

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

TIBI krystaly pro přípravu vodního kefíru
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lenka Jiránková**
Osobní číslo: **C21088**
Studijní program: **B0531A130024 Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **TIBI krystaly pro přípravu vodního kefiru**
Téma práce anglicky: **Water kefir grains for beverage production**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši na zadané téma. V úvodu práce popište TIBI krystaly, jejich fyzikální, chemické a mikrobiologické vlastnosti.
2. Dále se zaměřte na přípravu fermentovaných nápojů TIBI krystaly. Uvedte pozitivní/negativní vlastnosti získaných produktů a jejich použití.
3. V odborné literatuře vyhledejte porovnání mezi mléčným a vodním kefirem a uveďte rozdíly.
4. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019 ve znění dodatku č. 2 "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací".

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucí práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Petra Motková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem TIBI krystaly pro přípravu vodního kefiru jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Lenka Jiránková

PODĚKOVÁNÍ:

Ráda bych poděkovala vedoucí své bakalářské práce, Ing. Mořkové Petře, Ph.D., za pomoc, cenné rady, vstřícný přístup a odborné vedení při zpracování bakalářské práce. Poděkování zároveň patří i mé rodině a přátelům za jejich trpělivost a morální podporu.

ANOTACE

Tato bakalářská práce je zaměřena na tibi krystaly a nápoj z nich připravovaný – vodní kefir. Nejdříve je vysvětlen původ této mikrobiologické kultury, následně je popsáno její složení, včetně konkrétních zástupců. Dále je v práci charakterizován vodní kefir, popsán jeho výrobní proces a jsou zhodnoceny jeho účinky a vlastnosti. Poslední část je věnována mléčnému kefiru a jeho porovnání s vodním kefirem.

KLÍČOVÁ SLOVA

vodní kefir, kultura vodního kefiru, tibi krystaly, kefirová zrna, fermentace, mléčný kefir, probiotický výrobek, fermentovaný nápoj

TITLE

Water kefir grains for beverage production

ANNOTATION

This bachelor's thesis focuses on water kefir grains and the beverage produced from them – water kefir. The introductory part addresses the origin of this microbiological culture and its composition, including specific representatives of microorganisms. Furthermore, water kefir is characterized, its production process is described, and its properties and health effects are evaluated. The final part is devoted to milk kefir and its comparison with water kefir.

KEYWORDS

water kefir, water kefir culture, water kefir grains, tibicos, fermentation, milk kefir, probiotics, fermented beverage

OBSAH

SEZNAM ZKRATEK

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

ÚVOD	10
1.HISTORIE A PŮVOD	11
2. TIBI KRYSTALY	12
2.1. Chemické složení	13
2.2. Mikrobiologické složení	13
2.2.1. Mléčné bakterie.....	15
2.2.2. Octové bakterie	16
2.2.3. Ostatní bakterie	17
2.2.4. Kvasinky	18
3. VODNÍ KEFÍR	19
3.1. Bezpečnost vodního kefíru.....	20
3.2. Výroba vodního kefíru	22
3.2.1.Suroviny.....	22
3.2.2. Proces výroby.....	25
3.3. Složení vodního kefíru a metabolické interakce	28
3.4. Účinky vodního kefíru	31
3.5. Sušený vodní kefír.....	34
4. MLÉČNÝ KEFÍR	36
4.1. Původ kefíru	37
4.2. Porovnání vodního a mléčného kefíru	38
4.2.1. Rozdíly v kulturách kefíru	38
4.2.2. Srovnání mikrobiologického složení	39
4.2.3. Porovnání vlastností kefírů	42
ZÁVĚR	44
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	45

SEZNAM ZKRATEK

<i>A.</i>	<i>Acetobacter</i>
AFB1	alfatoxin B1
<i>B.</i>	<i>Bifidobacterium</i>
<i>C.</i>	<i>Candida</i>
CFU	kolonie tvořící jednotku (colony-forming unit)
<i>D.</i>	<i>Dekkera</i>
EPS	exopolysacharidy
FAO	Organizace pro výživu a zemědělství
<i>H.</i>	<i>Hanseniaspora</i>
<i>Kaz.</i>	<i>Kazachstania</i>
<i>Klu.</i>	<i>Kluyveromyces</i>
<i>Lach.</i>	<i>Lachancea</i>
<i>Lb.</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lc.</i>	<i>Lactococcus</i>
<i>Lcb.</i>	<i>Lacticaseibacillus</i>
<i>LentiLb.</i>	<i>Lentilactobacillus</i>
<i>Leuc.</i>	<i>Leuconostoc</i>
<i>LiqLb.</i>	<i>Liquorilactobacillus</i>
<i>O.</i>	<i>Oenococcus</i>
<i>P.</i>	<i>Pichia</i>
<i>S.</i>	<i>Saccharomyces</i>
WHO	Světová zdravotnická organizace

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

<i>Obrázek 1: Tibi krystaly na tmavé podložce a na milimetrovém papíru (fotografie autora) ...</i>	<i>12</i>
<i>Obrázek 2: Schéma výroby vodního kefíru (upraveno dle LYNCH et al., 2021)</i>	<i>25</i>
<i>Obrázek 3: Porovnání vzhledu obou kultur kefíru (upraveno dle GUZEL–SEYDIM et al., 2021)</i>	<i>38</i>
<i>Obrázek 4: Porovnání mikrobiologického složení obou kultur kefíru (upraveno dle FIORDA et al., 2017)</i>	<i>41</i>
<i>Tabulka 1: Přehled rozmanitosti mikroorganismů v tibi krystalech (FIORDA et al., 2017; LYNCH et al., 2021).....</i>	<i>14</i>

ÚVOD

Hlavním tématem práce jsou tibi krystaly, které se využívají k výrobě fermentovaného nápoje – vodního kefiru. Tibi krystaly je název pro mikrobiologickou kulturu skládající se z bakterií mléčného kvašení, bakterií octového kvašení, kvasinek a dalších druhů bakterií. Toto unikátní symbioticky žijící společenství mikroorganismů je zabudováno v bakteriální polysacharidové struktuře, která dává kultuře tvar krystalků.

Fermentované výrobky jsou již od nepaměti spojovány s podporou zdraví a prevencí onemocnění. Mezi méně známé patří i vodní kefir, což je veganský fermentovaný nápoj, vhodný také pro lidi, které se užívání mléčných výrobků vyhýbají. Zároveň se jedná o probiotický výrobek, který může mít mnoho pozitivních účinků na zdravý organismus.

Výroba vodního kefiru spočívá v přidání tibi krystalů do připraveného vodného roztoku sacharózy. Mikroorganismy přirozeně fermentují cukr a vylučují metabolity, které udávají sensorické vlastnosti vodního kefiru. Fermentace probíhá při pokojových teplotách po dobu 24–72 hodin, poté jsou tibi krystaly z kapaliny vyjmuty a opět využity k přípravě dalšího nápoje. Vzhledem ke snadnému postupu výroby a přístupným surovinám na jeho výrobu může být výroba vodního kefiru prováděna v domácích podmínkách.

Mléčný kefir, známý fermentovaný mléčný produkt a přirozený zdroj probiotik, vykazuje s vodním kefirem určité podobnosti a rozdíly. Oba nápoje spojuje téměř shodný postup výroby a podobné zdravotní benefity. Avšak zásadní odlišnost spočívá v mikrobiologickém složení kefirových kultur i nápojů. Zatímco v mléčném kefiru jsou zastoupeny mikroorganismy schopné fermentovat laktózu v mléce, ve vodním kefiru se nacházejí druhy metabolizující sacharózu. Z tohoto důvodu nelze tibi krystaly využít k fermentaci mléka, a naopak.

1. HISTORIE A PŮVOD

Historie fermentovaných nápojů je bohatá a sahá hluboko do minulosti, zahrnujíc i procesy fermentace vedoucí k výrobě alkoholu či jiných perlivých nápojů. Vzhledem k rozmanitosti tradičních výrobních postupů fermentovaných nápojů na různých místech světa zůstává určení přesného původu vodního kefiru nejasné. Podle různých historických záznamů a studií existují tři hlavní teorie o původu tibi krystalů a tím i nápoje z nich – vodního kefiru (LYNCH *et al.*, 2021; MORETTI *et al.* 2022).

První písemná zmínka pochází z Velké Británie. Je o zrnech, využívaných k výrobě zázvorového piva (anglicky byla kultura nazvána jako "Ginger-beer plant"), které přivezli vojáci vracějící se z války na Krymu okolo roku 1855. Zde roku 1892 vědec Ward popsal zrna zázvorového piva a informace o nich následně publikoval. Označil je jako podobná mléčným zrnům z Kavkazských hor, které tam využívaly horské klany na výrobu mléčného kefiru. Narozdíl od nich se jim ale nejlépe dařilo ve vodných roztocích cukru (GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021; LYNCH *et al.*, 2021).

Další možná teorie o původu této kultury pochází z Francie. V roce 1978 publikoval Vayssier článek, v němž poprvé použil označení kultura vodního kefiru (anglicky "water kefir grains"). V textu popisuje kulturu nalezenou ve Španělsku a tvrdí, že vznikla oddělením z kultury mléčného kefiru (LYNCH *et al.*, 2021; YERLIKAYA *et al.*, 2022).

Podle nejnovějších poznatků je však nejpravděpodobnějším místem původu Mexiko. Tibi krystaly přirozeně vznikají fermentací ve šťávě z kaktusu Opuncie, a to někdy i na povrchu kaktusu, ze kterého vytéká sladká šťáva. Na konci 19. století odtud pochází dokumentace o zrnech nazývaných "Tibicos", která se používala na výrobu tradičních fermentovaných nápojů z kaktusové šťávy kaktusu Opuncie (BOZKIR *et al.*, 2024; YERLIKAYA *et al.*, 2022).

Vzhledem k tomu, že se tato kultura nezávisle vyskytovala v různých geografických oblastech, získala v minulosti různá pojmenování. Srovnáním jednotlivých kultur však bylo zjištěno, že jejich složení i vlastnosti jsou si natolik podobné, že byl jejich název sjednocen na tibi krystaly, popřípadě na kulturu vodního kefiru. Také je vhodné zmínit mylné spojení tibi krystalů (tibicos) s Tibetem jakožto územím. Ačkoliv se jejich názvy podobají, nebyly nalezeny vědecké či historické důkazy o vzájemné souvislosti (LYNCH *et al.*, 2021).

2. TIBI KRYSTALY

Tibi krystaly bývají také označovány jako tibi kultura, kultura vodního kefiru či zrna vodního kefiru. Využívají se pro výrobu vodního kefiru, jehož proces je podrobně popsán v samostatné kapitole. Tyto krystaly představují kulturu tvořenou symbioticky žijícími bakteriemi a kvasinkami, které vytvářejí polysacharidovou strukturu. Díky této struktuře nabývá kultura tvaru nepravidelných zrněk nebo krystalů, což se odráží i v jejich názvu (BOZKIR *et al.*, 2024; GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021).

Struktura tibi krystalů je zachycena na obrázku 1. Barva krystalů je průsvitná, světlá, bílá až šedá. Může být však ovlivněna materiály použitými při fermentaci, jako jsou různé druhy ovoce, jejichž pigmenty mohou vést k dočasným barevným změnám krystalů například na červenou. Povrch je hladký, jejich konzistence je želatinová a pružná. Velikost jednotlivých krystalů se pohybuje v řádech několika milimetrů až centimetrů. Celkový vzhled krystalů lze až na jejich tvrdost nejlépe přirovnat ke kamenné soli (BOZKIR *et al.*, 2024; GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021).

Tibi krystaly je také možno konzervovat, a to chlazením, mražením, lyofilizací nebo vakuovým sušením. Bylo však zjištěno, že skladování tibi krystalů pomocí hlubokého mražení při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, se jeví jako nevhodné. Zejména proto, že tibi krystaly jsou z velké části tvořeny vodou a opětovné rozmražení na pokojovou teplotu vede k poškození jejich polysacharidové struktury a buněčných membrán mikroorganismů. Přestože některé mikroorganismy mohou přežít a fermentační procesy mohou i nadále probíhat, původní vzhled krystalů se již neobnoví (BOZKIR *et al.*, 2024; CUFAOGLU a ERDINC, 2023b).



Obrázek 1: Tibi krystaly na tmavé podložce a na milimetrovém papíru (fotografie autora)

2.1. Chemické složení

Tibi krystaly jsou složeny přibližně z 10–14 % hm. sušiny (LYNCH *et al.*, 2021). Kromě vysokého obsahu vody, sušina krystalů obsahuje přibližně 45 % sacharidů, 34 % bílkovin a 4 % tuků, dále ve složení nalezneme vitamíny skupiny B, vitamín K, vápník, fosfor a hořčík. Krystaly se fyzicky skládají z vnější a vnitřní části. Vnější část je převážně tvořena bakteriemi, zatímco vnitřní část obsahuje spíše kvasinky. Tyto dvě části jsou vzájemně propojeny dlouhými polysacharidovými vlákny (BOZKIR *et al.*, 2024).

Typický tvar tibi krystalů je výsledkem polysacharidové struktury, která je tvořena exopolysacharidy (EPS) produkovanými bakteriemi. Přesněji se jedná o dextrany, což jsou glukánové polysacharidy s vazbami α -1,6 s navázanými postranními řetězci na α -1,2; α -1,3 a α -1,4 o různém množství. EPS s větším množstvím α -1,3 vazeb jsou nerozpustné a zajišťují kulturu tvar krystalu. Dextrany s nižším obsahem postranních řetězců jsou rozpustné a uvolňují se během fermentace do nápoje (vodního kefiru). Tyto EPS jsou produkovány některými bakteriemi jako *Liquorilactobacillus satsumensis*, *Lentilactobacillus hilgardii*, *Liquorilactobacillus nagelii*, *Liquorilactobacillus hordei* a *Levilactobacillus brevis* (TAN *et al.*, 2022). Jejich syntézy jsou schopny díky vlastnění enzymů ze skupiny glykansukráz. Enzymatická výbava každého mikroorganismu je však rozdílná, což vede k rozmanitosti vyskytujících se EPS (LYNCH *et al.*, 2021).

2.2. Mikrobiologické složení

Mikrobiologické složení tibi krystalů může být ovlivněno několika faktory. Důležitý je samotný geografický původ zrn, který může vést k odlišnostem jako přítomnost některých vedlejších druhů mikroorganismů. Dále mohou mikrobiotu tibi krystalů drobně ovlivnit fermentační podmínky při výrobě vodního kefiru (BOZKIR *et al.*, 2024).

Tibi krystaly jsou primárně zastoupeny mléčnými bakteriemi, dále octovými bakteriemi a kvasinkami. Pro kvantifikaci mikroorganismů se využívá jednotka CFU, která vzniká z anglického sousloví colony-forming unit, česky kolonie tvořící jednotka. Vyjadřuje počet živých mikroorganismů schopných vytvořit kolonii na kultivačním médiu. V jednom gramu kultury tibi krystalů se nachází přibližně 10^8 CFU mléčných bakterií, 10^6 – 10^7 CFU octových bakterií a 10^6 – 10^7 CFU kvasinek (CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; MORETTI *et al.* 2022).

Přehled rozmanitosti bakterií a kvasinek, které se mohou vyskytovat ve vodním kefiru je sepsán v tabulce 1. Nejpočetněji zastoupené mikroorganismy jsou v tabulce vyznačeny tučným písmem.

Tabulka 1: Přehled rozmanitosti mikroorganismů v tibi krystalech (FIORDA et al., 2017; LYNCH et al., 2021)

Mléčné bakterie			Octové bakterie	Ostatní bakterie	Kvasinky	
<i>Fructilactobacillus fructivorans</i>	<i>LentiLb. kefirii</i>	<i>LigLb. satsumensis</i>	<i>A. fabarum</i>	<i>B. aquikefirii</i>	<i>C. californica</i>	<i>Lach. fermentati</i>
	<i>LentiLb. parabuchneri</i>	<i>O. kitaharae</i>	<i>A. indonesiensis</i>	<i>B. crudilactis</i>	<i>C. ethanolica</i>	<i>Lach. meyersii</i>
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>LentiLb. parafarraginis</i>	<i>O. oeni</i>	<i>A. lovaniensis</i>	<i>B. psychraerophilum</i>	<i>C. krusei</i>	<i>Meyerozyma caribbica</i>
	<i>LentiLb. sunkii</i>	<i>Secundilactobacillus collinoides</i>	<i>A. okinawensis</i>	<i>B. tibiigranuli</i>	(<i>P. kudriavzevii</i>)	<i>P. cecembensis</i>
<i>Lb. helveticus</i>	<i>Leuc. citreum</i>		<i>A. orientalis</i>	<i>Zymomonas mobilis</i>	<i>C. valdiviana</i>	<i>P. fermentans</i>
<i>Lb. kefiranofaciens</i>	<i>Leuc. mesenteroides</i>	<i>Secundilactobacillus perolens</i>	<i>A. tropicalis</i>		<i>C. valida</i>	<i>P. membranifaciens</i>
<i>Lb. lactis</i>	<i>Leuc.</i>		<i>Gluconacetobacter liquefaciens</i>		<i>D. anomala</i>	<i>S. cerevisiae</i>
<i>Lc. cremoris</i>	<i>pseudomesenteroides</i>	<i>Schleiferilactobacillus harbinensis</i>			<i>D. bruxcellensis</i>	<i>S. pretoriensis</i>
<i>Lc. lactis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>		<i>Gluconobacter japonicus</i>		<i>H. uvarum</i>	<i>Torulaspora pretoriensis</i>
<i>Lcb. casei</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>		<i>Gluconobacter oxydans</i>		<i>H. valbyensis</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>
<i>Lcb. paracasei</i>			<i>Gluconobacter roseus</i>		<i>H. vineae</i>	<i>Zygorulaspora florentina</i>
<i>Lcb. rhamnosus</i>	<i>LiqLb. ghanensis</i>				<i>Kaz. Aerobia</i>	
<i>LentiLb. buchneri</i>	<i>LiqLb. hordei</i>				<i>Kaz. unisporea</i>	<i>Zygosaccharomyces fermentati</i>
<i>LentiLb. diolivorans</i>	<i>LiqLb. mali</i>				<i>Klu. lactis</i>	
<i>LentiLb. hilgardii</i>	<i>LiqLb. nagelii</i>				<i>Klu. marxianus</i>	

Nejpočetněji zastoupené mikroorganismy v tibi krystalech jsou v tabulce vyznačeny tučně.

Acetobacter (A.); *Bifidobacterium* (B.); *Candida* (C.); *Dekkera* (D.); *Hanseniasspora* (H.); *Kazachstania* (Kaz.); *Kluyveromyces* (Klu.); *Lachancea* (Lach.); *Lactobacillus* (Lb.); *Lactococcus* (Lc.); *Lactocaseibacillus* (Lcb.); *Lentilactobacillus* (LentiLb.); *Leuconostoc* (Leuc.); *Liquorilactobacillus* (LiqLb.); *Oenococcus* (O.); *Pichia* (P.); *Saccharomyces* (S.)

2.2.1. Mléčné bakterie

První zmínky o spontánním kvašení mléka a konzumaci fermentovaných výrobků sahají až do dob př. n. l. Až na počátku 20. století se začal používat termín „mléčné bakterie“ či „bakterie mléčného kvašení“. Od této doby se však seznam mikroorganismů spadajících do této skupiny několikrát změnil, a to především kvůli postupnému rozšiřování znalostí o mikroorganismech (PLOCKOVÁ a HORÁČKOVÁ, 2018).

Mléčné bakterie tvoří rozmanitou skupinu mikroorganismů, které spojuje především anaerobní fermentační metabolismus, vedoucí k hlavnímu produktu – kyselině mléčné. Mléčné bakterie patří do řádu *Lactobacillales*, jenž spadá do kmene *Firmicutes* a třídy *Bacilli*. Tento řád zahrnuje šest čeledí – *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae* a *Streptococcaceae* (ROSSI, 2023).

Obecně lze mléčné bakterie označit za grampozitivní, nepohyblivé, fakultativně anaerobní bakterie netvořící spory s tvarem koku nebo tyčinky. Jsou odolné vůči kyselinám a mnohdy i vůči vyšším koncentracím soli. Jejich optimální pH se většinou pohybuje v hodnotách 4,0–4,5 a jejich teplotní rozmezí je 5 °C až 45 °C. Jsou historicky nejvíce využívané ke konzervaci potravin, hlavně díky produkci kyseliny mléčné. V současné době mají široké využití v oblasti potravinářství, typicky pro výrobu jogurtů a kysaných mléčných výrobků. Mimo mnoho pozitivních účinků na lidský organismus jsou laktobacily známé především jako prospěšné bakterie podporující zdraví trávicího traktu. Proto se často využívají jako probiotické doplňky stravy (ONYEAKA a NWABOR, 2022).

Na základě fylogenomických analýz došlo v roce 2020 k reorganizaci taxonomie čeledi *Lactobacillaceae*. Tyto změny vedly k vytvoření 23 nových rodů, mezi ně patří například *Lentilactobacillus*, *Liquorilactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Secundilactobacillus*, *Fructilactobacillus*. Společně se stávajícími třemi rody – *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Paralactobacillus* – nyní tato čeleď zahrnuje celkem 26 rodů. Nově jsou také obecným termínem „laktobacily“ označovány nejen bakterie rodu *Lactobacillus*, ale všechny bakterie náležící do čeledi *Lactobacillaceae* (ZHENG *et al.*, 2020).

Některé využívané zdroje stále uvádějí starší taxonomické názvy laktobacilů, které byly využívány před reorganizací v roce 2020. V této práci jsou však všechny názvy bakterií uváděny v souladu s aktuální platnou taxonomií.

Dominantní složkou tibi krystalů jsou mléčné bakterie, konkrétně laktobacily. Nejčastěji se vyskytujícím rodem byl *Lactobacillus* (*Lb.*), ale po reorganizaci spadá do tohoto rodu pouze několik druhů. Dle současné taxonomie se převládající rody identifikují jako *Lentilactobacillus* (*LentiLb.*) a *Liquorilactobacillus* (*LiqLb.*). Dále několik druhů spadá do rodů jako *Lacticaseibacillus* (*Lcb.*), *Lactococcus* (*Lc.*), *Leuconostoc* (*Leuc.*), *Oenococcus* (*O.*) a další (LYNCH *et al.*, 2021).

Nepostradatelné bakterie v tibi krystalech jsou takové, které jsou zodpovědné za tvorbu bakteriální polysacharidové struktury určující tvar krystalu. Jako nejčastěji identifikovaný a nejvíce se vyskytující laktobacil byl *LiqLb. nagelii* (před reorganizací v roce 2020 známý jako *Lb. nagelii*). Dále byl identifikován v hojném množství *LentiLb. hilgardii* (dříve *Lb. hilgardii*) a dále i *LiqLb. hordei* (dříve *Lb. hordei*) a *LiqLb. satsumensis* (dříve *Lb. satsumensis*). Další laktobacily, který se sice již nepodílí na produkci EPS, ale vyskytují se zde ve významném množství, jsou *Lcb. casei* (dříve *Lb. casei*) a *Lcb. paracasei* (dříve *Lb. paracasei*). Rovněž významný je i *Leuc. mesenteroides*. Zřídka se vyskytují i další zástupci těchto rodů či jiných (GAMBA *et al.*, 2021, LYNCH *et al.*, 2021).

2.2.2. Octové bakterie

Jedná se o skupinu bakterií z čeledi *Acetobacteraceae*, kam patří rody *Acetobacter*, *Gluconobacter* a 12 dalších rodů. Octové bakterie jsou gramnegativní, kataláza a oxidáza negativní mikroorganismy, netvořící bakteriální spory. Jejich optimální teplota pro růst se pohybuje v rozmezí 25–30 °C a optimální pH nabývá hodnot okolo 5–6, přičemž dokážou přežít i v kyseljším prostředí s minimálním pH okolo 3. Za přítomnosti kyslíku jsou schopny oxidovat ethanol na kyselinu octovou, což je klíčová vlastnost, podle které byla tato skupina bakterií pojmenována. V potravinářství se převážně využívají na výrobu octu (což je 8 % roztok kyseliny octové). Kromě toho nacházejí uplatnění i v biotechnologickém průmyslu, například při výrobě vitamínu C nebo bakteriální celulózy. Zároveň se ale mohou vyskytovat i jako původci kažení džusů nebo alkoholických nápojů jako je víno (WAREING *et al.*, 2010a, YANG *et al.*, 2022).

V tibi krystalech se především vyskytují octové bakterie rodu *Acetobacter* (*A.*), nejčastěji *A. lovaniensis*, dále se často vyskytují i druhy *A. fabarum*, *A. orientalis*, *A. tropicalis*. V některých vzorcích vodního kefiru byly nalezeny i octové bakterie rodu *Gluconobacter*, nejčastěji *Gluconobacter oxydans*, zřídka i rod *Gluconacetobacter* (GAMBA *et al.*, 2021, LYNCH *et al.*, 2021).

2.2.3. Ostatní bakterie

Kromě, již zmíněných, dominantně se vyskytujících bakterií mléčného a octového kvašení se v tibi krystalech nacházejí i další bakteriální druhy, které obohacují jeho mikrobiální rozmanitost. Jedná se především o bakterie rodu *Bifidobacterium* a *Zymomonas*, konkrétně druh *Zymomonas mobilis*. Ten je znám svou schopností produkovat vysoké množství ethanolu, zároveň je schopný produkovat i sorbitol. Přítomnost těchto látek může vodnímu kefíru dodávat jedinečnou chuť. Také dokáže produkovat levan, což je také polysacharid, který zahušťuje strukturu krystalu (LYNCH *et al.*, 2021; YERLIKAYA *et al.*, 2022).

Bifidobakterie představují skupinu bakterií z rodu *Bifidobacterium* (*B.*). Bakterie tohoto rodu sdílejí některé vlastnosti s mléčnými bakteriemi, jako schopnost mléčného kvašení a probiotické vlastnosti, a proto dříve spadali do stejné kategorie. S časovým odstupem a zdokonalením analytických metod byl rod *Bifidobacterium* ze skupiny mléčných bakterií vyřazen. Z důvodu až příliš výrazným rozdílům ve vlastnostech, zejména kvůli převaze octového kvašení nad mléčným (PLOCKOVÁ a HORÁČKOVÁ, 2018).

Rod *Bifidobacterium* jsou anaerobní, gram-pozitivní, nesporulující bakterie, které se běžně vyskytují v trávicím traktu lidí i zvířat. Zde příznivě ovlivňují zdraví střev i celkový zdravotní stav jedince, například svou schopností štěpit komplexní sacharidy nebo syntetizovat některé vitamíny, zejména vitamíny skupiny B. Kromě toho jsou bifidobakterie běžně přítomny ve fermentovaných potravinách, jako jsou jogurty nebo kefíry, kde zvyšují nutriční hodnotu potravin. Některé druhy se mohou nacházet i v probiotických doplňcích stravy pro obnovu střevní mikroflóry a posílení imunitního systému člověka (ECKEL *et al.*, 2020, LAUREYS *et al.*, 2016).

Konkrétní druhy bifidobakterií, které se mohou v tibi krystalech vyskytnout jsou *B. psychraerophilum*, *B. crudilactis*, *B. aquikefiri* a *B. tibiigranuli* (LYNCH *et al.*, 2021).

Ve vodním kefíru se ale bifidobakterie vyskytují v nízkých koncentracích, což při využívání kultivačních metod komplikovalo jejich identifikaci na úrovni druhu. Pokrok v laboratorních technikách však umožnil nejen zjištění, že jejich přítomnost je v tibi krystalech vyšší než v samotném vodním kefíru. Zároveň také přispěl k objevu dvou nových druhů bifidobakterií (ECKEL *et al.*, 2020; YERLIKAYA *et al.*, 2022).

Bifidobakterie *B. aquikefiri* byla v roce 2014 poprvé nalezena ve vodním kefíru v Belgii. Geneticky se tento druh bakterie velmi podobal druhům *B. crudilactis* a *B. psychraerophilum*, avšak odlišnosti byly natolik významné, že v roce 2016 byl oficiálně uznán jako nový druh, přičemž jeho název odráží místo jeho nálezu (LAUREYS *et al.*, 2016).

Další nález nové bifidobakterie byl učiněn v roce 2016, kdy byla při analýze mikrobiální diverzity vodního kefiru v Německu nalezena dosud neznámá bakterie, vykazující podobnost s druhem *B. subtilis*. Neznámá bifidobakterie byla izolována z tibi krystalů a následně podrobena analýze. V roce 2020 byla oficiálně uznána jako nový druh *B. tibiigranuli* (ECKEL *et al.*, 2020).

2.2.4. Kvasinky

Jedná se o jednobuněčné eukaryotické mikroorganismy. Mohou se rozmnožovat nepohlavně – pučením nebo dělením, přičemž některé druhy jsou schopny i pohlavního rozmnožování pomocí pohlavních spor – askospory nebo bazidiospory. Díky své jednobuněčné struktuře se dokáží množit rychle, zejména v tekutých prostředích. Proto se z nich mohou stát původci kažení potravin a nápojů. Mohou kontaminovat široké spektrum potravin, zejména s vysokým obsahem vody, jako je ovoce, ovocné šťávy, sirupy, salátové zálivky, omáčky nebo mléčné výrobky. Přestože jsou někdy spojovány s kažením potravin, jejich přínos a široké využití v potravinářském průmyslu, zejména díky jejich schopnosti fermentace, zůstává nepostradatelné (WAREING *et al.*, 2010b).

Nejznámějším rodem kvasinek je *Saccharomyces* (*S.*), zejména druh *Saccharomyces cerevisiae*. Tato kvasinka při aerobním kvašení produkuje oxid uhličitý, což se využívá při výrobě kynutých těst nebo sycených nápojů. Při anaerobním kvašení naopak dochází k produkci ethanolu, což je klíčové na výrobu alkoholu, vína a piva. Optimální růstová teplota *S. cerevisiae* je asi 33–35 °C, ale je schopna růst i při teplotách v rozmezí od 4 °C do 39 °C. Je odolná vůči alkoholu (až 20 %) a některým konzervantům. Kvasinky rodu *Dekkera* (také *Brettanomyces*) se vyskytují zejména v pivu a víně, kde kvůli produkci těkavých látek jako kyselina octová, způsobují nežádoucí pachy a chutě. Jsou odolné vůči oxidu uhličitému a alkoholu (až 15 %). Rod *Candida* zahrnuje asi 200 druhů. Tyto kvasinky jsou vysoce odolné vůči kyselému pH (až pH 2,5), vysoké koncentraci soli (až 20 %) a konzervantům (WAREING *et al.*, 2010b).

V tibi krystalech se typicky a hojně vyskytuje kvasinka *S. cerevisiae*. Druhou nejčastěji se vyskytující kvasinkou je *Dekkera* (*D.*) *bruxellensis*. Mezi dalšími poměrně časté kvasinky se řadí *Zygorhynchus florentina*, *Hanseniaspora* (*H.*) *valbyensis* a *Lachancea* (*Lach.*) *fermentati*. V menší míře se mohou vyskytnout i kvasinky rodů *Kluyveromyces* (*Klu.*), *Pichia* (*P.*), *Kazachstania* (*Kaz.*) a dalších. Ojediněle se mohou objevit i kvasinky rodu *Candida* (*C.*) či jiné kvasinky (FIORDA *et al.*, 2017; LYNCH *et al.*, 2021).

3. VODNÍ KEFÍR

Vodní kefir je fermentovaný nápoj, jehož výroba je zajišťována mikroorganismy přirozeně přítomnými v tibi krystalech. K jeho výrobě je využíván vodný roztok sacharózy, který bývá často doplňován o ovoce. V posledních letech lze zaznamenat rostoucí zájem o vodní kefir, a to zejména kvůli přítomnosti probiotických mikroorganismů a vhodnosti pro veganský způsob stravování. Dále schopnost tibi krystalů fermentovat rozmanitou škálu substrátů navíc naznačuje potenciál pro vývoj veganských fermentovaných nápojů. I přesto je vodní kefir ve srovnání s jinými fermentovanými nápoji relativně mladý, postupně se dostává do širšího povědomí spotřebitelů (MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Výroba vodního kefiru stále probíhá převážně v domácím prostředí, kdy si spotřebitel sám fermentuje nápoj proměnlivé kvality. Avšak v různých částech světa se některé společnosti již zaměřily na jeho komerční produkci. V některých zemích, například v Austrálii, byly nápoje vyráběné pomocí tibi krystalů zahrnuty do své potravinové legislativy. V legislativě Evropské unie je vodní kefir řazen do probiotických výrobků a není blíže definován ani regulován předpisy (CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

V rámci Evropské unie tedy nyní chybí předpisy, které by určovaly složení startovací kultury, specifikovaly substrát nebo definovaly parametry finálního produktu. Rovněž nebyly stanoveny standardizované výrobní a technologické postupy, jež by přesně určovaly dobu a teplotu fermentace, nezbytnou pro zajištění jakostních a bezpečnostních požadavků na vodní kefir, případně nápojů připravovaných pomocí tibi krystalů (CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

I přes absenci specifické legislativy upravující vodní kefir je nutné, aby jeho výroba určená pro trh dodržovala obecné předpisy. Jako je například Nařízení (ES) č. 852/2004 o hygieně potravin, Nařízení (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům nebo Zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích (MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Proces výroby lze obecně charakterizovat následovně. Samotný vznik nápoje spočívá ve fermentaci, která trvá 24–72 hodin při pokojové teplotě. Během tohoto procesu se sacharóza přeměňuje na různé fermentační produkty, jako jsou kyselina mléčná, kyselina octová nebo ethanol. Mimo tyto procesy také dochází k produkci oxidu uhličitého, který dodává nápoji osvěžující charakter (BOZKIR *et al.*, 2024; CUFAOGLU a ERDINC, 2023b).

Tento mírně perlivý nápoj má většinou nažloutlou světlou barvu, ta je však přímo ovlivněna přítomností použitého ovoce. Vodní kefir je typicky lehce zakalený a ve srovnání s vodou má vyšší viskozitu. Jeho chuť je sladkokyselá a někdy i kvasinková, v případě použití ovoce je chuť i vůně obohacena o ovocné tóny. Vliv na chuť nápoje má také původ použitého cukru v roztoku, přičemž rozdíl mezi rafinovaným bílým cukrem a melasou může být podstatný. Dále v sensorických vlastnostech vodního kefiru hraje podstatnou roli i doba a teplota fermentace. Kdy delší doba fermentace nesporně vede k vyšší kyselosti a nižší sladkosti nápoje, což ovlivňuje jeho chuťovou jemnost a spotřebitelskou přijatelnost. V neposlední řadě, zásadním faktorem ovlivňující složení a chuť nápoje, je samotné složení tibi krystalů. Kdy druh přítomných mikroorganismů ovlivňuje druh produkovaných organických sloučenin, které určují chuť nápoje (BOZKIR *et al.*, 2024; CUFAOGLU a ERDINC, 2023a; MORETTI *et al.* 2022).

3.1. Bezpečnost vodního kefiru

I přesto, že některé studie ve vodním kefiru prokázaly přítomnost patogenních mikroorganismů, tak přímo v tibi krystalech žádné patogenní mikroorganismy izolovány nebyly. Z tohoto důvodu se předpokládá, že případná mikrobiální kontaminace vzniká až během samotné přípravy nápoje (LYNCH *et al.*, 2021; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Zdravotní nezávadnost vodního kefiru může být ovlivněna několika faktory. Ať už využití poškozené kultury například špatným skladováním nebo použití znečištěného ovoce či vody. Největší riziko však představuje hygiena v jeho fázích výroby. Vzhledem k tomu, že výroba vodního kefiru probíhá převážně v domácím prostředí, kde nelze zajistit plně aseptické prostředí, je pro zajištění bezpečnosti nápoje základem správná hygiena prostředí a použití čistých nádob a pomůcek (FIORDA *et al.*, 2017; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Mikrobiální bezpečnost vodního kefiru může být také ohrožena přítomností nežádoucích mikroorganismů v sacharidovém substrátu nebo na ovoci. Kontaminace surovin většinou nastává v důsledku nevhodných skladovacích podmínek, například navlhnutí sušeného ovoce. Ve srovnání se sušeným ovocem, je jeho čerstvá varianta spojována s vyšším rizikem, kdy kontaminanty (ať biologické nebo chemické) se vyskytují převážně na jeho povrchu. Toto riziko se sníží, pokud je povrch použitého ovoce řádně omyt nebo oloupan. Alternativně může být připraven ovocný extrakt, kdy se ovoce provaří s vodou nebo se přímo pasteruje, což výrazně sníží riziko mikrobiální kontaminace (LYNCH *et al.*, 2021).

Také je doporučováno použití filtrované nebo převařené vody. Tento krok nejenže zajistí větší mikrobiologickou čistotu ale i sníží obsah chlóru či jiných látek, které by mohly proces fermentace potlačit (LYNCH *et al.*, 2021).

Díky obsahu organických kyselin, je pH vodního kefiru kyselé. Právě hodnoty pH nižší než 4,6 jsou pro bezpečnost potravin zásadní, takto kyselé pH má totiž bakteriostatický a konzervační účinek. Tento faktor již sám o sobě zajišťuje, že riziko růstu nežádoucích mikroorganismů je nízké. Již v brzkých fázích výroby vodního kefiru jsou hodnoty pH okolo 4,5 a přirozeně během fermentačního procesu klesají. Zejména po delší době, kdy se již v nápoji vyskytuje velké množství kyseliny mléčné. Výsledný vodní kefir má hodnoty pH většinou okolo 3,6 až 4,1. Je zřejmé, že kyselost kefiru je závislá na době fermentace, ale také na druhu přidaného ovoce, které může zvýšit pH a snížit míru ochrany před růstem nežádoucích mikroorganismů (LYNCH *et al.*, 2021; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025; PATEL *et al.*, 2022).

Ve vodním kefiru se vyskytuje i menší množství ethanolu, který může představovat další faktor přispívající k bezpečnosti již kyselého nápoje. Obsah ethanolu se pohybuje v rozmezí 0,02–2 %, v laboratorních podmínkách i 10 %. V praxi je však koncentrace ethanolu ve vodním kefiru po 24 hodinách fermentace většinou nižší než 1 %, a často i pod hranicí označující alkoholické nápoje, což je 0,5 %. Vzhledem k tomu, že se jedná o produkt obsahující živé mikroorganismy, může dojít k nárůstu obsahu alkoholu i po ukončení fermentace, například během skladování. Tato skutečnost je, v kontextu legislativy regulující alkohol v produktech, významná zejména pro producenty komerčního kefiru. Protože i když je vodní kefir většinou považován jako nealkoholický, překročení hranice 0,5 % ethanolu není výjimečné (BOZKIR *et al.*, 2024; FIORDA *et al.*, 2017; LYNCH *et al.*, 2021).

Jako opatření proti zvýšení obsahu ethanolu i kyselosti může být vodní kefir pasterován, tímto zásahem však dochází k usmrcení živých mikroorganismů s probiotickým účinkem, kvůli němuž je nápoj konzumován. A proto stejně jako i u jiných produktů s živými mikroorganismy, je vodní kefir skladován v chladu a jeho konzumace se doporučuje během prvních sedmi dnů. Při dodržení hygienických opatření je obecně vodní kefir považován za bezpečnou potravinu, zejména kvůli jednoduché a tradiční výrobě a komplexnosti mikrobiální komunity, a to i při výrobě v domácím prostředí (MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025; LYNCH *et al.*, 2021).

3.2. Výroba vodního keříru

Vodní keříru představuje nápoj vznikající fermentací mikroorganismů v tibi krystalech, které metabolizují živiny přidané do vody. Proces výroby je poměrně jednoduchý, bezpečný a technicky nenáročný. Fermentace totiž probíhá spontánně při pokojové teplotě, výroba vodního keříru je tedy možná i v domácím prostředí. Výroba vyžaduje tibi krystaly a další běžně dostupné suroviny, bez nutnosti speciálního vybavení (MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025; LYNCH *et al.*, 2021).

3.2.1. Suroviny

Jak lze podle názvu odvodit, hlavní surovinou vodního keříru je voda. Pro fermentaci však samotná voda nestačí, neboť mikroorganismy obsažené v tibi krystalech vyžadují přítomnost živin pro svůj metabolismus. Proto je nutné vodu obohatit dalšími surovinami sloužící jako zdroj energie, uhlíku a dusíku (LYNCH *et al.*, 2021).

Přítom je třeba věnovat pozornost i kvalitě použité vody, která může ovlivnit proces výroby. Běžná voda z kohoutku často obsahuje chlór, který může negativně narušit fermentaci. V domácích podmínkách je proto doporučováno její převaření, které spolehlivě napomůže uvolnění chlóru z vody, a zároveň se převařením vody předchází možné mikrobiální kontaminaci. Také ale není vhodné použití destilované nebo demineralizované vody, protože pro ideální množení a růst samotných tibi krystalů je nutné zajistit i dostatek minerálních látek, které se přirozeně vyskytují v pitné vodě (BOZKIR *et al.*, 2024). Bylo například prokázáno, že vyšší obsah vápníku ve vodě a s ním související zvýšená pufrací kapacita vody mohou představovat růstově podpůrné faktory. Zejména ve vztahu k růstu tibi krystalů, konkrétně nárůstu jejich hmotnosti. Proto za vhodnou vodu na výrobu vodního keříru se považuje tvrdá voda s vyšším obsahem iontů vápníku a hořčíku (LYNCH *et al.*, 2021).

Látkou sloužící jako zdroj energie a uhlíku je standardně sacharóza, která je rozpuštěna ve vodě. Tento sacharidový roztok je základem pro uskutečnění fermentace a jeho koncentrace se pohybuje mezi 5–10 % (w/v). Za potencionální surovinu obsahující sacharózu lze považovat bílý cukr, za jeho vhodnější variantu je však považován hnědý cukr či melasa, ty totiž kromě sacharózy obsahují i minerální látky a další mikroživiny, které pozitivně přispívají k výživě mikroorganismů v tibi krystalech (LYNCH *et al.*, 2021). Použití glukózy nebo fruktózy zase vede ke snížené produkci ethanolu, kyseliny mléčné, kyseliny octové a glycerolu (SPIZZIRRI *et al.*, 2023).

Další významnou surovinou využívanou při výrobě vodního kefíru je ovoce, ať už v sušené či čerstvé formě. Jeho přídavek bývá často spojován se zlepšením senzoričkových vlastností finálního nápoje, nicméně mnohem významnější je jeho vliv na samotný průběh fermentace. Přidáním ovoce je zajištěn přísun dusíkatých látek a minoritních živin pro mikroorganismy, které jsou podstatné pro jejich růst i množení (CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; LYNCH *et al.*, 2021).

Vynecháním ovoce nedochází k okamžitému zastavení fermentace, ale ke snížení činnosti mikroorganismů. To se projevuje snížením rychlosti nárůstu hmotnosti kultury. Dlouhodobou výrobou vodního kefíru bez ovoce, by byl výrazně negativně ovlivněn správný proces fermentace a případně i zastaven (LYNCH *et al.*, 2021, ZANNINI *et al.*, 2023).

Byla dokonce provedena studie, kde byla porovnávána fermentace s použitím pouze 5% roztoku bílého cukru versus použití média s pouze extraktem z fíků. Výsledkem bylo zjištění, že fíkové médium vykazovalo lepší výsledky prakticky ve všech parametrech. Při jeho použití došlo k vyšší produkci organických kyselin i ethanolu, nízkému pH a k podpoře růstu široké škále mikroorganismů. Oproti tomu cukrový médium naznačovalo určitou stagnaci v růstu některých bakterií, zejména bifidobakterií (GÖKIRMAKLI *et al.*, 2023).

Tradičně bývá vodní kefír připravován z hnědého třtinového cukru a sušených fíků. Přidání fíků vede k rychlé a neoptimálnější fermentaci, zahrnující chuťově přijatelné poměry vznikajících organických kyselin a rychlou fermentaci s nízkým množstvím zbytkového cukru v nápoji. Předpokládaným pozitivním faktorem, který sušené fíky mají, je jejich obsah živin, zejména jeho vysoký obsah vápníku, který je 162 mg/100 g. Obsah vápníku je mnohem vyšší ve srovnání s jinými druhy ovoce, například rozinky obsahují vápníku 50mg/100 g a sušené meruňky asi 55 mg/100 g (LYNCH *et al.*, 2021).

Přestože jsou často využívány fíky, při výrobě vodního kefíru může být použita široká škála surovin, neboť tibi krystaly vykazují schopnost fermentovat různé druhy substrátů. Mimo fíků se mezi často využívané substráty dodávající fermentačnímu prostředí dusíkaté látky řadí různé druhy sušeného ovoce jako meruňky, datle, rozinky, švestky. Při použití jiného ovoce, než fíků je fermentace nadále stabilní, avšak její průběh může být rozdílný, často dochází k jejímu zpomalení. Například fermentace za použití rozinek vede k vysokým koncentracím zbytkového cukru a nízkým koncentracím metabolitů (LYNCH *et al.*, 2021; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025). V některých postupech je spolu s ovocem přidáván i plátek citrónu. Funkce tohoto přídavku ve studiích není objasněna, ale pravděpodobně slouží na podpoření kyselého pH při počátcích fermentace (BOZKIR *et al.*, 2024; LYNCH *et al.*, 2021).

Kromě sušeného ovoce mohou být při výrobě vodního kefiru použity i celé čerstvé plody nebo šťávy z nich. Běžně se využívají se fíky, jablka, hrušky, jahody, mango, višně nebo kaktusová šťáva (většinou šťáva z opuncie, ale může být i z dračího ovoce). Méně často je využito ovoce jako hrozny, granátová jablka, kiwi maracuja, citrusy či banány. Nicméně z mikrobiologické bezpečnosti se doporučuje čerstvé ovoce převést na ovocný extrakt který je tepelně upravený. Tyto extrakty mají uplatnění zejména při průmyslové výrobě, kdy jsou pasterovány, standardizovány a zajišťují stabilnější kvalitu finálního nápoje (LYNCH *et al.*, 2021; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025; SPIZZIRRI *et al.*, 2023).

Fermentace za použití tibi krystalů byla úspěšně realizována i s použitím netradičních substrátů jako jsou šťávy z rakytníku, arónie, kdoule, dřínu, ruské olivy nebo hlohu (BOZKIR *et al.*, 2024; SPIZZIRRI *et al.*, 2023). Rovněž bylo úspěšně testováno použití zeleninových šťáv z mrkve, fenyklu nebo rajčat. Tibi krystaly dokonce byly aktivní i v prostředí kakaové dužniny a pomerančové dužniny (MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

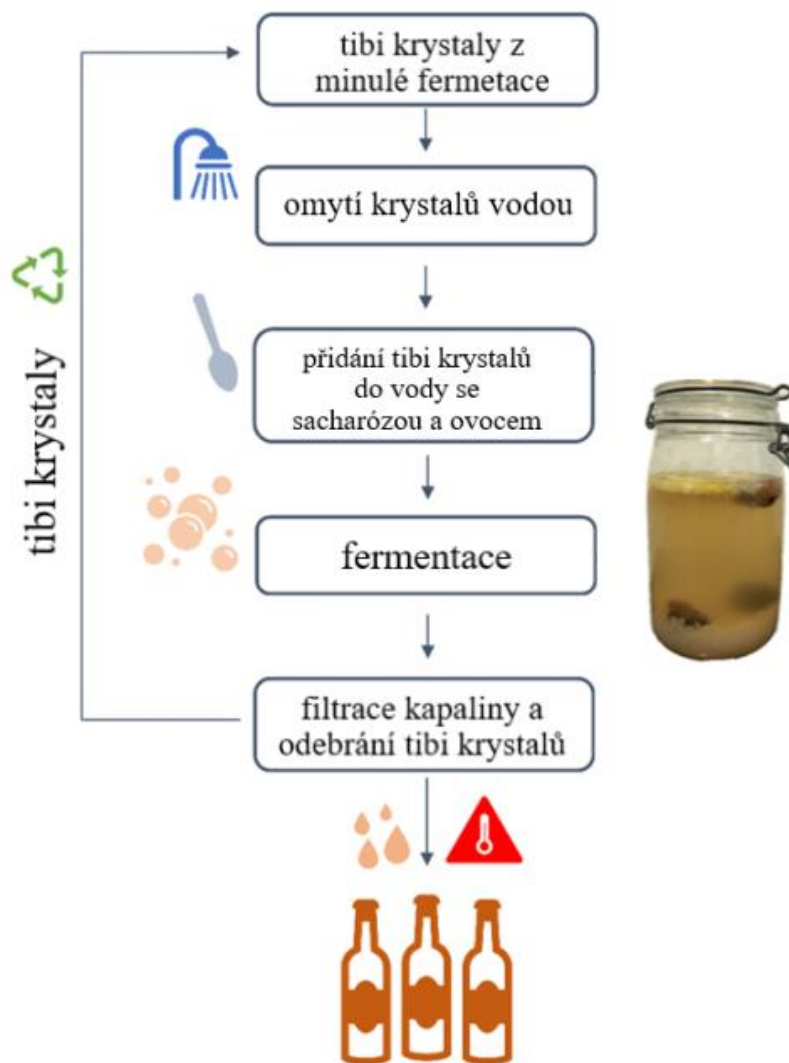
Dalším testovaným substrátem je kokosová voda, u které byla rovněž prokázána aktivní fermentační činnost. Byla testována i s různými přísadami glukózy a sacharózy. Výsledkem bylo zjištění, že optimální pH, vysoké množství mléčných bakterií a vysoká produkce kyseliny glutamové (aminokyselina), způsobuje fermentace po 48 hodinách s přísadkou sacharózy. Kokosová voda se proto ukázala jako vhodná surovina na přípravu fermentovaného nápoje, zároveň vykazuje slibné senzorycké vlastnosti, ale senzorycké analýza ještě provedena nebyla (LIMBAD *et al.*, 2023).

Tibi krystaly byly využity i ve studii zaměřené na vytvoření fermentovaného nápoje z mladiny, který by na rozdíl od tradičního piva byl nealkoholický a měl zdravotní přínosy. Výsledky studie byly celkem úspěšné, kdy tibi krystaly efektivně fermentovaly roztok mladiny. Fermentací se zvýšila celková kyselost a současně poklesla hořkost, vzrostl počet těkavých látek a množství flavonoidů vzrostlo téměř dvojnásobně. Výsledný nápoj měl zároveň hodnoty alkoholu dostatečně nízké pro označení nealkoholického produktu (WEN *et al.*, 2024).

Kromě volby vhodných surovin při výrobě vodního kefiru, je vhodné zaměřit se i na jejich kvalitu. Požité suroviny by neměly obsahovat konzervační látky či jiné sloučeniny potlačující činnost mikroorganismů. Zejména by měla být věnována pozornost sušenému ovoci, které bývá často ošetřováno sířením. Přítomnost siřičitanů, sloužících jako konzervantů k prodloužení trvanlivosti, může potencionálně potlačit proces fermentace. Siřičitany lze částečně odstranit spařením horkou vodou, nicméně preferováno by mělo být kvalitní ovoce které je nesířené a šetrně zpracované (CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; LYNCH *et al.*, 2021).

3.2.2. Proces výroby

Výroba vodního kefíru probíhá převážně v domácích podmínkách, kde jsou podmínky fermentace proměnlivé a kvalita finálního nápoje rozdílná. Proto proces výroby nelze popsat jako technologicky definovaný či standardizovaný. Přesto lze jeho výrobu rozdělit do několika základních kroků, jako je přidání tibi krystalů do fermentačního média, fermentace a následná filtrace nápoje. Obecné schéma postupu výroby vodního kefíru je znázorněno na obrázku 2 (LYNCH *et al.*, 2021).



Obrázek 2: Schéma výroby vodního kefíru (upraveno dle LYNCH *et al.*, 2021)

Jako počáteční krok výrobního procesu lze považovat přípravu sacharózového roztoku. Nejčastěji se využívá v koncentracích 5–10 % (w/v), maximálně však 30 % (w/v). Příkladem může být roztok vznikající rozpuštěním 50 g hnědého cukru v půl litru pitné vody. Pro rychlejší rozpuštění cukru, odstranění chóru z vody a větší hygienickou bezpečnost, může být roztok tepelně upraven (MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025; MORETTI *et al.* 2022).

Následně bývá do roztoku přidáno ovoce, tradičně sušené fíky, a to většinou v množství jednoho nebo dvou kusů na půl litru roztoku. Alternativně mohou být přidány různé druhy ovocných extraktů či šťáv, které jsou z důvodu hygienické bezpečnosti často tepelně upraveny. V takovém případě bývají přidávány společně s cukrem, pokud ho již samy neobsahují dostatečné množství (BOZKIR *et al.*, 2024; LYNCH *et al.*, 2021).

Dalším krokem je přidání čistých/omytých tibi krystalů do připraveného média, které musí být zchladlé na pokojovou teplotu. Množství přidávané kultury se pohybuje v 5–30 % (w/v). V praxi se může jednat o 15 g tibi krystalů na 100 ml kapaliny, ale jsou zde postupy jako přidání 2 polívkových lžic tibi krystalů do 500 ml roztoku (CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; LYNCH *et al.*, 2021; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025; MORETTI *et al.* 2022).

Jejich přidáním je zahájena spontánní fermentace. Ta probíhá při pokojových teplotách, což jsou teploty v rozmezí 20–25 °C. Teplota prostředí by však neměla klesnout pod 20 °C, naopak maximální teplota pro fermentaci je 37 °C. Fermentační proces probíhá typicky po dobu 24–72 hodin, někdy až 96 hodin. Pro zajištění stabilního průběhu fermentace a konzistentní kvality nápoje je vhodné udržovat co nejstálější podmínky prostředí (BOZKIR *et al.*, 2024; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Fermentace vodního kefiru bývá prováděna v uzavřených nádobách. Podle některých literárních zdrojů jsou využívány plně uzavřené nádoby, které zajišťují anaerobní prostředí i fermentaci. Jiné využívají kousek mušelínové látky, kterým lze fermentační nádobu uzavřít. Tato verze zajišťuje částečný přístup kyslíku při fermentaci. Volba způsobu uzavření nádoby ovlivní podmínky fermentace a tím i druhy a poměry vznikajících metabolitů. Kromě speciálních fermentačních nádob, bývá v domácích podmínkách často využívána čistá, vyvařená zavařovací sklenice (LYNCH *et al.*, 2021; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Po dosažení určité kyselosti, jakou výrobce u nápoje vyžaduje, je fermentace ukončena. V experimentálních studiích nebo provozní výrobě se během fermentace měří pH, celková titrační kyselost, koncentrace cukru a obsah alkoholu. Ukončení fermentace spočívá v oddělení krystalů od tekutiny. Následně jsou odstraněny zbytky ovoce z tekutiny i kultury. Zfiltrovaná tekutina představuje čerstvý vodní kefir, který může být přímo zkonsumován, nebo pro prodloužení trvanlivosti pasterován. Tibi krystaly jsou omyty vodou a připraveny k opětovnému použití, což představuje vložení do sacharidového média s ovocem a tím zahájení nového fermentačního cyklu. Tato metoda se nazývá „pitching“. Tradičnější metoda opakovaného využití kultury je „back-slopping“, kdy tibi krystaly nejsou neomyvány, ale pouze je odebrána fermentovaná kapalina a doplněn čerstvý sacharidový roztok. Část fermentované kapaliny je tedy součástí nového cyklu. Tento postup zajišťuje rychlejší adaptaci mikroorganismů na prostředí a umožňuje teoreticky nekonečné použití. Obě metody zajišťují udržení kultury v aktivním stavu a její postupný růst (BOZKIR *et al.*, 2024; LYNCH *et al.*, 2021; MORETTI *et al.* 2022).

Pokud je cílem získat vodní kefir s výraznějšími sensorickými vlastnostmi, může být provedena sekundární neboli druhá fermentace. Spočívá v přidání nové ovocné/zeleninové složky do již hotového čerstvého vodního kefiru. V tomto případě se většinou jedná již o čerstvé ovoce nebo šťávy, například se může jednat o jablka, třešně či jahodovou šťávu. Takto obohacený kefir bývá následně uchováván v uzavřené nádobě/láhvi při teplotě cca 4 °C, tedy za podmínek běžného chladírenského skladování, po dobu přibližně 24 hodin. Vzhledem k přítomnosti živých mikroorganismů v čerstvém kefiru dochází, byť zpomaleně, k pokračování jejich metabolické aktivity. Během sekundární fermentace jsou tedy produkovány další metabolity, také dochází ke zvýšení obsahu oxidu uhličitého a současně k rozvoji ovocných sensorických vlastností. Výsledkem je mírně perlivý nápoj s příjemně kyselou a ovocnou chutí (CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

3.3.Složení vodního kefiru a metabolické interakce

Z mikrobiologického hlediska vodní kefir obsahuje symbioticky žijící společenství mikroorganismů, které zahrnuje mléčné bakterie, octové bakterie, kvasinky a případně i další druhy bakterií. Toto mikrobiologické osídlení získává nápoj při fermentaci prostřednictvím tibi krystalů, jejichž složení je popsáno v předešlé kapitole pojednávající o mikrobiologickém složení tibi krystalů (CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; LYNCH *et al.*, 2021).

Kromě mikroorganismů typicky přítomných v tibi krystalech, se ojediněle mohou v nápoji vyskytnout i jiné mikroorganismy. V některých vzorcích vodního kefiru byl nalezen *Bacillus cereus*, sporotvorný a toxigenní mikroorganismus, jehož výskyt byl však nejspíše zapříčiněn špatnou hygienou při manipulaci s ovocem. Ojediněle byly ve vodním kefiru nalezeny i bakterie jako *Klebsiella pneumoniae* a *Enterobacter ludwigii* a *Pseudarthrobacter chlorophenolicus*. Jejich výskyt je však opět spojován s kontaminací při výrobě, protože při přímých analýzách tibi krystalů nebyl prokázán výskyt těchto oportunně patogenních mikroorganismů (LYNCH *et al.*, 2021).

Mimo počátečních surovin, obsahuje vodní kefir i mnoho různých metabolitů vzniklých činností mikroorganismů při fermentaci. Vyskytující se metabolity jsou typicky organické kyseliny, ethanol, oxid uhličitý, mannitol, vitamíny (převážně skupiny B), aminokyseliny a různé druhy polysacharidů (MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Při porovnání různých studií bylo zjištěno, že vodní kefir může obsahovat až 134 druhů aromatických sloučenin jako ethylacetát, isoamylacetát, 2-fenylethanol, ethyllaktát, benzaldehyd, ethyl-2-methylbutanoát, furfural, styren, methyloctanoát, 1-oktanol. Nelze však opomenout, že právě použití ovoce při fermentaci zajišťuje takto rozsáhlý profil aromatických sloučenin. Konkrétní výskyt sloučenin je dán druhem použitého ovoce a fermentačních podmínek. Například studie od GÖKIRMAKLI *et al.* (2023) ve vodním kefiru s fíkovým médiem identifikovala kolem 40 druhů těkavých látek, a studie od GUZEL–SEYDIM *et al.* (2021) byla schopná identifikovat asi 30 aromatických látek (GÖKIRMAKLI *et al.*, 2023; GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021; MORETTI *et al.*, 2022).

Je dáno, že každý druh mikroorganismů, v závislosti na podmínkách, produkuje jiné metabolity. V zásadě však platí, že například mléčnými bakteriemi je většinou produkována kyselina mléčná, u octových bakterií zase kyselina octová. Důležité je definovat vztahy mezi samotnými mikroorganismy žijící spolu v uzavřeném médiu, jak to bývá při výrobě vodního kefiru. Vztahy mikroorganismů v tibi krystalech jsou opakovaně popisovány jako symbiotické. To znamená že jejich vzájemné interakce jsou takové, aby alespoň jeden organismus profitoval, což v případě tibi krystalů po většinu času platí oboustranně (LYNCH *et al.*, 2021; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Základním dostupným zdrojem energie pro mikroorganismy je sacharóza, kterou kvasinky a některé druhy bakterií dokážou rozštěpit. Většinou tento proces zastává hojně přítomná kvasinka *S. cerevisiae*, která má ve své enzymatické výbavě enzym β -D-fruktofuranosidázu (neboli invertázu). Tento enzym účinně hydrolyzuje sacharózu na glukózu a fruktózu; a to v případě kvasinky *S. cerevisiae*, většinou extracelulárně. Takto dostupné monosacharidy v prostředí již mohou všechny mikroorganismy využít jako zdroj energie a základních stavebních jednotek. Popsaný metabolický proces kvasinek je pravděpodobný důvod, proč v má praxi nápoj v prvních hodinách fermentace chuť převážně kvasinkovou, až s postupem času se okyseluje (LYNCH *et al.*, 2021).

V anaerobním prostředí s dostupnými monosacharidy, postupně dochází k produkci organických kyselin, převážně kyseliny mléčné. Produkovaná kyselina způsobuje snížení pH a tím dochází k zajištění ještě optimálnějších podmínek, neboť mikroorganismy v tibi krystalech obecně vyžadují neutrální, mírně kyselé až kyselé prostředí v závislosti na konkrétním druhu. Zároveň dochází ke tvorbě ethanolu, jehož hlavním producentem je *S. cerevisiae*, na jeho tvorbě se však mohou podílet i další druhy jako *Zymomonas mobilis*. Při běžném výrobním procesu je množství ethanolu ve vodním kefiru do 1 %. Většinou se ale jedná o mnohem nižší hodnoty, a to okolo 0,5 % i méně. Což je důvod proč nelze vodní kefir jednoznačně označit jako nealkoholický výrobek. Množství ethanolu se ale v průběhu fermentace mění, zpravidla při delší fermentaci se jeho množství zvyšuje. Rovněž je produkovaný ethanol podstatný pro metabolismus octových bakterií. Ty ho jsou schopny oxidovat na kyselinu octovou, která způsobí ještě větší kyselost nápoje. Ve vodním kefiru se mohou nacházet i další druhy organických kyselin, ať už jako metabolity nebo součást přidaného ovoce, jejich množství je však prakticky zanedbatelné. Jedná se například o kyselinu citrónovou, jablečnou, glukonovou nebo pyrohroznovou (LYNCH *et al.*, 2021; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025; PATEL *et al.*, 2022).

Současně dostupná sacharóza slouží i pro syntézu různých druhů polysacharidů. Převážně se jedná o tvorbu EPS dextranů, které jsou pro vodní kefir i strukturu tibi krystalů unikátní a nepostradatelné. Jejich syntézu jsou schopny zajišťovat typické mikroorganismy pro tibi krystaly, které jsou popsány v předešlých kapitolách. Ty dokáží extracelulárně produkovat enzymy ze skupiny glykansukráz, které jsou schopny syntetizovat EPS sloučeniny přímo ze sacharózy. Podle druhu bakterie a její enzymatické výbavě, jsou tvořeny různé typy EPS s rozdílnými vazbami a větvením. Rozdíly ve struktuře mají však přímý vliv na jejich vlastnosti i funkci (LYNCH *et al.*, 2021).

V základu lze dextriny rozdělit na rozpustné a nerozpustné. Nerozpustné jsou součástí struktury tibi krystalů a za jejich nejvýznamnějšího producenta je považována bakterie *LentiLb. hilgardii*. Rozpustné dextrany se, na rozdíl od nerozpustných, vyskytují v nápoji, kde slouží víceúčelově. Vzhledem k tomu, že se jedná o sloučeniny tvořené glukózovými jednotkami, tak mohou být zpětně rozštěpeny na glukózu, která může být následně využita pro jiný proces. Také bylo zjištěno, že jednotlivé typy dextranů mohou mít rozdílné role ve vodním kefiru a tím i vliv na mikroorganismy v něm. Například rozpustný dextran, produkováný bakterií *LiqLb. hordei* má pozitivní vliv na agregaci kvasinek (konkrétně se jedná o *S. cerevisiae*) a s tím spojenou i tvorbu biofilmu. Jiné dextrany, s podobnou strukturou tento vliv neprokázaly. Přesto veškeré vztahy mezi dextrany a mikroorganismy nejsou pochopeny, zejména protože jsou pro vodní kefir unikátní a analýzy vodního kefiru jsou relativně nové (LYNCH *et al.*, 2021).

Stejně jako dochází k syntéze dextranů ze sacharózy, může docházet i ke tvorbě levanů. Jedná se o polysacharidy, které jsou tvořeny z jednotek fruktózy. Oproti dextranům je ale koncentrace levanů ve vodním kefiru nízká a relativně nevýznamná. Za jeho hlavního producenta jde označit bakterii *Zymomonas mobilis*. Opět v malém množství lze ve vodním kefiru nalézt mannitol. Ten vzniká enzymaticky katalyzovanou redukcí fruktózy, která se v nápoji nachází po inverzi sacharózy. Stejně jako vzájemná přeměna glukózy a fruktózy, je i zpětná oxidace mannitolu vratným procesem. Všechny tyto sloučeniny mohou posloužit jako zdroj energie a stavebních jednotek, záleží na typu mikroorganismy a podmínkách v prostředí, jaký substrát upřednostní (LYNCH *et al.*, 2021; YERLIKAYA *et al.*, 2022).

Metabolická spolupráce mezi mikroorganismy zahrnuje i dusíkaté látky, které jsou pro růst a rozmnožování mikroorganismů důležité. Ty jsou do prostředí, poměrně chudé na dusík, dodávány převážně kvasinkami. Poskytovat mohou vitamíny, aminokyseliny a případně i peptidy. Přístup k takovýmto dusíkatým látkám ocení především mléčné bakterie, pro které jsou nezbytné. Například *S. cerevisiae* je schopná produkovat vitamín B6 (pyridoxin), který využije *LiqLb. hordei*. Další jmenovitý příklad je, kvasinky *Zygorulaspora florentina*, která poskytuje bakterii *LiqLb. nagelii* aminokyselinu arginin (LYNCH *et al.*, 2021).

Mezi další interakce, které nejsou ihned zřejmé patří i vztah *LiqLb. hordei* s kvasinkou *S. cerevisiae*. Tato mléčná bakterie, totiž v její přítomnosti, dává přednost produkci vyššího alkoholu 2,3-butandiolu, místo typické produkce kyseliny mléčné. Takovéto změny v metabolismu mohou představovat mechanismus pro snižování kyselinového a ethanolového stresu. Zároveň je vysoce pravděpodobné že existují i další dosud nepopsané interakce, které se v takto komplexním systému, jako je prostředí vodního kefíru, vyskytují (LYNCH *et al.*, 2021).

3.4. Účinky vodního kefíru

Účinky připisované vodnímu kefíru spočívají především v jeho složení. Složení je, jak již bylo zmíněno, ovlivňováno mnoha faktory zahrnující původ tibi krystalů, použitý substrát, dobu a teplotu fermentace. Pokud je tento nápoj připravován a skladován za vhodných podmínek a nedojde-li ke kontaminaci, jsou jeho účinky v podstatě pouze pozitivní (CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; PATEL *et al.*, 2022).

Vodní kefír představuje fermentovaný výrobek obsahující široké spektrum symbioticky žijících mikroorganismů, a tím je řazen mezi fermentované výrobky s potenciálním zdravotním přínosem. Obecně je konzumace fermentovaných produktů spojována s rovnováhou střevní mikrobioty ovlivňující celkové zdraví organismu, proto je jejich konzumace doporučována jako prevence proti nemocem. Ve vodním kefíru jsou přítomny především laktobacily a kvasinky, a i další zdravotně významnou skupinou jsou bifidobakterie. Těmito mikroorganismy je zajištěna produkce bioaktivních metabolitů, které nápoj doplní o další prospěšné sloučeniny. Může se jednat například o produkci vitamínů, enzymů, organických kyselin, exopolysacharidů a antioxidantů (BOZKIR *et al.*, 2024; CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025). Použití ovoce při fermentaci dokáže nápoj ještě více obohatit, neboť přispívá dalším množstvím vitamínů, minerálních látek, antioxidantů a i vlákniny. Vznikající ovocné probiotikum se stává hodnotným doplňkem stravy (MANOJ *et al.*, 2023).

Jelikož se o potencionálními účinky vodního kefiru začala společnost zabývat relativně nedávno, mnoho rozsáhlých studií není a neexistují žádné klinické studie, které by se touto problematikou zabývaly. Složení je však, navzdory rozdílným substrátům, velmi podobné mléčnému kefiru. A právě na pravidelné konzumace mléčného kefiru byla uskutečněna řada studií zabývajících se zdravotními účinky. Rovněž existuje mnoho studií zaměřující se na probiotické mikroorganismy a jejich účinek na lidské zdraví. Z těchto informací lze s jistotou přisoudit vodnímu kefiru spoustu účinků ovlivňující lidský organismus (AÇIK *et al.*, 2020; CUFAOGLU a ERDINC, 2023b; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Vodní kefir je znám a konzumován především jako zdroj probiotik. Světová zdravotnická organizace (WHO) a Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) definuje probiotika jako živé mikroorganismy, které při podávání v přiměřeném množství přinášejí hostiteli zdravotní prospěch. Obsah probiotických mikroorganismů ve vodním kefiru zajišťuje, že konzumace tohoto nápoje může vést ke zlepšení stavu střevní mikrobioty a k podpoření imunitního systému a tím i celkového zdraví organismu. Zároveň je prokázáno, že užívání probiotik hraje příznivou roli při léčbě některých onemocnění jako střevní záněty či infekce, syndrom dráždivého tračníku nebo Crohnova choroba. Z toho vyplývá, že vodní kefir vykazuje probiotické a imunomodulační účinky (AÇIK *et al.*, 2020; CUFAOGLU a ERDINC, 2023b, MANOJ *et al.*, 2023).

Kromě dobře známých probiotických bakterií mléčného kvašení (například *LentiLb. hilgardii*), existují i kvasinky s probiotickými vlastnostmi. Nejvíce studovaným a klinicky ověřeným druhem je *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii*, která je využívána v doplňcích stravy a oficiálně uznána jako probiotikum. Také v tibi krystalech byly detekovány různé druhy kvasinek, například rody *Saccharomyces*, *Pichia* či *Kazachstania*, u nichž byly v jiných fermentovaných produktech popsány projevy probiotického potenciálu. Výhodou kvasinek oproti bakteriím je jejich vysoká odolnost vůči antibiotikům a absence genového přenosu spojeného s antibiotickou rezistencí (TAMANG a LAMA, 2022).

Zároveň mikroorganismy ve vodním kefiru, díky jejich produkci organických kyselin, opakovaně prokázaly antimikrobiální aktivitu vůči patogenním a oportunně patogenním mikroorganismům jako *Candida albicans*, *Salmonella Typhi*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius* a *Pseudomonas aeruginosa*. Antimikrobiální účinek byl zaznamenán také vůči mikroskopickým vláknitým houbám *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, a některým zástupcům z rodů *Rhizopus* a *Penicillium* (BOZKIR *et al.*, 2024; LYNCH *et al.*, 2021; MORETTI *et al.* 2022).

Některé metabolity, které se ve vodním kefíru nacházejí mají antioxidační účinky, jedná se o flavonoidy nebo fenolové kyseliny, které nápoj získává především při fermentaci s přítomností ovoce. Přítomnost těchto antioxidantů byla vědecky prokázána, stejně jako jejich působení proti volným radikálům a tím i ochranou buněk (BOZKIR *et al.*, 2024; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Také bylo potvrzeno že konzumace vodního kefíru má příznivé účinky na regulaci hladiny glukózy v krvi a zlepšení inzulínové rezistence. Kromě tohoto antihyperglykemického účinku, byl rovněž potvrzen antihyperlipidemický a hypocholesterolemický účinek. Tento účinek byl popsán ve studiích na myších, kdy bylo v jejich těle zaznamenáno snížení celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a triglyceridů. Oba tyto účinky přispívají ke zlepšení regulace tělesné hmotnosti a zároveň snižují riziko vzniku některých onemocnění jako například kardiovaskulárních chorob, cukrovky nebo obezity (AÇIK *et al.*, 2020, BOZKIR *et al.*, 2024, GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Pozitivní vliv užívání vodního kefíru na zvládnání cukrovky a obezity u lidí potvrzuje i další studie. Při ní byl testován vliv vodní kefíru připraveného ze zázvoru a kajenského pepře na fekální mikrobiotu zdravých a prediabetických jedinců. Vzorky fekálií byly podrobeny laboratorní simulaci lidského trávení a jejich stav před a po byl porovnán. Výsledky naznačily, že tento nápoj může sloužit jako prevence cukrovky či obezity (CHAN *et al.*, 2025). Další doložený účinek vodního kefíru je hepatoprotektivní, tedy zlepšení regenerace jaterních buněk, který však souvisí s výskytem antioxidantů (BOZKIR *et al.*, 2024).

Vodní kefír rovněž vykazuje různorodé protizánětlivé vlastnosti a při jeho konzumaci může docházet k omezení vzniku zánětlivých míst. Antiulcerogenní účinek vodního kefíru spočívá v obsahu probiotických mikroorganismů a organických kyselin upravující pH na kyselé. Tím dochází k posílení sliznice i střevní bariéry a následně ke zmírnění žaludečního zánětu. Dále může být vodnímu kefíru přisuzován protirakovinný potenciál. To díky výskytu bioaktivních složek ovlivňující buněčný cyklus, ty také mohou indukovat apoptózu nádorových buněk a inhibovat jejich proliferaci (BOZKIR *et al.*, 2024; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Účinky vodního kefiru byly hodnoceny nejen v souvislosti s jeho potenciálem zlepšit zdravotní stav lidského organismu, ale také z hlediska detoxikace kontaminovaných potravin a krmiv mykotoxiny. Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity produkované mikroskopickými vláknitými houbami kontaminující většinou potraviny a krmiva pro hospodářská zvířata. Konkrétně byl zjištěn a testován potenciál tibi krystalů snižovat množství aflatoxinu B1 (AFB1). Jedná se o jednu z nejtoxičtějších variant mykotoxinů, má karcinogenní, hepatotoxické, teratogenní účinky a je produkována například mikroskopickými vláknitými houbami *Aspergillus flavus* nebo *Aspergillus parasiticus* (OUYANG *et al.*, 2024; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Bylo prokázáno, že tibi krystaly jsou schopny účinně adsorbovat AFB1, a to v širokém rozmezí pH (3–9) i teplot (4–45 °C). Určité množství mykotoxinu jsou mikroorganismy schopny metabolizovat, jinak dochází ke tvorbě stabilních vazeb, které zajišťují že toxin není při omývání krystalů neuvolněn. Analýza úbytku AFB1 byla prováděna fermentací sacharidového roztoku, do kterého bylo přidáno určité množství AFB1, poté byl proveden Amesův test, který potvrdil jeho úbytek. Takto byly testovány různé hodnoty pH a teplot, dále i jiné substráty, jmenovitě kravské mléko a čajový nálev. Touto analýzou bylo zjištěno, že tibi krystaly mají schopnost snížit množství AFB1 v prostředí asi o polovinu, a při určitých podmínkách až o 60 % (OUYANG *et al.*, 2024).

Také je vhodné zmínit, že u kultury mléčného kefiru byla rovněž prokázána vlastnost absorbovat aflatoxiny, konkrétně B1, M1, G1 a další druhy mykotoxinů. Studiích zaměřujících se na vodní kefir není mnoho, a vědecky byla prokázána pouze schopnost absorbovat AFB1. Přesto je patrný jeho potenciál k odstraňování i jiných druhů mykotoxinů, navíc tibi krystaly oproti kultuře mléčného kefiru mají výhodou větší adaptace vůči různým druhům substrátu (OUYANG *et al.*, 2024).

3.5. Sušený vodní kefir

Trvanlivost čerstvého kefiru je několik dní, což je z hlediska průmyslové výroby a distribuce většinou nedostatečné. Pro její prodloužení je nápoj skladován v chladničkových teplotách, další prodloužení trvanlivosti je možno zajistit tepelným ošetřením, většinou pasterací. U pasterovaného vodního kefiru jsou sice výživové hodnoty zachovány, ale dochází k inaktivaci živých mikroorganismů, které jsou klíčové pro jeho probiotické vlastnosti a s nimi spojené zdravotní přínosy (BOZKIR *et al.*, 2024; MATEJČEKOVÁ a VALÍK, 2025).

Studie autorů de Almeida *et al.* (2024), se zabývala konzervačními procesy, slibující zvýšení trvanlivosti vodního kefiru a tím i umožnit širší průmyslové i komerční využití. Studie posuzuje dvě často využívané metody sušení vedoucí ke vzniku sušeného nebo také práškového vodního kefiru (anglicky „powdered water kefir“). Jedná se o sprejové sušení a lyofilizaci, přičemž obě techniky zajišťují dehydrataci produktu, jsou však založené na odlišných principech (DE ALMEIDA *et al.*, 2024).

Při této studii byl k sušení využit čerstvý vodní kefir, který byl vyroben podle podmínek určených jako optimální, což bylo využití 10 % roztok u hnědého cukru, 5 % tibi krystalů a fermentace probíhala při teplotě 25 °C po dobu 24 hodin. Při výrobě nebylo použito žádné ovoce či extrakty. Při sprejovém sušení, byl vodní kefir podroben atomizaci ve sprejovém sušícím zařízení při teplotě 135°C. Lyofilizace vodního kefiru byla provedena nejprve zmrazením na -80 °C, poté byl lyofilizován v lyofilizátoru při -37 °C a sníženém tlaku (DE ALMEIDA *et al.*, 2024).

Následně byly u vzorků sušeného kefiru analyzovány fyzikálně-chemické a technologické vlastnosti, zahrnující například stanovení vlhkosti, rozpustnosti, sypkosti nebo pH. Dále byly hodnoceny i mikrobiologické parametry, převážně se zaměřující na stanovení životaschopnosti mikroorganismů po sušení. U čerstvého vodního kefiru i jeho sušených variant, bylo provedeno stanovení počtu bakterií a kvasinek, a identifikace jednotlivých rodů, následně byl mikrobiální profil kefirů byl porovnán. V této studii nebylo provedeno žádné hodnocení sensorických parametrů (DE ALMEIDA *et al.*, 2024).

Výsledky výzkumu ukázaly, že sušení vodního kefiru je možné. Dále studie vyhodnotila, že lyofilizace je vhodnější metodou sušení ve srovnání se sprejovým sušením, a to zejména z hlediska zachování životaschopnosti mikroorganismů. U kefiru sušeného lyofilizací byl sledován minimální pokles až téměř úplné zachování mikrobiálního osídlení jako před sušením. Oproti tomu při použití sprejového sušení došlo k výraznějšímu snížení aktivních mikrobiálních buněk. Obě metody však poskytují práškový produkt s vhodnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi jako jsou zejména dobrá stabilita, nízká vlhkost a dobrá rozpustnost. Avšak dehydratace lyofilizací ponechává produktu významný probiotický charakter, představující nejen možnost trvanlivého vodního kefiru ale i potenciální využití v různých doplňcích stravy (DE ALMEIDA *et al.*, 2024).

4. MLÉČNÝ KEFÍR

Mléčný kefir je fermentovaný mléčný výrobek, který se vyrábí pomocí kultury mléčného kefiru, která může být také nazývána jako kefirová zrna. Tato zrna obsahují komplexní společenství mikroorganismů žijící v symbióze. Výroba kefiru spočívá v přidání zrn do mléka a následné fermentaci. Používané mléko poskytuje veškeré potřebné živiny (jako laktózu) nezbytné pro fermentační procesy, proto není nutné do něj přidávat další přísady. Nejčastěji se využívá kravské mléko, avšak můžeme se setkat s použitím kozího nebo ovčího mléka (CUFAOGLU a ERDINC, 2023a).

Podle Codex Alimentarius musí kefir obsahovat minimálně 2,7 % hm bílkovin, obsah tuku musí být menší než 10 % hm a jeho titrační kyselost vůči kyselině mléčné musí být minimálně 0,6 % hm. Startovací kultura (kefirová zrna) musí obsahovat nejméně 10^7 CFU/g celkového množství mikroorganismů a minimálně 10^4 CFU/g kvasinek. Také musí být přítomen *LentiLb. kefir* (dříve *Lactobacillus kefir*) a druhy z rodů *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Acetobacter*, které žijí v symbióze. V kefirových zrnech se rovněž musí nacházet kvasinky fermentující laktózu (*Kluyveromyces marxianus*) i kvasinky nefermentující laktózu (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces exiguus*) (WHO a FAO, 2011).

Kefir není klasifikován jako alkoholický výrobek, i přesto se v něm může přirozeně vyskytovat malé množství alkoholu. Jeho obsah však nesmí překročit hranici 0,5 % obj, která v České republice určuje limit pro klasifikaci výrobku jako alkoholického (WHO a FAO, 2011).

U spotřebitelů někdy může docházet k mylné záměně kefiru a kefirového mléka, přestože se liší způsobem výroby i složením. Podle Codex Alimentarius se kefirové mléko, na rozdíl od kefiru, nevyrábí tradičně pomocí opakovaně používaných kefirových zrn, nýbrž se vyrábí průmyslově za použití kultur napodobujících kefirová zrna. Ty se však nepoužívají opakovaně a nemusí obsahovat kvasinky. V důsledku toho kefirové mléko většinou neobsahuje alkohol ani oxid uhličitý a nemá tak širokou mikrobiologickou rozmanitost (WHO a FAO, 2011).

4.1. Původ kefiru

Původ mléčného kefiru je mnohem starší než původ vodního kefiru. Jeho historie sahá do dob, kdy fermentace mléka představovala nezbytný způsob uchovávání potravin. Z tohoto důvodu je mléčný kefir považován za původní variantu kefiru. Současně je i mnohem známější, a proto se slovo „mléčný“ běžně vynechává a označuje se jednoduše jako kefir. Samotné slovo „kefir“ pochází z tureckého slova „keyif“, což lze přeložit jako dobrý pocit nebo potěšení (YILMAZ *et al.*, 2022).

Kefir pochází z oblastí východní Evropy. Za jeho místo původu se však konkrétně uvádí severní Kavkaz, což je hornatá oblast při Kavkazských horách na území dnešního Ruska. Jeho první strážníci a výrobci byli pravděpodobně pastevci z horských klanů. I když neexistují záznamy o používání kultur mléčného kefiru či jiných zrn, nejpravděpodobněji první kefir vznikl fermentací čerstvého mléka v sáčcích z kozí kůže (GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021).

Od starověku, kdy se začal kefir konzumovat, byl označován jako tajemství dlouhého života. Postupem času a na základě chemických a mikrobiologických analýz byly jeho magické účinky přisouzeny vysokému obsahu laktobacilů, které mají pozitivní vliv na léčbu a prevenci mnoha onemocnění (CUFAOGLU a ERDINC, 2023a).

4.2. Porovnání vodního a mléčného kefiru

Vodní i mléčný kefir jsou fermentované nápoje, které sdílejí nejen název, ale i některé vlastnosti. Avšak při bližším pohledu lze nalézt řadu odlišností, zahrnující nutriční a senzorycké vlastnosti, mikrobiologické složení a další aspekty (MORETTI *et al.* 2022).

4.2.1. Rozdíly v kulturách kefiru

Kultura mléčného kefiru je, na rozdíl od průhledných tibi krystalů, neprůsvitná s bílou, krémovou barvou. Kefirová zrna vytváří strukturu granulí, které mohou připomínat popcorn či drobné květy kvěťáku. Velikost kefirových zrn se pohybuje v rozmezí od 10 mm do 2 cm, což je rozměrově srovnatelné s tibi krystaly. Další podobnost kultur lze nalézt v obsahu sušiny, která je u kefirových zrn asi 14 % hm. (GUZEL–SEYDİM *et al.*, 2021). Porovnání vzhledu obou kultur je vidět na obrázku 3.

Stejně jako tibi krystaly produkují své specifické EPS, i kefirová zrna produkují EPS, které drží mikroorganismy při sobě a vytváří charakteristickou strukturu kultury. Bakteriální polysacharid, která kultura mléčného kefiru obsahuje je označován jako “kefiran“. Jeho struktura je tvořena glukózou a galaktózou, a to přibližně ve stejném množství, na rozdíl od EPS v tibi krystalech, kde dextran obsahuje pouze glukózu (GUZEL–SEYDİM *et al.*, 2021).



Obrázek 3: Porovnání vzhledu obou kultur kefiru (upraveno dle GUZEL–SEYDİM *et al.*, 2021)

4.2.2. Srovnání mikrobiologického složení

Kultura mléčného kefiru se z mikrobiologického hlediska skládá, stejně jako tibi krystaly, z mléčných bakterií, octových bakterií, kvasinek a dalších druhů bakterií, které žijí v symbióze. Nicméně se mezi těmito kulturami vyskytují významné rozdíly ve složení, a to jak v poměrovém zastoupení jednotlivých rodů, tak ve výskytu konkrétních druhů mikroorganismů. To je dáno především rozdílným substrátem pro fermentaci. Mikrobiologické složení samotné kultury mléčného kefiru je tedy přizpůsobené složení mléku, kdy laktóza v něm slouží jako hlavní zdroj energie pro mikroorganismy, což odráží fakt, že se v kefirových zrnech nacházejí převážně druhy schopné ji metabolizovat (GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021).

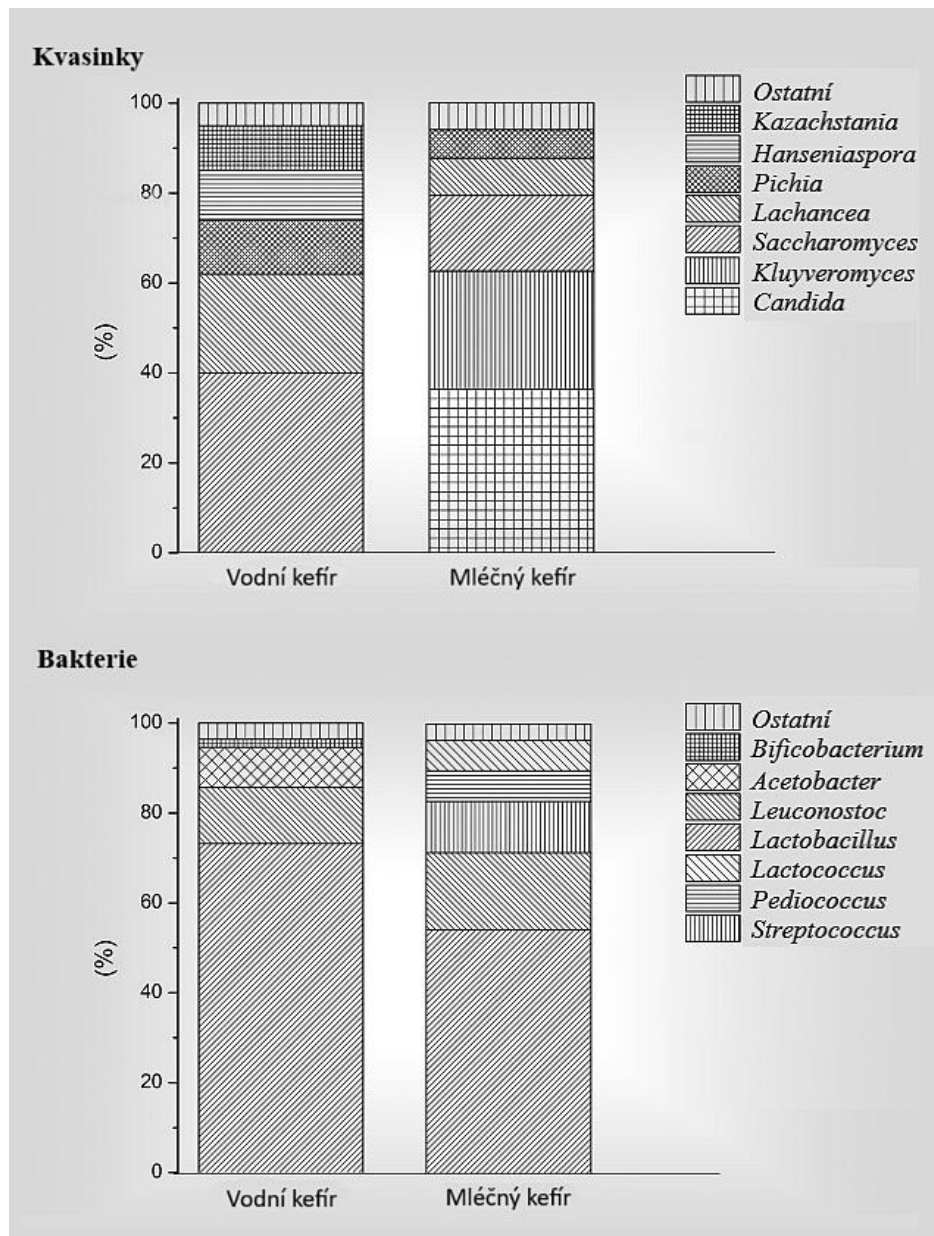
Nejtypičtější bakterie pro kulturu mléčného kefiru jsou zejména ty, které produkují kefiran. Jeho produkci zajišťují především bakterie *Lb. kefiranofaciens*, *LentiLb. kefir* a *LentiLb. parakefir* (dříve *Lb. parakefir*). Mezi další hojně se vyskytující bakteriální druhy se řadí *Leuc. mesenteroides*, *Lc. lactis*. *Lactiplantibacillus plantarum* (dříve *Lb. plantarum*), *Lcb. paracasei* (dříve *Lb. paracasei*), *Streptococcus thermophilus* (YILMAZ *et al.*, 2022). Při porovnání s vodním kefirem, lze nalézt některé společné druhy, jako *Leuc. mesenteroides* a *Lcb. paracasei*. Ostatní druhy významné pro mléčný kefir však ve vodním kefiru chybí anebo se vyskytují ve výjimečných případech. Naopak významné bakterie ve vodním kefiru jako například *LentiLb. hilgardii* nebo *LiqLb. nagelii* se v mléčném kefiru nenachází (GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021; MORETTI *et al.* 2022).

Další podstatnou část mikrobiálního složení tvoří kvasinky. V kefirových zrnech se typicky vyskytuje *Kluyveromyces marxianus* a rod *Candida*, což jsou kvasinky schopné využívat laktózu. V mléčném kefiru se nachází i *S. cerevisiae*, ale jelikož se jedná o kvasinku, která laktózu štěpit nedokáže, tak je její uplatnění i výskyt omezený. Oproti tomu se *S. cerevisiae* ve vodním kefiru nachází se významným množstvím. Dokáže totiž lehce štěpit sacharózu na glukózu a fruktózu, také ji obsah sacharózy v prostředí stimuluje ke tvorbě ethanolu, proto vodní kefir nemusí vždy být nealkoholický. Alkohol však mohou následně využít octové bakterie pro své metabolické pochody. Proto mají octové bakterie ve vodním kefiru oprávněné místo. Narozdíl od toho, je jejich množství v mléčném kefiru zřetelně nižší (FIORDA *et al.*, 2017; YILMAZ *et al.*, 2022).

Rozdíl v kefirech spočívá i ve výskytu bifidobakterií. Zatímco v ostatních fermentovaných mléčných výrobcích je jejich přítomnost běžná, v mléčném kefiru dosud nebyla potvrzena. Dostupné studie výskyt bifidobakterií v mléčném kefiru neuvádějí, což naznačuje, že mohou být přítomny pouze v neidentifikovaném množství. Oproti tomu byl ve vodním kefiru i v tibi krystalech výskyt bifidobakterií opakovaně potvrzen analýzami (YILMAZ *et al.*, 2022).

Možnost využití mléčných kefirových zrn pro fermentaci nemléčných substrátů byla ověřena ve studii, která se zaměřila na postupný přechod z mléčné fermentace na fermentaci roztoku sacharózy (bez laktózy). V rámci experimentu byla nejprve sledována fermentace k mléka, postupně během šesti fermentačních cyklů po 24 hodinách bylo část mléka nahrazováno roztokem sacharózy. Poté byla tato kultura dána do samotného roztoku sacharózy a bylo u ní vyhodnoceno několik faktorů jako pH, spotřeba cukru, produkce metabolitů a změny v mikrobiologické populaci. Výsledkem bylo úspěšné vytvoření fermentovaného nápoje, který měl však odlišné mikrobiologické složení, než původní. Převládali v něm kvasinky, což byl výrazný rozdíl oproti mléčné fermentaci, kde převládali mléčné bakterie. To zapříčinilo i množství ethanolu v nápoji které dosahovalo i 2 %, a nižší množství kyseliny mléčné. Tato studie prokázala, že kultura mléčného kefiru je schopná adaptace, ale nelze zaměnit s tibi krystaly (TZAVARAS *et al.*, 2022).

Obrázek 4 poskytuje grafické porovnání keřirových kultur z mikrobiologického hlediska, ze kterého lze vyčíst poměry zastoupení jednotlivých rodů v procentech. Graf s bakteriemi však nezohledňuje reorganizaci mléčných bakterií, která byla provedena až v roce 2020, a proto v tomto případě rod *Lactobacillus* zahrnuje i nově definované rody (FIORDA *et al.*, 2017; ZHENG *et al.*, 2020).



Obrázek 4: Porovnání mikrobiologického složení obou kultur keřiru (upraveno dle FIORDA *et al.*, 2017)

Z části obrázku, která udává procentuální zastoupení kvasinek lze vyčíst, že přibližné množství konkrétních rodů kvasinek, které keřirová zrna mléčného keřiru obsahují je 38 % *Candida*, 25 % *Kluyveromyces*, 20 % *Saccharomyces*, 7 % *Lanchacea*, 5 % *Pichia* a 5 % ostatních druhů bakterií. Pro porovnání, kultura na výrobu vodního keřiru obsahuje přibližně 40 % *Saccharomyces*, 23 % *Lanchacea*, 12 % *Pichia*, 10 % *Hanseniaspora*, 10 % *Kazachstania* a 5 % ostatních druhů bakterií (FIORDA *et al.*, 2017).

Data z části obrázku zaměřené na bakterie ukazují, že zrna mléčného keřiru obsahují přibližně 50 % *Lactobacillus*, 20 % *Leuconostoc*, 10 % *Streptococcus*, 8 % *Pediococcus*, 7 % *Lactococcus* a 5 % zástupců ostatních rodů bakterií. Oproti tomu kultura na výrobu vodního keřiru obsahuje přibližně 70 % *Lactobacillus*, 10 % *Leuconostoc*, 10 % *Acetobacter*, 5 % *Bifidobacterium* a 5 % zástupců ostatních rodů bakterií (FIORDA *et al.*, 2017; GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021).

Mikrobiologické složení mléčného keřiru, stejně jako u vodního keřiru, je primárně ovlivněno složením kultury. Avšak na je jeho mikrobiologickou rozmanitost mohou mít vliv i další faktory jako je druh použitého mléka nebo fermentační podmínky, mezi něž patří teplota a doba fermentace. Například bylo zjištěno, že v brzkých fázích fermentace se v nápoji převážně vyskytuje bakterie *Lb. keřiranofaciens*, zatímco v pozdních fázích přebírá dominanci bakterie *Leuc. mesenteroides*, která se podílí na produkci aromatických sloučenin, jež ovlivňují typickou chuť a vůni keřiru (YILMAZ *et al.*, 2022).

4.2.3. Porovnání vlastností keřirů

Mezi oběma keřiry lze také zaznamenat významné rozdíly v jejich sensorických vlastnostech. Oba keřiry sice obsahují kyselinu mléčnou získanou produkcí mléčných bakterií, která dodává oběma keřirům kyselou chuť. Nicméně v mléčném keřiru bylo identifikováno více než 50 druhů sensoricky významných látek, například – kyselina propionová, kyselina octová, acetaldehyd, diacetyl, acetoin, ethanol. Ve vodním keřiru bylo identifikováno asi jenom 30 druhů, původu převážně z přidaného ovoce (GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021).

Jistá rozdílnost keřirů se projevuje i v obsahu alkoholu. Přestože se v mléčném keřiru může vyskytnout ethanol, dle Codex Alimentarius se jedná o nealkoholický výrobek. Oproti tomu u vodního keřiru není neobvyklé přesáhnout hranice 0,5 % obj. alkoholu (FIORDA *et al.*, 2017; WHO a FAO, 2011).

Senzorické vlastnosti mléčného kefíru jsou ovlivněny druhem použitého mléka a fermentačními podmínkami, přičemž delší doba fermentace zvyšuje kyselost nápoje. Chuť i vůně mléčného kefíru jsou typicky popisovány jako kyselé a kvasinkové s nádechem oxidu uhličitého. Na rozdíl od toho, chuť vodního kefíru byla při porovnání zhodnocena jako méně kyselá a sladší s nízkou přítomností alkoholu a vyšší perlivostí. Vůně vodního kefíru je ovlivněna použitým ovocem, proto byla popsána jako ovocná. Kefír z mléka má viskózní, neprůhlednou strukturu a vyšší hustotu než vodní kefír, který má naopak poloprůhledný vzhled, zabarvený podle druhu použitého ovoce (CUFAOGLU a ERDINC, 2023a; GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021).

Díky vysokému obsahu mikroorganismů s probiotickými vlastnostmi jsou oba kefíry označovány jako probiotické výrobky. Také během fermentace kefírů dochází k tvorbě látek, které mohou inhibovat růst patogenních mikroorganismů, což zvyšuje jejich mikrobiologickou nezávadnost. Mléčný kefír, jakožto fermentovaný mléčný výrobek, sice obsahuje snížené množství laktózy, stále však není vhodný pro osoby s intolerancí na laktózu či alergií na mléko. Rovněž není akceptovatelný pro osoby preferující veganskou stravu. Tyto omezení se však na vodní kefír nevztahují, a proto může sloužit jako jeho alternativa pro tyto skupiny lidí. (GUZEL–SEYDIM *et al.*, 2021).

Pro zajištění dalších alternativ mléčného kefíru a v reakci na rostoucí zájem o udržitelnější životní styl se některé studie zaměřily na výrobu kefíru z rostlinných zdrojů. Jednu z možných cest představují fermentované nápoje z rostlinných alternativ mléka, které mohou být vyrobeny ze sóji, luštěnin nebo obilovin jako je oves. Právě studie od KÜTT *et al.* (2023) popisuje a porovnává fermentované ovesné nápoje. K přípravě ovesného nápoje sloužícího jako substrát pro fermentaci byly použity ovesné vločky s vodou, výsledná směs byla upravena enzymatickou hydrolýzou za zvýšené teploty. Fermentace byla provedena za použití čtyř veganských startovacích kultur, které obsahovaly převážně mléčné bakterie, například *Streptococcus thermophilus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lcb. paracasei* a *B. lactis*. Ačkoliv se v případě fermentovaného ovesného nápoje nejedná o tradiční kefír, některé použité mikroorganismy jsou částečně shodné s těmi, co se vyskytují v keřirových kulturách, i když nebyly zastoupeny kvasinky. Výsledný fermentovaný ovesný nápoj měl méně sladkou a kyselejší chuť než původní nefermentovaný nápoj. Díky fermentaci také došlo ke zvýšení viskozity. Při porovnání s tradičním mléčným keřírem se však chutí nepřibližoval k mléku, ale vyznačoval se obilnou příchutí (KÜTT *et al.*, 2023).

ZÁVĚR

Tibi krystaly, někdy nazývané jako kultura vodního kefiru, představují symbioticky žijící společenství mikroorganismů. Obsahují pestrou škálu mikroorganismů tvořenou z mléčných bakterií, octových bakterií, kvasinek a dalších bakterií zahrnující i bifidobakterie. Mezi nejvýznamnější mikroorganismy pro tibi krystaly patří *LentiLb. hilgardii*, *LiqLb. nagelii*, *LiqLb. hordei*, *Leuc. mesenteroides*, *Zymomonas mobilis*, *S. cerevisiae* a *Zygorulaspora florentina*. Ty jsou zabudované v polysacharidové struktuře, konkrétně se jedná nerozpustné exopolysacharidové dextrany. Kultura tvarem připomíná kamennou sůl nebo také nepravidelné drobné krystaly. I když původ tibi krystalů může být sporný, za jejich místo původu je považováno Mexiko. Na povrchu kaktusu Opuncie, jehož šťáva obsahuje vysoké množství cukru, může nastat přirozená tvorba tibi krystalů. Ty jsou místními obyvateli známy jako Tibicos.

Tibi krystaly se využívají k výrobě vodního kefiru, jehož proces výroby je považován za nenáročný a bezpečný. Jeho výroba je stále prováděna převážně v domácím prostředí, kdy fermentace probíhá při pokojových teplotách a fermentace trvá 24–72 hodin. Fermentace je spontánně zahájena přidáním tibi krystalů do vodného roztoku sacharózy, který bývá často obohacen o ovoce (sušené, čerstvé nebo jejich šťávy). Podle tradiční výroby se využívá hnědý cukr se sušenými fíky, kdy tato kombinace způsobuje rychlou a ideální fermentaci. Studiemi bylo prokázáno, že tibi krystaly dokáží fermentovat širokou škálu substrátů, a vytvářejí tak slibný potenciál pro vznik různých zdravotně přínosných fermentovaných nápojů. Fermentace je ukončena vyjmutím zrněk kefiru z nápoje, a to ve chvíli kdy je výrobce spokojen s jeho kyselostí a chutí.

Vodní kefir je fermentovaný mírně perlivý nápoj se sladkokyselou až kvasinkovou chutí a ovocnými tóny. Nelze ho plně zařadit mezi nealkoholické nápoje, neboť jeho obsah ethanolu může dosahovat až 1 %, i když obvykle zůstává pod hranicí 0,5 %. Je označován jako probiotický výrobek vhodný i pro veganský způsob výživy nebo pro lidi s intolerancí na laktózu či alergií na mléko. Kromě probiotických mikroorganismů, které stojí za většinou jeho benefitů, obsahuje i vitamíny, antioxidanty a další metabolity, které mají potenciální pozitivní účinek na lidské zdraví. Díky tomuto složení vlastní účinky antihyperglykemické, antihyperlipidemické, hypocholesterolemické, ale i protizánětlivé a antioxidantní. Může být doporučován jako prevence onemocnění kardiovaskulárních chorob, cukrovky, obezity nebo střevních a žaludečních infekcí.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- AÇIK M., ÇAKIROĞLU F. P., ALTAN M., BAYBO T. Alternative source of probiotics for lactose intolerance and vegan individuals: sugary kefir. *Food Science and Technology* [online]. 2020, 40(3) [cit. 2025-06-15]. ISSN 1678-457X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/fst.27919>
- BOZKIR, E., B. YILMAZ, H. SHARMA, T. ESATBEYOGLU a F. OZOGUL. Challenges in water kefir production and limitations in human consumption: A comprehensive review of current knowledge. *Heliyon* [online]. 2024, 10(13), e33501 [cit. 2024-11-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33501>
- CUFAOGLU G., ERDINC A. N. An alternative source of probiotics: Water kefir. *Food Frontiers* [online]. 2023b, 4(1), 21–31 [cit. 2025-02-20]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/fft2.200>
- CUFAOGLU G., ERDINC A. N. Comparative analyses of milk and water kefir: Fermentation temperature, physicochemical properties, sensory qualities, and metagenomic composition. *Food Bioscience* [online]. 2023a, 55, 103079 [cit. 2025-01-13]. ISSN 2212-4292. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103079>
- DE ALMEIDA K. V., ZANETTI V. C., CAMELO-SILVA C., ALEXANDRE L. A., DA SILVA A. C., VERRUCK S., TEIXEIRA L. J. Q. Powdered water kefir: Effect of spray drying and lyophilization on physical, physicochemical, and microbiological properties. *Food Chemistry Advances* [online]. 2024, 5, 100759 [cit. 2025-01-14]. ISSN 2772-753X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100759>
- ECKEL, V. P. L., ZIEGLER L.-M., VOGEL R. F., EHRMANN M. *Bifidobacterium tibiigranuli* sp. nov. isolated from homemade water kefir. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. 2020, 70(3), 1562–1570 [cit. 2025-01-03]. ISSN 1466-5026. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003936>
- FIORDA F. A., PEREIRA G. V. M., THOMAZ-SOCCOL V., RAKSHIT S. K., PAGNONCELLI M. G. B., VANDENBERGHE L. P. S., SOCCOL C. R. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. *Food Microbiology* [online]. 2017, 66, 86–95 [cit. 2023-12-06]. ISSN 0740-0020. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.004>
- GAMBA R. R., KOYANAGI T., PELÁEZ A. L., DE ANTONI G., ENOMOTO T. Changes in microbiota during multiple fermentation of kefir in different sugar solutions revealed by high-throughput sequencing. *Current Microbiology* [online]. 2021, 78, 2406–2413 [cit. 2025-01-06]. ISSN 1432-0991. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02501-0>

GÖKIRMAKLI Ç, YÜCEER Y. K., GUZEL-SEYDIM Z. B. Chemical, microbial, and volatile changes of water kefir during fermentation with economic substrates. *European Food Research and Technology* [online]. 2023, 249(7), 1717-1728 [cit. 2025-06-15]. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04242-9>

GUZEL-SEYDIM Z. B., GÖKIRMAKLI C., GREENE A. K. A comparison of milk kefir and water kefir: Physical, chemical, microbiological and functional properties. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2021, 113, 42–53 [cit. 2023-11-21]. ISSN 0924-2244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.041>

CHAN M., RUAN X., WANG J., NINU L.L., HOWELL K. Tibicos differentially affects faecal microbiota composition and short-chain fatty acid production in prediabetic and healthy adults in a simulated digestive tract. *bioRxiv* [online]. 2025 [cit. 2025-06-15]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1101/2025.03.26.645606>

KÜTT M-L., ORGUSAAR K., STULOVA I., PRIIDIK R., PISMENNÕI D., VAIKMA H., KALLASTU A., ZHOGOLEVA A., MORELL I., KRIŠČIUNAITE T. Starter culture growth dynamics and sensory properties of fermented oat drink. *Heliyon* [online]. 2023, 9(5), e15627 [cit. 2025-01-18]. ISSN 2405-8440. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15627>

LAUREYS, D., CNOCKAERT M., DE VUYST L., VANDAMME P. *Bifidobacterium aquikefiri* sp. nov., isolated from water kefir. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. 2016, 66(3), 1281–1286 [cit. 2025-01-03]. ISSN 1466-5026. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000877>

LIMBAD M., GUTIERREZ-MADDOX N., HAMID N., KANTONO K., LIU T., YOUNG T. Microbial and chemical changes during fermentation of coconut water kefir beverage. *Applied Sciences* [online]. 2023, 13(12), 7257 [cit. 2025-06-15]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/app13127257>

LYNCH K. M., WILKINSON S., DAENEN L., ARENDT E. K. An update on water kefir: Microbiology, composition and production. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2021, 345, 109128 [cit. 2023-11-21]. ISSN 0168-1605. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109128>

MANOJ P. M., MOHAN J. R., KHASHERAO B. Y., SHAMS R., DASH K. K. Fruit based probiotic functional beverages: A review. *Journal of Agriculture and Food Research* [online]. 2023, 14, 100729 [cit. 2025-06-15]. ISSN 2666-1543. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100729>

MATEJČEKOVÁ Z. a VALÍK L. Kefir alternatives, an innovative source of probiotics: Microbiological, technological, and therapeutical properties. *Applied Food Research* [online]. 2025, 5(1), 100775 [cit. 2025-04-09]. ISSN 2772-5022. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.100775>.

MORETTI A. F., MOURE M. C., QUIÑOY F., ESPOSITO F., SIMONELLI N., MEDRANO M., LEÓN-PELÁEZ Á. Water kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: From ancient and artisanal manufacture to industrialized and regulated commercialization. *Future Foods* [online]. 2022, 5, 100123 [cit. 2025-06-15]. ISSN 2666-8335. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100123>

ONYEAKA H. N., NWABOR O. F. Lactic acid bacteria and bacteriocins as biopreservatives. In: *Food Preservation and Safety of Natural Products* [online]. 2022, s. 147-162 [cit. 2023-11-28]. ISBN 978-0-323-85701-7. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpFPSNP001/food-preservation-safety/food-preservation-safety>

OUYANG W., LIAO Z., YANG X., ZHANG X., ZHU X., ZHONG Q., WANG L., FANG X., WANG J. Microbial composition of water kefir grains and their application for the detoxification of Aflatoxin B1. *Toxins* [online]. 2024, 16(2), 107 [cit. 2025-06-03]. ISSN 2072-6651. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/toxins16020107>

PATEL S. H., TAN J. P., BÖRNER R. A., ZHANG S. J., PRIOUR S., LIMA A., NGOM-BRU C., COTTER P. D., DUBOUX S. A temporal view of the water kefir microbiota and flavour attributes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* [online]. 2022, 80, 103084 [cit. 2025-06-15]. ISSN 1466-8564. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103084>

PLOCKOVÁ M., HORÁČKOVÁ Š. Bakterie mléčného kvašení, probiotika. In: *Bakterie mléčného kvašení, probiotika a fermentované mléčné výrobky* [online]. Potravinářská komora České republiky, 2018, s. 2-11. ISBN 978-80-88019-34-3. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/publikace/material%20ferment%20milk%20web.pdf>

ROSSI, F. Special Issue “Functional characterization of lactic acid bacteria”: Editorial. *Microorganisms* [online]. 2023, 11(5), 1190 [cit. 2024-12-19]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051190>

SPIZZIRRI U. G., LOIZZO M.R., AIELLO F., PRENCIPE S. A., RESTUCCIA D. Non-dairy kefir beverages: Formulation, composition, and main features. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2023, 117, 105130 [cit. 2025-05-12]. ISSN 0889-1575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105130>

- TAMANG J. P., LAMA S. Probiotic properties of yeasts in traditional fermented foods and beverages. *Journal of applied microbiology* [online]. 2022, 132(5), 3533-3542 [cit. 2025-06-15]. ISSN 1365-2672. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jam.15467>
- TAN L. L., SIM E. S. Z., CONWAY P. L., LOO S. CH. J. *Liquorilactobacillus satsumensis* from water kefir yields α -glucan polysaccharides with prebiotic and synbiotic qualities. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2022, 290, 119515 [cit. 2023-11-26]. ISSN 0144-8617. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119515>
- TZAVARAS D., PAPADELLI M., NTAIKOU I. From milk kefir to water kefir: assessment of fermentation processes, microbial changes and evaluation of the produced beverages. *Fermentation* [online]. 2022, 8(3), 135 [cit. 2025-06-16]. ISSN 2311-5637. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/fermentation8030135>
- WAREING, P., STUART F., FERNANDES R. 5.2 Acetic acid bacteria. In: *Micro-Facts - The working companion for food microbiologists (7th Edition)* [online]. 2010a [cit. 2024-12-26]. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00ACJJ51/micro-facts-working-companion/key-species-in-foods>
- WAREING, P., STUART F., FERNANDES R. 6. Food spoilage yeasts. In: *Micro-Facts - The working companion for food microbiologists (7th Edition)* [online]. 2010b [cit. 2024-12-23]. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00ACJULC/micro-facts-working-companion/food-spoilage-yeasts>
- WEN S., DONG N., ZHANG Y., YANG B., WANG B., DAI Y., LIN X., DONG L., ZHANG S. Metabolic profiling of wort fermented with water kefir grains and its effect on wort quality. *Food Bioscience* [online]. 2024, 59, 104181 [cit. 2025-06-15]. ISSN 2212-4292. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104181>
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Milk and milk products. In: *Codex Alimentarius* [online]. 2011, s. 6-8 [cit. 2025-01-14]. ISBN 978-92-5-105837-4. Dostupné z: <https://www.fao.org/4/i2085e/i2085e00.pdf>
- YANG H., CHEN T., WANG M., ZHOU J., LIEBL W., BARJA F., CHEN F. Molecular biology: Fantastic toolkits to improve knowledge and application of acetic acid bacteria. *Biotechnology Advances* [online]. 2022, 58, 109711 [cit. 2024-12-31]. ISSN 0734-9750. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107911>

YERLIKAYA O., AKAN E., KINIK. Ö. The metagenomic composition of water kefir microbiota. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online]. 2022, 30, 100621 [cit. 2023-11-21]. ISSN 1878-450X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100621>

YILMAZ B., SHARMA H., MELEKOGLU E., OZOGUL F. Recent developments in dairy kefir-derived lactic acid bacteria and their health benefits. *Food Bioscience* [online]. 2022, 46, 101592 [cit. 2023-12-10]. ISSN 2212-4292. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101592>

ZANNINI E., LYNCH K.M., NYHAN L., SAHIN A. W., O' RIORDAN P., LUK D., ARENDT E. K. Influence of substrate on the fermentation characteristics and culture-dependent microbial composition of water kefir. *Fermentation* [online]. 2023, 9, 28 [cit. 2025-06-15]. ISSN 2311-5637. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/fermentation9010028>

ZHENG J., WITTOUCK S., SALVETTI E., FRANZ CH.M.A.P., HARRIS H.M.B., MATTARELLI P., O'TOOLE P.W., POT B., VANDAMME P., WALTER J., WATANABE K., WUYTS S., FELIS G.E., GÄNZLE M.G., LEBEER S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. 2020, 70(4), 2782–2858 [cit. 2024-12-31]. ISSN 1466-5026. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>