

Lippai Laura, Mednyánszky Zsuzsanna, Kocsis Tamás, Kiskó Gabriella

## Vízkefirkultúrával fermentált ital fejlesztése

### A szerzők elérhetősége

Lippai Laura<sup>1</sup> | hallgató  
lippai.laura@stud.uni-mate.hu

Mednyánszky Zsuzsanna<sup>2</sup> | egyetemi docens  
mednyanszky.zsuzsanna@uni-mate.hu | <https://orcid.org/0000-0002-1654-5596>

Kocsis Tamás<sup>1</sup> | egyetemi adjunktus  
kocsis.tamas.jozsef@uni-mate.hu | <https://orcid.org/0000-0001-7169-7245>

Kiskó Gabriella<sup>2</sup> | egyetemi tanár | levelező szerző  
kisko.gabriella@uni-mate.hu | <https://orcid.org/0000-0003-3344-5308>

### A szerzők munkahelye

<sup>1</sup>MATE ÉTTI Élelmiszer-mikrobiológia, -higiénia és -biztonság Tanszék  
Munkahely címe: 1118 Budapest, Somlói út 14-16.

<sup>2</sup>MATE ÉTTI Táplálkozástudományi Tanszék  
Munkahely címe: 1118 Budapest, Somlói út 14-16.



## Összefoglalás

A vízkefir kevésbé ismert fermentált készítmény, amely a japán kristálygomba fermentleve. A vízkefir mikrobiológiai jellemzői nagyban függenek a származási helytől, a fenntartástól és a fermentáció körülményeitől. A munka célja egy ízesített vízkefir ital fejlesztése volt a mikrobiológiai összetétel és érzékszervi paraméterek vizsgálata mellett. A mikrobióta összetételének vizsgálata hagyományos tenyésztéses vizsgálatokat követő MALDI –TOF MS készülékkel történt. Az érzékszervi vizsgálatok során 20 laikus bíráló minősítette az első fermentáció eredményeként készült ízesítetlen valamint második fermentáción átesett ízesített vízkefir termékeket. Mind az ízesítetlen, mind az ízesített vízkefir italokban a tejsavbaktériumok, ecetsavbaktériumok és élesztőgombák domináltak. Az azonosított ecetsav- és tejsavbaktérium fajok az *Acinobacter indonesiensis* és a *Gluconobacter oxidans* spp. *oxydans*. valamint a *Lactobacillus ghanensis* és a *Lactobacillus satsumensis* voltak. Mellettük 3 élesztőgomba faj, a *Saccharomyces cerevisiae*, a *Pichia fermentans* és a *Wickerhamomyces anomalus* került azonosításra. Az érzékszervi vizsgálatok során a bírálók a gyümölcsös ízesítésű mintákat preferálták. A fejlesztett ital alternatívaként szolgálhat egyes fogyasztói csoportok (pl. tejérzékenyek, vegánok) számára, mindemellett a szénsavas üdítőitalok egészségesebb helyettesítője is lehet.

**Kulcsszavak:** vízkefir, fermentált ital

## Bevezetés

Emésztőrendszerünket a rostban gazdag gabonák, hüvelyesek, gyümölcsök és zöldségek mellett fermentált termékekkel, például a savanyú káposztával vagy a kefirrel is támogathatjuk. Kevésbé ismert, de hasonlóan jótékony hatású fermentált készítmény a vízkefir, amely a japán kristálygomba, másnéven tibicos fermentleve. A kristálygomba megjelenéséről kapta a nevét, amely egy kristályszerű, glükopoliszacharid gélben élő főleg *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Acinetobacter*, *Saccharomyces*, *Candida* és *Kloeckera* nemzetségekből álló szimbiotikus közösség. A fermentációhoz elsősorban kristálygomba, cukor és víz szükséges. A terméket ízesítve is elkészíthetjük pl. aszalt gyümölcsökkel, citrommal vagy gyömbérrel. Egy-két napos, 20-25 °C-on végzett fermentációval készül el a szénsavas, enyhén édes, savanykás ital, amelynek számos jótékony hatást tulajdonítanak. A vízkefir jelentős antioxidáns és probiotikum forrása lehet (Zeynep és társai, 2021). A vízkefir mikrobiológiai összetétele nagyban függ a származási helytől, a fenntartástól és a fermentáció körülményeitől (Prado és társai, 2015). Előállításánál általában 10:100 arányban oszlik meg a kristálygomba és az oldat (Fiorda és társai, 2017). Benne a mikrobák szaporodását cukoroldat, gyümölcslé, zöldséglé vagy valamilyen gabona alapú ital biztosítja, amely megfelelő mennyiségben tartalmaz szacharózt vagy fruktózt. A termékben a fő fermentációs végtermékek a tejsav, ecetsav, etanol és szén-dioxid (Laureys és De Vuyst, 2017).

A gombaszemcséket dextrán mátrix alkotja (Fels és társai, 2018), melyek ösztömegeinek növekedése a fermentáció során 4-5%. A gombaszemcsék képzéséért *Lactocaseibacillus casei* (korábban *Lactobacillus casei*), *Lactobacillus* (*L.*) *nagelii*, *L. hordei*, *L. hilgardii* és *Leuconostoc mesenteroides* (Davidovic és társai, 2015) felelősek. A fermentáció során jellegzetes és fontos mikrobák a *Lactocaseibacillus paracasei* (korábban *L. paracasei*), *L. hilgardii*, *L. nagelii* és *Saccharomyces cerevisiae* (Laureys és De Vuyst, 2017). A *L. hilgardii* és a *L. nagelii* kulcsfontosságú fajok a mikrobaközösségben, különösen az exopoliszacharid termelésük miatt (Fels és társai, 2018). A tejsavbaktériumok mellett ecetsavbaktériumok, főleg *Acetobacter* fajok is részei a mikrobaközösségnek, ugyanakkor nem mindig detektálhatóak, akár ugyanabban a kultúrában sem (Laureys és De Vuyst, 2014, 2017). *Gluconobacter* fajok, mint a *G. liquefaciens* és a *G. roseus/oxydans* ritkábban kerülnek kimutatásra (Laureys és társai 2018). A vízkefirben az élesztőgombák (pl. *Saccharomyces*, *Zygorulaspóra*, *Dekkera*) jelenléte kulcsfontosságú, mivel a szacharózt hidrolizálják el extracelluláris  $\beta$ -D-fruktofuranozidázukkal glükózra és fruktózra (Watson; 1993). A *Saccharomyces cerevisiae* megtalálható

szinte az összes kultúrában. Más *Saccharomyces* fajok sokkal kevésbé fordulnak elő a vízkefirben. A vízkefirben rendszeresen találunk *Candida* fajokat is, mint például a *C. ethanolica*, *C. californica*, *C. lambica*, *C. valida* és a *C. valdiviana*. Ritkábban *Dekkera*, *Zygorulaspóra*, *Yarrowia* és *Pichia* fajokat is kimutatnak (Lynch és társai, 2021).

Mivel a tejsav- és ecetsavtermelésnek köszönhetően a vízkefir pH-ja jellemzően 4,5 alatt van az erjedés kezdetétől fogva (Laureys és társai, 2018), a nem kívánatos mikrobák növekedésének kockázata alacsony. Néhány *Enterobacter* fajon kívül (Waldherr és társai, 2010; Zanirati és társai, 2015) nem azonosítottak még vízkefirben patogén mikroorganizmusokat. A vízkefir etanoltartalma (ami főleg a fermentáció késői szakaszában keletkezik és jellemzően 0,02 és 2,0% között van) is segíthet a patogénekkal szembeni védelemben (Laureys és De Vuyst, 2014).

A munka célja egy kristálygomba-kultúrával fermentált ital fejlesztése volt a mikrobiológiai összetétel és érzékszervi paraméterek vizsgálata mellett.

## Anyagok és módszerek

### A vízkefir elkészítése

A kísérletek során alkalmazott vízkefir-kultúra egy egrí háztartásból származott. A kultúra szobahőmérsékleten való fenntartásához 2 napos ciklusokban szükséges a fermentációt elvégezni. A vízkefir elkészítése során elsőként 75 g kereskedelembe kapható kristályos szacharóz bemérése történt 1000 ml forrásban lévő vízbe, amit 5 perces forrásban tartás követett. A 7%-os cukoroldat 25 °C fok alá való lehűlését követően, tiszta, csatos üvegbe töltés, majd 100 g vízkefirgomba és 25 g héj nélküli citromkarika hozzáadása következett. Az üveg lezárása után 25 °C-os, közvetlen fénytől védett helyiségben 48 órán keresztül zajlott a fermentáció. Két nap elteltével egy tiszta szűrő segítségével a fermentlé és a vízkefirgomba elválasztásra került egymástól. Ezt követően a leszűrt vízkefirgomba az előzőleg ismertetett recept szerint új fermentáció során újra felhasználásra került.

Második fermentáció során az első fermentációban elkészült, szűrt fermentlé további erjesztése történt ízesítő anyagokkal. A szűrt lé (1000 ml) tiszta, jól záródó üvegbe való töltését követően a 120 ml gyümölcslé vagy cukoroldat (9 g szacharóz 110 ml vízben oldva) hozzáadása történt. Ezt követően 25 °C-os, közvetlen fénytől védett helyiségben, 24 órán keresztül zajlott a fermentáció, majd további felhasználásig a minták hűtőben voltak tárolva. A mérések elvégzéséhez használt 2. fermentációs minták minden esetben 1 napos hűtőtárolást követően kerültek felhasználásra a mikrobiológiai és érzékszervi vizsgálatok során is.

**Felhasznált gyümölcslevek**

A 2. fermentációban felhasznált gyümölcslevek kereskedelmi forgalomban kapható 100%-os almálé, 100%-os narancslé és 100%-os áfonyalé voltak. A narancslé felhasználás előtt szűrve lett, mivel a fermentáció során a rostok felúsztak a folyadék tetejére és egy „rostdugót” képeztek.

**Mikroba csoportok számának meghatározása**

Az első- és a második fermentációt követően a fermentlevekből tizedelő hígítási sor készítése után a megfelelő hígítási tagokból szelektív táptalajok esetében szélesztéssel, míg az összmikrobaszám meghatározása során lemezöntéssel történt a mikrobaszámok meghatározása. Az összes mikrobaszám meghatározása TGE agaron, az *Acetobacter*-ek számának meghatározása ABA tápagon 30 °C fokos 2 napig végzett inkubálással zajlott. A tejsavbaktériumok számának meghatározásához használt MRS lemezek inkubációja anaerob tenyészedényben 37 °C-on, míg az élesztőszám meghatározáshoz használt RBC tápagar lemezek inkubációja 25 °C fokon történt 3 napon keresztül.

**Mikrobák identifikálása MALDI-TOF MS-sel**

Az identifikáláshoz tiszta tenyészetek elkészítésére volt szükség. Az izolálás a különböző mikroba csoportok sejt számának meghatározásához készített lemezekon különböző morfológiát mutató telepekből történt. Az izolált mikroorganizmusok azonosítása Bruker Microflex LT MALDI-TOF tömegspektrométerrel történt hangyasavas szuszpenzió készítési protokoll szerint (Horváth és munkatársai, 2020).

**Érzékszervi bírálat**

A minták érzékszervi bírálatát 20 laikus végezte. A fogyasztói érzékszervi teszt a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Budai Campus I épületében zajlott. A minták 3 számjegyű kódjának és sorrendjének megalkotása véletlenszám generátorral történt. A fogyasztói érzékszervi tulajdonságokat a bírálók

5 pontos skálán értékelték. A bírálók a minták mellé kaptak egy pohár vizet, hogy 2 kóstolás között ki tudják öblíteni a szájukat. A bírálatok értékelését papírlapon hajtották végre. Az adatok elemzése Office Excel feladatkezelővel történt.

**Eredmények és értékelésük****Mikrobaszám meghatározás**

Az első fermentáció végére a vízkefir italban az összes mikrobaszám 6,7 log tke/ml volt (**1. táblázat**), melyben hasonló nagyságrendben voltak kimutathatók a tejsavbaktériumok, *Acetobacter*-ek és élesztőgombák. A 2. fermentációs minták mindegyikében az összessejtszám 1 nagyságrenddel történő növekedése volt megfigyelhető. A tejsavbaktériumok mennyisége a cukros mintában kisebb mértékben (1 nagyságrenddel) növekedett, míg a gyümölcsös mintákban jelentősebben (2 nagyságrenddel) lett nagyobb a mennyiségük. Az eredmények alapján a gyümölcsös mintáknak tejsavbaktériumok esetében mikrobaszám növelő hatás tulajdonítható be a cukoroldattal szemben. A gyümölcsmintákat összehasonlítva az áfonyásban volt a legtöbb tejsavbaktérium, ugyanakkor nem volt nagyságrendnyi különbség a minták között. A cukros mintában az 1. fermentációhoz képest az *Acetobacter*-ek száma is növekedést mutatott (1 nagyságrenddel). A gyümölcsös minták közül a narancsosban volt nagyobb mennyiségű *Acetobacter*. A cukros és gyümölcsös mintákban az élesztők mennyisége is nőtt az 1. fermentációhoz képest, közülük a cukros tartalmazta a legtöbb élesztőt, valószínűleg mert a szacharózt az élesztők tudták a legjobban hasznosítani.

**A MALDI-TOF MS identifikálás eredményei**

A mikrobák azonosítása előtt a különböző tápagarokról 18 különböző morfológiájú telep lett felhasználva tiszta tenyészet készítéséhez. Végül 7 mikrobafajt sikerült azonosítani, amelyek a 18 tiszta tenyészetben többször előfordultak.

**1. táblázat:** Mikroba csoportok sejt száma a vízkefir mintákban a fermentáció végén

Termék	Mikrobaszám (log <sub>10</sub> TKE/ml)				
	Összes mikroba	Tejsavbaktériumok	Acetobaktériumok	Élesztőgombák	Penészgombák
1. fermentáció	6,7	4,6	4,0	4,8	<1,0
cukros	7,5	5,7	5,7	5,9	<1,0
almás	7,5	6,1	3,0	4,2	<1,0
áfonyás	7,0	6,6	3,0	5,6	<1,0
narancsos	7,4	6,0	4,8	4,8	<1,0

Identifikálva lett az Acetobacteriaceae családba tartozó *Acinobacter indonesiensis* (DSM 15552T) faj, amely először 2000-ben lett leírva (Lisdiyanti és társai, 2000). Ezek a baktériumok az alkoholt és a cukrot nem teljesen oxidálják el, ami ecetsav képződéshez vezet oxigén jelenlétében. Az *A. indonesiensis* széles körben elterjedt a természetben és számos forrásból izolálható, mint az ecet, az alkoholos italok, a trópusi gyümölcsök vagy a virágok (Sengun és Karabiyikli, 2011). Laureys és társai 2018-ban mutatták ki először a fajt egy belgiumi vízkefirből. Megállapították, hogy az *A. indonesiensis* aktívabb volt anaerob körülmények között, illetve a folyadékban volt nagyobb mennyiségben jelen. A másik azonosított Acetobacteriaceae családba tartozó ecetsav baktérium a *Gluconobacter oxidans* subsp. *oxydans* (B544 UFL) volt. Ez az obligát aerob mikroba szereti a cukros közegeket, mint az érett szőlő, alma, datolya, de megtalálható méheken, ciderben, borban, vagy a kerti talajban is.

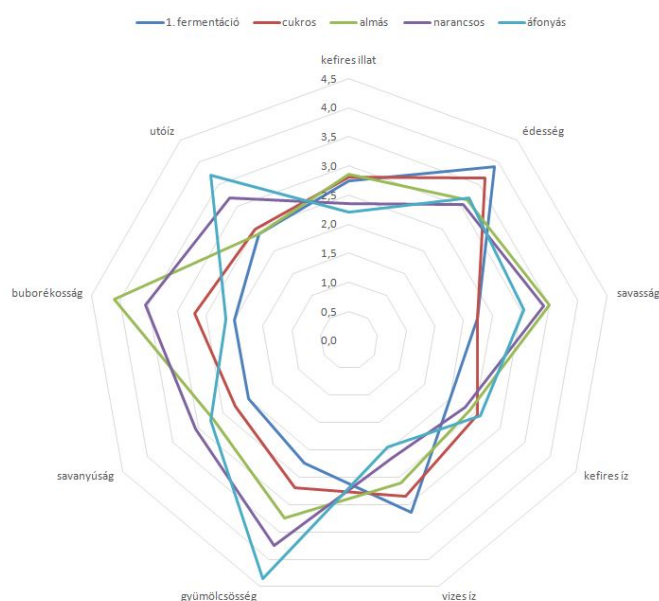
Két *Lactobacillus* fajt is sikerült azonosítani. A *L. ghanensis* (DSM 18630T) a glükózt és számos más szubsztrátot gázképzés nélkül tejsavvá alakítja. Európai vízkefirből 2019-ben Angelescu és társai mutatták ki először. Közeli rokonságban áll vele a másik azonosított *Lactobacillus*, a *L. satsumensis* (DSM 16230T), amely szacharóz tápközegben is képes szaporodni és ismétlődő D-glükózból álló homopoliszacharidok termeléséért felelős, különösen az  $\alpha$ -(1,6)-glükánokért, amelyek az elsődleges polimerei a gombaszemcséknek, tehát ez a *Lactobacillus* részt vesz a gombaszemcsék képzésében (Côté és társai, 2013).

Három élesztőgomba faj is azonosításra került. A *Saccharomyces cerevisiae* (DSM 70868) jelenléte a vízkefirben kulcsfontosságú, mivel a szacharózt extracelluláris  $\beta$ -D-fruktofuranozidáz aktivitásával glükózza és fruktózza hidrolizálja. A cukrokból képes szén-dioxidot és alkoholt előállítani, ezáltal nagyban befolyásolja a vízkefir érzékszervi tulajdonságait. A *Pichia fermentans* (CBS 2068), anamorfnévén *Candida lambica* a környezetben is megtalálható, különösen a leveleken, a virágokon, a vízben és a talajban. Néha megtalálható gyümölcsök felületén, leginkább a szőlőn. A lambica (spontán fermentációval készült) sör egyik jellegzetes alkotója. A *Wickerhamomyces anomalus* (DSM 6766NT), anamorfnévén *Candida pelliculosa*, a borkészítés egyik jellegzetes mikrobája. A mikroba megtalálható a fákon, növényeken és gyümölcschéjakon, rovarokon, az emberi bőrön és ürülékben, szennyvízben és a tengeri környezetben. Széleskörű előfordulása nagy tűrőképességének köszönhető, mivel bírja a hőmérséklet-, pH- és az ozmotikus változások okozta stresszt.

### Az érzékszervi bírálat eredményei

A kóstolást laikusok végezték, mert az átlag fogyasztó véleményének megismerése volt a vizsgálat célja. Az eredmények szubjektívek, mert a kóstolók saját ízlésén alapul, amely minden embernek más. Az előre meghatározott tényezőket a bírálóknak 1-től 5-ig terjedő skálán kellett értékelniük, hogy az adott tulajdonság mennyire jellemző vagy nem jellemző az adott mintára. A vízkefir három számjegyű kóddal lettek ellátva. Az érzékszervi bírálaton 20 ember vett részt, 18 nő és 2 férfi, 23 és 62 éves kor között. Az eredmények sugar diagramon ábrázolva láthatók, amely lehetőséget ad a minták szemléletes összehasonlítására, és az ízprofiljuk felvételére. A bírálatot megelőző kérdőív kitöltését követően kiderült, hogy a bírálók 75%-a rendszeresen fogyaszt probiotikus termékeket, viszont csak 20%-uk ismerte a vízkefirgombát és ennek fele 10% ivott már vízkefirt.

Az **1. ábra** szemléletesen mutatja a különböző minták közötti különbségeket. Legédesebbnek az 1. fermentációs és a cukros minták bizonyultak a bírálók szerint, míg a legkevésbé édes a narancsos minta volt. Ez az eredmény azért érdekes, mert az 1. fermentációs mintában volt a legkisebb cukortartalom (nem publikált mérési adat). Valószínűleg ebben a mintában a savak nem nyomják el olyan mértékben a cukros ízt, emiatt a kisebb cukortartalom mellett is édesebbnek érződik. A legsavasabbnak és legsavanyúbbnak az almás és a narancsos mintát tartották a bírálók, míg legkevésbé az 1. fermentációs és a cukros mintákat. Egyik mintában sem volt kiemelkedő a kefires illat és íz a bírálók szerint,



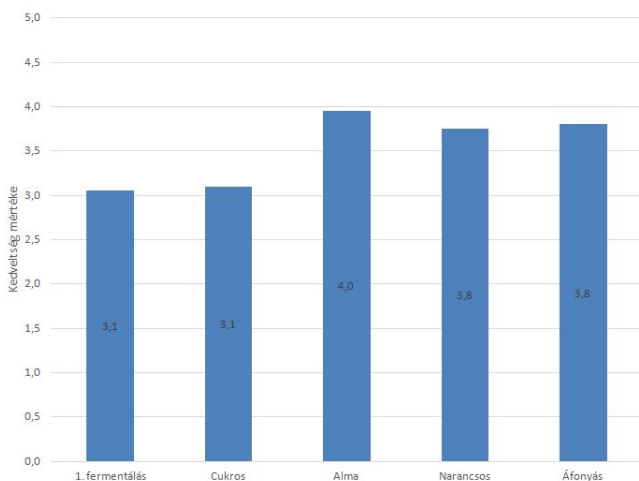
**1. ábra:** A vízkefir minták ízprofilja

ami pozitív eredmény, így az erre érzékenyebb fogyasztók is választhatják ezeket az italokat. A legvizesebb ízűnek az 1. fermentálás mintáját tartották, valószínűleg azért, mert az ízekért felelős cukrok, savak és aromák ebben az italban kisebb mennyiségben vannak jelen. A leggyümölcsösebb minta az áfonyás volt, ezt követte a narancs és az alma. Az eredmény alapján a gyümölcsös és cukros mintákat el tudták egymástól különíteni a bírálók. A legbuborékosabbnak az almás, illetve narancsos mintákat ítélték a bírálók. Az első fermentálás és az áfonyás mintákban kevésbé volt buborék. Az áfonyás minta párhuzamosok és ismétlések esetén sem tartalmazott több buborékot, amiből arra következtek, hogy a minta alacsony pH-ja gátolja a szén-dioxid képző mikrobák, pl. a *Saccharomyces cerevisiae* működését. Utóíze az áfonyás mintának volt a leginkább, illetve a narancsos mintának. Az áfonyás minta utóízét 13-an kellemesnek vélték, 4-en nem érezték különösebb utóízűt és 3-an kellemetlennek tartották a megjelenő utóízűt. A többi minta esetében kevésbé érzékeltek utóízűt.

Összességében a bírálóknak az almás minta ízlett a legjobban (**2. ábra**), ugyanakkor a kedveltséget tekintve nem sokkal maradt le a másik 2 gyümölcsös minta sem. Az 1. fermentációs és a cukros minta jóval kevésbé nyerte el a bírálók tetszését, így mindenképpen érdemes tovább folytatni a kutatást a különböző gyümölcslevek alkalmazásával a vízkefir kultúrában.

## Következtetések, javaslatok

Az egészséges bélrendszer működéséhez a változatos és kiegyensúlyozott táplálkozás részeként érdemes minél több rostban gazdag zöldséget, hüvelyeseket és gyümölcsöket fogyasztani, mindemellett, hogy a jótékony tejsavbaktériumok valamint probiotikus mikrobák pótlását is szem előtt tartjuk. A munkánk



**2. ábra:** A vízkefir minták kedveltsége

során fejlesztett ital alternatívaként szolgálhat a tejérzékenyek, vegánok, illetve azok számára, akik nem szeretik a savanyú tejtermékek fogyasztását mindemellett akár egészségesebb alternatívája lehet a szénsavas üdítőitaloknak is.

## Köszönetnyilvánítás

A munka az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-21-22 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

## Irodalomjegyzék

- Angelescu, I.R., Zamfir, M., Stancu, M.M., Grosu-Tudor, S.S. (2019): Identification and probiotic properties of lactobacilli isolated from two different fermented beverages. *Annals of Microbiology*, 69:1557-1565. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01540-0>
- Côté, G.L., Skory, C.D., Unser, S.M., Rich, J.O. (2013): The production of glucans via glucansucrases from *Lactobacillus satsumensis* isolated from a fermented beverage starter culture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(16):7265-7273. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4606-y>
- Davidovic, Z.S., Miljkovic, G.M., Antonovic, G.D., Rajlic-Stojanovic, D.M., Dimitrijevic-Brankovic, I.S. (2015): Water kefir grain as a source of potent dextran producing lactic acid bacteria. *Hemijaska Industrija*, 69(6):595-604. <https://doi.org/10.2298/hemind140925083d>
- Fels, L., Jakob, F., Vogel, R.F., Wefers, D. (2018): Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. *Carbohydrate Polymers*, 189:296-303. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.037>
- Fiorda, F.A., de Melo-Pereira, G.V., Thomaz-Soccol, V., Rakshit, S.K., Pagnoncelli, M.G.B., de Souza Vandenberghe, L.P., Soccol, C.R. (2017): Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. *Food Microbiology*, 66:86-95. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.004>
- Horváth, B., Peles, F., Szél, A., Sipos, R., Erős, Á., Albert, E., Micsinai, A. (2020): Molecular typing of foodborne coagulase-positive *Staphylococcus* isolates identified by MALDI-TOF MS. *Acta Alimentaria*, 49(3):307-313. <https://doi.org/10.1556/066.2020.49.3.9>
- Laureys, D., De Vuyst, L. (2014): Microbial species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of water kefir fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 80:2564-2572. <https://doi.org/10.1128/aem.03978-13>
- Laureys, D., Aerts, M., Vandamme, P., De Vuyst, L. (2018): Oxygen and diverse nutrients influence the water kefir fermentation process. *Food Microbiol.*

- 73:351–361. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.02.007>
- Laureys, D., De Vuyst, L. (2017): The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. *J. Appl. Microbiol.*, 122:719–732. <https://doi.org/10.1111/jam.13370>
- Lisdianty, P., Kawasaki, H., Seki, T., Yamada, Y., Uchimura, T., Komagata, K. (2000): Systematic study of the genus *Acetobacter* with descriptions of *Acetobacter indonesiensis* sp. nov., *Acetobacter tropicalis* sp. nov., *Acetobacter orleanensis* (Henneberg 1906) comb. nov., *Acetobacter lovaniensis* (Frateur 1950) comb. nov., and *Acetobacter estunensis* (Carr 1958) comb. nov. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 46:147–65. <https://doi.org/10.2323/jgam.46.147>
- Lynch, K.M., Wilkinson, S., Daenen, L., Arendt, E.K. (2021): An update on water kefir: Microbiology, composition and production. *International Journal of Food Microbiology*, 345:109128. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109128>
- Prado, M.R., Blandon, L.M., Vandenberghe, L.P., Rodrigues, C., Castro, G.R., Thomaz-Soccol, V., Soccol, C.R. (2015): Milk kefir: Composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in Microbiology*, 6:1177. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01177>
- Sengun, I.Y., Karabiyikli, S. (2011): Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*, 22:647–56. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.008>
- Waldherr, F.W., Doll, V.M., Meißner, D., 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 Microbiol.*, 27:672–678. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.013>
- Watson, D.C. (1993): Yeasts in distilled alcoholic-beverage production, in: *The Yeasts*. Elsevier, pp. 215–244. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-092543-1.50016-3>
- Zanirati, D.F., Abatemarco, M., de Sandes, S.H.C., Nicoli, J.R., Nunes, A.C., Neumann, E., Abatemarco Jr.M., de Cicco Sandes, S.H., Nicoli, J.R., Nunes, A.C., Neumann, E. (2015): Selection of lactic acid bacteria from Brazilian kefir grains for potential use as starter or probiotic cultures. *Anaerobe* 32:70–76. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.12.007>
- Zeynep, B., Guzel-Seydim, Z.B., Gökırmaklı, Ç., 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. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.041>

## Development of a drink fermented by water kefir culture

Lippai L., Mednyánszky Zs., Kocsis T., Kiskó G.

### Abstract

Water kefir is a poorly known fermented product, which is a fermented juice of the Japanese water crystals. The microbiological characteristics of water kefir are highly dependent on its origin, the conditions of preservation and fermentation. The aim of this work was to develop a flavoured water kefir drink by investigating its microbiological composition and organoleptic parameters. The composition of the microbiota was investigated using a MALDI -TOF MS apparatus following conventional cultural assays. During the sensory tests, 20 layman judges graded the unflavoured product from the first fermentation and the flavoured water kefir samples of the second fermentation. Both unflavoured and flavoured water kefir drinks were dominated by lactic acid bacteria, acetic acid bacteria and yeasts. The acetic acid and lactic acid bacteria species identified were *Acinobacter indonesiensis* and *Gluconobacter oxidans* subsp. *oxydans*, as well as *Lactobacillus ghanensis* and *Lactobacillus satsumensis*. In addition, 3 yeast species, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia fermentans* and *Wickerhamomyces anomalus* were identified. In the sensory tests, the judges favoured samples with a fruity flavour. The developed beverage could serve as an alternative for certain consumer groups (e.g. dairy intolerant, vegans), as well as a healthier substitute for carbonated soft drinks.

**Keywords:** water kefir, fermented drink