

新疆无核白葡萄叶混合乳酸菌发酵工艺优化 及发酵液抗氧化活性评价

凯迪日亚·阿布拉¹ 努尔古丽·热合曼¹ 王小艺² 朱晓莹² 陈建玲²

(1. 新疆师范大学生命科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830017; 2. 新疆师范大学生命科学学院特殊环境物种保护与
调控生物学实验室, 新疆 乌鲁木齐 830017)

摘要: [目的] 优化混合乳酸菌发酵葡萄叶的工艺条件, 提升其抗氧化活性。[方法] 以副干酪乳杆菌 (*Lactocaseibacillus paracasei*) TM-27、短乳杆菌 (*Lactobacillus brevis*) KM-6 和植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) NG-120 为试验菌株, 通过测定 pH、活菌数、DPPH 自由基清除率、ABTS⁺ 自由基清除率、羟自由基清除率、铁还原能力及总多酚含量、总黄酮含量, 筛选最佳混合菌种比例; 采用单因素试验结合响应面法, 对发酵关键工艺参数进行优化。[结果] 混合乳酸菌发酵的最优工艺条件为 TM-27、KM-6 和 NG-120 体积比 1:1:2, 发酵时间 69 h、发酵温度 43 ℃、接种量 4%, 此条件下的 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基和羟自由基清除率分别为 (76.43±0.74)%, (98.71±0.16)%, (54.35±0.37)%, 铁还原能力为 (65.65±0.28)%, 总黄酮含量为 (1.728±0.002) mg/mL, 总多酚含量为 (2.340±0.003) mg/mL, 实测值与预测值吻合良好。[结论] 通过乳酸菌混合发酵可显著提升葡萄叶的抗氧化活性。

关键词: 葡萄叶; 乳酸菌; 混合发酵; 工艺优化; 抗氧化活性

Process optimization for mixed lactic acid bacteria fermentation of Xinjiang Thompson seedless grape leaves and antioxidant activity evaluation of fermentation broth

Abula Kaidiriyia¹ Rahman Nurgul¹ Wang Xiaoyi² Zhu Xiaoying² Chen Jianling²

(1. School of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi, Xinjiang 830017, China;

2. Xinjiang Key Laboratory of Special Species Conservation and Regulatory Biology,

School of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi, Xinjiang 830017, China)

Abstract: [Objective] To optimize the fermentation process of mixed lactic acid bacteria for grape leaves and to improve their antioxidant activity. [Methods] Using *Lactocaseibacillus paracasei* TM-27, *Lactobacillus brevis* KM-6, and *Lactobacillus plantarum* NG-120 as test strains, the optimal mixed strain ratio is selected by measuring pH, viable bacteria count, DPPH, ABTS⁺, and hydroxyl free radical scavenging rates, iron-reducing capacity, total polyphenol content, and total flavonoid content. Furthermore, key fermentation process parameters are optimized via single-factor experiments combined with response surface methodology. [Results] The optimal fermentation conditions of mixed lactic acid bacteria are as follows: the volume ratio of TM-27:KM-6:NG-120=1:1:2, fermentation time 69 h, fermentation temperature 43 ℃, and inoculation amount 4%. Under these conditions, the DPPH, ABTS⁺, and hydroxyl free radical scavenging rates are (76.43±0.74)%, (98.71±0.16)%, and (54.35±0.37)%, respectively. The iron reducing power is (65.65±0.28)%, the total flavonoid

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目 (编号: 32060528)

通信作者: 努尔古丽·热合曼 (1972—), 女, 新疆师范大学教授, 博士。E-mail: nurgulum@163.com

收稿日期: 2026-06-07 **改回日期:** 2026-08-11

引用格式: 凯迪日亚·阿布拉, 努尔古丽·热合曼, 王小艺, 等. 新疆无核白葡萄叶混合乳酸菌发酵工艺优化及发酵液抗氧化活性评价 [J]. 食品与机械, 2026, 42(9): 143-151.

Citation: Abula Kaidiriyia, Rahman Nurgul, Wang Xiaoyi, et al. Process optimization for mixed lactic acid bacteria fermentation of Xinjiang Thompson seedless grape leaves and antioxidant activity evaluation of fermentation broth[J]. Food & Machinery, 2026, 42(9): 143-151.

content is (1.728 ± 0.002) mg/mL, and the total polyphenol content is (2.340 ± 0.003) mg/mL. The measured values are in good agreement with the predicted values. **[Conclusion]** Mixed fermentation with lactic acid bacteria can significantly enhance the antioxidant activity of grape leaves.

Keywords: grape leaf; lactic acid bacteria (LAB); mixed fermentation; process optimization; antioxidant activity

吐鲁番作为中国葡萄主产区,每年产生大量葡萄叶、葡萄籽等副产品,却常因开发不足被当作废弃物丢弃,不仅造成资源浪费,还易引发环境问题。葡萄叶为传统中药材料,可用于缓解呕吐、水肿、小便不利及目赤等不适症状^[1-2];Fábio等^[3-4]研究表明,葡萄叶中的多酚类成分可通过清除自由基、抑制脂质过氧化等机制缓解氧化应激,对延缓衰老、预防慢性疾病具有应用价值,为天然抗氧化剂研发的优质原料。在希腊等国家,葡萄叶早已被纳入烹饪食材范畴^[5-6]。此外,Rathod等^[7-8]研究证实,葡萄叶中的酚类物质还具备抗肿瘤、抑制致病菌生长、调节免疫功能及保护心血管系统等多重作用。综合来看,葡萄叶在生物活性成分储备上潜力显著,尤其是其抗氧化特性,后续亟待更深入的研究与开发。

乳酸菌作为一类兼具重要生理功能及工业应用价值的微生物资源^[9-10],不仅能有效改善食品风味,还能通过发酵作用赋能其他原料^[11]。蒋丙婷等^[12]研究证明,部分植物原料经乳酸菌发酵后,其发酵液中的活性物质含量会显著增加,对应的抗氧化活性也得到明显提升。此外,加上乳酸菌自身具备清除自由基的能力^[13],更能通过发酵作用赋能其他原料,表明乳酸菌发酵技术可通过调控植物原料的成分转化,不仅能促使人体吸收还能增强其自由基清除能力,进而帮助改善机体氧化应激状态。

研究拟以吐鲁番无核白葡萄叶为原料,在前期菌株筛选基础上,通过单因素试验结合响应面法构建发酵优化体系,旨在为葡萄叶资源的高效利用提供技术支撑,并为开发基于葡萄叶的天然抗氧化剂产品提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 样品来源

无核白葡萄叶样品:当年当季采集且未处理的新鲜叶子,密封运送至实验室,吐鲁番市鄯善县连木沁镇新疆黄金叶子食品有限公司;

副干酪乳杆菌(*Lacticaseibacillus paracasei*) TM-27:分离自塔县奶酪;

短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*) KM-6:分离自乌市奶疙瘩;

植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) NG-120、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) NG-132:分离自阿图什酸奶。

1.1.2 试剂与仪器设备

无水乙醇等:分析纯,天津市致远化学试剂有限公司;

制冰机:SIM-F140BDL型,松下电器产业株式会社;
冷冻离心机:HR/20M型,湖南赫西仪器装备有限公司;

分析天平:MS105DU型,瑞士METTLER TOLEDO公司;

全自动样品快速研磨仪:JXFSTPRP-64L型,上海净信实业发展有限公司;

数控超声波清洗器:LC-MUC-100S型,上海力辰邦西仪器科技有限公司;

冷冻干燥机:FDU-1200型,上海爱朗仪器有限公司;

天平:YP2002型,上海佑科仪器仪表有限公司;

旋涡混合器:XH-C型,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 混菌发酵比例筛选 以TM-27、KM-6、NG-120和NG-132为发酵菌株,分别以2%接种量接入MRS液体培养基,于37℃恒温培养48h,连续活化2次,确保菌株处于稳定活性状态,备用。按表1将各种菌株混匀,同时以无菌葡萄叶为对照组(G11)。取1.0g吐鲁番无核白葡萄叶干粉与40mL无菌水混匀,121℃灭菌20min;冷却后,接入活化后的混合菌液,于37℃摇床中发酵72h,制备葡萄叶发酵液,测定发酵液中相关理化指标。

表1 菌株比例
Table 1 Strain ratios

组别	菌株	体积比
G1	TM-27、KM-6和NG-132	1:1:1
G2	TM-27、KM-6和NG-120	1:1:1
G3	TM-27、KM-6和NG-132	1:2:1
G4	TM-27、KM-6和NG-120	1:2:1
G5	TM-27、KM-6和NG-132	2:1:1
G6	TM-27、KM-6和NG-120	2:1:1
G7	TM-27、KM-6和NG-132	1:1:2
G8	TM-27、KM-6和NG-120	1:1:2
G9	TM-27、KM-6和NG-132	1:1:3
G10	TM-27、KM-6和NG-120	1:1:3
G11	无菌葡萄叶	

1.2.2 理化指标测定

- (1) pH值:采用pH计直接测定。
- (2) 活菌数:采用平板计数法。
- (3) DPPH 自由基清除能力:参照文献[14]。
- (4) ABTS⁺自由基清除能力:参照文献[15—16]。
- (5) 羟自由基清除能力:参照文献[17—18]。
- (6) 铁还原能力:参照文献[19—20]。
- (7) 总多酚含量:采用福林酚法^[21—23]。
- (8) 总黄酮含量:采用亚硝酸钠—硝酸铝法^[24—25]。

1.2.3 单因素试验 固定筛选出的最优混菌比例、发酵时间 72 h、发酵温度 37 ℃和接种量 3%,分别考察发酵时间(24,48,72,96,120 h)、发酵温度(35,37,39,41,43 ℃)和接种量(1%,2%,3%,4%,5%)对发酵液中相关理化指标的影响。

1.2.4 响应面试验 基于单因素试验结果,采用 Box-Behnken 设计,以发酵时间、发酵温度和接种量为自变量,基于熵权法获得 6 个指标的权重(DPPH 自由基清除率、

ABTS⁺自由基清除率、羟自由基清除率、铁还原能力、总多酚含量和总黄酮含量权重分别为 0.262 140,0.131 537,0.163 700,0.129 193,0.105 454,0.207 977),基于权重进行灰色关联分析,以综合评分为响应值,通过 Design-Expert 8.0.6 软件构建回归模型,分析各因素交互作用对发酵效果的影响,优化工艺参数。

1.2.5 数据处理 所有样品重复测定 3 次,数据采用单因素方差分析(ANOVA),GraphPad Prism 9.0 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 混菌发酵比例筛选

由表 2 可知,所有混菌发酵组 pH 值均显著低于对照组,且组间无显著差异;乳酸菌发酵过程产生乳酸,降低了体系 pH 值,偏酸性环境更利于菌株稳定增殖,同时酸性条件可促进细胞壁疏松,为多酚、黄酮释放创造有利环境^[26]。G7 组活菌数最高,G8 组活菌数次之。

综合评价 G8 组,各项抗氧能力化均最好:DPPH 自由

表 2 混菌发酵比例对发酵液理化指标的影响[†]
Table 2 Effect of mixed bacteria ratios on physicochemical properties of fermentation broth

组别	pH 值	活菌数/($\times 10^7$ CFU $\cdot$ mL ⁻¹)	DPPH 自由基清除率/%	ABTS ⁺ 自由基清除率/%
G1	3.393 $\pm$ 0.035 ^b	0.237 $\pm$ 0.043 ^e	77.717 $\pm$ 1.666 ^b	98.537 $\pm$ 0.318 ^{ab}
G2	3.390 $\pm$ 0.020 ^b	0.357 $\pm$ 0.032 ^e	78.743 $\pm$ 0.916 ^b	97.747 $\pm$ 0.421 ^{bcd}
G3	3.430 $\pm$ 0.010 ^b	0.040 $\pm$ 0.011 ^f	71.117 $\pm$ 1.107 ^c	97.380 $\pm$ 0.104 ^{cd}
G4	3.410 $\pm$ 0.020 ^b	0.046 $\pm$ 0.006 ^f	60.557 $\pm$ 2.863 ^e	98.047 $\pm$ 0.525 ^{abcd}
G5	3.390 $\pm$ 0.026 ^b	0.337 $\pm$ 0.040 ^e	60.117 $\pm$ 0.916 ^e	98.413 $\pm$ 0.561 ^{abc}
G6	3.407 $\pm$ 0.012 ^b	0.530 $\pm$ 0.017 ^{cd}	67.303 $\pm$ 1.344 ^{cd}	97.743 $\pm$ 0.214 ^{bcd}
G7	3.400 $\pm$ 0.010 ^b	5.233 $\pm$ 0.058 ^a	81.523 $\pm$ 3.043 ^b	97.867 $\pm$ 0.380 ^{abcd}
G8	3.433 $\pm$ 0.025 ^b	2.117 $\pm$ 0.083 ^b	86.947 $\pm$ 0.916 ^a	98.967 $\pm$ 0.214 ^a
G9	3.400 $\pm$ 0.020 ^b	0.577 $\pm$ 0.093 ^b	62.757 $\pm$ 1.016 ^{de}	98.780 $\pm$ 0.384 ^{ab}
G10	3.430 $\pm$ 0.030 ^b	0.377 $\pm$ 0.074 ^{de}	60.557 $\pm$ 1.586 ^e	97.073 $\pm$ 0.365 ^d
G11	3.920 $\pm$ 0.010 ^a	0.000 $\pm$ 0.000	54.397 $\pm$ 1.107 ^f	92.620 $\pm$ 0.462 ^e

组别	羟自由基清除率/%	铁还原能力/%	总多酚含量/(mg $\cdot$ mL ⁻¹)	总黄酮含量/(mg $\cdot$ mL ⁻¹)
G1	41.290 $\pm$ 1.713 ^g	53.343 $\pm$ 0.382 ^b	2.232 $\pm$ 0.004 ^c	1.380 $\pm$ 0.017 ^e
G2	46.777 $\pm$ 0.859 ^f	54.500 $\pm$ 0.240 ^b	2.304 $\pm$ 0.008 ^b	1.610 $\pm$ 0.006 ^{bc}
G3	50.070 $\pm$ 1.037 ^{ef}	54.337 $\pm$ 0.371 ^b	2.200 $\pm$ 0.006 ^d	1.611 $\pm$ 0.009 ^{bc}
G4	49.110 $\pm$ 1.445 ^f	53.593 $\pm$ 0.629 ^b	2.230 $\pm$ 0.004 ^c	1.391 $\pm$ 0.004 ^e
G5	55.143 $\pm$ 1.645 ^{cd}	54.003 $\pm$ 0.650 ^b	2.228 $\pm$ 0.005 ^c	1.586 $\pm$ 0.007 ^c
G6	52.950 $\pm$ 0.953 ^{bc}	54.577 $\pm$ 0.361 ^b	2.237 $\pm$ 0.004 ^c	1.475 $\pm$ 0.009 ^b
G7	57.617 $\pm$ 1.426 ^{bc}	52.240 $\pm$ 3.421 ^b	2.231 $\pm$ 0.005 ^c	1.620 $\pm$ 0.005 ^b
G8	59.260 $\pm$ 1.820 ^{ab}	60.057 $\pm$ 0.572 ^a	2.351 $\pm$ 0.004 ^a	1.712 $\pm$ 0.013 ^a
G9	55.007 $\pm$ 1.445 ^{cd}	53.580 $\pm$ 1.127 ^b	2.127 $\pm$ 0.004 ^c	1.622 $\pm$ 0.011 ^b
G10	57.750 $\pm$ 1.037 ^{bc}	52.813 $\pm$ 1.315 ^b	2.237 $\pm$ 0.006 ^c	1.378 $\pm$ 0.006 ^c
G11	62.277 $\pm$ 0.626 ^a	44.147 $\pm$ 0.966 ^c	0.000 $\pm$ 0.000	0.000 $\pm$ 0.000

[†] 小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

基、ABTS⁺自由基、羟自由基清除率分别为(86.95±0.92)%、(98.96±0.21)%、(59.26±0.82)%，铁还原能力为(60.06±0.57)%；总多酚、总黄酮含量分别为(2.351±0.004)、(1.711±0.012) mg/mL，均显著高于其他混菌组和对照组($P<0.05$)。乳酸菌在发酵过程中分泌的胞外酶，特别是果胶酶和纤维素酶，能够特异性地水解细胞壁中的果胶和纤维素组分^[27]。这种物理结构的破坏不仅增加了底物的可及性，更直接释放了被物理包裹或与细胞壁多糖化学结合的多酚和黄酮类化合物^[28]。G8 组中，3 株乳酸菌对葡萄叶细胞壁降解与结合态酚释放能力更强，因此活性物质积累与抗氧化性表现最优。故确定最优混菌比例为 1:1:2。

2.2 单因素试验

2.2.1 发酵时间对发酵液理化指标的影响 由图 1 可知，当发酵时间为 35 h 时，菌体数量较低，37 h 后随发酵时间的延长，活菌数下降。当发酵时间>37 h 时，pH 值随时间的延长而降低。Lee 等^[29]以乳酸菌对葡萄副产物进行生物转化，发现 DPPH 自由基和 ABTS⁺自由基清除能力分别提高了 36% 和 21%，其中 *Lactobacillus rhamnosus* GG 在发酵 72 h 时 DPPH 自由基清除活性增幅最大。植物细胞壁主要由纤维素、半纤维素和果胶构成，多酚类物质常通过酯键或糖苷键与这些多糖大分子紧密结合，形成“结

合态酚”，限制了多酚的溶出及其在体内的生物利用度。发酵时间过短，细胞壁降解不完全；发酵时间过长，部分游离酚易被微生物代谢消耗，故 72 h 为活性物质富集峰值节点。发酵 72 h 时，发酵液的 DPPH 自由基清除能力、羟自由基清除能力、铁还原能力相对较好，总多酚和总黄酮含量相对较高。ABTS⁺自由基清除率均在 97% 以上且在发酵 24 h 时相对较高。

2.2.2 接种量对发酵液理化指标的影响 由图 2 可知，随着接种量的增加，pH 值和活菌数逐渐上升，当接种量为 5% 时，活菌数下降。接种量过低，菌群基数不足，酶分泌总量低；接种量过高会造成营养竞争，而 4% 的接种量可保证充足活菌量且无营养匮乏问题。Al Juhaimi 等^[30]研究发现，自然发酵可增加总黄酮和总酚含量，但会降低抗氧化活性，而乳酸菌分泌的 β -葡萄糖苷酶与酯酶可在细胞壁降解基础上介导关键酚类的生物转化。植物中酚类多以糖苷结合态存在，抗氧化活性弱于游离苷元^[31]；酯酶可水解多酚与细胞壁多糖间的酯键，进一步释放结合态酚类；两类酶协同作用不仅可提升总多酚含量，还可优化酚类组分构成，整体强化发酵产物的抗氧化活性^[27]。当接种量为 4% 时，发酵液的 DPPH 自由基清除能力、ABTS⁺自由基清除能力、羟自由基清除能力和铁还原能力相对较好，总多酚和总黄酮含量相对较高。因此，选择

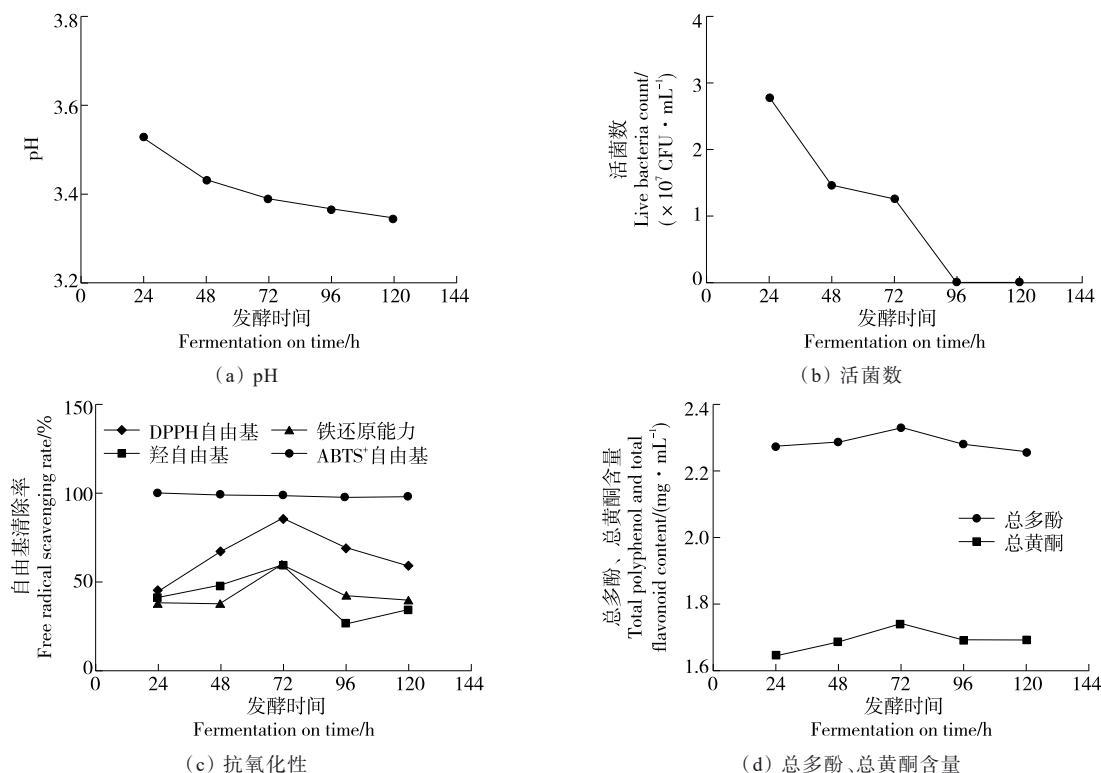


图 1 发酵时间对葡萄叶发酵液理化指标的影响

Figure 1 Effect of fermentation time on physicochemical indicators of grape leaf fermentation broth

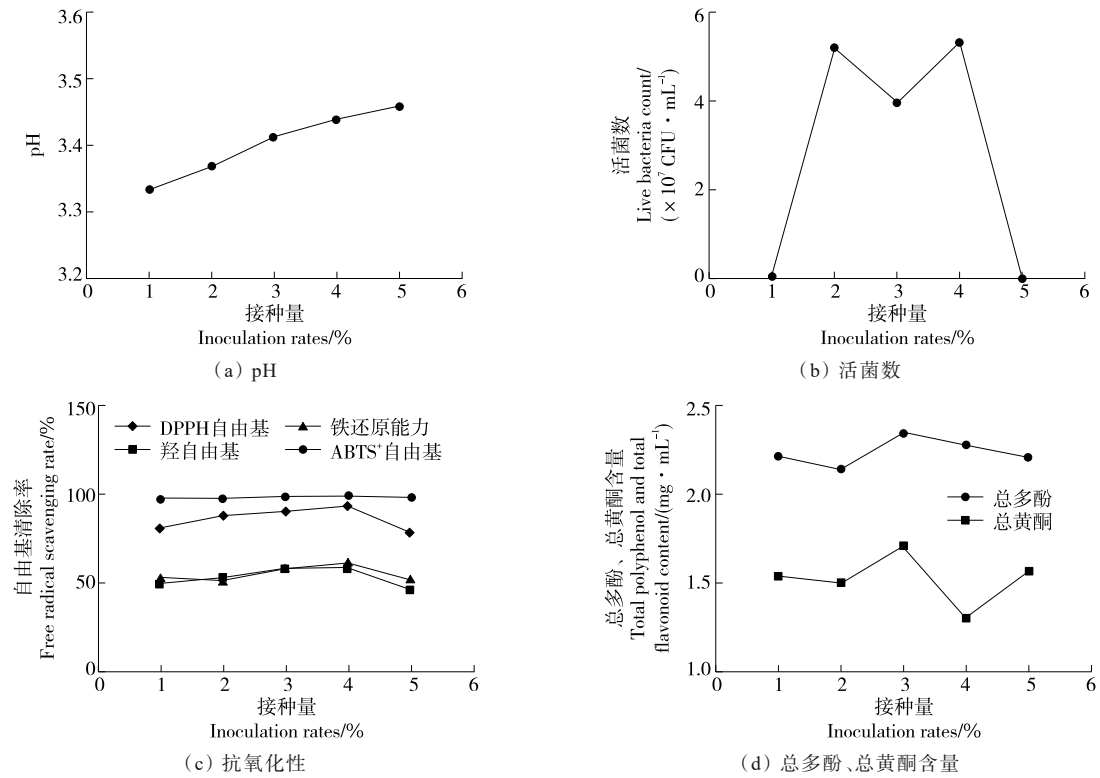


图2 接种量对葡萄叶发酵液理化指标的影响

Figure 2 Effect of inoculation rates on physicochemical indicators of grape leaf fermentation broth

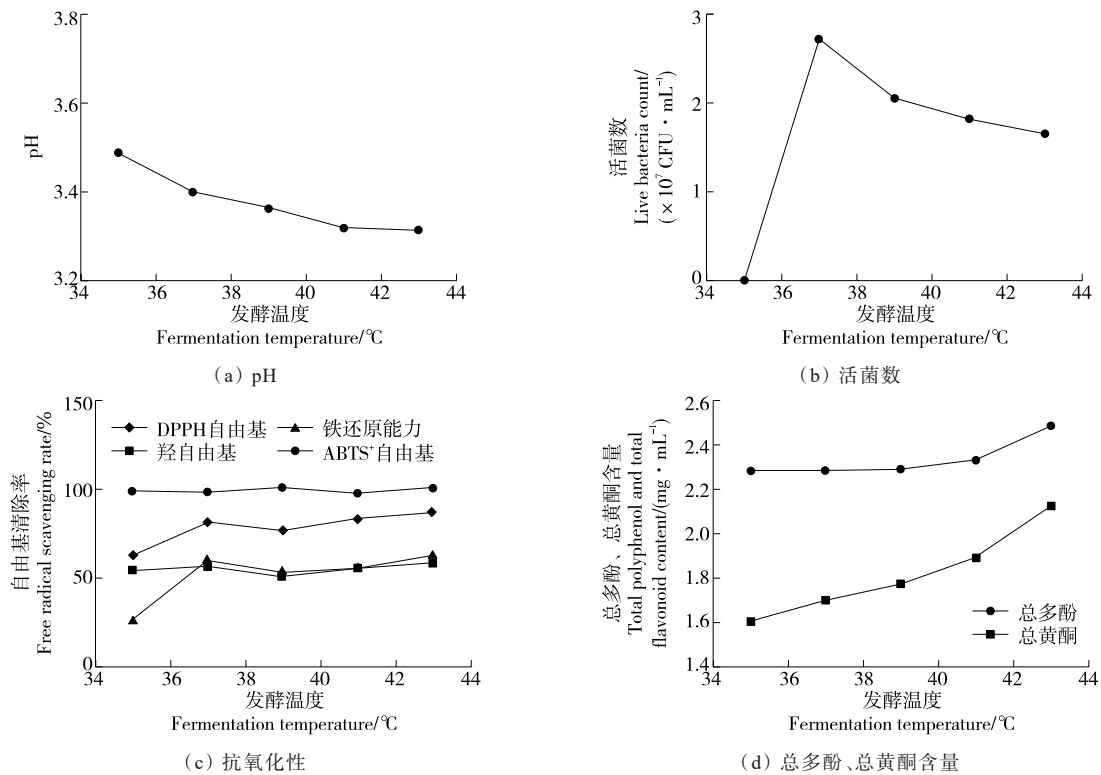


图3 发酵温度对葡萄叶发酵液理化指标的影响

Figure 3 Effect of temperatures on physicochemical indicators of grape leaf fermentation broth

接种量 3.5%,4.0%,4.5% 进行后续试验。

2.2.3 发酵温度对发酵液理化指标的影响 由图 3 可知,随着发酵温度的升高,pH 值有小幅上升。发酵温度过低,乳酸菌代谢缓慢、产酶量不足;发酵温度过高会抑制菌株活性^[26],43℃为混菌体系的适配温度,可最大化释放酚类物质。乳酸菌在 37℃时生长较好,超过菌株生长的最适温度后,乳酸菌生长呈下降趋势。43℃时葡萄叶发酵液的 DPPH 自由基清除能力、羟自由基清除能力和铁还原能力相对较好,总多酚和总黄酮含量相对较高。37℃时 ABTS⁺ 自由基清除能力较好。因此,选择发酵温度 42,43,44℃进行后续试验。

Wang 等^[32]研究发现,混合菌发酵豆浆的抗氧化能力强于未发酵样品;戴昊昕等^[33]研究表明,显齿蛇葡萄叶提取物富含黄酮与多酚类活性成分,对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基、羟自由基等均具有优异的清除能力,且抗氧化效果显著优于茶多酚和维生素 C,说明植物源活性物质的抗氧化能力与其多酚、黄酮含量密切相关。

2.3 响应面试验

在单因素试验结果基础上,将发酵时间、发酵温度和接种量 3 个因素作为自变量,以综合评分为响应值进行响应面试验。响应面试验因素水平见表 3,试验设计及结果见表 4。

利用 Design-Expert 13 对试验结果进行多元二次回归

表 3 响应面设计因素及水平

Table 3 Factors and levels of response surface design			
水平	A 发酵时间/h	B 接种量/%	C 发酵温度/℃
—1	60	3.5	42
0	72	4.0	43
1	84	4.5	44

拟合,得到葡萄叶发酵液响应值综合评分回归方程

$$Y=87.45-4.31A-0.28B+0.3C+0.412\ 5AB-3.52AC-3.02BC-19.50A^2-24.31B^2-22.71C^2。$$
 (1)

图 4 为各因素交互作用对葡萄叶发酵液综合评分影响的响应面曲面图。各图曲面均呈先升高后降低的拱形特征,说明发酵时间、发酵温度、接种量在试验范围内均存在最优区间。由曲面形态可知,发酵温度与发酵时间、发酵温度与接种量、发酵时间与接种量之间均存在明显交互效应。结合总多酚模型最优区间与各项辅助抗氧化指标验证结果,得到最优发酵工艺条件为发酵时间 70.66 h,发酵温度 42.99℃,接种量 4.01%,综合评分为 87.69。结合实际情况,将最优工艺条件修正为发酵时间 69 h,发酵温度 43℃,接种量 4%,该条件下预测的 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基和羟自由基清除率分别为 75.80%,98.63%,54.22%,铁还原能力为 65.46%,总黄酮、总多酚含量分别为 1.726,2.336 mg/mL。按此发酵工艺条件进行

表 4 响应面试验设计及结果

Table 4 Design and results of response surface experiments										
试验号	A	B	C	DPPH 自由基清除率/%	ABTS ⁺ 自由基清除率/%	羟自由基清除率/%	铁还原能力/%	总多酚含量/(mg·mL ⁻¹)	总黄酮含量/(mg·mL ⁻¹)	综合评分
1	0	—1	—1	45.87	97.75	28.01	64.14	2.206	1.509	38.65
2	0	0	0	73.29	98.50	56.45	65.35	2.358	1.689	84.24
3	1	0	—1	46.85	97.38	30.55	63.87	2.294	1.448	38.69
4	0	0	0	74.69	98.56	52.22	65.17	2.339	1.675	79.12
5	0	0	0	75.24	98.61	55.60	65.54	2.346	1.720	89.65
6	0	0	0	76.08	98.66	55.39	65.42	2.332	1.752	92.67
7	0	—1	1	54.55	97.65	27.80	64.53	2.276	1.537	43.42
8	—1	1	0	63.36	98.02	39.75	64.34	2.288	1.654	54.13
9	—1	0	—1	53.71	97.86	34.78	64.57	2.281	1.634	48.43
10	1	0	1	48.25	97.54	33.40	64.00	2.287	1.437	39.66
11	1	1	0	49.65	97.11	37.32	63.12	2.291	1.454	38.77
12	—1	—1	0	53.29	98.07	34.36	64.66	2.251	1.494	44.66
13	—1	0	1	57.34	98.34	28.22	64.49	2.277	1.534	47.75
14	0	1	1	49.51	97.49	23.47	62.98	2.203	1.509	36.16
15	1	—1	0	47.79	97.70	41.97	64.60	2.269	1.470	43.39
16	0	0	0	77.48	98.56	53.81	65.60	2.312	1.746	91.55
17	0	1	—1	53.99	97.33	36.68	63.18	2.294	1.592	43.46

3次平行验证实验,测得葡萄叶发酵液的综合评分为91.04,与模型预测值基本一致,表明该模型有效可行。此时,发酵液的DPPH自由基、ABTS⁺自由基、羟自由基清除率分别为(76.43±0.74)%, (98.71±0.16)%, (54.35±0.37)%,铁还原能力为(65.65±0.28)%,总黄酮、总多酚含量分别为(1.728±0.002), (2.340±0.003) mg/mL。姚芳等^[34]优化了大麦乳酸菌发酵多酚提取工艺,张惠捷等^[35]通过响应面法优化了银杏叶药渣发酵条件,Yi等^[36]、崔亚鹏等^[37]分别对刺梨果渣和金银花浸提液进行了混合菌发酵优化,均发现发酵后多酚、黄酮等活性成分含量及抗氧化能力明显提高,与试验结果一致。

3 结论

以新疆吐鲁番无核白葡萄叶为原料,筛选本地传统发酵食品分离得到的多株乳酸菌开展混菌发酵工艺研究,经菌株配比筛选、单因素试验及响应面试验优化得到一套适配本地葡萄副产物的发酵工艺。结果表明,最优混菌比例为副干酪乳杆菌(*Lactocaseibacillus paracasei*) TM-27、短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*) KM-6和植物乳杆

表5 综合评分回归方差分析[†]

Table 5 Regression variance analysis of comprehensive scores

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	7 226.61	9	802.91	41.20	<0.000 1	**
A	148.44	1	148.44	7.62	0.028 1	*
B	0.63	1	0.63	0.03	0.862 7	
C	0.72	1	0.72	0.04	0.853 0	
AB	0.68	1	0.68	0.03	0.857 1	
AC	49.63	1	49.63	2.55	0.154 6	
BC	36.42	1	36.42	1.87	0.213 9	
A ²	1 600.93	1	1 600.93	82.14	<0.000 1	**
B ²	2 489.19	1	2 489.19	127.72	<0.000 1	**
C ²	2 171.41	1	2 171.41	111.41	<0.000 1	**
残差	136.43	7	19.49			
失拟项	7.84	3	2.61	0.08	0.966 8	
纯误差	128.59	4	32.15			
综合	7 363.54	16				

[†] *表示影响显著($P<0.05$), **表示影响极显著($P<0.01$)。

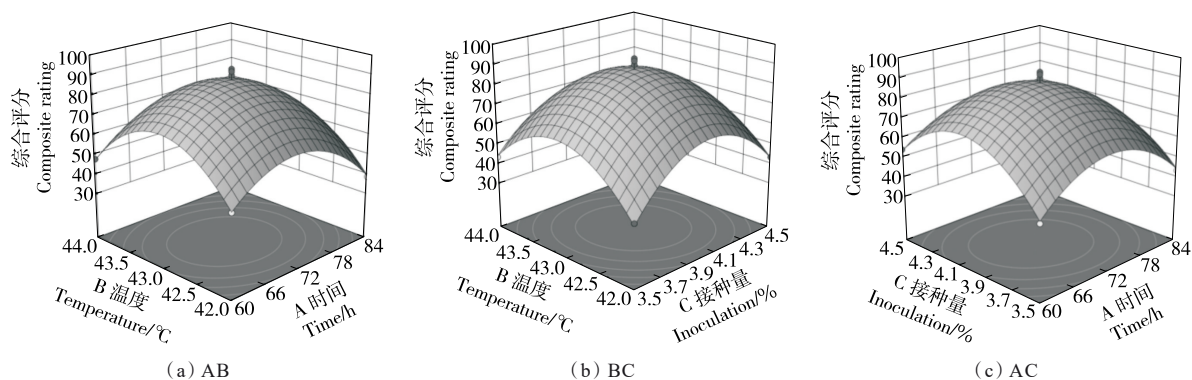


图4 各因素交互作用对葡萄叶发酵液综合评分的影响

Figure 4 Effect of multi-factor interaction on comprehensive indicators of grape leaf fermentation broth

菌(*Lactobacillus plantarum*) NG-120体积比为1:1:2,最优发酵工艺条件为发酵时间69 h、发酵温度43℃、接种量4%,此条件下葡萄叶发酵液的总多酚、总黄酮含量及DPPH自由基清除率、ABTS⁺自由基清除率、羟自由基清除率、铁还原能力均维持较高水平,证实本土乳酸菌复合发酵可依靠多菌株胞外酶系协同作用破坏葡萄叶细胞壁结构,通过酯酶、 β -葡萄糖苷酶水解结合态多酚糖苷键与酯键,有效释放游离活性成分并显著提升原料体外抗氧化能力,明确了利用混菌发酵实现新疆葡萄废弃叶片高值转化可行路径。现有葡萄叶相关研究多采用商品化菌株或内地葡萄原料,且多依靠单一指标开展工艺筛选^[30,33],试验立足新疆特色农副资源无核白葡萄,采

用本土优势乳酸菌发酵工艺,构建多指标分步优化体系,阐明内在分子机理,填补了葡萄叶及其微生物发酵相关研究数据。后续可围绕发酵提取物食品添加剂开发、动物体内抗氧化试验、发酵产物成分精准定性定量开展深入研究,进一步完善该工艺产业化应用技术方法及数据支撑。

参考文献

- [1] 邵月华. 葡萄叶茶主成分结构研究[J]. 轻工标准与质量, 2019(4): 122-123.
Shao Y H. Study on main component structure of grape leaf tea [J]. Standard & Quality of Light Industry, 2019(4): 122-123.
- [2] 贾洪锋, 陈杨, 亢小勤, 等. 巨峰葡萄叶主要成分分析及干燥

- 方式对主要活性成分和色泽的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(21): 10-14.
- Jia H F, Chen Y, Kang X Q, et al. Analysis of main nutritional components and effects of drying methods on main functional components content and color of kyoho grape leaves[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(21): 10-14.
- [3] Fábio Fernandes de Araújo, Farias D D P, Iramaia Angélica Neri-Numa, et al. Polyphenols and their applications: an approach in food chemistry and innovation potential[J]. Food Chemistry, 2020, 338: 1.
- [4] 库尔班江·巴拉提. 葡萄叶乙醇提取物的提取工艺及体外抑菌活性研究[J]. 西部林业科学, 2016, 45(6): 37-42.
- Korbanjhan B. Extraction process and vitro antibacterial activity of grape leaves' ethanol extract[J]. Journal of West China Forestry Science, 2016, 45(6): 37-42.
- [5] 张红娟, 种丽颖, 马宁. 葡萄叶酚类化合物及其生物活性研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(20): 326-332.
- Zhang H J, Chong L Y, Ma N. Advances in phenolic compounds and their biological activities in grape leaves[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(20): 326-332.
- [6] 何恩铭, 田森, 沈瑞池, 等. HPLC法测定小叶山葡萄叶中白藜芦醇含量[J]. 亚热带植物科学, 2019, 48(4): 334-338.
- He E M, Tian M, Shen R C, et al. Determination of resveratrol in *Vitis thunbergii* var. *taiwaniana* leaves by HPLC[J]. Subtropical Plant Science, 2019, 48(4): 334-338.
- [7] Rathod N B, Elabed N, Punia S, et al. Recent developments in polyphenol applications on human health: a review with current knowledge[J]. Plants, 2023, 12(6): 1 217.
- [8] 龚徐, 王晓琴, 张波, 等. 新疆红地球葡萄叶中五种成分含量的测定[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(5): 1 190-1 194.
- Gong X, Wang X Q, Zhang B, et al. Determining five components in leaves of Xinjiang red globe grape[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2015, 54(5): 1 190-1 194.
- [9] 周润嫦, 刘懿彤, 曾洁妹, 等. 乳酸菌发酵蔬菜的研究进展[J]. 农产品加工, 2024(22): 109-113.
- Zhou R C, Liu S T, Zeng J M, et al. Research progress of sauerkraut fermented by lactic acid bacteria[J]. Farm Products Processing, 2024(22): 109-113.
- [10] 张化朋, 李凤娟, 陈常霞, 等. 乳酸菌发酵对牡丹花总多酚及抗氧化功能的影响[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(7): 117-124.
- Zhang H P, Li F J, Chen C X, et al. Effects of lactic acid bacteria fermentation on total polyphenols extracted from peony flowers and its antioxidant ability[J]. China Food Additives, 2023, 34(7): 117-124.
- [11] 周瑶, 李娟, 贾凤霞, 等. 单一及混合乳酸菌发酵对番木瓜汁品质的影响[J]. 食品与机械, 2024, 40(1): 175-182, 225.
- Zhou Y, Li J, Jia F X, et al. Lactic acid fermentation of papaya juice using single and mixed lactic acid bacteria[J]. Food & Machinery, 2024, 40(1): 175-182, 225.
- [12] 蒋丙婷, 李如蕊, 方越, 等. 乳酸菌发酵对铁皮石斛抗氧化活性和酚类化合物的影响[J]. 农业工程学报, 2025, 41(2): 328-337.
- Jiang B T, Li R R, Fang Y, et al. Effects of lactic acid bacteria fermentation on the antioxidant activity and phenolic compounds of *Dendrobium officinale*[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2025, 41(2): 328-337.
- [13] De Filippis F, Pasolli E, Ercolini D. The food-gut axis: lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome and human health[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2020, 44(4): 454-489.
- [14] 陈麟, 布海丽且姆·阿卜杜热合曼, 姜露熙, 等. 小白杏多糖的提取、结构表征及抗氧化活性分析[J]. 食品与机械, 2026, 42(2): 152-159.
- Chen L, Buhailiqiemu A, Jiang L X, et al. Extraction and analysis of structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides from Xiaobai apricots[J]. Food & Machinery, 2026, 42(2): 152-159.
- [15] 李雅晴, 储晓琴, 崔梦尧, 等. 缩脾饮提取物分离及抗氧化、降血糖活性研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(4): 156-165.
- Li Y Q, Chu X Q, Cui M Y, et al. Optimization of extraction process of Suopiyin and its antioxidant and hypoglycemic activities in vitro and in vivo[J]. Food & Machinery, 2026, 42(4): 156-165.
- [16] Abdurxukur D, Tursuntay A, Zhu X Y, et al. Antioxidant capacity of lactic acid bacteria and yeasts from Xinjiang traditional fermented dairy products[J]. Fermentation, 2023, 9(7): 639.
- [17] 涂剑秋, 徐丹鹤, 陈龙, 等. 茶花黄酮提取工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 食品与机械, 2026, 42(6): 170-178.
- Tu J Q, Xu D H, Chen L, et al. Extraction process optimization of *Camellia sinensis* flavonoids and their antioxidant activity[J]. Food & Machinery, 2026, 42(6): 170-178.
- [18] 蒋光阳, 田永强. 乳酸菌产胞外多糖的发酵条件优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2023, 42(4): 187-195.
- Jiang G Y, Tian Y Q. Optimization of fermentation condition of lactic acid bacteria with high-yield exopolysaccharides and its antioxidant activity[J]. China Brewing, 2023, 42(4): 187-195.
- [19] 范利君, 宋安康, 王志鹏, 等. 葡萄籽多酚提取物在体外模拟消化过程中抗氧化成分及抗氧化活性的变化[J]. 食品科技, 2022, 47(6): 235-242.
- Fan L J, Song A K, Wang Z P, et al. Changes of antioxidant components and antioxidant activity of grape seed polyphenol extracts during in vitro simulated digestion[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(6): 235-242.
- [20] 李茹, 朱毅. 体外模拟胃、肠消化对萝卜苗中活性物质、抗氧化功能及代谢差异物的影响[J]. 中国食品学报, 2019, 19(4): 61-71.
- Li R, Zhu Y. Effect of simulated gastrointestinal digestion in

- vitro* on active substances, antioxidant function and differential metabolites of radish sprouts[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(4): 61-71.
- [21] 刘梦培, 铁珊珊, 王璐, 等. 发酵条件对杜仲茶组分及抗氧化性的影响[J]. 食品科技, 2018, 43(2): 105-108.
- Liu M P, Tie S S, Wang L, et al. The influence of fermentation conditions on the composition and antioxidant capacity of *Eucommia ulmoides* tea[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(2): 105-108.
- [22] 赵秋伶, 王振宇, 王玉荣, 等. 高粱壳多酚的提取、结构表征及其抗氧化活性研究[J]. 粮食与油脂, 2025, 38(2): 58-63.
- Zhao Q L, Wang Z Y, Wang Y R, et al. Study on extraction, structural characterization, and antioxidant activity of polyphenols from sorghum husks[J]. Cereals & Oils, 2025, 38(2): 58-63.
- [23] 古力米热库尔班. 核桃青皮压榨汁浓缩和溶剂提取工艺对多酚含量及抗氧化性影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2025: 10.
- Gulmire K. Effects of walnut green husk juice concentration and solvent extraction process on polyphenol content and antioxidant activity[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2025: 10.
- [24] 沈玺龙, 官纪元, 陈哲, 等. 树莓果实多酚的提取及抗氧化活性研究[J]. 山东化工, 2024, 53(22): 11-13.
- Shen X L, Guan J Y, Chen Z, et al. Extraction process of polyphenols and antioxidant capacity of raspberry[J]. Shandong Chemical Industry, 2024, 53(22): 11-13.
- [25] 林鹤霁, 徐丽丽, 方琦, 等. 银杏叶茶总黄酮含量测定及抗氧化活性研究[J]. 广州化工, 2025, 53(2): 16-19.
- Lin H F, Xu L L, Fang Q, et al. Determination of total flavonoid content and antioxidant activity of *Ginkgo biloba* leaf tea[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2025, 53(2): 16-19.
- [26] Wang Z, Zhao C B, Guo Z Q, et al. Fermentation of *Betaphycus gelatinum* using *Lactobacillus brevis*: growth of probiotics, total polyphenol content, polyphenol profile, and antioxidant capacity[J]. Foods, 2023, 12(18): 3 334.
- [27] Kieliszek M, Pobiega K, Piwowarek K, et al. Characteristics of the proteolytic enzymes produced by *Lactic acid bacteria*[J]. Molecules, 2021, 26: 1 858.
- [28] Xu L, Liao J H, Li X Q, et al. Exploring the mechanism of probiotics in enhancing the utilization of chemical components (or polyphenols) of grape seed extract[J]. Food Chemistry, 2024, 438: 137982.
- [29] Lee G, Cho B, Lee K G. Bioactive potential of lactic acid bacteria-fermented grape (*Vitis labrusca* B.) by-products: volatile compounds, antioxidant activity, and anti-inflammatory properties[J]. Food Science and Biotechnology, 2026, 35(7): 1 803-1 817.
- [30] Al Juhaime F, Uslu N, Özcan M M, et al. Effect of fermentation on antioxidant activity and phenolic compounds of the leaves of five grape varieties[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2019, 43(7): 13979.
- [31] Quines-Lagmay V C, Jeong B G, Kerr W L, et al. Antioxidative properties of eastern prickly pear (*Opuntia humifusa*) fermented with lactic acid bacteria and cell wall-hydrolyzing enzymes[J]. LWT-Food Science & Technology, 2020, 122: 109029.
- [32] Wang Y W, Guo H C, Wu A D, et al. Multiple-strain *Lactobacillus*-fermented soymilk with antioxidant capacity and delicate flavour[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2021, 56(11): 6 052-6 061.
- [33] 戴昊昕, 杨大伟. 显齿蛇葡萄叶提取物黄酮化合物鉴定及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(1): 139-144.
- Dai H X, Yang D W. Flavonoid identification and antioxidant activity of *Ampelopsis grossedentata* leaf extract [J]. Food & Machinery, 2026, 42(1): 139-144.
- [34] 姚芳, 肖香, 董英. 大麦乳酸菌发酵液粉中多酚的提取及其抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(10): 211-216, 235.
- Yao F, Xiao X, Dong Y. Extraction and antioxidant activity of polyphenols from barley lactobacillus fermented solution[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(10): 211-216, 235.
- [35] 张惠捷, 罗盟錡, 王金龙, 等. 响应面法优化混合益生菌发酵银杏叶药渣工艺条件的研究[J]. 中国饲料, 2022(24): 108-114.
- Zhang H J, Luo M Q, Wang J L, et al. Optimization of fermentation conditions of dregs of *Ginkgo biloba* medical with mixed probiotics by response surface methodology[J]. China Feed, 2022(24): 108-114.
- [36] Yi X X, Zhang S, Meng D, et al. Optimization of *Rosa roxburghii* Tratt pomace fermentation process and the effects of mono- and mixed culture fermentation on its chemical composition[J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1494678.
- [37] 崔亚鹏, 许锐, 陈泽元, 等. 酿酒酵母和植物乳杆菌混合发酵对金银花浸提液多酚物质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(5): 95-99.
- Cui Y P, Xu R, Chen Z Y, et al. Effects of mixed fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* on the polyphenol of honeysuckle extract[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(5): 95-99.