



# 豆清饮料发酵及贮藏过程中品质变化及动力学研究

欧红艳, 赵良忠, 刘 婷, 车丽娜, 伍 涛, 莫 鑫, 庾 坤

(邵阳学院 食品与化学工程学院/豆制品加工与安全控制湖南省重点实验室, 湖南 邵阳 422000)

**摘 要:**为研究豆清饮料发酵及贮藏过程中的品质变化,并构建发酵动力学、稳定性动力学和热力学模型。以豆清液为主要原料,添加低聚果糖、麦芽汁、麦芽糖和酒花发酵成豆清饮料,每隔 2 h 取样测定豆清饮料在发酵过程中的微生物总数、还原糖和总酸,采用经典的 Logistic、Luedeking-pirret 模型进行非线性拟合,构建豆清饮料的发酵动力学模型。将豆清饮料贮藏在不同温度(25, 35, 45 ℃)条件下,每隔 5 d 取样分析贮藏过程中离心沉淀率、总酸、色差值、黏度、pH 和感官评分的变化规律,运用 Arrhenius 方程建立豆清饮料稳定动力学及热力学模型。结果表明:发酵过程中的微生物生长呈现 S 型、总酸的生成与菌体的生长属于部分偶联型。构建模型的 Pearson 相关性分别为 0.989, 0.978 和 0.983,说明试验值与模型值拟合度比较高。贮藏过程中,随着时间的延长,离心沉淀率、色差、粘度呈现递增趋势,感官评分呈现递减趋势。根据离心沉淀率、色差值、黏度和感官评分相关系数( $R^2 > 0.9$ ),建立离心沉淀率、色差值、粘度与感官评分、温度之间的动力学及热力学模型,得到离心沉淀率、色差值和粘度预测模型误差 CV 平均值分别为 4.93%、9.24%、7.64%,表明豆清饮料发酵动力学及稳定性动力学和热力学模型可以用于豆清饮料发酵和贮存稳定性预测。

**关键词:**豆清饮料;品质;发酵动力学;稳定动力学;热力学

## Study on Quality Change and Kinetics of Soybean Whey Beverage During Fermentation and Storage

OU Hong-yan, ZHAO Liang-zhong, LIU Ting, CHE Li-na, WU Tao, MO Xin, YU Kun

(College of Food Science and Chemical Engineering, Shaoyang University/Hunan Provincial Key Laboratory of Soybean Products Processing and Safety Control, Shaoyang 422000, China)

**Abstract:** In order to study on the quality changes of soybean whey beverage during fermentation and storage, the fermentation kinetics, stability kinetics and thermodynamic models were constructed. Soybean whey beverage was fermented by adding fructooligosaccharides, wort, maltose and hop with soybean whey as the main raw materials. The total number of microorganisms, reducing sugar and total acid in the fermentation process of soybean whey beverage were measured every 2 h. The classical Logistic and Luedeking-pirret models were used for nonlinear fitting to construct the fermentation kinetics model of soybean whey beverage. The soybean whey beverages were stored at different temperatures (25, 35 and 45 ℃). The samples were taken every 5 d to analyze the variation of centrifugal sedimentation rate, total acid, color difference, viscosity, pH and sensory score during storage. The Arrhenius equation was used to establish the stability dynamics and thermodynamic model of soybean whey beverages. The results showed that the microbial growth in the fermentation process was S-type, the formation of total acid and the growth of bacteria were part-coupling. The Pearson correlations of the constructed models were 0.989, 0.978 and 0.983, indicating that the experimental values were highly fitted to the model values. During storage, with the extension of time, the centrifugal sedimentation rate, color difference, viscosity showed an increasing trend, and sensory score showed a decreasing trend. Based on the centrifugal sedimentation rate, color difference value, viscosity and sensory evaluation correlation coefficient ( $R^2 > 0.9$ ), the kinetic and thermodynamic models of centrifugal sedimentation rate, color difference, viscosity, sensory score and temperature were established. The average error CV of centrifugal sedimentation rate, color difference and viscosity prediction models were 4.93%, 9.24% and 7.64%, respectively. Fermentation kinetics, stability dynamics and thermodynamics model can be used to predict the fermentation and storage stability of soybean whey beverage.

**Keywords:** Soybean whey beverage; Quality; Fermentation kinetics; Stability dynamics; Thermodynamics

豆清液指在传统豆制品生产过程中蹲脑与压榨过程中产生的上清液<sup>[1]</sup>。豆清液中含有丰富的营养物质,如蛋白质、低聚糖、维生素及大豆异黄酮等功能性物质<sup>[2]</sup>,豆清饮料以豆清液为主要原料,

收稿日期:2021-03-30

基金项目:湖南省科技创新计划(2019TP1028,2019SK2122,2019NK4229);贵州省科技支撑项目(黔科合支撑[2020]1Y150);贵州传统发酵食品工程技术中心(黔科合平台人才[2018]5251);邵阳学院研究生科研创新项目(CX2019SY038)。

第一作者:欧红艳(1996—),女,在读硕士,主要从事豆制品加工与安全控制研究。E-mail:1727070335@qq.com。

通讯作者:赵良忠(1963—),男,教授,主要从事豆制品加工与安全控制研究。E-mail:sys169@163.com。

通过添加辅料和菌种进行发酵而成<sup>[3]</sup>。目前对于豆清饮料的研究主要集中在发酵工艺<sup>[4]</sup>、宏基因组学<sup>[5]</sup>、香气成分<sup>[6]</sup>、生物活性成分<sup>[7]</sup>和抗氧化活性评价<sup>[8-9]</sup>等研究。关于豆清饮料的发酵动力学与贮藏动力学变化规律及模型建立鲜见报道。

发酵动力学主要是研究在发酵过程中微生物生长、基质消耗和产物生成之间的规律,运用数学模型对反应发生速率进行直观描述<sup>[10]</sup>。目前,许多研究已建立不同发酵型饮料如沙棘果酒<sup>[11]</sup>、苹果汁<sup>[12]</sup>、火龙果果酒<sup>[13]</sup>等的发酵动力学模型,能较好地体现菌体浓度、底物浓度和生成物浓度间的关系。

豆清饮料是以水为分散介质,以碳水化合物、蛋白质等为主要分散相的体系,具有热力学不稳定性,随着时间的延长,容易出现分层、沉淀等问题<sup>[14]</sup>,影响产品的感官品质。建立稳定动力学模型可以预测产品达到感官拒绝点时的时间。许多液态产品已通过建立产品的稳定模型来预测产品的货架期。如米酸汤、果汁型豆酸汤饮料、酸乳饮料<sup>[15-17]</sup>等。

本研究以豆清饮料为研究对象,并对发酵过程中的菌体生长、产物生成及底物消耗动力学模型分析发酵过程中各指标动态变化。再对发酵完成的豆清饮料进行贮藏试验,研究在不同温度条件下,豆清饮料的理化指标与感官评分的变化,并获得其化学动力学与热力学参数,在此基础上建立豆清饮料常温贮藏指标的动力学数学模型。本研究旨在为豆清饮料工业化生产提供技术支撑及理论基础,以期豆清饮料贮藏、流通过程中品质控制提供数字化工具,为豆清液的综合利用及新型饮料开发提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

豆清液、克鲁维酵母(*Kluyveromyces marxianus*)、明串珠菌(*Leuconostoc marxianus*)、鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)由湖南省重点实验室提供;大麦芽、麦芽糖、低聚果糖、酒花均为市售;其他试剂均为国产分析纯。

pH S-3C 型 pH 计(上海理达仪器厂)、SW-CJ-2FD 型双人单面垂直净化工作台(江苏通净净化设备有限公司)、IS-RDD3 型台式恒温振荡器(苏州捷美电子有限公司)、UV-1780 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司)、VELOCITY 18R 型高速冷冻离心机(澳大利亚 Dynamica 公司)、CR-400 色彩色差计(常州三丰仪器科技有限公司)、NDJ-5S 旋转黏度计(上海平轩科学仪器有限公司)等。

1.2 试验设计

将种子液按照 5% 的接种量接种于 500 mL 未发酵的豆清饮料中,置于恒温摇床中 60 r·min<sup>-1</sup>、28 ℃ 条件下进行发酵,从 0 h 开始,每隔 2 h 取 35 mL 样液,直至 22 h 时豆清饮料发酵完成,测定样品的总酸、还原糖、活菌数。通过发酵过程中活菌数、总酸、还原糖的变化建立豆清饮料的发酵动力学模型。

运用锥形瓶发酵 10 L 豆清饮料,并将豆清饮料成品分装于 100 mL 的样品瓶中,于 25、35、45 ℃ 恒温箱中贮藏,定时于每个温度梯度中取 3 瓶样品,测定离心沉淀率、总酸、黏度、色差值、pH,并进行感官评分,通过阿伦尼乌斯方程构建稳定动力学模型。

1.3 方法

1.3.1 生产工艺流程 豆清饮料的工艺流程为:豆清液过滤→添加辅料→调节 pH→灭菌→接种→发酵→离心→灭菌→包装→豆清饮料。

豆清液 200 目滤布过滤,添加低聚果糖 5%、麦芽汁 4%、酒花 0.02%、麦芽糖 6%,调节 pH6.0,105 ℃、8 min 灭菌之后接种菌液,菌液体积比 5%、浓度 10<sup>8</sup> CFU·mL<sup>-1</sup>,置于恒温摇床中 60 r·min<sup>-1</sup>、28 ℃ 条件下发酵 22 h,发酵完成后转速 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 20 min,70 ℃ 巴氏杀菌 20 min。

菌液制备方法:将甘油管中保存的菌种分别于 MRS 培养基中划线,用接种环挑取菌体于 5 mL 灭菌的豆清液培养基(添加 1.2% 葡萄糖、0.6% 的乳糖)中驯化,按 3% (V/V) 的接种量接种于 100 mL 豆清液培养基中,置于 28 ℃、150 r·min<sup>-1</sup> 恒温摇床中扩大培养 24 h,最后将克鲁维酵母、明串珠菌、鼠李糖乳杆菌按照 1:1:1 的比例复配。

1.3.2 豆清饮料发酵动力学研究 菌体生长动力学方程:由于发酵过程中微生物的变化曲线呈现 S 型变化趋势,而 Logistic 方程是典型的 S 型曲线,能够很好地反映菌体浓度的增加对菌体生长的抑制作用<sup>[18]</sup>,因此采用 Logistic 方程对发酵过程进行研究。

Logistic 方程:

$$\frac{dC_x}{dt} = k \left( 1 - \frac{C_x}{C_m} \right) \tag{1}$$

以  $t = 0, C_x = C_0$  为条件,对公式(1)进行积分得到:

$$kt = \ln \left( \frac{C_m}{C_0} - 1 \right) + \ln \left( \frac{C_x}{C_m - C_x} \right) \tag{2}$$

或 
$$C_x = C_0 \frac{e^{kt}}{1 - \frac{C_0}{C_m}(1 - e^{kt})} \tag{3}$$

式中: $C_x$  - 活菌数,  $10^7$  CFU · mL<sup>-1</sup>;  $t$  - 时间, h;  $k$  - 微生物的最大比生长速率;  $C_m$  - 菌体最大活菌数,  $10^7$  CFU · mL<sup>-1</sup>;  $C_0$  - 菌体的初始活菌数,  $10^7$  CFU · mL<sup>-1</sup>。

产物生成动力学方程:根据菌体与产物生成的偶联关系,可以分为生长偶联型、部分偶联型、非偶联型,部分偶联型产物的形成与细胞生长部分相关或具有间接关系,例如乳酸发酵<sup>[19]</sup>。总酸的生成在菌体呈现对数增长时也发生相同变化趋势,具有相关性。本研究中微生物的生长与产物生成属于部分偶联型,采用通用模型方程 Luedeking-pirret 表示。对 Luedeking-pirret 方程进行积分得到公式(4):

$$P = P_0 + n_2(C_x - C_0) + n_1 \frac{C_m}{k} \ln \left[ 1 - \frac{C_0(1 - e^{kt})}{C_m} \right] \tag{4}$$

式中: $P$  - 产酸量, g · kg<sup>-1</sup>;  $P_0$  - 初始乳酸量, g · kg<sup>-1</sup>;  $t$  - 时间, h;  $n_1$  - 与菌体量有关的合成系数;  $n_2$  - 与菌体生长有关的合成系数。

基质消耗动力学方程:发酵过程中,底物消耗主要分为3个方面:一是菌体生长的消耗;二是用于合成代谢产物的消耗;三是菌体维持基本生命的消耗<sup>[20]</sup>。利用通用模型方程 Luedeking-pirret 表示,并对其进行积分得到公式(5):

$$S = S_0 - r_2 C_0 \left[ \frac{e^{kt}}{1 - \frac{C_0}{C_m}(1 - e^{kt})} - C_0 \right] - r_1 \frac{C_m}{k} \ln \left[ 1 - \frac{C_0(1 - e^{kt})}{C_m} \right] \tag{5}$$

式中: $S$  - 底物质量浓度, g · L<sup>-1</sup>;  $S_0$  - 初始底物质量浓度, g · L<sup>-1</sup>;  $t$  - 时间, h;  $r_2$  - 底物用于菌体生长的得率系数, g · G<sup>-1</sup>;  $r_1$  - 微生物的维持常数, h<sup>-1</sup>。

1.3.3 豆清饮料储藏稳定性研究 豆清饮料快速贮藏试验:于25,35,45℃恒温箱中贮藏豆清饮料样品,分别于0,5,10,15,20,25,30,35,40,45和50d取样,检测离心沉淀率、总酸、黏度、色差值、pH、感官评分,将感官评分低于50分(感官拒绝点)时设为产品贮存稳定性终点,最后对试验数据进行统计分析,得到贮藏稳定性模型,预测产品的货架期<sup>[17]</sup>。

豆清饮物理化参数热力学与动力学:贮藏期间品质理化参数的变化公式如下:

$$\frac{dC}{dt} = \pm kC^n \tag{6}$$

式中: $C$  -  $t$ 时的物化参数值;  $k$  - 反应速率常数;  $n$  - 反应级数。

若为0级反应,则可以用公式(7)计算反应速

率常数: $C_0 - C = kt$  (7)

若为一级反应,则可以用公式(8)计算反应速率常数:

$$\ln \frac{C_0}{C} = kt \tag{8}$$

若为二级反应,则可以用公式(9)计算反应速率常数:

$$\frac{1}{C_0} - \frac{1}{C} = kt \tag{9}$$

式中: $C_0 - t = 0$ 时的物化参数值。

贮藏时间与反应温度有关的变化用 Arrhenius 方程计算:

$$k = A_0 \exp \left( - \frac{E_a}{RT} \right) \tag{10}$$

式中:  $A_0$  - Arrhenius 常数;  $E_a$  - 活化能 (kJ · mol<sup>-1</sup>);  $R$  - 绝对气体常数 (8.314 J · mol<sup>-1</sup>);  $T$  - 绝对温度 (K)。

根据绝对反应速率理论可以计算反应热力学参数:

$$\Delta H^* = E_a - RT \tag{11}$$

$$k = \frac{K_b T}{h} \exp \left( \frac{\Delta S^*}{R} \right) \exp \left( - \frac{\Delta H^*}{RT} \right) \tag{12}$$

$$\Delta G^* = \Delta H^* - T \Delta S^* \tag{13}$$

式中:  $\Delta S^*$  - J · (mol · K)<sup>-1</sup>;  $K_b$  - Boltzmann 常数 (1.38 × 10<sup>-23</sup> J · K<sup>-1</sup>);  $h$  - Plank 常数 (6.626 × 10<sup>-34</sup> J · s)。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 总酸 参照 GB/T 12456 - 2008《食品中总酸的测定》中酸碱滴定法进行测定,以乳酸计<sup>[21]</sup>。

1.4.2 微生物总数 参照 GB 4789.2 - 2016《食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定》<sup>[22]</sup>。

1.4.3 pH 使用 pH 计直接测定。

1.4.4 还原糖 3,5 - 二硝基水杨酸比色法<sup>[23]</sup>。

1.4.5 色差值 用移液枪准确移取混匀的豆清饮料 2 mL,测定豆清饮料的  $L^*$ 、 $a^*$  和  $b^*$  值,然后按照公式(14)求出  $\Delta E$  值,  $\Delta E$  越大表示样品颜色差异越大<sup>[16]</sup>。

$$\Delta E = \sqrt{(L_1^* - L_2^*)^2 + (a_1^* - a_2^*)^2 + (b_1^* - b_2^*)^2} \tag{14}$$

1.4.6 离心沉淀率 均匀称取 5 g 样品放入离心管中,4℃、10 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 15 min,离心结束后,倒置离心管 5 min 后进行称量,平行测定 3 次,取平均值<sup>[16]</sup>。

1.4.7 粘度 量取 20 mL 豆清饮料,运用 NDJ-5S 旋转黏度计直接测定。

1.4.8 感官 选择 10~15 名同学作为受试者。受试者经专业培训之后选取感官敏锐的 10 人作为产

品的品评人员。具体评分详见表 2, 最终结果取均值。

表 1 感官评价表

Table 1 The sensory evaluation form

评价项目 Evaluation item	评价标准 Evaluation criterion	分值 Score
外观 Appearance	颜色澄清透明,呈现黄绿色,无沉淀与悬浮物	15~20
	澄清透明,色泽呈现棕色,有悬浮物	10~15
	颜色暗黑,有沉淀且浑浊	0~10
气味 Odour	香气纯正,清爽柔和,淡淡果香味、豆香味、酒香味	20~30
	无明显的果香味、酒香、豆香、有明显枣香气	10~20
	酒香、豆香不足、有很明显的枣香	0~10
口感 Taste	有汽水刹口感、口感柔和、酸甜适中、协调	20~30
	刹口感不足、口味偏酸、有苦涩味、味道不协调	10~20
	无刹口感、酸涩、苦、令人不悦	0~10
典型性 Typicality	有典型性、风格良好、回味无穷	15~20
	有典型香味、有点点苦涩味	10~15
	无明显典型风格、苦涩味留存时间太久	0~10

1.5 数据分析

数据采用 Origin 2018 和 IBM SPSS Statistics 22.0 进行图像绘制及处理。

2 结果与分析

2.1 豆清饮料的发酵动力学分析

由图 1 可知,豆清饮料发酵过程中微生物生长

总体呈现 S 型曲线,0~2 h 处于延滞期,菌体生长速度缓慢,产酸量增长缓慢;2~10 h 后进入对数期,菌体呈对数增长,大量产酸,还原糖消耗速度大幅度提高;10~22 h 进入稳定期,菌体生长速度逐渐下降,此时微生物处于增殖与死亡的平衡状态,产酸与还原糖消耗速率处于平缓。

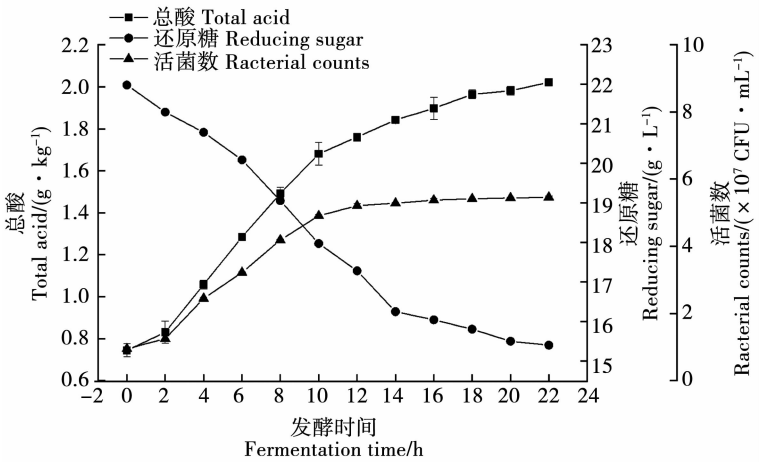


图 1 发酵动力学曲线

Fig. 1 The fermentation kinetic curve

2.2 豆清饮料发酵动力学模型拟合求解与检验

2.2.1 发酵动力学拟合求解 菌体生长动力学方

程: 试验数据代入公式(2)中的  $\ln \frac{C_0}{C_m - C_x}$ , 对时间  $t$  作图, 得到拟合曲线为  $y = 0.285\ 9x - 2.167\ 5, R^2 = 0.975\ 5, k = 0.285\ 9$ 。将  $C_m = 5.46, k = 0.285\ 9$ ,

$C_0 = 0.95$  代入模型得到:

$$C_x = 0.95 \frac{e^{0.285\ 9t}}{1 - \frac{0.95}{5.46}(1 - e^{0.285\ 9t})}$$

(15)

产物生成动力学方程: 通过发酵过程中的总酸和发酵时间  $t$  作图进行拟合, 得到拟合曲线

$y=0.003\ 1x+0.874\ 5$ ,  $R^2=0.916\ 3$ ,  $dP/dt=0.003\ 1$ ,  $n_2=0.000\ 6$ 。以  $P-\beta B(t)\sim A(t)$  作图,  $y=0.259\ 1x+0.500\ 6$ ,  $R^2=0.983\ 1$  得到  $n_1=0.295\ 1$ , 将参数代入模型得到:

$$P=0.744+0.280\ 3\times\left[\frac{e^{0.285\ 9t}}{1-\frac{0.95}{5.46}(1-e^{0.285\ 9t})}-1\right]+0.011\ln\left[1-\frac{0.95}{5.46}(1-e^{0.285\ 9t})\right]\tag{16}$$

基质消耗动力学方程:通过对发酵过程中的还原糖和发酵时间  $t$  作图进行拟合, 得到拟合曲线  $y=-0.368\ 6x+22.083$ ,  $R^2=0.958\ 1$ ,  $dS/dt=-0.368\ 6$ ,  $k_2=0.067\ 5$ 。  $S-S_0-k_2D(t)\sim C(t)$  作图, 得到  $y=-0.172\ 6x+0.225\ 8$ ,  $k_1=0.175\ 7$ 。将

参数代入模型得到:

$$S=21.981\ 9-0.164\times\left[\frac{e^{0.285\ 9t}}{1-\frac{0.95}{5.46}(1-e^{0.285\ 9t})}-1\right]-1.289\ln\left[1-\frac{0.95}{5.46}(1-e^{0.285\ 9t})\right]\tag{17}$$

2.2.2 模型验证 运用 Origin 2018 对发酵过程中活菌数、还原糖、总酸的试验值与模型值进行拟合, 得到如图 2 拟合曲线。菌体生长动力学模型、还原糖消耗动力学模型、总酸生成动力学模型相关系数  $R^2$  分别为 0.989, 0.983 和 0.978。模型值与试验值拟合度比较高, 能够很好地反映发酵过程中的物质变化规律。

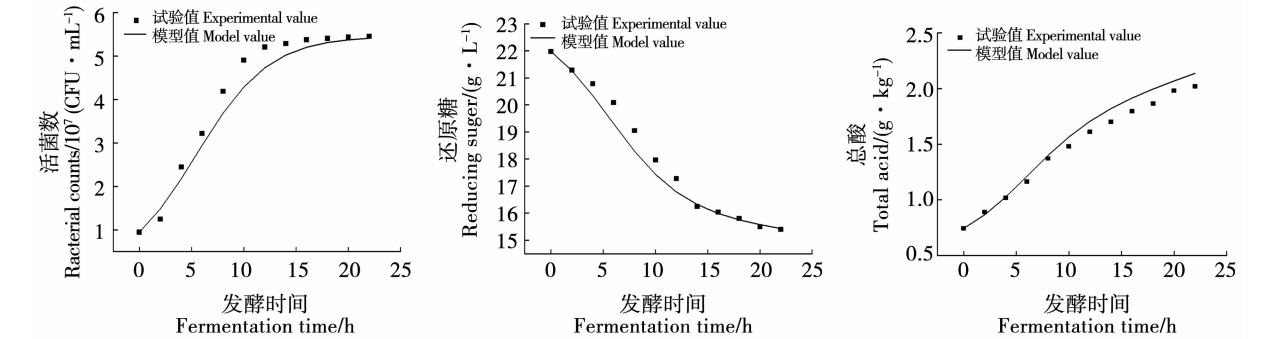


图2 模型试验值与模型值对比图

Fig.2 The comparison diagram of model experimental value and model value

2.3 豆清饮料贮藏期间理化指标的变化

2.3.1 离心沉淀率 由图 3a 可知, 离心沉淀率随温度的升高而增大, 温度升高, 分子之间热运动加剧, 相互碰撞概率增加, 大分子物质容易聚集形成大颗粒物质, 在重力作用下会形成沉淀。在相同温度条件下, 离心沉淀率随时间延长而增加, 随着贮藏时间越长, 分子之间碰撞聚集的次数越多, 沉淀积累越多, 且饮料中的阴阳离子随着时间变化影响体系电性平衡, 引起胶体物质和悬浮物的沉淀<sup>[24]</sup>。

2.3.2 总酸含量 由图 3b 可知, 在相同温度下, 总酸随贮藏时间延长而无明显变化, 豆清饮料发酵菌株在高温贮藏过程中可在合理范围内消灭。相同时间, 35℃条件下总酸含量比 45 和 25℃略高, 原因是 35℃是乳酸菌最适生长与发酵温度。

2.3.3 pH 由图 3c 可知, pH 值的变化趋势与总酸变化趋势相一致, 总酸的变化可以用 pH 值直观地体现。

2.3.4 色差值 由图 3d 可知, 在相同时间, 豆清饮料的色差值随温度上升而增加, 相同温度条件下,

豆清饮料的色差值随着时间的递增而增加。豆清饮料中羰基化合物和氨基化合物发生美拉德反应, 生成类黑精, 导致豆清饮料颜色加深。一般情况下, 美拉德反应速率随加工温度的上升而加快, 且随着时间的延长, 美拉德反应终产物会发生积累<sup>[25]</sup>, 导致豆清饮料颜色加深。

2.3.5 粘度 由图 3e 可知, 在相同温度, 样品的黏度随时间延长而增大, 在相同时间, 温度越高样品的粘度越大, 粘度主要是流体流动过程中所表现的阻力。豆清饮料在贮藏期间小分子物质聚集成大分子物质, 表现为样品流动阻力增加, 粘度增加。

2.3.6 感官评分 由图 3f 可知, 在不同贮藏温度条件下, 豆清饮料的感官评分随贮藏温度的增加而减少; 在同一温度下贮藏时, 贮藏时间越长, 感官评分越低。贮藏过程中的颗粒聚集, 黏度增加, 豆清饮料的内部形态改变, 美拉德反应加快, 色泽变深, 没有光泽, 口感降低, 多种呈味物质与气味产生, 影响产品气味的协调性。

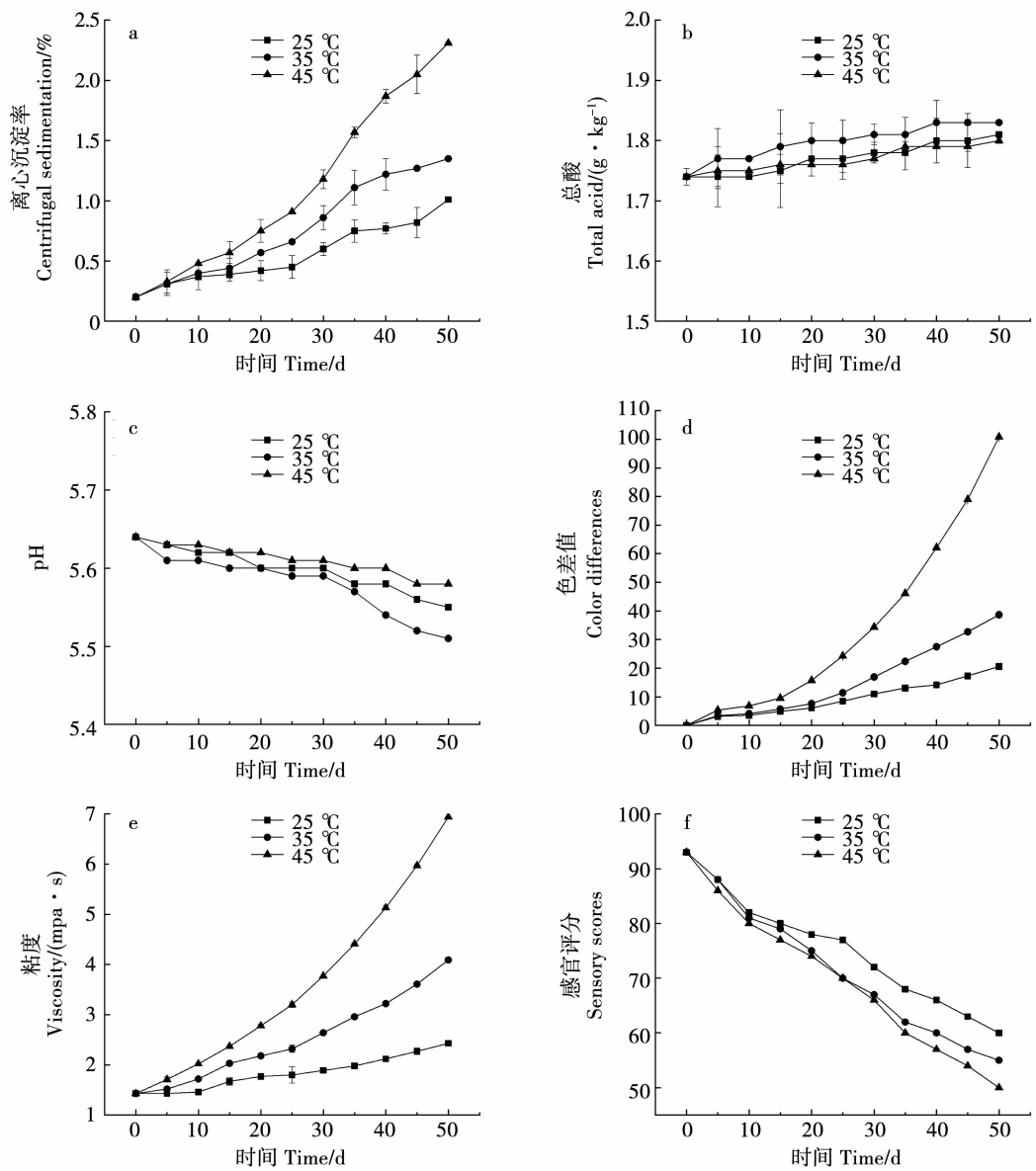


图3 产品的理化指标随储存时间变化曲线

Fig. 3 The curve of physical and chemical parameters of the product changing with storage time

2.3.7 预测模型主要因素确定 通过贮藏期间理化指标的相关性分析结果表明,在贮藏温度为 25, 35 和 45 °C 时,感官评分与离心沉淀率、总酸、pH、色差、粘度的 Pearson 相关系数均大于 0.9,均为极显著相关。25 °C 时( $r$  为  $-0.976$ ,  $-0.953$ ,  $0.974$ ,  $-0.979$  和  $-0.966$ ); 35 °C 时( $r$  为  $-0.977$ ,  $-0.967$ ,  $0.927$ ,  $-0.946$  和  $-0.962$ ); 45 °C 时( $r$  为  $-0.976$ ,  $-0.972$ ,  $0.971$ ,  $-0.936$  和  $-0.967$ ),但是在 35 °C 时总酸偏高、pH 偏低,与不同温度条件下其他理化指标的变化趋势不一致。产品是否达到货架期终点,主要通过微生物数量或感官接受度进行评判。贮藏过程中,微生物数量均处于国家标准要求的安全范围内。感官评价具有强烈的主观特

性。综上所述,离心沉淀率、色差值和粘度作为豆清饮料贮存稳定性动力学和热力学预测模型的主要因素较为科学。

2.3.8 理化参数的热力学与动力学分析 将离心沉淀率、色差值、粘度数据代入零级、一级和二级方程<sup>[26]</sup>中,得到在不同贮藏温度时的反应速率常数  $k$  及回归判别系数  $R^2$ (表 3)。 $R^2$  数值越大,则代表方程拟合程度越高,总体线性关系越好<sup>[27]</sup>。离心沉淀率、色差值、粘度的一级反应系数  $R^2$  均大于 0.9,且一级反应系数  $\Sigma R^2$  均大于零级与二级反应。综合得到不同贮藏温度中豆清饮物理化品质指标的变化,符合一级反应动力学模型。

表 2 豆清饮料品质指标之间的相关性分析

Table 2 The correlation analysis of quality indexes of soybean whey beverage

温度 Temperature /℃	指标 Index	离心沉淀率 Centrifugal sedimentation rate	总酸 Total acid	pH	色差 Color differences	粘度 Viscosity	感官评分 Sensory scores
25	离心沉淀率 Centrifugal sedimentation rat	1					
	总酸 Total acid	0.945 **	1				
	pH	-0.970 **	-0.958 **	1			
	色差 Color differences	0.990 **	0.964 **	-0.981 **	1		
	粘度 Viscosity	0.968 **	0.983 **	-0.978 **	0.983 **	1	
	感官评分 Sensory scores	-0.976 **	-0.953 **	0.974 **	-0.979 **	-0.966 **	1
35	离心沉淀率 Centrifugal sedimentation rat	1					
	总酸 Total acid	0.930 **	1				
	pH	-0.951 **	-0.908 **	1			
	色差 Color differences	0.982 **	0.894 **	-0.977 **	1		
	粘度 Viscosity	0.979 **	0.917 **	-0.972 **	0.992 **	1	
	感官评分 Sensory scores	-0.977 **	-0.967 **	0.927 **	-0.946 **	-0.962 **	1
45	离心沉淀率 Centrifugal sedimentation rat	1					
	总酸 Total acid	0.979 **	1				
	pH	-0.971 **	-0.950 **	1			
	色差 Color differences	0.983 **	0.944 **	-0.961 **	1		
	粘度 Viscosity	0.994 **	0.963 **	-0.977 **	-0.994 **	1	
	感官评分 Sensory scores	-0.976 **	-0.972 **	0.971 **	-0.936 **	-0.967 **	1

\*\* 代表极显著相关( $P<0.01$ )。

\*\* indicate very significant correlation ( $P<0.01$ ).

表 3 不同贮藏温度下品质变化的动力学模型参数

Table 3 The kinetic model parameters of quality variation at different storage temperatures

指标 Index	温度 Temperature /℃	0 级动力学 Zero-order kinetics			一级动力学 First-order kinetics			二级动力学 Two-order kinetics		
		<i>k</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	Σ <i>R</i> <sup>2</sup>	<i>k</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	Σ <i>R</i> <sup>2</sup>	<i>k</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	Σ <i>R</i> <sup>2</sup>
离心沉淀率 Centrifugal sedimentation rat	25	0.0742	0.9528	2.8973	0.1440	0.9576	2.9127	-0.3321	0.8401	2.4213
	35	0.1245	0.9747		0.1890	0.9829		-0.3578	0.8163	
	45	0.2187	0.9698		0.2375	0.9722		-0.3675	0.7649	
色差值 Color differences	25	1.9597	0.9732	2.8490	0.2168	0.9828	2.9580	-0.0298	0.8931	2.6120
	35	4.0995	0.9536		0.2895	0.9855		-0.0294	0.8787	
	45	10.4730	0.9222		0.3419	0.9897		-0.0188	0.8402	
粘度 Viscosity	25	0.1005	0.9714	2.9053	0.0548	0.9783	2.9739	-0.0303	0.9729	2.8934
	35	0.2587	0.9731		0.1047	0.9960		-0.0453	0.9742	
	45	0.5363	0.9608		0.1567	0.9996		-0.0529	0.9463	

2.4 稳定动力学模型

根据公式(10)运用 ln*k* 对 1/*T* 作图,求出不同指标在不同温度条件下反应活化能 *E<sub>a</sub>*,代入到公式(11)~(13),计算反应的热力学参数 Δ*H*<sup>\*</sup>、Δ*S*<sup>\*</sup> 和 Δ*G*<sup>\*</sup>。由表 4 可知,粘度的活化能 *E<sub>a</sub>* 均大于离心沉淀率与色差值,而色差值的活化能最低,活化能指化学反应发生所需要的能量,能量越高,化学反应越难发生,粘度发生改变所需的能量越多,反应越

难进行<sup>[28]</sup>。离心沉淀率、色差值和粘度的吉布斯自由能为 80.80~87.25 kJ·mol<sup>-1</sup>,吉布斯自由能在化学热力学中可以判断反应发生的方向<sup>[28]</sup>,可以得知所发生的反应均为非自发反应。吉布斯自由能与温度之间呈现良好的线性关系,吉布斯自由能与温度的回归方程详见表 5。对贮藏期间物理化学指标参数和感官值进行回归拟合,得到的回归方程和相关关系详见表 6。

表 4 动力学与热力学参数

Table 4 The kinetic and thermodynamic parameters

理化指标 Phsicochemical index	温度 Temperature/K	<i>k</i> /(d <sup>-1</sup> )	<i>E<sub>a</sub></i> /(kJ·mol <sup>-1</sup> )	Δ <i>H</i> <sup>*</sup> /(kJ·mol <sup>-1</sup> )	Δ <i>S</i> <sup>*</sup> /[J·(mol·K) <sup>-1</sup> ]	Δ <i>G</i> <sup>*</sup> /(kJ·mol <sup>-1</sup> )
离心沉淀率 Centrifugal sedimentation rate	298.15	0.0288	19.74	17.26	-216.51	81.81
	308.15	0.0378	19.74	17.18	-216.66	83.94
	318.15	0.0475	19.74	17.09	-217.06	86.15
色差值 Color differences	298.15	0.0434	17.98	15.50	-219.00	80.80
	308.15	0.0579	17.98	15.42	-218.83	82.85
	318.15	0.0684	17.98	15.33	-219.56	85.18
粘度 Viscosity	298.15	0.0109	41.68	39.20	-151.00	84.22
	308.15	0.0210	41.68	39.12	-150.35	85.45
	318.15	0.0313	41.68	39.03	-151.57	87.25

表 5 理化参数吉布斯自由能与温度的回归方程

Table 5 The regression equation of physical and chemical parameters Gibbs free energy and temperature

理化指标 Phsicochemical index	回归方程 Regression equation	<i>R</i> <sup>2</sup>
离心沉淀率 Centrifugal sedimentation rate	Δ <i>G</i> <sup>*</sup> = 0.2168 <i>T</i> + 17.158	0.9999
色差值 Color differences	Δ <i>G</i> <sup>*</sup> = 0.2194 <i>T</i> + 15.332	0.9987
粘度 Viscosity	Δ <i>G</i> <sup>*</sup> = 0.1516 <i>T</i> + 38.939	0.9882

表 6 不同温度下理化指标回归方程

Table 6 The regression equation of physical and chemical indexes at different temperatures

理化指标 Phsicochemical index	温度 Temperature/℃	回归方程 Regression equation	R <sup>2</sup>
离心沉淀率 Centrifugal sedimentation rat	25	$SS = -40.331CSR + 97.523$	0.9517
	35	$SS = -29.739CSR + 94.226$	0.9548
	45	$SS = -18.215CSR + 89.962$	0.9525
色差值 Color differences	25	$SS = -1.573E + 89.842$	0.9581
	35	$SS = -0.918E + 85.789$	0.8941
	45	$SS = -0.385E + 83.188$	0.8760
粘度 Viscosity	25	$SS = -29.805V + 130.010$	0.9344
	35	$SS = -14.075V + 107.020$	0.9248
	45	$SS = -7.325V + 96.185$	0.9346

SS - 感官评分; CRS - 离心沉淀率; E - 色差值; V - 粘度。  
SS - Sensory score; CRS - Centrifugal sedimentation rate; E - Color difference value; V - Viscosity.

2.4.1 动力学与热力学模型 从表 6 中可以得知, 感官评分与理化指标之间相关系数均比较高, 因此选择 35 ℃ 时离心沉淀率、25 ℃ 时色差值、45 ℃ 时粘度的回归方程。把离心沉淀率、色差值、粘度与感官评分的回归方程(表 6)和吉布斯自由能 Δ*G*<sup>\*</sup> 与 *T* 的回归方程(表 5)分别代入公式(6)、(10) ~ (13), 得到豆清饮料离心沉淀率、色差值和粘度的稳定动力学和热力学的模型。

$$SS = -29.739\left\{CSR_0\exp\left[t\frac{k_bT}{h}\exp\frac{-(216.8\times T+17\,158)}{RT}\right]\right\}+94.226$$

(18)

$$SS = -1.573\,2\left\{E_0\exp\left[t\frac{k_bT}{h}\exp\frac{-(219.4\times T+15\,332)}{RT}\right]\right\}$$

+ 89.842

(19)

$$SS = -7.324\,9\left\{V_0\exp\left[t\frac{k_bT}{h}\exp\frac{-(151.6\times T+38\,939)}{RT}\right]\right\}+96.185$$

(20)

2.4.2 精确度评价 根据试验数据,得到豆清饮料在不同温度条件下预测时间,计算预测标准差、模型残差变异系数<sup>[17]</sup>。得到离心沉淀率、色差值与粘度的模型残差变异系数平均值分别为 4.93%、9.24% 和 7.64%,均小于 15%(表 7),则可以表明该模型能够比较精确地预测豆清饮料的货架期,可以满足预测豆清饮料稳定性的要求。

表 7 稳定性预测模型的残差变异系数

Table 7 The residual variation coefficient of stability prediction model

理化指标 Phsicochemical index	温度 Temperature/K	稳定时间观察 Observation of stable time/d	稳定时间预测 Stability time prediction/d	预测标准差 Standard deviation of prediction	模型残差变异系数 Coefficient of variation of model residual/%
离心沉淀率 Centrifugal sedimentation rat	298.15	120	119.74	4.44	4.93
	308.15	90	91.01		
	318.15	60	57.93		
色差值 Color differences	298.15	120	113.62	8.32	9.24
	308.15	90	91.02		
	318.15	60	55.71		
粘度 Viscosity	298.15	120	121.17	6.88	7.64
	308.15	90	87.25		
	318.15	60	62.00		

3 讨 论

发酵动力学主要通过运用数学模型模拟发酵过程中的微生物动态变化过程,其核心是菌体的生长变化情况,微生物通过生长与代谢直接影响基质的消耗以及产物的生成,选择合适的模型进行拟合具有重要意义。

饮料在贮藏过程中发生一系列化学反应,且随着时间的延长与温度的升高,化学反应发生越剧烈,劣变程度越高。随着贮藏时间的延长,产品的颜色越深,这与汪洁琼等<sup>[29]</sup>的研究结果一致,主要是在贮藏过程中发生美拉德反应或者豆清饮料中的大豆异黄酮类物质发生氧化。美拉德反应广泛存在与食品的加工及贮藏过程中,主要是由羰基化合物和氨基化合物在常温或加热时发生的一系列氧化、环化、脱水、聚合等反应,能产生类黑精等物质。大豆异黄酮属于多酚类物质,容易氧化成具有非常强烈的亲电子基团的邻醌,进而很容易氧化成各种有色物质。随着贮藏时间延长,离心沉淀率与粘度增大,与王容等<sup>[15]</sup>的研究结果一致。根据 Stokes'定律,分子半径越大,沉降速度越快。因此可能由于亲水胶体含量低,大分子物质比较多。

4 结 论

本研究采用经典的 Logistic、Luedeking-pirret 和 Luedeking-pirret 发酵动力学模型对豆清饮料分批发酵过程的菌体生长、还原糖基质消耗和总酸产量生成进行非线性拟合,模型 Pearson 相关性分别为 0.989、0.978 和 0.983。可以看出 3 个模型的模型值与试验值拟合曲线比较理想,模型均能较好地描述豆清饮料发酵过程的动力学特征。

豆清饮料贮藏过程中理化指标的变化与感官评分的相关性分析得到离心沉淀率、色差值和粘度作为豆清饮料稳定性模型的主要指标。建立豆清饮料离心沉淀率、色差值、粘度、感官评分与贮藏时间、贮藏温度之间的动力学和热力学模型。实际数据与模型预测值进行对比,得到离心沉淀率、色差值、粘度的模型残差变异系数平均值分别为 4.93%、9.24% 和 7.64%,数值均小于 15%。因此,豆清饮料以沉淀率、色差值和粘度为参考指标建立的预测模型能够精确预测豆清饮料的稳定性,为豆清饮料货架期提供参考。

参考文献

[1] 孔彦卓,尹乐斌,雷志明,等.豆清液综合利用研究进展[J].现代农业科技,2017(1):247-249. (Kong Y Z, Yin L B, Lei

Z M, et al. Research progress on comprehensive utilization of soybean processing waste water[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2017(1): 247-249.)

[2] 杨凤吾.黄浆水发酵生产细菌纤维素的研究及应用[D].长沙:湖南农业大学,2009. (Yang F W. Studies on the production of bacterial cellulose using bean curd wastewater and application of bacterial cellulose [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2009.)

[3] 欧红艳,赵良忠,王容,等.多菌株协同发酵豆清饮料工艺优化[J].食品安全质量检测学报,2020,11(16):5635-5640. (Ou H Y, Zhao L Z, Wang R, et al. Optimization of multi-strain co-fermentation process for Douqing beverage[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(16): 5635-5640.)

[4] Zhu Y, Wang Z M, Zhang L. Optimization of lactic acid fermentation conditions for fermented tofu whey beverage with high-isoflavone aglycones [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 111:211-217.

[5] Tu C H, Azi F, Huang J, et al. Quality and metagenomic evaluation of a novel functional beverage produced from soy whey using water kefir grains[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019,113:108258.

[6] Chua J Y, Lu Y Y, Liu S Q. Evaluation of five commercial non-Saccharomyces yeasts in fermentation of soy (tofu) whey into an alcoholic beverage[J]. Food Microbiology, 2018, 76: 533-542.

[7] Benedetti S, et al. Utilization of tofu whey concentrate by nanofiltration process aimed at obtaining a functional fermented lactic beverage[J]. Journal of Food Engineering, 2016, 171: 222-229.

[8] 杜欣.发酵黄浆水的抗氧化和抑菌活性研究[D].广州:华南理工大学,2014. (Du X. Studies on the antioxidant and bacteriostatic activities of fermented soybean wheys [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2014.)

[9] Fei Y T, Liu L, Liu D M. Investigation on the safety of Lactobacillus amylolyticus L6 and its fermentation properties of tofu whey[J]. LWT - Food Science and Technology, 2017, 84:314-322.

[10] 张佩,陈默,胡国元.胞内羧甲基茯苓多糖的发酵动力学[J].食品与发酵工业,2020,46(6):49-53. (Zhang P, Chen M, Hu G Y. Study on fermentation kinetics of intracellular carboxymethylpachyman[J]. Food and Fermentation Industries, 2020,46(6):49-53.)

[11] 张琪,朱丹,牛广财,等.沙棘果酒发酵动力学及其抗氧化活性[J].食品与发酵工业,2019,45(15):53-58. (Zhang Q, Zhu D, Niu G C, et al. Fermentation kinetics and antioxidant activity of sea buckthorn wine [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(15): 53-58.)

[12] 孟掉琴,吴霞,岳田利.混菌发酵苹果浊汁的益生菌筛选及其发酵动力学模型构建[J].食品科学,2019,40(12):153-159. (Meng D Q, Wu X, Yue T L, et al. Screening of probiotics for mixed culture fermentation of cloudy apple juice and construction of kinetic models[J]. Food Science, 2019,40(12): 153-159.)

[13] 靳梦楚,李雪,张宇翔.红心火龙果果酒发酵动力学研究[J].食品科技,2017,42(6):106-110. (Jin M C, Li X, Zhang Y X, et al. Fermentation kinetics of red pulp hylocereusundatus wine [J]. Food Science and Technology, 2017, 42(6): 106-110.)

[14] 黄迪宇.青稞酒糟饮料的制备及稳定性研究[D].无锡:江南

大学, 2017. (Huang D Y. Studies on preparation and stability of highland barley diaff beverage[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.)

[15] 王容, 赵良忠, 莫鑫, 等. 米酸汤发酵工艺优化及贮存稳定性预测模型[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(6): 191-198. (Wang R, Zhao L Z, Mo X, et al. Research on the optimization of fermentation technology and the prediction model of storage stability of rice acid soup[J]. Food & Fermentation Industry, 2020, 46(6): 191-198.)

[16] 李明, 赵良忠, 王容, 等. 果汁型豆酸汤饮料稳定性动力学模型初探[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(9): 2555-2561. (Li M, Zhao L Z, Wang R, et al. Exploration on stability kinetics model of juice soysour soup beverage [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(9): 2555-2561.)

[17] 张立永. 酸乳饮料贮藏期理化参数变化动力学及产品稳定性预测方法研究[D]. 无锡: 江南大学, 2007. (Zhang L Y. Study on the kinetics of physicochemical parameters of acidified milk drinks during storage and method of stability prediction[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2007.)

[18] 黎继烈, 崔培梧, 李忠海. 柚苷酶产生菌 *Penicillium* sp. 1523 分批发酵动力学研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(1): 32-37. (Li J L, Cui P W, Li Z H. Batch fermentation kinetics of naringinase producing strain *Penicillium* sp. 1523 [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012, 12(1): 32-37.)

[19] 吴悦, 李强, 林燕, 等. 酵母乙醇发酵动力学模型研究[J]. 可再生能源, 2014, 32(2): 229-233. (Wu Y, Li Q, Lin Y, et al. Study on kinetic models of anaerobic ethanol fermentation[J]. Renewable Energy Resources, 2014, 32(2): 229-233.)

[20] Luedeking R, Piret E L. A kinetic study of the lactic acid fermentation. Batch process at controlled pH [J]. Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering, 1959, 1(4): 393-412.

[21] 国家卫生健康委员会. 食品中总酸的测定: GB/T 12456-2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 1-5. (National Health Commission. Determination of total acid in food: GB/T 12456-2008 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2008: 1-5.)

[22] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB 4789.2-2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-7. (National Health and Family Planning Commission of PRC. National food safety standard food microbiological examination: Aerobic plate count: GB 4789.2-2016 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 1-7.)

[23] 赵凯, 许鹏举, 谷广烨. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. 食品科学, 2008(8): 534-536. (Zhao K, Xu P J, Gu G Y. Study on determination of reducing sugar content using 3, 5-Dinitrosalicylic acid method[J]. Food Science, 2008 (8): 534-536.)

[24] 尹修权, 曹玉发, 张敏, 等. 浅析果蔬汁饮料浑浊与沉淀产生的原因及控制方法[J]. 江苏食品与发酵, 2008(2): 39-40. (Yin X Q, Cao Y F, Zhang M, et al. Analysis on the causes and control methods of turbidity and precipitation in fruit and vegetable juice drinks [J]. Jiangsu Food & Fermentation, 2008 (2): 39-40.)

[25] 韩易, 赵燕, 徐明生, 等. 美拉德反应产物类黑精的研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(9): 339-345. (Han Y, Zhao Y, Xu M S, et al. Research progress on the melanoidins of maillard reaction product [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(9): 339-345.)

[26] 张惠. 抹茶加工贮藏期品质变化及货架期预测[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2019. (Zhang H. Quality change and shelf life prediction of matcha during processing and storage period [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2019.)

[27] 马露, 孔维洲, 王丽萍, 等. 响应面法优化发酵鹿肉干工艺及其货架期预测[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(12): 2109-2119. (Ma L, Kong W Z, Wang L P, et al. Optimization of processing conditions for venison jerky fermented by response surface methodology and its shelf life prediction [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2019, 31(12): 2109-2119.)

[28] 傅献彩, 沈文霞, 姚天扬. 物理化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 158-176. (Fu X C, Shen W X, Yao T Y. Physical chemistry [M]. Beijing: Higher Education Press, 2005: 158-176.)

[29] 汪洁琼, 杨悦, 汪芳, 等. 蔗糖对绿茶饮料理化成分及其风味稳定性的影响[J]. 中国食品学报, 2020, 20(4): 142-151. (Wang J Q, Yang Y, Wang F, et al. Effect of sucrose on the physicochemical composition and flavor stability of green tea beverages[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(4): 142-151.)