對 58 種酵母菌、39 種麴菌屬菌株及 27 種皮癬菌菌株的抑菌實驗,均具有殺菌作用(He et al., 2007)。

許多國家目前有咀嚼荖葉的習慣,這被認為有助於避免口臭、強化牙齦、保護牙齒和刺激消化系統。過去的研究顯示,荖葉具有抗菌作用。例如,針對結膜炎患者所感染的金黃色葡萄球菌,荖葉顯示出抗菌作用(Lubis et al., 2020);在斯里蘭卡,通過乙酸乙酯萃取荖葉,發現其為天然抗氧化劑,並能抑制引起牙周病的細菌生長(Paranagama MP et al., 2020);另有研究證實,荖葉萃取物可抑制口腔細菌的生長(Sharma S et al., 2009),也有時實驗證明製成假牙浸泡液可抑制白色念珠菌生長(Okonogi et al., 2021)

由上述相關研究得知,荖葉具有抗菌作用。因此,本研究針對荖葉純露進行成分分析,探討其成分,作為後續抗菌作用等相關研究之基礎。

### 參、研究方法

#### 一、樣品處理及荖葉純露製備

本研究所使用的荖葉取自臺東縣太麻里鄉。將取得的荖葉用水清洗表面後,用與荖葉相等重量的水,一起置入蒸餾器中,以溫度 100°C 進行加熱,同時以冷凝的方式,將蒸煮荖葉所產生的蒸氣凝結,並將凝結後產生的液體,收集至桶中,稱之為純露,並儲存於室溫 25°C。

#### 二、成分分析

利用高效能液相層析串聯質譜儀 (high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC/MS-MS) 進行荖葉純露成分分析檢測。首先,將荖葉純露過濾,通過 0.22µm 過濾膜,去除固體顆粒或雜質,接著使用 Thermo Hypersil GOLD C18 色譜柱進行分析,移動相為由溶液 A (0.1% Formic acid (FA)+H<sub>2</sub>O)和溶液 B (0.1% FA+Acetonitrile (ACN))組成,溫度為 42 °C,並以流速 0.3mL/min,用 60%溶液 B 沖提 6 分鐘,95%溶液 B 沖提 5 分鐘,最後用 60%溶液 B 沖提 5 分鐘,以梯度之形式洗滌。同時,將樣品的質譜訊號對應標準品所出現的時間點及濃度標準曲線,找出樣品含有該物質濃度的含量。

### 肆、結果與討論

以 HPLC-MS/MS 分析荖葉純露成分,結果顯示純露中沒有偵測出類黃酮物質(圖 1 和表 1),但可偵測到 Acetyleneugenol、Methyl eugenol 和 Eugenol 三種化學物質存在

(圖 2)；在老葉純露中，Acetyeugenol 含量為 2.4ppm，Methyl eugenol 含量為 0.3ppm，而 Eugenol 含量為 1.6ppm(表 2)，三種化合物之分子式及結構則列於(表 3)。

乙醯丁香酚 (Acetyeugenol) 在室溫下為無色至淡黃色液體，具有芳香氣味，常用於香水和香料工業。具有抗菌、減少發炎、抗氧化、鎮痛等效果，經實驗證實對肺炎克雷伯菌菌株具有抗菌活性，並且可以作為預防由肺炎克雷伯菌引起的細菌感染的一個有效抗菌選擇(Khumpirapang et al., 2021)。

甲基丁香酚(Methyl eugenol)在室溫下為無色至淡黃色液體，具有甜香和香辛味，常用於香水和香料工業。這種天然化合物具有抗菌、抗氧化、抗突變、抗腫瘤等...，經實驗證明對念珠菌 (*Candida spp.*) 表現出體外抗菌活性(Fontenelle et al., 2011)。另有研究表明具抗菌作用，並且能開發成抗菌乳液(Khumpirapang et al., 2021)。

丁香油酚 (Eugenol) 為一種芳香化合物，在室溫下為無色至淡黃色液體，具有獨特的丁香香氣，因此被廣泛應用於食品、化妝品和醫藥等產品中，除了其香味之外，丁香油酚具有抗菌、抗氧化、減少炎症、鎮痛作用等...；有研究透過電子顯微鏡發現，丁香油酚可以抑制白色念珠菌 (*Candida albicans*) 的絲狀生長(He et al., 2007)。

## 伍、結論

荖葉純露進行 HPLC-MS/MS 成分分析，結果顯示其含有三種化合物分別為 Acetyeugenol、Methyl eugenol 和 Eugenol。這三種化合物皆已經有實驗證實具有抗菌效果，提供了荖葉純露可能為抗菌藥物開發之初步證據。此外，根據本實驗室針對荖葉純露成分的初步分析，荖葉純露可能在抗發炎、舒眠、異位性皮膚炎等方向，具有應用潛力，雖然過去也有研究顯示荖葉具有抗癌機能功效，但荖葉純露是否也有同樣的功能，需要更進一步地釐清。從本研究結果，初步認為荖葉具有開發成生物科技產業中所需的機能應用原物料，可為台東地快的荖葉農帶來了新的產業發展應用機會。

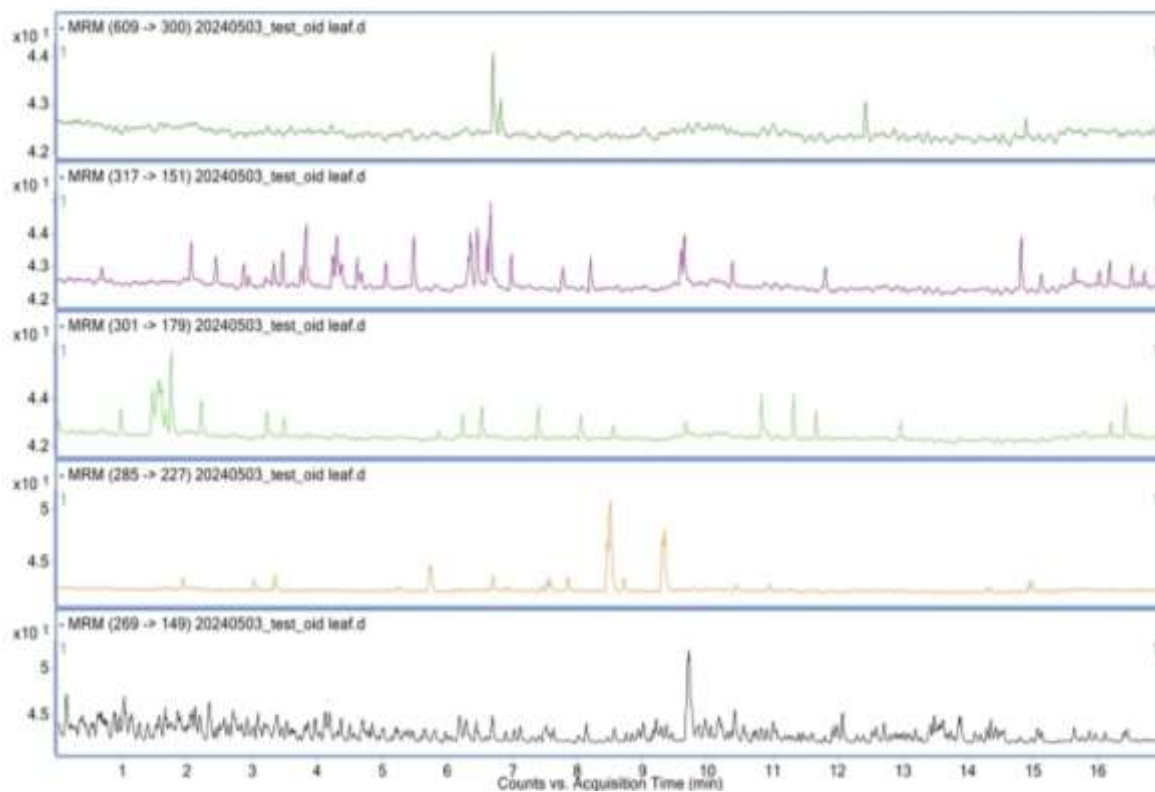


圖 1. 荖葉純露經 HPLC-MS/MS 層析質譜圖

表 1. 荖葉純露經 HPLC-MS/MS 類黃酮含量

	化合物	
1	Rutin	N.D.
2	Myricetin	N.D.
3	Quercetin	N.D.
4	Kaempferol	N.D.
5	Apigenin	N.D.

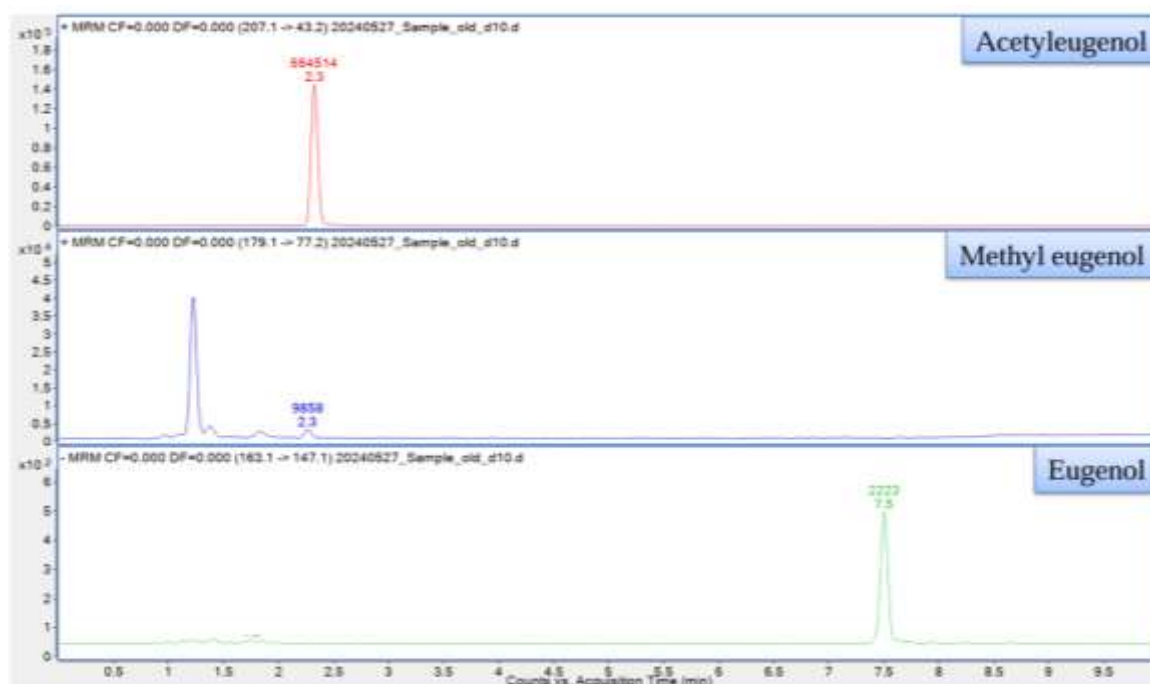
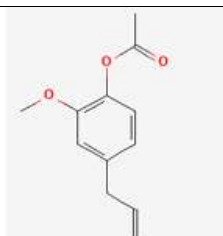
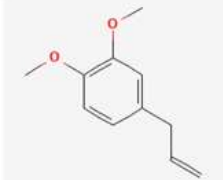


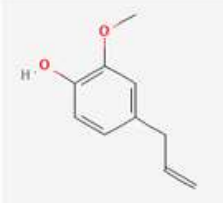
圖 2. 荖葉純露經 HPLC-MS/MS 層析質譜圖

表 2. 荖葉純露經 HPLC-MS/MS 酚類含量

	化合物	ppm
1	Acetyeugenol	2.4
2	Methyleugenol	0.3
3	Eugenol	1.6

表 3. 荖葉純露主要成分之分子式及結構

化合物	分子式	結構
Acetyeugenol 乙醯丁香酚	$C_{12}H_{14}O_3$	 ChemSpider ID 6869
Methyl eugenol 甲基丁香酚	$C_{11}H_{14}O_2$	 ChemSpider ID 21106140

化合物	分子式	結構
Eugenol 丁香酚	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	
ChemSpider ID 13876103		

## 致謝

謝謝朝陽科技大學應用化學系林宏諭博士，協助 HPLC-MS/MS 成分分析。

## 引用文獻

### 一、中文部分

張育銓 (2022) • 在花東地區發展條例之外的花東發展：臺東荖葉的危機與契機 [The Development of Hualien-Taitung Beyond the Hualien-Taitung Area Development Act : The Crisis and Opportunity of Taitung Betel Pepper] • 東台灣研究 (29), 49-72

### 二、英文部分

Biswas, P., Anand, U., Saha, S. C., Kant, N., Mishra, T., Masih, H., Bar, A., Pandey, D. K., Jha, N. K., Majumder, M., Das, N., Gadekar, V. S., Shekhawat, M. S., Kumar, M., Radha, Proćków, J., Lastra, J. M. P., & Dey, A. (2022). Betelvine (Piper betle L.): A comprehensive insight into its ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological, biomedical and therapeutic attributes. *J Cell Mol Med*, 26(11), 3083-3119. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17323>

Fontenelle, R. O., Morais, S. M., Brito, E. H., Brilhante, R. S., Cordeiro, R. A., Lima, Y. C., Brasil, N. V., Monteiro, A. J., Sidrim, J. J., & Rocha, M. F. (2011). Alkylphenol Activity against *Candida* spp. and *Microsporum canis*: A Focus on the Antifungal Activity of Thymol, Eugenol and O-Methyl Derivatives. *Molecules*, 16(8), 6422-6431. <https://doi.org/10.3390/molecules16086422>

He, M., Du, M., Fan, M., & Bian, Z. (2007). In vitro activity of eugenol against *Candida albicans* biofilms. *Mycopathologia*, 163(3), 137-143. <https://doi.org/10.1007/s11046-007-0097-2>

Khumpirapang, N., Klayraung, S., Tima, S., & Okonogi, S. (2021). Development of Microemulsion Containing *Alpinia galanga* Oil and Its Major Compounds: Enhancement of Antimicrobial Activities. *Pharmaceutics*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020265>

Kumpanich, J., Eiampongpaiboon, T., Kanchanasavita, W., Chitmongkolsuk, S., & Puripattanavong, J. (2020). Effect of Piper betle extract on anti-candidal activity, gelation time, and surface hardness of a short-term soft lining material. *Dental materials journal*, 39(6), 1016–1021. <https://doi.org/10.4012/dmj.2019-314>

- Kurnia, D., Hutabarat, G. S., Windaryanti, D., Herlina, T., Herdiyati, Y., & Satari, M. H. (2020). Potential Allylpyrocatechol Derivatives as Antibacterial Agent Against Oral Pathogen of *S. sanguinis* ATCC 10,556 and as Inhibitor of MurA Enzymes: in vitro and in silico Study. &quot;Drug Design, Development and Therapy, 14, 2977–2985. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S255269>
- Lin HH, Chen JH, Huang CC, Wang CJ. Apoptotic effect of 3,4-dihydroxybenzoic acid on human gastric carcinoma cells involving JNK/p38 MAPK signaling activation. *Int J Cancer*. 2007 Jun 1;120(11):2306-16. doi: 10.1002/ijc.22571. PMID: 17304508.
- Lubis RR, Marlisa, Wahyuni DD.( 2020) Antibacterial activity of betle leaf (*Piper betle* L.) extract on inhibiting *Staphylococcus aureus* in conjunctivitis patient. *Am J Clin Exp Immunol*. 9(1):1-5
- Okonogi, S., Phumat, P., Khongkhunthian, S., Suttiat, K., & Chaijareenont, P. (2021). Denture-Soaking Solution Containing Piper betle Extract-Loaded Polymeric Micelles; Inhibition of *Candida albicans*, Clinical Study, and Effects on Denture Base Resin. *Antibiotics (Basel)*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040440>
- Paranagama, M. P., Piyarathne, N. S., Nandasena, T. L., Jayatilake, S., Navaratne, A., Galhena, B. P., Williams, S., Rajapakse, J., & Kita, K. (2020) . The *Porphyromonas gingivalis* inhibitory effects, antioxidant effects and the safety of a Sri Lankan traditional betel quid - an in vitro study. *BMC Complement Med Ther*, 20 ( 1 ) , 259. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03048-6>
- Sharma, S., Khan, I. A., Ali, I., Ali, F., Kumar, M., Kumar, A., Johri, R. K., Abdullah, S. T., Bani, S., Pandey, A., Suri, K. A., Gupta, B. D., Satti, N. K., Dutt, P., & Qazi, G. N. (2009). Evaluation of the antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of hydroxychavicol for its potential use as an oral care agent. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(1), 216–222. <https://doi.org/10.1128/AAC.00045-08>
- Silva, A. C. R. d., Lopes, P. M., Azevedo, M. M. B. d., Costa, D. C. M., Alviano, C. S., & Alviano, D. S. (2012). Biological Activities of  $\alpha$ -Pinene and  $\beta$ -Pinene Enantiomers. *Molecules*, 17(6), 6305-6316. <https://doi.org/10.3390/molecules17066305>

## 天然發酵番茄產品開發及其消費者感官品評研究

陳惠枝<sup>1</sup>、李宗輝<sup>1</sup>、陳振義<sup>2</sup>、李俊霖<sup>1</sup>、劉錦濤<sup>\*3</sup>

### 摘要

本研究針對四款天然發酵番茄產品，依據原料比例不同，分為小女番茄單方(SL)、小女番茄複方(SLC)、野珍珠番茄單方(WT)及野珍珠番茄複方(WTC)，進行消費者感官品評分析及購買意願調查，並根據不同年齡層和職業類型的消費者反饋進行比較。結果顯示，SLC 產品在外觀(4.3±0.6)、風味(4.1±0.5)、口感(4.2±0.4)和整體接受度(4.3±0.5)方面表現最佳，尤其在外觀與整體接受度的評分顯著高於其他產品( $p < 0.05$ )，且有 72% 的受測者表示有購買意願。SL 產品的外觀(4.1±0.5)與口感(4.0±0.6)評分接近 SLC，顯示其具備良好的市場潛力，購買意願達 65%。相比之下，WT 與 WTC 產品的感官評價較低，特別是在風味(WT: 3.2±0.7)與口感(WT: 3.0±0.6)方面得分最低，WTC 雖在外觀上稍高(3.5±0.6)，但整體接受度(3.2±0.5)仍明顯低於 SLC 與 SL，購買意願僅 38%。購買意願調查亦顯示，消費者對沾醬類型之產品的需求最高(73%)，其次為湯包類產品(61%)。綜合評估結果，SLC 因在外觀、風味、口感及整體接受度上的優異表現，且消費者購買意願最高，未來將作為主要開發對象，並進一步調整配方與產品形式，以符合市場需求。未來開發將聚焦於消費者偏好的沾醬與湯包產品，以提升市場接受度與競爭力。本研究結果可作為發酵番茄產品改良與市場行銷策略的重要參考。

**關鍵字：**天然發酵番茄、感官品評、購買意願、產品開發、消費者偏好。

---

<sup>1</sup>陳惠枝，國立臺東大學生命科學系 碩士班學生，E-mail: greenchih@gmail.com

<sup>1</sup>李宗輝，國立臺東大學生命科學系 碩士班學生，E-mail: nicklee418@gmail.com

<sup>2</sup>陳振義，農業部臺東農改場科長，E-mail: 652@mail.ttdares.gov.tw

<sup>1</sup>李俊霖，國立臺東大學生命科學系 教授，E-mail: cllee@nttu.edu.tw

<sup>3</sup>劉錦濤(通訊作者)，國立臺東大學食品生物技術應用二年制在職學位學程副教授，E-mail: cfliu@nttu.edu.tw

## Development and Sensory Evaluation of Spontaneously Fermented Tomato Products

Hui-Chih, Chen<sup>1</sup>、Tsung-Huey, Lee<sup>1</sup>、Chen-I, Chen<sup>2</sup>、Chun-Lin Lee<sup>1</sup>、Chin-Feng Liu\*

### Abstract

This study evaluated four types of naturally fermented tomato products, categorized based on different ingredient ratios: *Solanum lycopersicum* fermentation (SL), *Solanum lycopersicum* complex fermentation (SLC), wild-type tomato fermentation (WT), and wild-type tomato complex fermentation (WTC). A consumer sensory evaluation and purchase intention survey was conducted, comparing responses from different age groups and occupational backgrounds. The results showed that SLC performed the best in terms of appearance (4.3±0.6), flavor (4.1±0.5), texture (4.2±0.4), and overall acceptance (4.3±0.5), with significantly higher ratings for appearance and overall acceptance ( $p < 0.05$ ) than the other products, and 72% of respondents expressing a willingness to purchase. The SL product received scores for appearance (4.1±0.5) and texture (4.0±0.6) close to those of SLC, indicating good market potential, with a purchase intention of 65%. In contrast, the sensory evaluations for WT and WTC were lower, particularly in flavor (WT: 3.2±0.7) and texture (WT: 3.0±0.6). Although WTC had a slightly higher appearance score (3.5±0.6), its overall acceptance (3.2±0.5) remained significantly lower than SLC and SL, with only 38% of respondents willing to purchase. The purchase intention survey also indicated that consumer demand was highest for sauce-based products (73%), followed by soup-based products (61%). Based on the overall evaluation, SLC was identified as the best-performing product in terms of appearance, flavor, texture, and overall acceptance, with the highest consumer purchase intention. Future product development will focus on refining the SLC formulation and optimizing product formats to meet market demands, particularly in the form of sauces and soups, to enhance consumer acceptance and market competitiveness. The findings of this study provide valuable insights for the improvement and marketing strategy of fermented tomato products.

**Keywords:** Naturally fermented tomato, sensory evaluation, purchase intention, product development, consumer preference

---

<sup>1</sup> Hui-Chih, Chen, Master Student, Department of Life Science, National Taitung University, E-mail: greenchih@gmail.com.

<sup>1</sup> Tsung-Huey, Lee, Master Student, Department of Life Science, National Taitung University, E-mail: nicklee418@gmail.com.

<sup>2</sup> Chen-I, Chen, Professor, Taitung District Agricultural Research and Extension Station, Ministry of Agriculture, E-mail: 652@mail.ttdares.gov.tw.

<sup>1</sup> Chun-Lin Lee, Professor, Department of Life Science, National Taitung University, E-mail: clee@nttu.edu.tw.

<sup>3</sup> Chin-Feng Liu (Corresponding Author), Associate Professor, Continuing Education Program of Food Biotechnology Applications, National Taitung University, E-mail: cfliu@nttu.edu.tw

## 壹、前言

番茄 (*Solanum lycopersicum*) 是全球最廣泛種植和消費的農產品之一，其豐富的營養成分和多樣化的應用使其在消費者的日常飲食中占有重要地位。根據國際糧食及農業組織 (FAO) 調查，2020 年全球番茄產量已超過 1.8 億噸 (Izzo et al., 2022)，主要生產國包括中國、印度、美國和土耳其。中國作為最大的番茄生產國，佔據了全球約三分之一的總產量。隨著農業技術的進步和生產規模的擴大，番茄的全球產量逐年穩定增長。消費者對番茄的喜好源於其豐富的營養成分，如維生素 C、維生素 A、鉀、葉酸和茄紅素 (lycopene) (Amr & Raie, 2022; Perveen et al., 2015; Shi & Maguer, 2000)。茄紅素因其抗氧化、抗炎和可能的抗癌特性備受關注，促使消費者對富含茄紅素的番茄產品青睞有加 (Ozkan et al., 2023)。隨著全球對健康飲食的關注不斷增加，番茄作為一種天然健康食品，其消費者需求持續增長 (Salehi et al., 2019)。消費者逐漸偏好有機番茄以及當地種植的番茄，與可持續農業和環保意識的上升密切相關。在番茄加工應用方面，加工技術已十分成熟，產品類型多元，涵蓋了從家庭烹飪到大規模食品工業的各個領域。隨著發酵生技的進步，亦有許多發酵番茄產品開發案例，產品透過發酵不僅能延長番茄的保質期，還能通過微生物的作用提升其營養價值和風味。例如發酵過程中的乳酸菌能夠將番茄中的營養成分轉化為更容易吸收的形式，增加番茄中的抗氧化物質，如茄紅素和多酚的生物利用度。此外，發酵後產物有助於腸道的健康有重要作用，同時滿足消費者對風味多樣性和高品質產品的需求 (Zhao et al., 2024)。

本研究旨在開發利用天然發酵技術製作番茄產品，以替代傳統人工添加劑和調味品，並評估消費者對此類天然發酵產品的接受度。通過乳酸菌發酵，本研究期望在保持或提升產品風味的同時，強化其健康功能，如促進腸道健康及增強免疫力。研究將調查不同消費群體對天然發酵番茄產品的偏好，進一步了解其在市場中的潛力及其應用性，為天然健康食品的開發提供參考依據。

## 貳、材料與方法

### 一、發酵番茄材料及製作流程

試驗材料來源如圖 1 所示。小女番茄、辣椒、生薑及大蒜等生鮮食材購自台東市中央市場，而野珍珠番茄則採自台東山坡地。本研究選用 3.5 kg 番茄與 0.5 kg 辣椒作為主要原料，並依序進行清洗、晾乾及去蒂處理。處理後的番茄與辣椒打成果泥後，依序加入台鹽高級碘鹽 (產地：苗栗，台灣)、紅標料理米酒 (產地：台中，台灣)、生薑及大蒜作為調味材料，並充分攪拌均勻。調製完成的果泥於常溫下靜置發酵，發酵過程持續 42 天，並維持穩定環境以確保產品品質。發酵後，產品依配方不同可分為四類：小女番茄單方 (SL)、小女番茄複方 (SLC)、野珍珠番茄單方 (WT) 及野珍珠番茄複方 (WTC)。其中，單方產品 (SL、WT) 僅使用番茄與辣椒原料，並添加 3% (w/w) 台鹽高級碘鹽；複方產品 (SLC、WTC) 則在果泥中額外添加紅標料理米酒 (1% w/v)、生薑 (0.75% w/v) 及大蒜 (0.75% w/v)，並確保所有成分充分混合，以

利發酵過程順利進行。



圖 1. 發酵番茄所使用到的材料。

Figure 1. Materials used in fermented tomato.

## 二、感官品評方法

參與者為國立臺東大學食品生技學程的學生及課程助教，共計 42 名，年齡介於 21 至 69 歲，其中男性 25 名，女性 17 名。為確保評價的真實性與匿名性，品評問卷透過 Google 表單進行不記名收集。感官品評的過程中，參與者需先填寫基本資料，包括年齡、性別與職業背景，以利後續數據分析，探討不同族群對產品的感官評價差異。接著，參與者將品嚐提供的發酵番茄果泥，並根據個人感受與經驗，針對外觀、風味、口感及整體感受進行評分。外觀主要評估產品的視覺印象，如顏色與質地；風味則關注番茄風味的接受度及愉悅程度；口感評估品嚐時的質地感受；整體感受則為對發酵番茄果泥產品之綜合評價。評分採用五級量表，1 分表示「非常不能接受」、2 分為「不能接受」、3 分為「尚可」、4 分為「可接受」、5 分為「非常能接受」。所有評分結果將進行數據分析，以評估產品的優勢與可改進之處。本研究能夠真實反映消費者的感受，為產品改良與市場推廣策略的制定提供參考依據。

## 參、結果與討論

研究以臺東在地所購買之小女番茄以及野外所採集之野珍珠番茄作為發酵番茄原料，試驗過程中以單純番茄原料發酵(SL 組及 WT 組)及複方原料發酵(SLC 組及 WTC 組)進行發酵後感官品評試驗。品評人員為國立臺東大學食品生技學程在學學生，進行外觀、風味、口感及整體感受進行測試，並且對於產品購買意願及期待產品之包裝形態進行調查分析。

### 一、發酵番茄果泥之感官品評分析

研究針對四種天然發酵番瓜果泥(SL、SLC、WT、WTC)進行感官品評分析，評估外觀、風味、口感與整體接受度之間的差異。如表 1 所示。在 SL 產品的感官評估中，21-30 歲、31-40 歲與 51-60 歲族群對外觀的評分較高(4.00±0.76)，而 41-50 歲族群的評分稍低(3.70±0.48)，60 歲以上的評分最低(3.00)，顯示不同年齡層對外觀的接受度存在差異，可能與顏色或質地的變化有關。風味方面，年輕族群(21-30 歲與 31-40 歲)的評分相對較低(2.75±1.49)，顯示部分年輕消費者可能對發酵風味較不習慣，而 41-50 歲與 51-60 歲族群的風味評分較高，可能因其較能接受發酵食品的酸味與獨特風味。口感的部分，41-50 歲族群的評分較高(3.10±0.74)，但 31-40 歲族群的評分最低(2.38±1.19)，顯示該年齡層可能較偏好較細緻的質地。整體接受度方面，21-30 歲與 31-40 歲族群的評分較高(3.0-3.4)，而 51-60 歲族群的評分最低(2.60±1.12)，可能與風味及口感的綜合影響有關。

表 1.天然發酵番茄產品 SL 感官品評分析

Table 1. Sensory evaluation analysis of SL naturally fermented tomato products

Age group (No. of people)	Appearance	Flavor	Texture	Overall acceptance
21-30 (8)	4.00 ± 0.76 <sup>a</sup>	2.75 ± 1.49 <sup>b</sup>	3.00 ± 1.20 <sup>a</sup>	3.0 ± 1.49 <sup>a</sup>
31-40 (8)	4.00 ± 0.76 <sup>a</sup>	2.75 ± 1.49 <sup>b</sup>	2.38 ± 1.19 <sup>b</sup>	3.4 ± 1.28 <sup>a</sup>
41-50 (10)	3.70 ± 0.48 <sup>ab</sup>	3.30 ± 0.82 <sup>ab</sup>	3.10 ± 0.74 <sup>a</sup>	3.3 ± 0.92 <sup>a</sup>
51-60 (9)	4.00 ± 0.50 <sup>a</sup>	3.10 ± 0.75 <sup>ab</sup>	3.00 ± 0.87 <sup>a</sup>	2.6 ± 1.12 <sup>b</sup>
60+ (1)	3.00	3.00	3.0	3.0
AVG	3.74	2.98	2.90	2.94

SLC 天然發酵番茄產品的感官品評結果如表 2 所示。各年齡層對外觀的接受度普遍較高，其中 21-30 歲族群的評分最高(4.40±0.70)，其次為 41-50 歲族群(4.22±0.76)，整體而言，消費者對 SLC 產品的外觀滿意度較高。風味方面，41-50 歲族群的評分最高(4.22±0.67)，顯示該年齡層對 SLC 產品的發酵風味接受度較高，而 21-30 歲族群的評分稍低(4.00±1.25)。口感部分，31-40 歲族群的評分最高(4.00±0.76)，41-50 歲族群緊隨其後(4.11±0.60)，顯示該產品的口感較能符合中壯年族群的需求。整體接受度方面，41-50 歲族群的評分最高(4.22±0.67)，而 51-60 歲族群則較低(3.70±0.67)，可能因為該年齡層對某些風味特徵較不偏好。整體平均評分為 4.10，為品評項目中分數最高，說明大多數消費者對該產品的整體表現持肯定態度。

表 2.天然發酵番茄產品 SLC 感官品評分析

Table 2. Sensory evaluation analysis of SLC naturally fermented tomato products

Age Group (No. of people)	Appearance	Flavor	Texture	Overall acceptance
21-30 (10)	4.40 ± 0.70 <sup>d</sup>	4.00 ± 1.25 <sup>c</sup>	3.80 ± 1.14 <sup>a</sup>	3.60 ± 1.26 <sup>a</sup>
31-40 (8)	4.00 ± 0.76 <sup>b</sup>	3.75 ± 0.71 <sup>a</sup>	4.00 ± 0.76 <sup>c</sup>	4.00 ± 0.93 <sup>c</sup>
41-50 (9)	4.22 ± 0.76 <sup>c</sup>	4.22 ± 0.67 <sup>d</sup>	4.11 ± 0.60 <sup>d</sup>	4.22 ± 0.67 <sup>d</sup>
51-60 (10)	3.70 ± 0.48 <sup>a</sup>	3.90 ± 0.74 <sup>b</sup>	3.8 ± 0.79 <sup>b</sup>	3.70 ± 0.67 <sup>b</sup>
60+ (1)	5.0	5.0	5.0	5.0
AVG	4.26	4.17	4.14	4.10

WT 天然發酵番茄產品感官品評結果如表 3 所示。感官評估顯示 21-30 歲族群的外觀評分最高(3.67 ± 1.37)，而 51-60 歲族群的評分最低(2.80 ± 0.79)，可能與該產品的色澤或質地變化較大有關。風味方面，整體評分偏低，31-40 歲族群的評分最低(2.25 ± 0.89)，可能表示此年齡層對 WT 產品的發酵風味接受度較低。口感的部分，各年齡層評分相對均勻，但仍顯示 31-40 歲族群的評分最低(2.12 ± 1.25)，而 21-30 歲族群的評分最高(2.83 ± 0.98)。整體接受度方面，21-30 歲族群的評分最高(3.17 ± 1.47)，但 31-40 歲與 51-60 歲族群的評分較低(2.12-2.40)，顯示 WT 產品在風味與口感上可能較難被大部分消費者接受。

表 3. 天然發酵番茄產品 WT 感官品評分析

Table 3. Sensory evaluation analysis of WT naturally fermented tomato products

Age Group (No. of people)	Appearance	Flavor	Texture	Overall acceptance
21-30 (6)	3.67 ± 1.37 <sup>a</sup>	2.67 ± 1.51 <sup>a</sup>	2.83 ± 0.98 <sup>a</sup>	3.17 ± 1.47 <sup>a</sup>
31-40 (8)	3.25 ± 0.71 <sup>ab</sup>	2.25 ± 0.89 <sup>b</sup>	2.12 ± 1.25 <sup>b</sup>	2.12 ± 0.83 <sup>b</sup>
41-50 (8)	3.38 ± 0.74 <sup>ab</sup>	2.38 ± 0.52 <sup>b</sup>	2.5 ± 0.53 <sup>ab</sup>	2.62 ± 0.52 <sup>b</sup>
51-60 (10)	2.80 ± 0.79 <sup>b</sup>	2.40 ± 0.52 <sup>b</sup>	2.20 ± 0.63 <sup>b</sup>	2.40 ± 0.52 <sup>b</sup>
60+ (1)	3.0	3.0	3.0	4.0
AVG	3.22	2.54	2.53	2.86

WTC 天然發酵番茄產品的感官評價結果如表 4 所示。風味方面，21-30 歲族群的評分最高(3.29 ± 0.76)，但 31-40 歲族群的評分稍低(3.00 ± 1.00)，顯示不同年齡層對該產品的風味接受度存在差異。口感的部分，21-30 歲族群的評分最高(3.43 ± 0.79)，而 31-40 歲族群的評分較低(3.14 ± 0.69)，可能與發酵產物的質地變化有關。整體接受度方面，21-30 歲族群的評分最高(3.71 ± 0.95)，顯示該年齡層對 WTC 產品的綜合接受度較高，而 31-40 歲族群的評分最低(3.14 ± 0.69)，可能因為該年齡層對某些發酵風味或口感特徵較不偏好。

表 4. 天然發酵番茄產品 WTC 感官品評分析

Table 4. Sensory evaluation analysis of WTC naturally fermented tomato products

Age Group (No. of people)	Appearance	Flavor	Texture	Overall acceptance
21-30 (7)	3.86 ± 0.38 <sup>a</sup>	3.29 ± 0.76 <sup>a</sup>	3.43 ± 0.79 <sup>a</sup>	3.71 ± 0.95 <sup>a</sup>
31-40 (7)	3.57 ± 0.98 <sup>ab</sup>	3.00 ± 1.00 <sup>ab</sup>	3.14 ± 0.69 <sup>b</sup>	3.14 ± 0.69 <sup>b</sup>
41-50 (13)	3.38 ± 1.04 <sup>b</sup>	3.23 ± 1.24 <sup>ab</sup>	3.23 ± 1.24 <sup>ab</sup>	3.23 ± 1.24 <sup>ab</sup>
51-60 (9)	3.67 ± 0.71 <sup>ab</sup>	3.00 ± 1.12 <sup>b</sup>	3.33 ± 1.00 <sup>ab</sup>	3.22 ± 1.09 <sup>ab</sup>
60+ (1)	5.0	4.0	5.0	4.0
AVG	3.90	3.30	3.63	3.46

綜合以上四款發酵番茄果泥產品，SLC 產品的風味與接受度最高，其次為 WTC，SL 產品則介於中間，而 WT 產品的風味與口感接受度最低。結果推論番茄品種、複方材料之添加及其天然存在之微生物菌種皆會影響發酵果泥之風味，進而影響消費者之接受度。

## 二、發酵番茄產品購買意願分析

針對 SL、SLC、WT 和 WTC 四種天然發酵番茄產品的購買意願結果中，存在明顯差異(圖 2)。從 SL 產品來看，32.7%的消費者表示會「基於風味考慮」購買該產品，顯示風味是影響購買決策的重要因素。同時，27.3%的消費者表現中立，表示這部分群體對產品的購買意願尚未確定。18.2%的消費者表示「一定會購買」，表示該產品在市場上具有一定的吸引力和潛力。SLC 產品與 SL 產品的購買趨勢相似，30.3%的消費者表現中立，僅有 9.1%的消費者表示「一定會購買」，顯示出 SLC 的購買意願稍低於 SL，30.3%的消費者基於風味考慮購買該產品，說明風味仍是影響該產品銷售的關鍵。

WT 和 WTC 產品購買意願數據相對一致，顯示出 35.3%消費者表示「沒有興趣」購買，為較高的比例，表示兩款產品在消費者吸引力不足，唯 11.8%消費者表示「一定會購買」，表示此兩款產品市場開發潛力較低。此外，29.4%的消費者對這兩款產品的購買意願基於風味考慮，反映出風味仍然是影響其市場表現的重要因素。整體來看，SL 和 SLC 產品的市場接受度略高於 WT 和 WTC，尤其是在購買意願和消費者期望方面，SL 產品的風味表現成為推動消費者購買的主要原因，而 SLC 在消費者中的表現略遜。相較而言，WT 和 WTC 的購買意願較低，大部分消費者表示「沒有興趣」，表示這兩款產品在風味或其他感官層面的吸引力不足，未來可能需要在產品的風味或其他方面進行改進以提升市場競爭力。

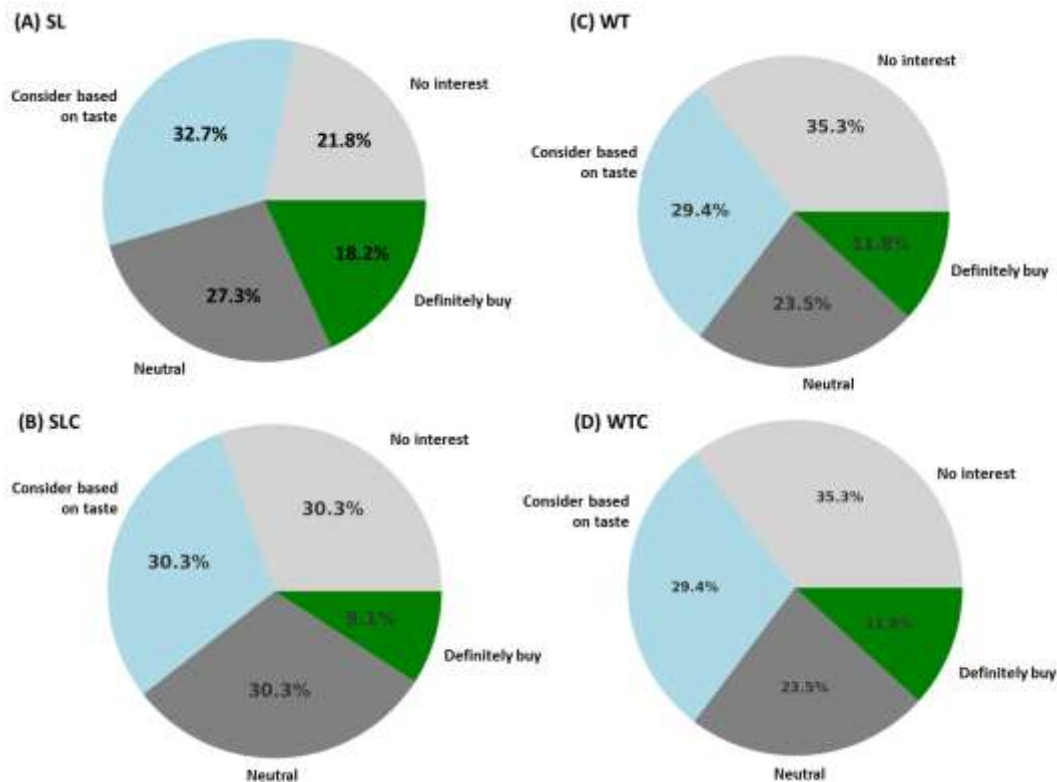


圖 2.天然發酵番茄產品 (SL、SLC、WT、WTC) 之購買意願調查分析  
 Figure 2. Analysis of purchase intention for naturally fermented tomato products (SL, SLC, WT, WTC)

### 三、期望發酵茄產品之產品形態

根據調查結果 (圖 3)，消費者對天然發酵番茄產品的期望產品類型偏好顯示出明顯的趨勢。50.0%的消費者更偏好湯包狀產品形式，表示方便即食型的產品對於消費者具有較大的吸引力。沾醬類產品的偏好佔 35.0%，顯示出消費者對於調味產品的需求也相當高，特別是在用餐搭配方面。僅有 15.0%的消費者選擇了乾粉狀產品形式，表示此類產品吸引力相對較低。整體而言，消費者偏好方便食用和適合搭配的產品形式，如湯包狀和沾醬類產品，兩類產品形式合計佔到了 85.0%。表示未來產品開發應該更多地關注即食型或調味型產品，可更好地滿足市場需求並提高產品的競爭力。

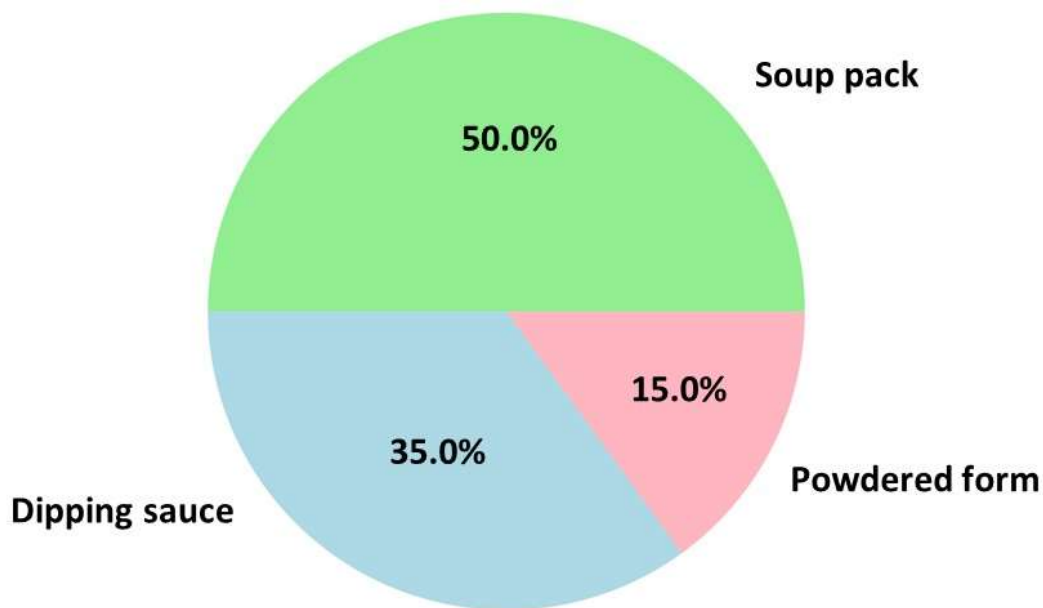


圖 3.消費者期望番茄發酵產品類型分析

Figure 3. Analysis of consumer preferences for types of fermented tomato product

### 四、感官評估結果與產品偏好度比較

根據感官評估結果，SLC 產品在所有感官指標中獲得最高評價，特別是在風味 ( $4.17 \pm 0.89$ )和整體接受度 ( $4.10 \pm 0.93$ )方面顯著優於其他產品 ( $p < 0.05$ )。雷達圖顯示 (圖四)，SLC 的五個指標 (外觀、風味、口感、整體接受度)均達到較高水準，呈現出較均衡的感官特性，顯示其發酵風味與口感較為協調，使其成為消費者較偏好的產品。相較之下，WT 產品的風味 ( $2.54 \pm 1.19$ )和口感 ( $2.53 \pm 1.12$ )評價最低，整體接受度 ( $2.86 \pm 1.21$ )亦顯著低於其他產品。從雷達圖可見，WT 的感官指標明顯低於其他三種產品，特別是在風味與口感表現較差，顯示其發酵過程可能產生了較強烈或帶有苦澀味的風味成分，導致消費者接受度較低。WTC 產品在整體接受度 ( $3.46 \pm 1.09$ )上略高於 SL ( $2.94 \pm 1.12$ )和 WT ( $2.86 \pm 1.21$ )，但低於 SLC ( $4.10 \pm 0.93$ )。雷達圖顯示，WTC 在口感與整體接受度方面與 SL 相當，但略低於 SLC，可能是因其混合發酵組成提供了較溫和的風味，使其相對易於接受。SL 產品的外觀 ( $3.74 \pm 1.08$ )及口感 ( $2.90 \pm 1.12$ )評價中等，顯示其發酵特性雖然未顯著影響消費者接受度，但仍可能缺乏某些吸引消

費者的風味特徵。從雷達圖可見，SL 的整體表現較為均衡，但未能在特定感官指標上突出，因此可能需要進一步調整發酵條件或配方，以提高其市場競爭力。

從年齡層的比較來看，較年輕族群(21-30 歲)對於 SLC 產品的接受度最高，可能是因為其風味較溫和且口感較順口，而 51-60 歲族群則較偏好 SL 和 WTC 產品，可能與年長消費者更能接受傳統發酵風味有關。WT 產品則在所有年齡層中的接受度普遍較低，顯示其風味可能較為強烈或偏向特定發酵風味，導致部分消費者難以適應。從雷達圖分析結果得知(圖 4)，SLC 產品的圖形較為飽滿，顯示其感官特性較均衡，並在所有指標上表現穩定。而 WT 產品的雷達圖則呈現明顯的低分布，特別是在風味與口感方面落後於其他產品，可能歸因於野珍珠番茄原料品質及其發酵過程中產生的某些風味物質相關。

綜合上述結果，SLC 產品在感官評價上具有較強的市場優勢，而 WT 和 WTC 產品則需要在風味和口感方面進行較大幅度的改進。消費者對沾醬類和湯包狀產品的偏好，為未來產品開發提供了方向，進一步將產品形式並提升風味和口感，將有助於提高消費者的購買意願和市場競爭力。

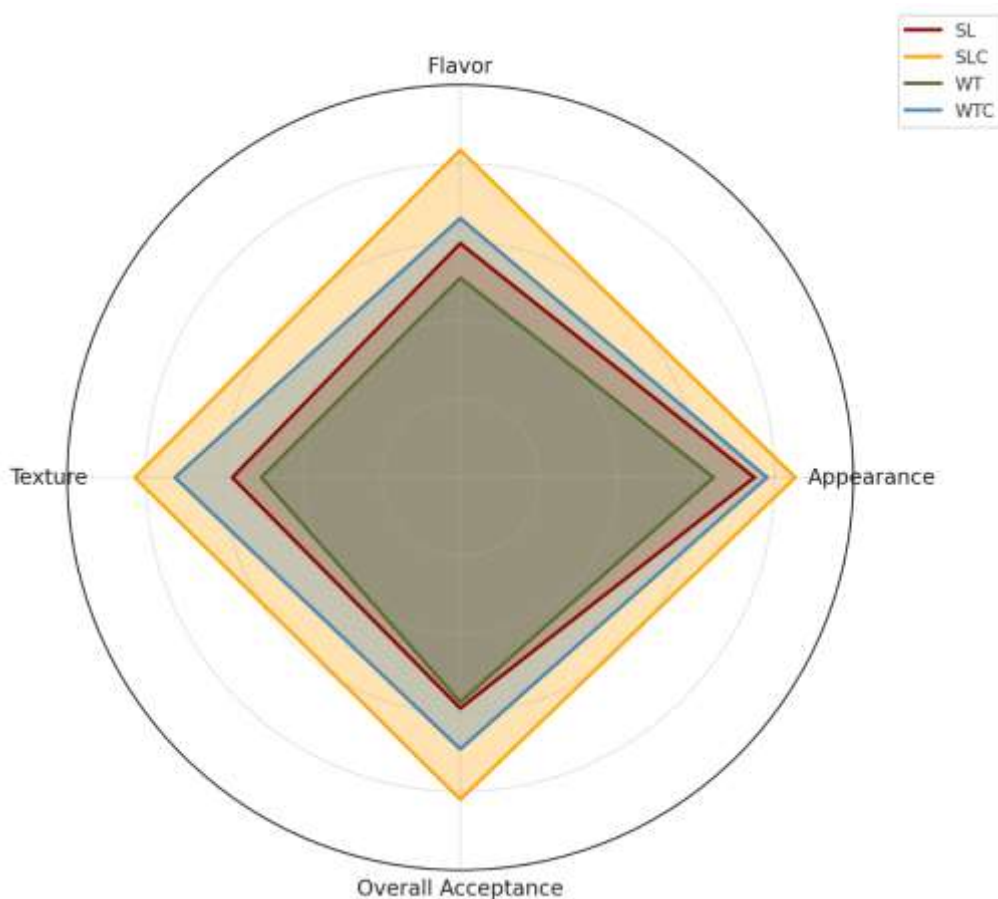


圖 4.利用雷達圖比較天然發酵番茄產品 (SL、SLC、WT、WTC) 之感官指標  
Figure 4. Comparison of sensory indicators of four naturally fermented tomato products (SL, SLC, WT, WTC) using a radar chart.

## 五、未來展望-透過番茄專屬發酵劑開發提升發酵製程的品質穩定性與安全性

天然發酵與科學化發酵 SWOT 分析如表 5 所示，天然發酵固然兼具風味多樣性及自然與健康形象，但其發酵過程存在著質量和安全不穩定性。科學化發酵在發酵產品的製程中扮演著關鍵角色，能顯著提升產品的品質穩定性和安全性。透過開發針對番茄的專屬發酵劑，能有效控制發酵過程中的變數，確保每次生產的產品風味與質量一致，滿足大規模生產的需求。此外使用已知且經過測試的菌株可降低有害微生物的風險，進一步保障產品的食品安全。與天然發酵相比，科學化發酵的可控性更高，能縮短發酵時間並提高生產效率，使其在市場競爭中具有明顯的優勢。通過發酵技術提升，番茄發酵產品製程將不僅更具可靠性，還能進一步拓展市場應用，滿足消費者對高品質發酵食品的需求。

表 5.天然發酵與科學化發酵之 SWOT 分析

Table 5. SWOT Analysis of natural fermentation and scientific fermentation

SWOT	天然發酵	科學化發酵
優勢	<p><b>風味多樣性：</b>自然微生物群體使每批產品風味獨特，增加消費者對產品的期待和喜愛。<b>低成本：</b>不需要購買商業菌種，降低了生產成本，尤其適合小規模生產或家庭作坊。</p> <p><b>自然與健康形象：</b>無需人工添加劑，迎合了消費者對健康和傳統食品的需求，具備天然產品的市場吸引力。</p>	<p><b>可控性高：</b>使用特定的發酵劑可以精確控制發酵過程，確保每批次的產品一致性，在大規模生產中特別重要。</p> <p><b>生產效率高：</b>發酵時間顯著縮短，能在短時間內完成，適合高需求的市場或快速生產。</p> <p><b>食品安全性高：</b>科學化發酵採用已知且經過測試的菌株，降低了有害微生物的風險，保證了產品的安全性和可靠性。</p>
劣勢	<p><b>不可控性強：</b>每次發酵的微生物群落可能不同，導致最終產品的風味和質量不一致。</p> <p><b>發酵時間長：</b>天然發酵過程較慢，無法快速生產，對於需要穩定供應的商業生產來說是一個挑戰。</p> <p><b>安全風險：</b>由於微生物組成不確定，存在有害微生物生長的風險，可能導致食品安全問題。</p>	<p><b>風味單一：</b>由於使用的是標準化的發酵劑，風味固定，難以產生天然發酵中那種豐富和多樣的風味層次。</p> <p><b>成本較高：</b>需要購買商業發酵劑，並且需要一定的技術和設備支持，這會增加生產成本。</p>
機會	<p><b>消費者需求增加：</b>隨著對天然、健康食品的需求增長，天然發酵產品有潛力在這類市場中脫穎而出。</p> <p><b>可提升產品的高端形象：</b>天然發酵工藝可以被包裝為高端、手工製作的象徵，吸引對品質有高要求的消費者。</p>	<p><b>擴大生產規模：</b>科學化發酵適合大規模生產，能有效擴展市場佔有率，尤其是在需要穩定品質和快速供應的市場中。</p> <p><b>技術創新：</b>隨著技術的不斷進步，可能開發出更多高效的發酵劑或創新工藝，以改善風味或提升發酵效率。</p>
威脅	<p><b>市場競爭：</b>科學化發酵的產品能更快、更穩定地生產，對天然發酵產品形成競爭壓力。</p> <p><b>質量和安全問題：</b>當產品出現質量不穩定或食品安全問題，會影響品牌形象並降低消費者的信任。</p>	<p><b>市場趨勢轉變：</b>消費者對天然和傳統食品的偏好增強，可能會削弱對科學化發酵產品的需求，在特定市場尤其明顯。</p> <p><b>競爭激烈：</b>其他發酵技術或天然發酵產品的競爭可能會降低科學化發酵產品的市場競爭力。</p>

## 致謝

本研究由台灣農業部一般科技計畫(113 農科-1.3.2-科-22)經費支持相關研究之推動進行。

## 參考文獻

- Amr, A., & Raie, W. (2022). Tomato components and quality parameters. A review. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 18(3), 199-220.
- Izzo, L., Castaldo, L., Lombardi, S., Gaspari, A., Grosso, M., & Ritieni, A. (2022). Bioaccessibility and antioxidant capacity of bioactive compounds from various typologies of canned tomatoes. *Frontiers in Nutrition*, 9, 849163.
- Ozkan, G., Günal-Köroğlu, D., Karadag, A., Capanoglu, E., Cardoso, S. M., Al-Omari, B., . . . Cho, W. C. (2023). A mechanistic updated overview on lycopene as potential anticancer agent. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 161, 114428.
- Perveen, R., Suleria, H. A. R., Anjum, F. M., Butt, M. S., Pasha, I., & Ahmad, S. (2015). Tomato (*Solanum lycopersicum*) carotenoids and lycopenes chemistry; metabolism, absorption, nutrition, and allied health claims—A comprehensive review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(7), 919-929.
- Salehi, B., Sharifi-Rad, R., Sharopov, F., Namiesnik, J., Roojintan, A., Kamle, M., . . . Sharifi-Rad, J. (2019). Beneficial effects and potential risks of tomato consumption for human health: An overview. *Nutrition*, 62, 201-208.
- Shi, J., & Maguer, M. L. (2000). Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(1), 1-42.
- Zhao, L., Maimaitiyiming, R., Hong, J., Wang, L., Mu, Y., Liu, B., . . . Aihaiti, A. (2024). Optimization of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) juice fermentation process and analysis of its metabolites during fermentation. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1344117.