کفیر آب به عنوان نوشیدنی عملکردی: جایگزینی پروبیوتیکی برای کفیر شیر

هادی کوهساری[1]*

[1] دانشیار گروه میکروبیولوژی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

* نویسنده مسئول: *hadikoohsari@yahoo.com*

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که مصرف کافی آن‌ها می‌تواند اثرات مفیدی بر سلامت انسان داشته باشد. در این میان، نوشیدنی کفیر به‌عنوان یکی از شناخته‌شده‌ترین و پرمصرف‌ترین فرآورده‌های لبنی پروبیوتیکی در سراسر جهان شناخته شده است. با توجه به اینکه برخی افراد به دلایلی مانند گیاهخواری، عدم تحمل لاکتوز یا آلرژی به کازئین قادر به مصرف شیر و فرآورده‌های لبنی نیستند، نیاز به یافتن جایگزین‌های مناسب برای محصولات پروبیوتیکی لبنی برای آنها اهمیت بیشتری یافته است. در این راستا، کفیر آب به‌عنوان گزینه‌ای جدید مورد توجه قرار گرفته و علاقه زیادی را در میان این گروه از مصرف‌کنندگان جلب کرده است. کفیر آب یک نوشیدنی تخمیری سنتی میوه‌ای با طعمی ترش و کمی گازدار است که میزان اسید لاکتیک آن تا حدود ۲ درصد و محتوای الکل آن معمولاً کمتر از ۱ درصد می‌باشد. این نوشیدنی از تخمیر محلول آب (به جای شیر) حاوی ساکاروز و میوه‌های خشک توسط دانه‌های کفیر آب به دست می‌آید. دانه‌های کفیر آب دارای ظاهری ژله‌ای و شفاف به رنگ زرد هستند و از یک ماتریکس پلی‌ساکاریدی (عمدتاً دکستران) تشکیل شده‌اند که میکروارگانیسم‌هایی نظیر باکتری‌های اسیدلاکتیک، باکتری‌های اسیداستیک و انواع مخمرها در آن مستقر شده‌اند. با توجه به رشد روزافزون گرایش به مصرف محصولات پروبیوتیکی و غذاهای تخمیری، دستیابی به کشت‌های استارتر پایدار، بهینه‌سازی شرایط فرآیند تخمیر و ارتقاء ویژگی‌های حسی این نوشیدنی از اهمیت بالایی برخوردار است تا امکان تولید صنعتی و بازاریابی گسترده آن فراهم شود. علاوه بر این، امکان استفاده از سوبستراهای جایگزین برای تخمیر توسط میکروارگانیسم‌های موجود در دانه‌های کفیر آب، اهمیت ویژه‌ای در توسعه این محصول دارد. این مطالعه مروری با هدف معرفی کفیر آب به‌عنوان جایگزینی مناسب برای محصولات پروبیوتیکی لبنی و مقایسه ویژگی‌های آن با کفیر شیر انجام شده است.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، کفیر آب، کفیر، نوشیدنی تخمیری

مقدمه

مفهوم ارتباط غذا و تغذیه با پیشگیری از بیماری‌ها تاریخی طولانی دارد. همانطور که بقراط در ۴۰۰ سال پیش از میلاد مسیح گفته است: "بگذار غذا داروی تو باشد و دارو، غذای تو باشد" (Otles and Cagindi, 2012). غذاهای کاربردی[1] که اثرات مثبت بر عملکردهای بیولوژیکی بدن انسان دارند، می‌توانند وضعیت سلامتی و تندرستی را بهبود بخشند و خطر ابتلا به بیماری‌ها را کاهش دهند (Topolska et al., 2021).

در حال حاضر، تمایل به مصرف مواد غذایی که بر سلامت تأثیر مثبت می‌گذارند، موجب پیشرفت‌هایی در فناوری و صنعت تخمیر در سطح جهانی شده است. از جمله مهم‌ترین غذاهای فراسودمند، محصولات پروبیوتیک هستند. در سراسر جهان، آگاهی مردم از رابطه میان تغذیه و سلامت به شدت افزایش یافته است و عباراتی مانند "پروبیوتیک" از سوی مصرف‌کنندگان بسیار به کار می‌رود. پیش‌بینی می‌شود که بازار این محصولات شاهد رشد چشمگیری باشد (Cosme et al., 2022). به عنوان نمونه، اندازه بازار جهانی کفیر در سال ۲۰۱۹ برابر با ۱/۲۳ میلیارد دلار بود و انتظار می‌رود تا سال ۲۰۲۷ به ۱/۸۴ میلیارد دلار برسد (Moretti et al., 2022).

لبنیات و محصولات مبتنی بر شیر، به‌ویژه محصولات تخمیری، علاوه بر ارائه فواید تغذیه‌ای متعدد، به عنوان حاملان اصلی پروبیوتیک‌ها شناخته می‌شوند. در میان این محصولات، ماست و کفیر به عنوان شناخته‌شده‌ترین و پرمصرف‌ترین محصولات لبنی تخمیری در سطح جهانی مطرح هستند (Yildiz, 2016). کفیر به‌طور خاص، یک نوشیدنی شیری گازدار و سبک است که از تخمیر شیر توسط دانه‌های کفیر به دست می‌آید و منشأ آن به مناطق کوهستانی قفقاز نسبت داده می‌شود. این نوشیدنی معمولاً از شیر گاو یا سایر حیوانات تولید می‌شود (Moretti et al., 2022).

اگرچه بیشتر تحقیقات موجود در زمینه کفیر بر روی کفیر تهیه شده با شیر گاو، گوسفند و بز متمرکز بوده است، توجه به این نکته ضروری است که این نوع کفیر برای وگان‌ها، افرادی که قادر به هضم لاکتوز نیستند، و افرادی که به محصولات لبنی حساسیت دارند، مناسب نیست. از این رو، استفاده از دانه‌های کفیر در تخمیر سوبستراهای غیر لبنی (کفیر آب) به عنوان جایگزینی جذاب برای کفیر شیر مطرح شده است. این نوشیدنی تخمیری که می‌تواند از آب شیرین و میوه‌های خشک یا سایر سوبستراهای قندی به دست آید، مزایای سلامتی مشابهی را برای افرادی که نمی‌توانند از کفیر شیر استفاده کنند، فراهم می‌آورد (Fiorda et al., 2017).

کفیر آب یک نوشیدنی تخمیری میوه‌ای، ترش و کمی گازدار است که از تخمیر آب شیرین (به جای شیر) حاوی ساکاروز و میوه‌های خشک یا سوبستراهای قندی دیگر به وسیله دانه های کفیر آب، حاصل می شود. دانه‌های کفیر آب از یک ماتریکس پلی‌ساکاریدی (که عمدتاً دکستران است) تشکیل شده‌اند که میکروارگانیسم‌هایی چون باکتری‌های اسیدلاکتیک، باکتری‌های اسید استیک و مخمرها در آن به صورت همزیست زندگی می‌کنند. با توجه به افزایش آگاهی از مزایای کفیر آب به عنوان یک نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک، بازار این محصول در حال گسترش است. از آنجا که سوبستراهای گیاهی و غیرلبنی می‌توانند جایگزین شیر حیوانی در تولید این نوشیدنی شوند، کفیر آب به عنوان یک گزینه جذاب برای افرادی که محدودیت‌های مصرف شیر دارند، محبوبیت بیشتری پیدا کرده است (Lynch et al., 2021).

معرفی، اهمیت و دلایل گرایش به مصرف نوشیدنی کفیر آب

ارزش غذایی شیر و محصولات تخمیری آن بر هیچ کس پوشیده نیست. شیر و فرآورده های لبنی در هرم غذایی در رتبه چهارم قرار دارند و بی‌شک ارزش غذایی آنهاست که جایگاه بالایی را در میان مواد غذایی ضروری برای سلامت انسان به ارمغان آورده است. در کنار این مزایا، جنبش‌های ضد شیر به برخی از معایب آن اشاره داشته اند. همچنین شیوه‌های زندگی جدید مثل رژیم غذایی گیاهخواری[2] عدم تحمل لاکتوز، حساسیت به پروتئین‌های شیر در کنار مسائل

[1] Functional food
[2] Vegetarian or vegan diets

زیست محیطی همچون انتشار گازهای گلخانه‌ای و زیاد بودن مقدار آب مورد نیاز برای تولید محصول، گرایش به سمت نوشیدنی‌های کفیر گیاهی[1] یا نوشیدنی‌های تخمیری شبه کفیر[2] را افزایش داده است. بطوریکه مصرف محصولات لبنی در بسیاری از کشورهای غربی در حال کاهش است در حالیکه فروش شیرگیاهی در حال افزایش است (Islam et al., 2021). شیرهای گیاهی در حال حاضر ۱۵ درصد از کل صنعت شیر را تشکیل می دهند و سایر جایگزین‌های لبنی مبتنی بر گیاه نیز در حال افزایش محبوبیت هستند (Good Food Institute, 2021).

کفیر، به دلیل خواص سلامتی‌اش، یکی از پرمصرف‌ترین مواد غذایی کاربردی است. اگرچه کفیر شیر اولین چیزی است که با ذکر نام کفیر به ذهن خطور می‌کند، اما اصطلاح کفیر به نوشیدنی تخمیر شده گازدار، اسیدی و کم الکل اشاره دارد که از تخمیر دانه‌های کفیر با شیر یا آب قندی به دست می‌آید (Azizi et al., 2021). بنابراین، ویژگی‌های لبنی و غیر لبنی کفیر بسته به نوع منبع مورد استفاده برای تخمیر متفاوت است. بیشتر مطالعات گزارش شده از اثرات مفید کفیر، مربوط به مصرف کفیر شیر است (Nejati et al., 2020; Cofauglu and Erdinc, 2023). از طرفی کفیر آب دارای خواص پروبیوتیکی مانند کفیر شیر است، اما برخلاف کفیر شیر، نوشیدنی مناسبی برای گیاهخواران و مصرف‌کنندگانی است که عدم تحمل لاکتوز دارند یا حساسیت به شیر دارند (Fiorda et al., 2017).

کفیر آب یک نوشیدنی تخمیری سنتی میوه‌ای، ترش و کمی گازدار است که محتوای اسید لاکتیک آن تا ۲ درصد و الکل آن معمولاً کمتر از ۱ درصد است که پس از تخمیر آب شیرین (معمولا میوه‌های خشک نیز به آن افزوده می شوند) با دانه‌های کفیر آب (استارتر)، حاصل می شود. این نوشیدنی بعد از صاف‌شدن و بدون دانه‌های کفیر، به نام‌های کفیر آب[3]، کفیر قندی[4] و آکواکفیر[5] در کنار دیگر نام‌های محلی و بومی، مصرف می‌شود. دانه‌ها برای تمایز از دانه‌های کفیر شیر، «دانه‌های کفیر آب» نامیده می‌شوند (Moretti et al., 2022). علاوه بر این، با وجود مبهم بودن، «تیبیکس» یا «قارچ تبتی»[6] نام‌های رایج دیگری هستند که استفاده می‌شوند (Lynch et al., 2021)، زیرا چنین نام‌هایی برای دانه‌های کفیر شیر نیز استفاده می‌شود (Dong et al., 2018).

دانه‌های کفیر آب از یک ماتریکس پلی‌ساکارید (عمدتا دکستران و مقدار کمتری از لوان) تشکیل شده است که میکروارگانیسم‌ها در آن جاسازی شده اند. دانه‌ها ظاهری ژله‌ای و شفاف به رنگ زرد مایل به قهوه ای، با اشکال و اندازه‌های نامنظم از میلی متر تا چند سانتی‌متر دارند. دانه‌ها حاوی باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB[7])، باکتری‌های اسیداستیک (AAB[8])، مخمرها و گاهی اوقات بیفیدوباکتری‌ها هستند. این میکروارگانیسم‌ها به صورت همزیستی در دانه‌ها وجود دارند و یک بیوفیلم پیچیده میکروبی در داخل یک ماتریکس پلی‌ساکاریدی را تشکیل می‌دهند و برخی از آنها می‌توانند از فاز مایع عبور کنند. پس از فیلتر کردن محصول تخمیر شده، دانه‌های کفیر آب برای تخمیر بعدی مجددا استفاده می‌شوند (Garofalo et al., 2020, Cofauglu and Erdinc, 2023).

تخمیر می‌تواند بین ۲۰ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد (بهینه ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت با استفاده از ۶ تا ۱۰ درصد ساکاروز و ۶ تا ۳۰ درصد دانه ها انجام شود (Laureys et al., 2018). پرمصرف‌ترین منبع شکر برای تخمیر، نیشکر خام است و رایج‌ترین افزودنی‌ها انجیر خشک یا انگور خشک است (Verse et al., 2019). با این وجود، به دلیل ظرفیت بالای میکروارگانیسم‌های موجود در دانه‌های کفیر آب برای سازگاری با سوبستراهای مختلف، نوشیدنی را می‌توان از طیف گسترده‌ای از منابع قند تولید کرد (Bueno et al., 2021, Cofauglu and Erdinc, 2023).

در حالی که کفیر آب اغلب با کفیر شیر در میان عموم مردم و حتی در نشریات علمی معتبر اشتباه گرفته می‌شود، باید

[1] Plant-based kefir
[2] Kefir-like beverages
[3] Water kefir
[4] Sugary kefir
[5] Aquakefir
[6] Tibics or Tibetan mushroom
[7] Lactic acid bacteria
[8] Acetic acid bactria

توجه داشت که این دو نوشیدنی سیستم‌های همزیستی متفاوتی دارند. اولین تفاوت این است که دانه‌های این دو نوشیدنی از یک ماتریکس پلی‌ساکاریدی متفاوت تشکیل شده‌اند: دانه‌های کفیر آب از هموپلی‌ساکارید آلفا ۱و۶ گلوکان ساخته شده‌اند که توسط لاکتوباسیلوس هیلگاردی سنتز می‌شود، در حالی که دانه‌های کفیر شیر از هتروپلی‌ساکارید گلوکوگالاکتان به نام کفیران ساخته شده‌اند که توسط لاکتوباسیلوس کفیرانوفاسینس تولید می‌شود. دومین تفاوت در نوع قند (دی‌ساکارید) است که توسط میکروارگانیسم‌ها تخمیر می‌شود. در کفیر آب، قند تخمیرشده ساکاروز است، در حالی که در کفیر شیر، قند لاکتوز است، هرچند که دانه‌های کفیر شیر می‌توانند در محیط‌های غیر لبنی نیز رشد کنند. توانایی دانه‌های کفیر آب در تخمیر ساکاروز باعث می‌شود که این نوشیدنی برای افرادی که به هر دلیلی قادر به مصرف شیر نیستند، جذاب باشد. در نهایت، گونه‌های میکروبی موجود در دانه‌های کفیر آب و کفیر شیر یکسان نیستند (Guzel-Seydim et al., 2021; Lynch et al., 2021; Moretti et al., 2022).

مصرف کفیر آب جایگزین امیدوارکننده‌ای برای افرادی است که علاقه‌مند به گنجاندن نوشیدنی‌های تخمیری در رژیم غذایی خود هستند، اما نمی‌خواهند محصولات با منشاء حیوانی مصرف کنند (رژیم‌های گیاه‌خواری) یا به محصولات با منشاء لبنی عدم تحمل و/یا حساسیت دارند (Guzel-Seydim et al., 2021).

تاریخچه مصرف کفیر آب

منشا دانه‌های کفیر آب به طور دقیق مشخص نیست ولی منشاء کفیر آب و کفیر شیر باید مرتبط باشد. از زمان‌های قدیم، کفیر شیر به عنوان یک غذای تخمیر شده با خواص درمانی و سلامتی در نظر گرفته شده است (Oboturova et al., 2022). در منطقه قفقاز نیز با افزایش طول عمر جمعیت همراه بوده است (Moretti et al., 2022).

این یک فناوری باستانی در نظر گرفته می‌شود که در طول نسل‌ها منتقل شده است، زیرا شواهدی از مصرف کفیر شیر از عصر برنز در یک توده پنیر ارگانیک مرتبط با مومیایی‌های یک گورستان Xiaohe (۱۴۵۰سال قبل از میلاد) در Xinjiang چین وجود دارد (Li et al., 2010). شواهد باستان‌شناسی نشان داد که در عصر برنز، دامداران اوراسیا شرقی شیر حیوانات نشخوارکننده را با دانه‌ها (که در واقع کشت همزیست *لاکتوباسیلوس کفیرانوفاسینس*، سایر باکتریهای اسیدلاکتیک (LAB) و مخمرها بوده اند) تخمیر می‌کردند (Yang et al., 2014). تخمیر شیر امکان مصرف محصول نهایی با محتوای لاکتوز کمتر نسبت به شیر تازه و در دسترس بودن سرم را فراهم می‌آورد، به طوری که هر دو محصول می‌توانند به عنوان منابع پروتئین، ویتامین‌ها و مواد معدنی برای گروه‌های نژادی مقاوم به لاکتوز استفاده شوند (Wang et al., 1984). پنیر کفیر Xiaohe قدیمی‌ترین شواهد مادی در تخمیر کفیر است و استفاده از دانه‌های کفیر به بخشی از فرهنگ غذایی تبت تبدیل شد، از این رو در بین اروپایی‌ها به عنوان "قارچ تبتی" شناخته شد (Yang et al., 2014). بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که کفیر شیر در مشک‌های چوپانان کاراچایی (یک گروه قومی بومی قفقاز شمالی)، کشف شد. دانه‌های کفیر برای این قوم که فناوری تخمیر کفیر را از دیگران مخفی نگه می‌داشتند، مقدس و منبع ثروت محسوب می‌شد. دانه‌های کفیر در طول قرن نوزدهم به منطقه مرکزی روسیه رسید و اولین مکان عمومی نوشیدن کفیر در سال ۱۸۸۴ در مسکو افتتاح شد (Oboturova et al., 2022). دانه‌های کفیر شیر به قاره‌های دیگر منتقل شد و مصرف‌کنندگان، تشویق شدند تا با سوبستراهای جدید (شیر بز، شیر گاو و غیره) تولید این نوشیدنی را آزمایش کنند.

به دلیل مهاجرت از روسیه به کشورهای دیگر، در طول قرن‌های ۲۰ و ۲۱، علاقه به کفیر و سایر محصولات تخمیر شده، افزایش یافت و به یک عادت غذایی تبدیل شد (Pechurina, 2020).

[1] "Tibetan fungus" or "Tibetan mushrooms''

برخلاف دانه‌های کفیر شیر، هیچ مدرک باستان شناسی در مورد منشاء کفیر آب وجود ندارد. به نظر می‌رسد که منشأهای ممکن متفاوتی وجود داشته باشد (Waldherr et al., 2010). اولین گزارش‌ها در مورد دانه‌های کفیر آب توسط *بیجرینک*[1] (Beijerinck, 1889) ارائه شد که دانه‌های کفیر آب را با گیاهان زنجبیلی که توسط سربازان بریتانیایی در زمان پایان جنگ کریمه در سال ۱۸۵۵ به اروپای مرکزی آورده شد مرتبط دانست. لذا "گیاه آبجو زنجبیل[2]" نامیده شدند.

بعدها توسط *Ward* به عنوان "نوشیدنی حاوی مخلوط همزیستی از مخمر و باکتری و حاوی مقادیر کافی از مواد آلی نیتروژن‌دار و قند چغندر یا قند نیشکر در محلول آبی" تعریف شد (Ward, 1892). به عنوان یک نظریه متفاوت، *لوتز* (Lutz, 1899) "دانه‌های تیبی[3]" را گزارش کرد که از برگ‌ها و میوه‌های گیاه کاکتوس مکزیکی (*Opuntia sp.*) چیده شد. در قرن نوزدهم، آن را با نام‌های مختلفی مانند «دانه‌های آبجو ژاپنی[4]» و «مرهم گیلیاد[5]» در جغرافیای مختلف می‌نامیدند (Kebler, 1912).

در طول قرن بیستم این سیستم‌های میکروبی «دانه‌های کفیر قندی[6]» نامیده شدند (Vayssier, 1978) تا آنها را از دانه‌های کفیر، که شیر را تخمیر می‌کنند متمایز کنند (Bergmann et al., 2010 ؛Pidoux, 1989).

نامهای متعددی دیگری برای دانه‌ها و نوشیدنی تخمیر شده بسته به کشوری که کفیر آب تولید می‌شود، و سوبستراهای مورد استفاده آنها، گزارش شده است (Moretti et al., 2022). نام‌ها به منشا مصرف کفیر آب در هر کشور و با فرآیند هیبریداسیون کشت مربوط می‌شود. امروزه نوشیدنی‌های کفیر را می‌توان در مکان‌های تجاری تهیه کرد، اما رایج‌ترین راه برای به دست آوردن و یادگیری تهیه کفیر آبی هنوز تجارب شخصی است.

تولید نوشیدنی کفیر آب و استفاده از سوبستراهای جایگزین

به طور سنتی، نوشیدنی کفیر آب با افزودن ۶ تا ۲۰ درصد دانه‌های کفیر آب به محلول حاوی ۶ تا ۳۰ درصد شکر و انکوبه‌گذاری در دمای ۲۰ تا ۳۷ درجه سانتیگراد (بهینه ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد) به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در یک محیط تاریک انجام می‌شود (Laureys et al., 2018; Pendon et al., 2021). پس از اتمام تخمیر، دانه ها از طریق یک الک (آبکش) استریل فیلتر شده، شسته می‌شوند و همین فرآیندها برای تخمیر بعدی تکرار می‌شود. نوشیدنی کفیر آب فیلتر شده تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری می‌شود (Guzel-Seydim et al., 2021).

از لحاظ تاریخی، شرایط غیرآسپتیک یا به سختی آسپتیک (روش‌هایی که در شرایط استریل انجام می‌شوند به آسپتیک معروفند) برای تهیه کفیر آب در خانه‌ها رایج بوده است (Horisberger, 1969; Pidoux et al., 1988). برای استانداردسازی محصول نهایی، استفاده از کشت استارتر ضروری است. اما استفاده از این کشت استارتر در تهیه کفیر آب هنوز رایج نبوده و تحقیقات محدودی در این زمینه انجام شده است.

علاوه بر منابع مختلف ساکاروز، میوه‌ها نیز به عنوان منبعی برای تهیه کفیر آب استفاده می‌شوند. شکر تصفیه‌شده و شکر قهوه‌ای رایج‌ترین منابع کربن هستند، در حالی که میوه‌های خشک به عنوان منبع نیتروژن اضافه می‌شوند (Randazzo et al., 2016). بیشترین میوه استفاده‌شده و مطالعه‌شده، انجیر است (De & Gulitz et al., 2013; Laureys Vuyst, 2014; Verce et al., 2019). سایر مواد مغذی همچون اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و مواد معدنی که برای تخمیر کفیر آب ضروری هستند، عمدتاً از میوه‌های خشک تأمین می‌شوند. تنوع گونه‌های میکروبی، مصرف سوبسترا، و تولید متابولیت در طی تخمیر ممکن است تحت تأثیر کمیت و/یا نوع میوه مورد استفاده قرار گیرد. طیف گسترده‌ای از منابع قندی را می‌توان برای تهیه کفیر آب استفاده کرد زیرا

[1] *Martinus Willem Beijerinck*
[2] Ginger beer plant
[3] Tibi grains
[4] Japanese Beer Seeds
[5] Gilead Balm
[6] Sugary kefir grains

میکروارگانیسم‌های موجود در دانه‌های کفیر آب با منابع مختلف بسیار سازگار هستند (Bueno et al., 2021).

میکروارگانیسم‌های موجود در دانه‌های کفیر آب به صورت همزیستی در دانه‌ها زندگی می‌کنند و می‌توانند از دانه‌ها به مایع کفیر آب منتقل شوند. دانه‌های کفیر آب، پس از فیلتر کردن محصول تخمیرشده، برای تخمیر بعدی مجدداً استفاده می‌شوند که به آن فرآیند " پیچینگ[1]" می‌گویند (Verce et al., 2019). فرایند افزودن مقداری از نوشیدنی تخمیرشده قبلی به همراه دانه‌ها به تخمیر جدید، به عنوان فرایند "Back-slopping" شناخته می‌شود و بطور رایج از زمان‌های گذشته در انواع متنوعی از غذاهای تخمیری بکار می‌رفته است. پس از جدا شدن دانه کفیر آب از مایع کفیر، می‌توان از قسمت مایع برای تخمیر دوم استفاده کرد. گزارش‌ها نشان می‌دهند که با افزودن میوه و آب میوه در مرحله دوم تخمیر و گرمخانه‌گذاری در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت، می‌توان طعم‌های مختلفی را به محصول نهایی اضافه کرد (معمولاً از آب سیب، آناناس، لیموترش، لیمو، پرتقال، انبه، گیلاس، توت فرنگی استفاده می‌شود). (Bueno et al., 2021; Fiorda et al., 2017).

تطبیق‌پذیری دانه‌های کفیر آب برای تخمیر سوبستراهای مختلف در مطالعات متعدد نشان داده شده است که می‌توان با استفاده از منابع جایگزین کربوهیدرات، طعم‌های جدیدی را در تولید کفیر آب کشف کرد. استفاده از سوبستراهای جایگزین، منجر به تولید نوشیدنی‌های کاربردی با ترکیبات متابولیکی متفاوت، بنابراین ویژگی‌های حسی متفاوت (Fiorda et al., 2017; Bueno et al., 2021) و خواص بیولوژیکی متفاوت می‌شود.

تعداد گزارش‌های علمی که از دانه‌های کفیر آب برای تخمیر سوبستراهای جایگزین استفاده شده است، در سال‌های گذشته افزایش یافته است. افزودن میوه‌ها و سبزیجات که منجر به معرفی سوبستراهایی برای تولید نوشیدنی‌های تخمیری نوآورانه شده‌اند. تخمیر سوبستراهای قندی از منابع مختلف گیاهی، کفیر آب را به گزینه‌ای جذاب برای استفاده از منابع جایگزین قند تبدیل کرده است. بنابراین، کفیر آب را می‌توان به عنوان یک نوشیدنی تخمیر شده در نظر گرفت که می‌تواند ارزش افزوده بیشتری به محصولات جانبی صنایع غذایی که هنوز حاوی قندهای قابل تخمیر هستند، بدهد. با این حال، همچنان نیاز به مطالعات علمی بیشتر برای تأیید این موضوع وجود دارد.

تنوع میکروبی در کفیر آب: تفاوت با کفیر شیر

کفیر آب یک نوشیدنی تخمیر شده است که با افزودن دانه‌های کفیر آب به دست می‌آید که دانه‌ها می‌توانند به جای آب، ساکاروز یا شکر، به مخلوطی از سوبستراهای مختلف افزوده شوند (Laureys and De Vuyst, 2014). کفیر شیر سنتی با تخمیر شیر با استفاده از دانه‌های کفیر شیر به دست می آید. در تولید نوشیدنی کفیر صنعتی، با میکروارگانیسم‌های به دست آمده از دانه ها، کفیر بدست می آید. ولی همانطور که گفته شد، در کفیر آب، دانه‌های کفیر آب به جای شیر به آب شیرین حاوی میوه های خشک یا سوبستراهای قندی دیگر افزوده می شوند. دانه‌های کفیر آب و دانه‌های کفیر شیر از نظر محتوای ساختاری و میکروارگانیسمی مشابه هستند. با این حال، انواع مختلف ساختار یا اجزای کربن که منبع انرژی سوبستراها هستند، می‌توانند در رشد میکروبی موثر باشند. تفاوت‌های میکروبی بین کفیر شیر و آب در مطالعاتی بررسی شده است (Acik et al., 2020; Blaiotta et al., 2014; Davidovic et al., 2015; Marsh et al., 2013; Alsayadi et al., 2012). در جدول ۱ به برخی از این تفاوت ها اشاره می شود.

[1] Pitching

جدول ۱ – میکروارگانیسم های یافت شده در کفیر آب و کفیر شیر

گروه میکروبی	کونه ها	کفیر شیر	کفیر آب
باکتری‌ها	*استوباکتر*	*ا. فاباریوم، ا. اورینتالیس، ا. لووانینسیس، ا. استی، ا.راسنس*	*ا. فاباریوم، ا. اورینتالیس، ا. لووانینسیس*
	لاکتوباسیلوس	*ل. اسیدوفیلوس، ل. برویس، ل. بوخنری، ل. کازئی زیرگونه سودوپلانتاروم، ل. دلبروکئی، ل. فرمنتوم، ل. هلوتیکوس، ل. کفیرانوفاسیینس، ل. کفیری، ل. اوتاکیینسیس، ل. پاراکازئی، ل. پارابوخنری، ل. پلانتاروم، ل. رامنوزوس، ل. ساک، ل. سونکی*	*ل. برویس، ل. بوخنری، ل. کازئی زیرگونه‌های کازئی و رامنوزوس، ل. دیولیووارانس، ل. فرمنتوم، ل. هاربیننسیس، ل. هیلگاردی، ل. هورده ای، ل. کفیرانوفاسیینس، ل. کفیری، ل. لاکتیس، ل. مالی، ل. ناژلی، ل. پاراکازئی، ل. پارافاراژینیس، ل. پرولنس، ل. پلانتاروم، ل. ساتسومننسیس*
	لوکونوستوک	*ل. مزانتروئیدس*	*ل. سیترئوم، ل. مزانتروئیدس*
	لاکتوکوکوس	*ل.کرموریس، ل. لاکتیس، ل. رافینولاکتیس*	
	پدیوکوکوس	*پ. اسیدی‌لاکتیس، پ. دکسترانیکوس، پ. پنتوساکوس*	
	استرپتوکوکوس	*اس. دورانس، اس. ترموفیلوس*	
	گونه های دیگر		*لیزینی‌باسیلوس اسفریکوس، ائنوکوکوس کیتاهارا، بیفیدوباکتریوم سایکرائروفیلوم*

مخمر	*کاندیدا*	*ک. آیکون‌اسپیکوا، ک. کفیر، ک. کروزئی، ک. لامبیکا، ک. ماریس، ک. هومیلیس*	
	ساکارومایسس	*س. سرویسیه، س. توریسنسیس*	*س. سرویسیه*
	پیشیا	*پ. فرمنتانس*	*پ. ممبرانی‌فاسینس، پ. کودریاوزوی*
	لانچانسا	*ل. میرسی*	*ل. فرمنتاتی، ل. میرسی*
	کلویورومایسس	*ک. لاکتیس*	*ک. لاکتیس، ک. مارکسیانوس*
	کازاکاستانیا	*ک. یونیسپورا، ک. سروازی، ک. آئروبیا، ک. سولیکولا*	*ک. آئروبیا، ک. یونیسپورا*
	هانسه‌نیاسپورا	*ه. گویلرموندی*	*ه. والبینسیس، ه. یوواروم*
	گونه های دیگر	*کریپتوکوکوس هومیکولوس، ژئوتریکوم کاندیدوم، زایگوساکارومایسس فرمنتاتی*	*زایگوتورولاسپورا فلورنتینا، ایساتچنکیا اورینتالیس، زایگوساکارومایسس فرمنتاتی، دکرا بروکسلنسیس*

برگرفته از Acik *et al.*, 2020

Adapted from Acik *et al.*, 2020

در نتیجه‌گیری کلی، دانه‌های کفیر آب از نظر ساختار، میکروارگانیسم‌ها و محصولات تشکیل شده در طی فرآیند تخمیر بسیار شبیه به دانه‌هایی کفیر شیر هستند (Miguel et al., 2011). اندازه و ساختار دانه‌های کفیر به طور قابل توجهی تحت تأثیر محیط کشت قرار می‌گیرد. توزیع سویه‌ها ممکن است بسته به منابع کربن و انرژی موجود در محیط برای تخمیر متفاوت باشد و به نظر می رسد این تغییرات میکروبی بیشتر بر دانه‌بندی و رشد دانه ها تأثیر می‌گذارد (Hsieh et al., 2012).

ویژگی‌های نوشیدنی کفیر آب و تنوع میکروبی دانه‌های کفیر آب

دانه‌های کفیر آب کوچک (قطر ۱۰-۱ میلی متر) و شفاف هستند، ساختار شکننده‌ای دارند که تحت فشار تغییر شکل می‌دهند و بسته به نوع ساکاروز و میوه اضافه شده به محیط کشت، می‌توانند رنگ سفید یا زرد داشته باشند. با پیوند همزیستی باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB)، باکتری‌های اسید استیک (AAB) و مخمرها، دانه های کفیر آب از یک سیستم میکروبیولوژیکی پیچیده در ماتریکسی از پلی ساکاریدها (عمدتا دکستران و تا حدی لوان) تولید شده توسط باکتری‌ها، تشکیل شده اند (Lynch et al., 2021; Pidoux et al., 1988). دکستران یک گلوکان شاخه دار پیچیده حاصل از تراکم گلوکز است. این اگزوپلی ساکارید نامحلول در آب، از واحدهای گلوکز تشکیل شده است که با پیوندهای آلفا ۱و۶ و با مقادیر کمتر انشعابات در محل اتصالات آلفا ۱و۳ به هم وصل شده اند. وزن مولکولی آن بین ۲۰۰۰-۴۵۰ کیلو دالتون متغیر است (Fels et al., 2018). هیچ پروتئین یا چربی در ترکیب دانه توصیف نشده است (Coma et al., 2019).

گروه‌های میکروبی تعبیه شده در دانه کفیر آب عبارتند از باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) (CFU/g $۱۰^{۸}$-$۱۰^{۷}$)؛ عمدتا گونه‌های لاکتوباسیلوس، گونه‌های لاکتوکوکوس، گونه‌های لوکونوستوک و گونه‌های استرپتوکوکوس، باکتری‌های اسید استیک (AAB) (CFU/g $۱۰^{۷}$-$۱۰^{۶}$) و مخمرها (CFU/g $۱۰^{۷}$-$۱۰^{۶}$) (Gulitz et al., 2011; Moretti et al., 2022). لاکتوباسیل‌ها در محیط غالب هستند (۱۰۰-۱۰ برابر بیشتر از مخمر)، و تعداد باکتری‌های اسید استیک با توجه به سطح اکسیژن موجود در سیستم متفاوت است، اما بیشتر شبیه لاکتوباسیل‌ها هستند (Gulitz et al., 2011). گونه‌های لاکتوباسیلوس از باکتری‌های اسید لاکتیک، گونه‌های استوباکتر از باکتری‌های اسید استیک و گونه‌های ساکارومایسس از مخمر، اعضای میکروبی اصلی دانه‌های کفیر آب هستند (Laureys et al., 2018). برخی از گونه‌ها اغلب در دانه‌های کفیر آب یافت می‌شوند و فراوانی بالایی دارند، اما اینکه کدام گونه غالب است، بسته به منشاء جغرافیایی دانه‌ها و منبع تخمیر متفاوت است (Lynch et al., 2021).

منابع کربن و انرژی مورد استفاده در طی تخمیر بر تنوع و فراوانی گونه‌های میکروبی و همچنین غلظت محصولات زیستی نهایی تأثیر می‌گذارد. این تغییرات همچنین بر دانه‌بندی دانه و رشد میکروبی تأثیر می‌گذارد (Hsieh et al., 2012). از زمان کشف این ارگانیسم‌ها توسط دکتر *Ward* در لندن در سال ۱۸۹۲ و متعاقب آن توسعه ابزارهای مولکولی، گام های مهمی برای شناسایی انواع مخمرها و باکتری‌های شرکت کننده در تخمیر کفیر آب برداشته شده است. به خصوص در ۳۰ سال گذشته مطالعات مختلفی در زمینه میکروبیولوژی کفیر آب در کشورهای مختلف مانند برزیل، بلژیک، آلمان، صربستان، تایوان، چین، ایرلند، آرژانتین و یمن انجام شده است (Alsayadi et al., 2013; Blaiotta et al., 2014; Davidovic et al., 2015; Gulitz et al., 2011; Hsieh et al., 2012; Laureys & De Vuyst, 2014; Magalhães et al., 2010; Marsh et al., 2013). این مطالعات نشان داده است که بسته به زمان تخمیر، دما و منشاء دانه‌های کفیر، ترکیب میکروبی دانه‌های کفیر آب متفاوت است.

به طور کلی، گزارش شده است که جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک از مخمرها هم در دانه‌های کفیر شیر و هم در دانه‌های کفیر آب بیشتر است (Lynch et al., 2021). با این حال، برخی مطالعات وجود جمعیت‌های مشابه یا حتی غلبه جمعیت مخمر بر باکتریهای اسید لاکتیک را گزارش کرده‌اند.

تنوع میکروبی دانه‌های کفیر آب به مناطق مختلف جغرافیایی که از آنجا منشا گرفته است نسبت داده شده است. تغییرات در جمعیت میکروبی از یک دانه یکسان، اخیراً با مطالعات توالی‌یابی گسترده روی نوشیدنی‌های کفیر آب به دست آمده از تخمیرهای متوالی بر روی سوبستراهای مختلف نشان داده شده است (Gamba et al., 2021).

مخمرها گروه بسیار متنوعی را تشکیل می‌دهند (معمولا گونه های ساکارومایسس[1] گونه‌های کلویورومایسس[2] گونه‌های پیشیا[3]و گونه‌های کاندیدا[4] که در تشکیل پیش‌سازهای عطر و طعم در طی فرآیندهای تخمیر و رسیده شدن نوشیدنی نقش دارند. منشا جغرافیایی دانه، مشخصات میکروبی را تعیین می‌کند. به عنوان مثال، در مورد مخمرها، برخی از مطالعات نشان داد که جمعیت مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* نسبت به *کلووروما‌یسس مارکسیانوس* غالب است (Lu et al., 2014). در حالی که در آثار دیگر *ساکارومایسس سرویسیه* جمعیت ثانویه و *زیگوتورولاسپورا فلورنتینا* غالب بوده است (Gulitz et al., 2011).

مخمرها گروه بسیار متنوعی را تشکیل می‌دهند (معمولا گونه های ساکارومایسس[5] گونه‌های کلویورومایسس[6] گونه‌های پیشیا[7]و گونه‌های کاندیدا[8] که در تشکیل پیش‌سازهای عطر و طعم در طی فرآیندهای تخمیر و رسیده شدن نوشیدنی نقش دارند. منشا جغرافیایی دانه، مشخصات میکروبی را تعیین می‌کند. به عنوان مثال، در مورد مخمرها، برخی از مطالعات نشان داد که جمعیت مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* نسبت به *کلووروما‌یسس مارکسیانوس* غالب است (Lu et al., 2014). در حالی که در آثار دیگر *ساکارومایسس سرویسیه* جمعیت ثانویه و *زیگوتورولاسپورا فلورنتینا* غالب بوده است (Gulitz et al., 2011).

در مورد LAB، دامنه *لاکتوباسیلوس هورده ای*[9] و *لاکتوباسیلوس ناژلی*[10]، یک میکروبیوتای ثانویه تشکیل شده از *لوکونوستوک مزانتروئیدس*[11] و *لوکونوستوک سیتروم*[12] در دانه‌های کفیر آب گزارش شده است (Gulitz et al., 2011). با استفاده از رویکرد ترکیبی روش‌های وابسته و مستقل از کشت، غلبه *لوکونوستوک مزانتروئیدس* در کفیر آب تخمیر شده با شکر قهوه ای و به دنبال آن *لاکتوباسیلوس هورده ای* و *لاکتوباسیلوس مالی*[13] در سطوح پایین‌تر گزارش شد (Hsieh *et al.*, 2012). *لاکتوباسیلوس پرولنز*[14]، *لاکتوباسیلوس پارافاراژینیس*[15] *لاکتوباسیلوس دیولیورانس*[16] و *ائنوکوکوس ائنی*[17] نیز گزارش شده‌اند (Zanirati et al., 2015).

اخیرا مشخص شد که ترکیب میکروبی دانه، تفاوت‌هایی با نوشیدنی‌های تخمیر شده به دست آمده در طی چرخه های تخمیر در سوبستراهای مختلف نشان می‌دهد. همین تغییرات در مورد دانه‌های کفیر شیر و نوشیدنی‌های کفیر شیر نیز دیده شده است (Gamba et al., 2021). ترکیب میکروارگانیسم‌ها در نوشیدنی کفیر آب و در نتیجه ویژگی‌های شیمیایی و حسی نوشیدنی نهایی می‌تواند تحت تأثیر سوبستراهای مورد استفاده باشد.

محصول تخمیر شده در کفیر آب، نوشیدنی با درجه مشخصی از کدورت و کربناته، میوه‌ای، اسیدی، ترش و کمی گازدار، با محتوای الکل کم و محتوای زیاد اسید لاکتیک و/یا استیک، حاوی میکروارگانیسم‌ها است. حداکثر و حداقل (CFU/ml) گروه‌های میکروبی که در نوشیدنی کفیر آب تخمیر شده به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد یافت شده است، در برخی مطالعات گزارش شده است (Pidoux, 1989 ; Caro Velez and León Peláez, 2015) که در جدول ۲ قابل مشاهده است. به این منظور از محیط‌های کشت

[1] *Saccharomyces* sp.
[2] *Kluyveromyces* sp.
[3] *Pichia* sp.
[4] *Candida* sp.
[5] *Saccharomyces* sp.
[6] *Kluyveromyces* sp.
[7] *Pichia* sp.
[8] *Candida* sp.
[9] *Lactobacillus hordei*

[10] *Lb. nagelii*
[11] *Leuconostoc mesenteroides*
[12] *Ln. citreum*
[13] *Lb. mali*
[14] *Lb. perolens*
[15] *Lb. parapharraginis*
[16] *Lb. diolivorans*
[17] *Oenococcus oeni*

اختصاصی شامل MRS آگار (de Man, Rogosa and Sharpe Agar)، آگار باکتریهای اسید استیک و عصاره مخمر-گلوکز-کلرامفنیکول آگار به ترتیب برای جداسازی باکتری‌های اسیدلاکتیک، باکتریهای اسید استیک و مخمرها استفاده شد.

جدول ۲ - مقادیر حداکثر و حداقل گروههای میکروبی موجود در نوشیدنی کفیر آب

گروه میکروبی	بیشینه (CFU/ml)	کمینه (CFU/ml)
باکتریهای اسیدلاکتیک	۹×۱۰^{۷}	$۲/۸ \times ۱۰^{۴}$
باکتریهای اسید استیک	$۳/۲۲ \times ۱۰^{۶}$	۷×۱۰^{۲}
مخمرها	$۴/۸ \times ۱۰^{۷}$	$۴/۷۷ \times ۱۰^{۵}$

تنوع میکروبی کفیر آب از دیرباز مورد مطالعه بوده است (Pidoux, 1989 ; Fiorda et al., 2017). در سال‌های اخیر، مطالعات انجام‌شده با تکنیک‌های زیست‌شناسی مولکولی، بینشی در مورد تنوع باکتری‌ها و مخمرهای کفیر آب فراهم کرده است. گونه‌های غالب باکتری‌های موجود در نوشیدنی *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*[1] *لاکتوباسیلوس کفیری*[2] *لاکتوباسیلوس پارابوخنری*[3] و *استوباکتر لووانینسیس*[4] هستند و در میان مخمرها *ساکارومایسس سرویسیه*[5] و *کلویورومایسس لاکتیس*[6] غالب هستند (Fiorda et al., 2017).

اخیراً، تنوع در جمعیت باکتریایی دانه و نوشیدنی تخمیر شده توسط توالی یابی 16S rRNA تعیین شد و مشخص شد که نوشیدنی‌های کفیر، بسته به نوع سوبسترا تخمیر مورد استفاده و حتی بسته به چرخه تخمیر در تخمیرهای متوالی، در نسبت ترکیب خود با توجه به دانه‌ای که از آن به دست می‌آیند، تفاوت‌هایی دارند و بطور کلی، نوشیدنی‌های کفیر آب بسته به سوبستراهای قندی مورد استفاده از نظر میکروبیولوژیکی متنوع هستند. (Gamba et al., 2021).

متابولیت های تولیدی در طی تخمیر در کفیر آب

کفیر آب تخمیر شده، حاوی متابولیت‌های مختلفی از جمله قند و اجزای مشتق شده از میوه، اسید لاکتیک، اسید استیک، اتانول، دی اکسیدکربن، مانیتول، ویتامین‌ها (به ویژه ویتامین‌های B کمپلکس)، اسیدهای آمینه (مانند آرژنین)، مانیتول، گلیسرول، استرها و سایر اسیدهای آلی است (Fiorda et al., 2017; Laureys and De Vuyst, 2014; Laureys et al., 2017). محصول تخمیری همچنین حاوی پلی‌ساکاریدهایی مانند گلوکان‌ها (پلیمرهای گلوکز) و لوان‌ها (پلیمرهای فروکتوز) تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها است (Fels et al., 2018). هنگامی که میکروارگانیسم‌های کفیر آب در شرایط مناسب تکثیر می‌شوند، گلوکان سنتز می‌شود و زیست توده دانه افزایش می‌یابد. علاوه بر این، میکروارگانیسم‌ها ساکارز را تخمیر می‌کنند. بنابراین، غلظت ساکارز در ۲۴ ساعت اول تا ۹۸٪ کاهش می‌یابد (Laureys and De Vuyst, 2014; Magalhães et al., 2010; Martinez-Torres et al., 2017). محصولات نهایی تخمیر عبارتند از اتانول، اسید لاکتیک و اسید استیک.

محصول زیستی اولیه ایجاد شده در طی فرآیند تخمیر اتانول است. غلظت اتانول به صورت خطی افزایش می‌یابد تا زمانی که از ۱۰ درصد حجم کل فراتر رود. با تبدیل اتانول به اسید استیک توسط باکتری‌های اسیداستیک در طی فرآیند تخمیر، سطح اتانول کاهش می‌یابد (Martínez-Torres et al., 2017). در طول ۲۴ ساعت اول تخمیر، مصرف ساکارز با تولید اتانول مخمرها (عمدتاً *ساکارومایسس سرویزیه*) همبستگی مطلوبی دارد. مخمر حاوی آنزیم اینورتاز است که ساکاروز را هیدرولیز می‌کند. باکتری‌هایی که اسیدهای لاکتیک و استیک تولید می‌کنند این آنزیم را متابولیزه می‌کنند و سطح فروکتوز و گلوکز را افزایش می‌دهند. وجود مخمرها در کفیر

[1] *Lb. paracasei*
[2] *Lb. kefirii*
[3] *Lb. parabuchneri*
[4] *Acetobacter lovaniensis*
[5] *S. cerevisiae*
[6] *K. lactis*

آب نیز به افزایش کیفیت حسی کمک می‌کند. خوش طعمی مخمر، مزه ای با طراوت و تند ایجاد می‌کند (Magalhaes et al., 2010).

میکروارگانیسم‌های ذکر شده حاضر در دانه‌های کفیر آب، قندها را مصرف می‌کنند و متابولیت های مختلفی تولید می‌کنند. در ابتدای فرآیند تخمیر، سوبسترا شامل تقریباً ۹۰ درصد ساکاروز، ۶ درصد قندهای احیاکننده و ۱/۵ درصد مواد معدنی (پتاسیم، کلسیم، فسفر، آهن، سدیم، منیزیوم، منگنز، روی و مس) است (Martínez-Torres et al., 2017). هنگامی که تخمیر به پایان رسید، محصولات نهایی اصلی یافت شده اتانول، اسیدلاکتیک، اسید استیک و سایر متابولیت‌ها مانند مانیتول، گلیسرول، استرها و سایر اسیدهای آلی هستند (Fiorda et al., 2017). از میان ترکیبات معطر رایج، اتیل استات، ایزوآمیل استات، اتیل هگزانوات، اتیل اکتانوات و اتیل دکانوات شناسایی شده است. این گروه اخیر، استرهای میوه هستند که تأثیر ارگانولپتیکی روی محصول نهایی دارند (Laureys and De Vuyst, 2014). در محصول تخمیر شده (با استفاده از آب شیرین با مواد افزودنی) در مجموع ۱۳۴ ترکیب فرار مختلف یافت شده است (Corona et al., 2016). محصول تخمیر شده (۲۴ ساعت و ۲۰ درجه سانتیگراد) عمدتاً دارای اسید لاکتیک (۲ درصد) و پس از آن اسید استیک (۱/۵ درصد) و اتانول (۱ درصد) است.

مقادیر اسیدیته نهایی به فعالیت میکروارگانیسم ها به دلیل دما، زمان تخمیر و نسبت گرانول هایی که مایع قندی با آن تلقیح می‌شود بستگی دارد. pH محصول تخمیر شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد نزدیک به ۴ است. کل اسیدهای قابل تیتراسیون ۰/۰۷ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر و کل مواد جامد محلول ۴/۱ درجه بریکس هستند (Magalhães et al., 2010). اسید استیک به ارائه طعم مطبوع کمک می‌کند و در مهار میکروارگانیسم‌های نامطلوب نقش دارد (Puerari et al., 2012) و می تواند برای ارزیابی حسی محصولات تخمیری که طعم، عطر و بافت منحصر به فردی دارند، بسته به مقدارش، تعیین کننده باشد (Duarte et al., 2010).

اثر بالقوه کفیر آب بر سلامتی

خواص بالقوه ارتقاء سلامت کفیر آب تحت تأثیر تعدادی از متغیرها از جمله نوع سوبسترا، دمای و زمان تخمیر هستند. در خصوص کفیر شیر نیز مطالعاتی به تاثیر شرایط تخمیر از جمله نوع شیر، دما و زمان تخمیر بر ویژگی های ضدباکتریایی نوشیدنی کفیر شیر اشاره داشته اند (Ajam and Koohsari, 2020). بیشتر اثرات مفید کفیر شیر مربوط به نقش تخمیری باکتریهای اسید لاکتیک و مخمرها است. علیرغم تفاوت در سوبسترا، کفیر آب نیز از نوع مشابهی از میکروبیوتا تشکیل شده است، که نشان می‌دهد کفیر آب پتانسیل اثرات مفیدی مانند کفیر شیر را دارد (Lynch et al., 2021). بسیاری از مطالعات فواید تغذیه‌ای و سلامتی مصرف منظم کفیر شیر را گزارش کرده‌اند (Nejati et al., 2020). با این حال، مطالعات کمی اثرات مفید کفیر آب برای سلامتی را بررسی کرده‌اند.

مطالعات مختلفی که ویژگی‌های پروبیوتیکی میکروارگانیسم‌های جدا شده از دانه‌های کفیر آب را بررسی کرده‌اند، نشان می‌دهند که این میکروارگانیسم‌ها فاقد اثرات بیماری‌زا هستند و قادر به تحمل شرایط دشوار دستگاه گوارش و چسبندگی به مخاط آن می‌باشند. این ویژگی‌ها به آن‌ها امکان می‌دهند تا در دستگاه گوارش جایگزین سایر میکروارگانیسم‌ها شده و از طریق رقابت با پاتوژن‌ها، به حفظ تعادل میکروبی کمک کنند (Golowczyc et al., 2011; Schneedorf, 2012; Soccol et al., 2010). بر اساس این تحقیقات، خواص مثبت کفیر آب به‌طور مستقیم به وجود میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در آن مرتبط است (Marsh et al., 2013).

وجود بیفیدوباکتری‌ها در دانه‌های کفیر آب به‌ویژه اهمیت دارد، زیرا این میکروارگانیسم‌ها جزء باکتری‌های مفید دستگاه گوارش به شمار می‌آیند و در تقویت سیستم ایمنی و حفظ تعادل میکروبی نقش دارند. برخی مطالعات نشان داده‌اند که

بیفیدوباکتریوم سایکروفیلوم/کرودیلاکتیس[1] در کفیر آب حضور دارد (Gulitz et al., 2013; Hsieh et al., 2012; Marsh et al., 2013). این باکتری‌ها قادرند استات و لاکتات تولید کنند که می‌تواند به تقویت فرآیندهای متابولیک در بدن کمک کند (De Vuyst, 2014 & Laureys). از این رو، حضور بیفیدوباکتری‌ها در کفیر آب، به‌ویژه در فرآیند تخمیر، می‌تواند تأثیرات مثبتی بر سلامت دستگاه گوارش و سیستم ایمنی داشته باشد

میکروارگانیسم‌های موجود در کفیر آب غیر بیماری‌زا هستند و علاوه بر این، همراه با اسیدهای آلی که تولید می‌کنند (و در محصول تخمیری یافت می‌شوند)، می‌توانند از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا همچون گونه‌های سالمونلا و شیگلا (Zavala et al., 2016)، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* (Romero-Luna et al., 2020) جلوگیری کنند.

همچنین فعالیت مهاری علیه قارچ‌های رشته‌ای مانند *آسپرژیلوس فلاووس* (Gonda et al., 2019)، *آسپرژیلوس اکراسئوس* (Caro Velez and León Peláez, 2015)، *آسپرژیلوس نایجر*، گونه‌های رایزوپوس و پنی‌سیلیوم نشان داده شده است. این ظرفیت ضد میکروبی مربوط به اسیدیته محصول است که با حضور اسیدهای آلی ضعیف مانند اسیدهای استیک و لاکتیک ایجاد می‌شود (Caro Velez and León Peláez, 2015).

کفیر آب علاوه بر داشتن فعالیت ضد میکروبی فوق الذکر، فعالیت‌های بیولوژیکی مثبت دیگر نیز از خود بروز می دهد (Lynch et al., 2021). برخی از ویژگی‌های عملکردی گزارش شده عبارتند از: تعدیل کننده ایمنی (Calatayud et al., 2021)، ضد تومور (Zamberi et al., 2016)، ضد فشار خون (Gamba et al., 2019)، ضد سم (Kumar et al., 2021)، محافظ کبد (Aspiras et al., 2015)، کاهش کلسترول خون (Rocha-Gomes et al., 2018)، هیپرگلیسمی و ضد چربی خون (Koh et al., 2018)، آنتی‌اکسیدان (Darvishzadeh et al., 2021)، اثرات ضد ادماتوز (Moreira et al., 2008)، ضد التهاب (Diniz et al., 2003)، ضدزخم (Rodrigues et al., 2016)، التیام بخش (Moreira et al., 2008) و دیگر فعالیت‌های بیولوژیکی (Pendon et al., 2021). علاوه بر این، برخی از سویه‌های جدا شده از کفیر آب دارای خواص پروبیوتیکی هستند. در واقع، بسیاری از میکروارگانیسم‌های با پتانسیل پروبیوتیک از دانه‌های کفیر آب یا از نوشیدنی تخمیر شده جدا شده‌اند (Romero-Luna et al., 2020). فواید سلامتی را می‌توان به میکروارگانیسم‌های مفید موجود در نوشیدنی تخمیر شده، متابولیت‌های آنها (اسیدهای آلی و الیگوساکاریدها) و هر دو (اثر سینرژیک) نسبت داد. علاوه بر این، فعالیت بیولوژیکی می‌تواند توسط میکروارگانیسم‌ها یا متابولیت‌های آن‌ها به صورت مستقیم یا غیرمستقیم از طریق تحریک میکروبیوتای روده ایجاد شود (Simonelli et al., 2021). در هر صورت، هنوز تحقیقات بیشتری برای درک مزایای سلامتی متعدد مرتبط با کفیر آب مورد نیاز است.

با توجه به مطالعات و داده‌های به‌دست‌آمده، نباید به این نتیجه رسید که یک کفیر آب خاص می‌تواند تمام این مزایا را داشته باشد، زیرا هر کفیر آبی از دانه‌های مختلف و در نتیجه شرایط تخمیر متفاوتی تولید می‌شود که بر ترکیب میکروبی/شیمیایی تأثیر می‌گذارد. تعریف FAO/WHO از پروبیوتیک عبارت است از "میکروارگانیسم‌های زنده‌ای که در صورت تجویز به مقدار کافی، مزایای سلامتی را برای میزبان به همراه دارد" (FAO/WHO, 2002). همانطور که در تعریف مشخص شد، مزایای سلامتی هر محصول پروبیوتیک به تجویز تعداد کافی میکروب زنده در فرمول مصرفی (معمولاً به عنوان CFU در هر دوز تعریف می شود) بستگی دارد. باکتری‌های پروبیوتیک تأثیر مثبتی بر مزایای ایمنی و گوارشی دارند، اما تحقیقات بالینی قوی و سیستماتیک برای اثبات مزایای سلامتی ادعایی آنها مورد نیاز است. علاوه بر این، نباید نادیده گرفت که اثرات پروبیوتیکی خاص سویه هستند (Wright, 2019). شناسایی سویه‌ها در میکروبیوتا

[1] *Bifidobacterium psychraerophilum/crudilactis*

برای ایمنی، شرایط رشد و ویژگی‌های متابولیکی یک سویه خاص بسیار مهم است (FAO/WHO, 2002).

کفیر آب در قوانین و مقررات مواد غذایی

کفیر آب یک نوشیدنی محبوب است که باعث سلامتی می‌شود (Hsieh et al., 2012). ولی به جز کشورهای معدودی از کشورها مانند بلژیک استرالیا، ایالات متحده آمریکا، ایتالیا و آرژانتین که از سال‌ها قبل کفیر آب صنعتی را می‌توان بطور تجاری در بازارها یافت، کفیر آب خانگی بیشترین مصرف را به خود اختصاص داده است. کفیر آب در قوانین و مقررات غذایی اکثر کشورها گنجانده نشده است و معمولاً به عنوان "نوشیدنی سنتی" فروخته می‌شود. با این حال، در سال های اخیر، مقررات مربوط به سویه‌های پروبیوتیک در جهان به کفیر آب رسیده است (Moretti et al., 2022).

کفیر آب در قوانین برخی از سازمان‌های بین‌المللی گنجانده شده است. FDA کفیر آب را یکی از مواردی می‌داند که می‌تواند جایگزینی گیاهی برای شیر، همراه با سایر جایگزین‌های شیر گیاهی باشد (FDA, 2021). در استرالیا، کفیر آب در دسته نوشابه‌های تخمیری «نوشیدنی‌های غیرالکلی و نوشابه‌های تخمیری» (Food Standards Australia, 2016) طبقه‌بندی می‌شود. این محصول به عنوان یک فرآورده تخمیری ساخته شده از شکر، آب و یک یا چند عصاره یا دم کرده میوه یا سبزی‌ها است و اعلام شده است که حاوی بیش از ۱/۱ درصد الکل در حجم نیست. در نتیجه، گنجاندن کفیر آب در قوانین و مقررات موادغذایی در کشورهایی که مصرف می‌شود، ضرورت پیدا کرده است.

نتیجه گیری

کفیر آب یک نوشیدنی کاربردی، تخمیری و پروبیوتیک است، که از گذشته تا به امروز به دلیل تأثیرات مثبت خود بر سلامت مورد توجه قرار گرفته است. کفیر آب یک نوشیدنی تخمیری، کاربردی و پروبیوتیک است این نوشیدنی به عنوان یک منبع جایگزین پروبیوتیک برای افراد مبتلا به عدم تحمل لاکتوز، افرادی که به لبنیات آلرژی دارند یا کسانی که ترجیح می‌دهند شیر و محصولات لبنی مصرف نکنند و رژیم‌های گیاهخواری دارند، معرفی می‌شود. علاوه بر رابطه همزیستی بین باکتری‌های اسید لاکتیک، باکتری‌های اسید استیک و مخمر، میکروبیوتای دانه کفیر آب می‌تواند تحت تأثیر زمان تخمیر، دما، وجود اکسیژن و نوع و غلظت ساکارز قرار گیرد. اگرچه تقاضای مصرف‌کنندگان، صنایع غذایی را به سمت افزایش تولید کفیر آب سوق داده است، اما به دلیل برخی مشکلات در فرآیند تولید در مقیاس صنعتی، رایج ترین تولید همچنان به روش سنتی متکی است. با این حال، با توجه به مزایای بالقوه سلامتی کفیر آب به‌واسطه میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی موجود در آن، تولید صنعتی و تجاری‌سازی آن ضروری است و باید در دسته "نوشیدنی‌های غیرالکلی" در قوانین مواد غذایی گنجانده شود. از سوی دیگر، همانطور که در این مقاله مروری اشاره شده است، کفیر آب می‌تواند با افزودن بسیاری از سوبستراهای مختلف تولید شود، زیرا دانه‌های کفیر ظرفیت بالایی برای انطباق با سوبستراهای مختلف غذایی دارند. این ویژگی، امکان تهیه کفیر آب با منابع جایگزین کربوهیدرات را فراهم می‌آورد و به کشف طعم‌های جدید منجر می‌شود. استفاده از سوبستراهای جایگزین به تولید نوشیدنی‌های کاربردی با ترکیبات متابولیکی متفاوت منجر شده و ویژگی‌های حسی و خواص بیولوژیکی آن‌ها را تغییر می‌دهد.

منابع

1. Acik, M., Çakiroglu, F.P., Altan, M., and Baybo, T. (2020). Alternative source of probiotics for lactose intolerance and vegan individuals: sugary kefir. Food Sci Technol, Campinas. 40(3): 523-531.
2. Ajam, F., and Koohsari, H. (2020). Effect of some fermentation conditions on antibacterial activity of fermented milk by kefir grains. J Food Process Preserv. 44(12): e14913.
3. Alsayadi, M., Al Jawfi, Y., Belarbi, M., and Sabri, F. Z. (2013). Antioxidant potency of water kefir. J Microbiol Biotechnol Food Sci. 2(6): 2444-2447.
4. Aspiras, B. E. E., Flores, R. F. A. C., and Pareja, M. C. (2015). Hepatoprotective effect of Fermented Water Kefir on Sprague-Dawley rats (Rattus norvegicus) induced with sublethal dose of Acetaminophen. International Journal of Current Science. 17: 18-28.
5. Azizi, N. F., Kumar, M. R., Yeap, S. K., Abdullah, J. O., Khalid, M., Omar, A. R., Osman, M. A., Mortadza, S. A. S., and Alitheen, N. B. (2021). Kefir and its biological activities. Foods. 10(6): 1210.
6. Beijerinck, M.W., 1889. Sur le kefir. Arch.s Neerlandaies des Sciences Exactes et Naturelles 23, 248-258.
7. Bergmann, R. S. D. O., Pereira, M. A., Veiga, S. M. O. M., Schneedorf, J. M., Oliveira, N. D. M. S., and Fiorini, J. E. (2010). Microbial profile of a kefir sample preparations: grains in natura and lyophilized and fermented suspension. Food Sci Technol. 30: 1022-1026.
8. Blaiotta, G., Di Capua, M., Romano, A., Coppola, R., and Aponte, M. (2014). Optimization of water curing for the preservation of chestnuts (Castanea sativa Mill.) and evaluation of microbial dynamics during process. Food microbiology. 42: 47-55.
9. Bueno, R. S., Ressutte, J. B., Hata, N. N., Henrique-Bana, F. C., Guergoletto, K. B., de Oliveira, A. G., and Spinosa, W. A. (2021). Quality and shelf life assessment of a new beverage produced from water kefir grains and red pitaya. Lwt, 140: 110770.
10. Calatayud, M., Börner, R. A., Ghyselinck, J., Verstrepen, L., Medts, J. D., Abbeele, P. V. D., ... and Damak, S. (2021). Water kefir and derived pasteurized beverages modulate gut microbiota, intestinal permeability and cytokine production in vitro. Nutrients. 13(11): 3897.
11. Caro Velez, C. A., and León Peláez, Á. M. (2015). Capacidad antifúngica de sobrenadantes libres de células obtenidos de la fermentación de un sustrato de "panela" con gránulos de kefir de agua. Revista Colombiana de Biotecnología. 17.
12. Coma, M. E., Peltzer, M. A., Delgado, J. F., and Salvay, A. G. (2019). Water kefir grains as an innovative source of materials: Study of plasticiser content on film properties. European Polymer Journal. 120: 109234.
13. Corona, O., Randazzo, W., Miceli, A., Guarcello, R., Francesca, N., Erten, H., ... and Settanni, L. (2016). Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. LWT-Food Science and Technology. 66: 572-581.
14. Cosme, F., Inês, A., and Vilela, A. (2022). Consumer's acceptability and health consciousness of probiotic and prebiotic of non-dairy products. Food Research International. 151: 110842.
15. Cufaoglu, G., and Erdinc, A. N. (2023). An alternative source of probiotics: Water kefir. Food frontiers. 4(1): 21-31.
, R. F. (2011). Profile of microbial communities present in tibico (sugary kefir) grains from different Brazilian States. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 27: 1875-1884.
17. Davidović, S. Z., Miljković, M. G., Antonović, D. G., Rajilić-Stojanović, M. D., and Dimitrijević-Branković, S. I. (2015). Water Kefir grain as a source of potent dextran producing lactic acid bacteria. Hemijska industrija. 69(6): 595-604.
18. Dong, J., Liu, B., Jiang, T., Liu, Y., and Chen, L. (2018). The biofilm hypothesis: The formation mechanism of Tibetan kefir grains. International Journal of Dairy Technology. 71: 44-50.
19. Duarte, W. F., Dias, D. R., Oliveira, J. M., Teixeira, J. A., e Silva, J. B. D. A., and Schwan, R. F. (2010). Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabiroba, jaboticaba and umbu. LWT-Food Science and Technology. 43(10): 1564-1572.

20. Fels, L., Jakob, F., Vogel, R. F., and Wefers, D. (2018). Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. Carbohydrate polymers. 189: 296-303.
21. Fiorda, F. A., de Melo Pereira, G. V., Thomaz-Soccol, V., Rakshit, S. K., Pagnoncelli, M. G. B., de Souza Vandenberghe, L. P., and Soccol, C. R. (2017). Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation-A review. Food Microbiology. 66: 86-95.
22. Food and Agriculture Organization/World Health Organization. (2002). *Guidelines for the evaluation of probiotics in food*. Report of a Joint FAO/WHOWorking Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.
23. Food and Drug Administration. (2021) Enhancing Retailer Standards in the Supplemental Nutrition Assistance Program (SNAP).
24. Food Standards Australia New Zealand. (2021). Standard 2.6.2 Nonalcoholic beverages and brewed soft drinks. https://www.foodstandards. gov.au/code/Documents/2.6.2%20Non-alco%20drinks%20v157.
25. Gamba, R. R., Koyanagi, T., Peláez, A. L., De Antoni, G., and Enomoto, T. (2021). Changes in microbiota during multiple fermentation of kefir in different sugar solutions revealed by high-throughput sequencing. Current Microbiology. 78(6): 2406-2413.
26. Gamba, R. R., Yamamoto, S., Sasaki, T., Michihata, T., Mahmoud, A. H., Koyanagi, T., and Enomoto, T. (2019). Microbiological and functional characterization of kefir grown in different sugar solutions. Food Science and Technology Research. 25(2): 303-312.
27. Garofalo, C., Ferrocino, I., Reale, A., Sabbatini, R., Milanović, V., Alkić-Subašić, M., ... and Osimani, A. (2020). Study of kefir drinks produced by backslopping method using kefir grains from Bosnia and Herzegovina: Microbial dynamics and volatilome profile. Food research international. 137: 109369.
28. Golowczyc, M. A., Silva, J., Teixeira, P., De Antoni, G. L., and Abraham, A. G. (2011). Cellular injuries of spray-dried Lactobacillus spp. isolated from kefir and their impact on probiotic properties. International journal of food microbiology. 144(3): 556-560.
29. Gonda, M., Garmendia, G., Rufo, C., León Peláez, Á., Wisniewski, M., Droby, S., and Vero, S. (2019). Biocontrol of Aspergillus flavus in ensiled sorghum by water kefir microorganisms. Microorganisms. 7(8): 253.
30. Good Food Institute. (2021). US retail market data for the plant-based industry. URL
31. Gulitz, A., Stadie, J., Ehrmann, M. A., Ludwig, W., and Vogel, R. F. (2013). Comparative phylobiomic analysis of the bacterial community of water kefir by 16S rRNA gene amplicon sequencing and ARDRA analysis. Journal of applied microbiology. 114(4): 1082-1091.
32. Gulitz, A., Stadie, J., Wenning, M., Ehrmann, M. A., and Vogel, R. F. (2011). The microbial diversity of water kefir. International journal of food microbiology. 151(3): 284-288.
33. Hsieh, H. H., Wang, S. Y., Chen, T. L., Huang, Y. L., and Chen, M. J. (2012). Effects of cow's and goat's milk as fermentation media on the microbial ecology of sugary kefir grains. International journal of food microbiology. 157(1): 73-81.
34. Guzel-Seydim, Z. B., Gökırmaklı, Ç., and Greene, A. K. (2021). A comparison of milk kefir and water kefir: Physical, chemical, microbiological and functional properties. Trends in Food Science & Technology. 113: 42-53.
35. Horisberger, M. (1969). Structure of the dextran of the tibi grain. Carbohydrate Research. 10(3): 379-385.
36. Islam, N., Shafiee, M., and Vatanparast, H. (2021). Trends in the consumption of conventional dairy milk and plant-based beverages and their contribution to nutrient intake among Canadians. Journal of Human Nutrition and Dietetics. 34(6): 1022-1034.
37. Kebler, L. F. (1921). California bees. The Journal of the American Pharmaceutical Association (1912). 10(12): 939-943.
38. Koh, W. Y., Utra, U., Rosma, A., Effarizah, M. E., Rosli, W. I. W., and Park, Y. H. (2018). Development of a novel fermented pumpkin-based beverage inoculated with water kefir

grains: a response surface methodology approach. Food science and biotechnology. 27: 525-535.
39. Kumar, M. R., Yeap, S. K., Mohamad, N. E., Abdullah, J. O., Masarudin, M. J., Khalid, M., ... and Alitheen, N. B. (2021). Metagenomic and phytochemical analyses of kefir water and its subchronic toxicity study in BALB/c mice. BMC complementary medicine and therapies. 21(1): 183.
40. Laureys, D., Aerts, M., Vandamme, P., and De Vuyst, L. (2018). Oxygen and diverse nutrients influence the water kefir fermentation process. Food microbiology. 73: 351-361.
41. Laureys, D., Cnockaert, M., De Vuyst, L., and Vandamme, P. (2016). Bifidobacterium aquikefiri sp. nov., isolated from water kefir. International journal of systematic and evolutionary microbiology. 66(3): 1281-1286.
42. Laureys, D., and De Vuyst, L. (2014). Microbial species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of water kefir fermentation. Applied and environmental microbiology. 80(8): 2564-2572.
43. Laureys, D., Van Jean, A., Dumont, J., and De Vuyst, L. (2017). Investigation of the instability and low water kefir grain growth during an industrial water kefir fermentation process. Applied microbiology and biotechnology. 101: 2811-2819.
44. Li, C., Li, H., Cui, Y., Xie, C., Cai, D., Li, W., ... and Zhou, H. (2010). Evidence that a West-East admixed population lived in the Tarim Basin as early as the early Bronze Age. BMC biology. 8: 1-12.
45. Lu, M., Wang, X., Sun, G., Qin, B., Xiao, J., Yan, S., ... and Wang, Y. (2014). Fine structure of Tibetan kefir grains and their yeast distribution, diversity, and shift. PLoS One. 9(6): e101387.
46. Lutz, L. (1899). Recherches Biologiques Sur la Constitution du Tibi. Bulletin de la SocieteMycologique de France. 15: 68–72.
47. Lynch, K. M., Wilkinson, S., Daenen, L., and Arendt, E. K. (2021). An update on water kefir: Microbiology, composition and production. International Journal of Food Microbiology. 345: 109128.
48. Magalhaes, K. T., de M. Pereira, G. V., Dias, D. R., and Schwan, R. F. (2010). Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 26: 1241-1250.
49. Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., and Cotter, P. D. (2013). Sequence-based analysis of the microbial composition of water kefir from multiple sources. FEMS microbiology letters. 348(1): 79-85.
50. Martínez-Torres, A., Gutiérrez-Ambrocio, S., Heredia-del-Orbe, P., Villa-Tanaca, L., and Hernández-Rodríguez, C. (2017). Inferring the role of microorganisms in water kefir fermentations. International Journal of Food Science & Technology. 52(2): 559-571.
51. Moreira, M. E. C., Santos, M. D., Zolini, G. P. P., Wouters, A. T. B., Carvalho, J. C. T., and Schneedorf, J. M. (2008). Anti-inflammatory and cicatrizing activities of a carbohydrate fraction isolated from sugary kefir. Journal of medicinal food. 11(2): 356-361.
52. Moretti, A. F., Moure, M. C., Quiñoy, F., Esposito, F., Simonelli, N., Medrano, M., and León-Peláez, Á. (2022). Water kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: From ancient and artisanal manufacture to industrialized and regulated commercialization. Future Foods. 5: 100123.
53. Nejati, F., Junne, S., and Neubauer, P. (2020). A big world in small grain: a review of natural milk kefir starters. Microorganisms. 8(2): 192.
54. Oboturova, N., Evdokimov, I., Kulikova, I., Bratsikhin, A., and Bogueva, D. (2022). Traditional foods of the North Caucasus region. In *Nutritional and Health Aspects of Traditional and Ethnic Foods of Eastern Europe* (pp. 69-91). Academic Press.
55. Otles, S., and Cagindi, O. (2012). Safety considerations of nutraceuticals and functional foods. Novel Technologies in Food Science: Their Impact on Products, Consumer Trends and the Environment, 121-136.
56. Pechurina, A. (2020). Researching identities through material possessions: The case of diasporic objects. Current Sociology. 68(5): 669-683.

57. Pendón, M. D., Bengoa, A. A., Iraporda, C., Medrano, M., Garrote, G. L., and Abraham, A. G. (2022). Water kefir: Factors affecting grain growth and health-promoting properties of the fermented beverage. Journal of Applied Microbiology. 133(1): 162-180.
58. Pidoux, M. (1989). The microbial flora of sugary kefir grain (the gingerbeer plant): biosynthesis of the grain from Lactobacillus hilgardii producing a polysaccharide gel. MIRCEN journal of applied microbiology and biotechnology. 5(2): 223-238.
59. Pidoux, M., Brillouet, J. M., and Quemener, B. (1988). Characterization of the polysaccharides from a Lactobacillus brevis and from sugary kefir grains. Biotechnology letters. 10: 415-420.
60. Puerari, C., Magalhães, K. T., and Schwan, R. F. (2012). New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. Food Research International. 48(2): 634-640.
61. Randazzo, W., Corona, O., Guarcello, R., Francesca, N., Germanà, M. A., Erten, H., ... and Settanni, L. (2016). Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. Food Microbiology. 54: 40-51.
62. Rocha-Gomes, A., Escobar, A., Soares, J. S., Silva, A. A. D., Dessimoni-Pinto, N. A. V., and Riul, T. R. (2018). Chemical composition and hypocholesterolemic effect of milk kefir and water kefir in Wistar rats. Revista de Nutrição. 31(2): 137-145.
63. Rodrigues, K. L., Araújo, T. H., Schneedorf, J. M., de Souza Ferreira, C., Moraes, G. D. O. I., Coimbra, R. S., and Rodrigues, M. R. (2016). A novel beer fermented by kefir enhances anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities found isolated in its constituents. Journal of Functional Foods. 21: 58-69.
64. Romero-Luna, H.E., Peredo-Lovillo, A., Hernández-Mendoza, A., Hernández-Sánchez, H., Cauich-Sánchez, P. I., Ribas-Aparicio, R.M., and Dávila-Ortiz, G. (2020). Probiotic potential of *Lactobacillus paracasei* CT12 isolated from water kefir grains (Tibicos). Current Microbiology. 77: 2584-2592.
65. Schneedorf, J. M. (2012). Kefir D'Aqua and its probiotic properties. *Probiotic in animals*, 53-76.
66. Simonelli, N., Gagliarini, N., Medrano, M., Piermaria, J. A., and Abraham, A. G. (2022). Kefiran. In *Polysaccharides of Microbial Origin: Biomedical Applications* (pp. 99-116). Cham: Springer International Publishing.
67. Socol, C., Vandenberghe, L., Spier, M., Medeiros, A., Yamaguishi, C., Linder, J., ... and Soccol, V. (2010). The potential of probiotics. Food Technology and Biotechnology. 48(4), 413-434.
68. Topolska, K., Florkiewicz, A., and Filipiak-Florkiewicz, A. (2021). Functional food—consumer motivations and expectations. International journal of environmental research and public health. 18(10): 5327.
69. Vayssier, Y. (1978). Le kefir: analyse qualitative et quantitative. *Revue Laitiere Francaise*.
70. Verce, M., De Vuyst, L., and Weckx, S. (2019). Shotgun metagenomics of a water kefir fermentation ecosystem reveals a novel Oenococcus species. Frontiers in microbiology. 10: 479.
71. Waldherr, F. W., Doll, V. M., Meißner, D., and Vogel, R. F. (2010). Identification and characterization of a glucan-producing enzyme from Lactobacillus hilgardii TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir. Food Microbiology. 27(5): 672-678.
72. Ward, H. M. (1892). V. the ginger-beer plant, and the organisms composing it: a contribution to the study of fermentation-yeasts and bacteria. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. (B.)*, (183): 125-197.
73. Wright, A.V. (2019). Safety assessment of probiotics in the EuropeanUnion. G. Vinderola, A. Ouwehand, and S. Salminen (Eds.), *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects* (pp. 723–734). CRC Press.
74. Yang, Y., Shevchenko, A., Knaust, A., Abuduresule, I., Li, W., Hu, X., ... and Shevchenko, A. (2014). Proteomics evidence for kefir dairy in Early Bronze Age China. Journal of Archaeological Science. 45: 178-186.

75. Yildiz, F. (2016). *Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products*. CRC press.
76. Zamberi, N. R., Abu, N., Mohamed, N. E., Nordin, N., Keong, Y. S., Beh, B. K., ... and Alitheen, N. B. (2016). The antimetastatic and antiangiogenesis effects of kefir water on murine breast cancer cells. Integrative Cancer Therapies. 15(4): NP53-NP66.
77. Zanirati, D. F., Abatemarco Jr, M., de Cicco Sandes, S. H., Nicoli, J. R., Nunes, Á. C., and Neumann, E. (2015). Selection of lactic acid bacteria from Brazilian kefir grains for potential use as starter or probiotic cultures. Anaerobe. 32: 70-76.
78. Zavala, L., Golowczyc, M. A., Van Hoorde, K., Medrano, M., Huys, G., Vandamme, P., and Abraham, A. G. (2016). Selected Lactobacillus strains isolated from sugary and milk kefir reduce Salmonella infection of epithelial cells in vitro. Beneficial microbes. 7(4): 585-595.

Water kefir as a functional beverage: A probiotic alternative to milk kefir

Koohsari H[1*]
[1] Associate Professor, Department of Microbiology, Azadshahr branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
[*]**Corresponding author**: *hadikoohsari@yahoo.com*

Abstract:

Probiotics are living microorganisms that have beneficial effects on human health when consumed in sufficient quantities. Meanwhile, kefir beverage is known as one of the most well-known and widely consumed probiotic dairy products worldwide. Given that some people are unable to consume milk and dairy products for reasons such as vegetarianism, lactose intolerance, or casein allergy, the need to find suitable alternatives to probiotic dairy products has become more important for them. Water kefir has attracted a lot of interest from these people. Water kefir is a traditional fruity, sour and slightly carbonated fermented beverage with a lactic acid content of up to 2% and alcohol usually less than 1%. This beverage is obtained by fermenting sugary water (instead of milk) containing sucrose and dried fruits by water kefir grains. Water kefir grains with a jelly-like and clear yellow color are composed of a polysaccharide matrix (mainly dextran) in which microorganisms including lactic acid bacteria, acetic acid bacteria and yeasts are embedded. Given the growing trend towards consuming probiotic products and fermented foods, achieving stable starter cultures, optimizing fermentation process conditions, and enhancing the sensory properties of this beverage are of great importance to enable its industrial production and widespread marketing. In addition, the possibility of using alternative substrates for fermentation by microorganisms present in water kefir grains is of particular importance in the development of this product. This review study aimed to introduce water kefir as a suitable alternative to dairy probiotic products and compare its characteristics with milk kefir.

Key words: Fermented beverage, Kefir, Probiotics, Water kefir