

不同底物下水开菲尔发酵差异的研究进展

王亚妮, 汤晓娟, 李延龙, 宋国志, 林祥娜*
(临沂大学生命科学学院, 山东临沂 276000)

摘要: 水开菲尔是一种极具发展潜力的非动物源的传统发酵饮料, 以其丰富的益生菌和有益物质而得名, 其颗粒中菌株之间互作的相互作用提高了菌群的细胞数量。该颗粒可适用于不同的原料基质, 如水果、蔬菜、谷物和茶类等, 发酵后含糖量低、酸度低、碳酸化和酒精含量低, 可用于开发特定消费者的产品, 如乳糖不耐受、纯素食主义或素食主义者。水开菲尔颗粒发酵能够提高产品的附加值, 使副产品得到充分利用、减少环境污染与作物浪费。另外, 在健康保健和防治疾病等功能活性方面也具有较大的发展潜力。该文通过对水开菲尔的生理功能、形成机制、发酵类型及其微生物种类进行综述, 阐明了开发功能性水开菲尔发酵饮料的意义及其应用前景, 并通过总结国内外不同的发酵底物类型, 根据其物理特性及存在的微生物种类给新型发酵饮料、功能性产品的开发提供参考价值。

关键词: 水开菲尔; 新型发酵饮料; 功能性产品; 素食主义

文章编号: 1673-9078(2025)12-369-378 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.12.1249

Research Progress on the Differences of Water Kefir Fermentation with Different Substrates

WANG Yani, TANG Xiaojuan, LI Yanlong, SONG Guozhi, LIN Xiangna*
(College of Life Science, Linyi University, Linyi 276000, China)

Abstract: Water kefir is a kind of non-animal sourced traditional fermented beverage with great development potential, which is named for its rich probiotics and beneficial substances. The mutually beneficial interactions between the strains in the particles increased the number of cells in the flora. These particles can be applied to various raw material substrates, such as fruits, vegetables, cereals and teas, with a low sugar content, low acidity, carbonation and low alcohol content after fermentation, thereby making them suitable for developing products for specific consumers, such as those who are lactose intolerant, vegans or vegetarians. Water kefir particle fermentation can increase the added value of products, make full use of by-products, and reduce environmental pollution and crop waste. In addition, it also has great development potential in functions and bioactivities related to aspects such as healthcare and disease prevention. In this paper, the physiological functions, formation mechanisms, types of fermentation, and microbial species of water kefir are reviewed to clarify the significance and application prospects of developing functional water kefir fermented beverages. Moreover, this paper also provides reference value for the development of new fermented beverages and functional products through summarizing different types of fermentation substrates used domestically and abroad, based on their physical characteristics and the existing microbial species.

Key words: water kefir; fermented beverage; functional products; vegetarianism

引文格式:
王亚妮,汤晓娟,李延龙,等.不同底物下水开菲尔发酵差异的研究进展[J].现代食品科技,2025,41(12):369-378.
WANG Yani, TANG Xiaojuan, LI Yanlong, et al. Research progress on the differences of water kefir fermentation with different substrates [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(12): 369-378.

收稿日期: 2024-08-22 ; 修回日期: 2024-09-27 ; 接受日期: 2024-10-09
基金项目: 国家自然科学基金项目 (32302039)
作者简介: 王亚妮 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品发酵, E-mail: 15094959126@163.com
通讯作者: 林祥娜 (1990-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品发酵, E-mail: linxiangna@lyu.edu.cn

近年来,随着食物不耐受、乳制品过敏人群的增加及生活水平的提高,消费者对功能性食品的需求极大增加^[1]。越来越多的人不止追求口感,而更倾向于追求健康。微生物发酵不仅能够产生令人愉快的味道及质地,营养价值的改善以及在恶劣环境条件下良好的品质更加助于食物的保藏,世界上许多地区都有饮用用水开菲尔粒发酵糖水、水果等制作成饮料的习惯^[2]。

水开菲尔,也被称作中国菌菇、缇比水晶和天山雪莲等,呈金黄色至淡黄色,是一种当地自制的发酵饮料,主要由干水果如无花果干等有机糖溶液和一种称为“水开菲尔”的微生物培养物自然发酵而成,含多种益生菌^[3]。在水开菲尔发酵过程中,其颗粒会“消化”掉糖,充分利用水果中丰富的多酚、类黄酮和花青素来达到可接受的感官属性,并产出 CO_2 、乙醇、多糖、有机酸、具有保健功效的次级代谢产物及挥发性化合物在内的各种其他产物,含有丰富的生物活性化合物,具有抑制病原微生物、抗炎杀菌、降胆固醇、降血糖、抗癌、提高免疫力和调节生长不良等作用^[4,5]。因此,水开菲尔是一种果味、低醇并伴有酸味的发酵性碳酸饮料^[4]。

通常水开菲尔粒作为益生菌微生物的重要来源,主要由乳酸菌、醋酸菌和酵母菌等共生微生物组成稳定菌落的胞外多糖组成。目前用其颗粒来发酵食品基质的种类越来越多,例如无花果、菠萝、葡萄及圣女果等水果,在蔬菜中也有广泛应用,如胡萝卜、生姜、茴香和洋葱等。在不同发酵底物作用下能够使水开菲尔风味独特,又能被广大消费者所接受。对传统开菲尔发酵乳而言,用非乳制品发酵饮料可作为乳制品的替代品,适用于乳糖不耐症和胆固醇水平较高的患者。水开菲尔与乳开菲尔具有相似的微生物种类,可以观察到各种细菌和酵母互惠互利的相互作用,不同的是,酵母菌在水开菲尔颗粒中比在乳开菲尔颗粒中更常见^[6]。

虽然证明用水开菲尔颗粒发酵饮料是一种可行的选择,但是国内对该主题的研究种类相对较少。目前,水开菲尔中存在的微生物多样性及其生产工艺面临许多挑战,包括糖的来源、发酵工艺及条件、发酵种类以及提升产品质量方面仍有很大发展空间,对水开菲尔发酵饮料产品的开发研究逐渐成为热点话题。因此,该文将介绍水开菲尔发酵饮料的类型、潜在的功能特性、常见的微生物类群及产业发展前景,为促进非乳制品发酵饮料多功能性产品的开发提供依据,为乳糖不耐受及对功能性食品感兴趣的人群创造一个重要的替代品,并作为有益微生物的来源,这将在开发多元化产品方面具有积极的意义。

1 水开菲尔的形成机制

水开菲尔粒是一种不规则的透明胶质颗粒,大小从毫米到几厘米不等,具体特征主要取决于要发酵的液体基质(即水果和蔬菜等)。Dong等^[7]提出颗粒形成始于醋酸菌和酵母菌生物膜的形成,颗粒生物膜是由多种微生物细胞、水和胞外多糖组成的致密的球形复杂生物系统^[8],其中胞外多糖主要由不溶性的支链葡聚糖及果聚糖构成^[9],具有 α -1,6键和可变数量的 α -1,2-、 α -1,3-和 α -1,4-支链键, α -1,3-键较多时胞外多糖不易溶于水,水开菲尔得以呈现出独特的颗粒结构^[10]。Wang等^[11]在研究中指出马尔克西亚努斯克鲁维罗酵母菌 G-Y4 (*Kluyveromyces marxianus* G-Y4) 促进了副干酪乳杆菌 GL1 (*Lactobacillus paracasei* GL1) 和瑞士乳杆菌 SNA12 (*Lactobacillus helveticus* SNA12) 的生长以及提高了它们的生物膜形成能力。此外,还发现 G-Y4 的死细胞可以增强细菌生物膜的形成, G-Y4 产生的细胞壁多糖是促进细菌生物膜形成的关键物质。水开菲尔菌体成膜性研究目前主要针对乳酸菌和酵母菌,对醋酸菌的研究较少。如图 1 所示, Dong等^[7]认为醋酸菌和乳酸菌结合形成小颗粒是水开菲尔颗粒形成的开始,乳酸菌具有较强产胞外多糖能力。醋酸菌具有形成生物膜的能力。在生物膜形成之后,醋酸菌向外增殖,乳酸菌会产生更多的胞外多糖。随着密度增加,生物膜产生封闭的囊泡结构,最终形成原始水开菲尔粒。

在水开菲尔颗粒中碳源(蔗糖)和氮源(新鲜水果或干果)都是其微生物生长代谢以及发酵能力的核心,关键是微生物之间的营养互作和代谢物的交换。酵母为细菌提供维生素、氨基酸等必需的生长因子,细菌最终的代谢产物被酵母用作能量来源^[12]。Jasmin等^[13]在共培养模型系统中研究水开菲尔粒中酵母菌与乳杆菌之间的协同作用提高了相互作用菌群的细胞数量,表明水开菲尔粒中菌株之间存在共生的关系。

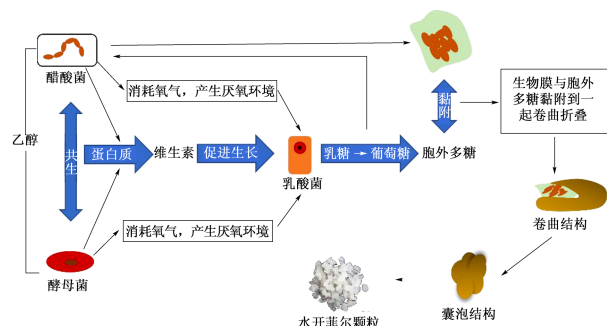


图 1 水开菲尔形成机制

Fig.1 Formation mechanism of water Kefir

2 水开菲尔在不同发酵底物中的应用

水开菲尔因其菌群复杂能够适应不同的食品基质,该基质是乳制品或其他液体含糖基质,也可通过添加水果、蔬菜、谷物、茶及相关副产品等来进行发酵,在发酵过程中可产生不同酶及许多挥发性成分来提高微生物活性。例如 β -半乳糖苷酶,能够将乳糖水解成葡萄糖和半乳糖,椰子水开菲尔被证明是 β -半乳糖苷酶的丰富来源,这可能有助于治疗乳糖不耐症^[14]。2,4-二叔丁基苯酚为苯酚类是一种挥发性有机酸化合物,具有抗菌和抗氧化活性^[15]。水开菲尔颗粒对发酵底物不仅具有较强的水解作用,还可水解多糖类成分及以糖苷形式存在的风味前体物质,释放出诱人的果香。菌系自身也会产生复杂、协调的香气成分。乙酸作为微生物代谢活动的标志物,会助于果味及香气的形成。另外,酯类在增强风味方面也起着至关重要的作用。水开菲尔还可利用谷物中丰富的营养物质,打破常规性谷物食品,开发多元化植物蛋白食品。因此,为了提高消费者对发酵饮料口味的追求,了解水开菲尔发酵种类对其相关产品的开发及其重要。研究表明,开发不同底物制成的水开菲尔发酵饮料可以促进多元化食品的开发,提高产品的利用率及减少资源浪费。

2.1 果蔬发酵

水果的长时间保存会导致酚类物质的损失和糖含量升高,发酵是加工水果的方法之一,在发酵过程中,微生物能够利用水果中丰富的营养物质来提高食品抵御疾病风险的能力。果蔬与水开菲尔颗粒之间存在协同关系,所得的发酵饮料在物理化学和感官特征方面具有良好的可接受性^[16]。

近年来,利用水开菲尔来发酵水果的研究越来越多,其种类及发酵条件不同所产生的功能特性也有所差异。Darvishzadeh等^[17]用水开菲尔粒发酵俄罗斯橄榄,响应面法得到在31.2℃温度下发酵24h,30%质量分数橄榄汁具有最大的抗氧化活性、微生物活力和总酚含量。Jessica等^[18]分别用梨汁和果泥作为发酵底物,相比之下发酵果汁具有更好的发酵潜力。水开菲尔发酵会合成如谷胱甘肽、有机酸和酚类化合物等抗氧化剂化合物,使其清除能力提高了10%。此外,糖含量的降低及有机酸的增加,酚类物质、维生素和矿物质的存在对营养健康至关重要。水果基质的发酵不仅能够增加生产饮料的功能,还可以赋予底物更高的抗氧化活性,延长保质期。另外,通过发酵可以提高原有的感官特性及品质。Cláudia等^[19]通过在可可果肉中接种水开菲尔粒生产出具有良好感官特性的新型饮

料,其条件在25℃下用可可果肉发酵48h和72h生产的饮料认可度高,可能是由于饮料中的酸度和酒精浓度较低。Guzel等^[20]用柑橘和含柿子之水发酵42h获得的水开菲尔同样都具有良好的颜色特性及感官品质,在发酵后pH值、白利糖度和固形物含量没有显著差异。柑橘水开菲尔的果糖、麦芽糖和乙酸含量明显高于柿子水开菲尔;另外柿子水开菲尔的总酚含量是柑橘的两倍。尽管大多以水果为底物的水开菲尔具有良好的品质,但在改善风味方面还需要进一步研究以优化其感官特性。

水开菲尔在发酵单一物质时可提高产品的品质及质量,同时在发酵混合底物方面同样对产品起到极大的改善。以蔬菜汁^[21](胡萝卜、茴香、甜瓜、洋葱、番茄和草莓汁)作为发酵底物,用水开菲尔中的微生物进行反向倾斜发酵技术表明,乳酸菌和酵母菌在供试基质中均能生长,甜瓜汁中的微生物计数最高,几乎所有果汁都经过了乳酸和酒精发酵。发酵后,可溶性固形物含量降低,抗氧化活性提高,挥发性化合物数量增加,如己酸和辛酸。酯的浓度在茴香、甜瓜、草莓和番茄水开菲尔饮料中增加,主要是己酸乙酯、辛酸酯和癸酸酯。南瓜以其健康和营养益处而闻名,Koh等^[22]将南瓜泥在32℃下用水开菲尔颗粒发酵24h制成不含酒精的饮料,总体可接受水平较高,且乳酸菌、醋酸菌和酵母细胞的活性较好。为开发低热量、水果基质的水开菲尔饮料。Ferhat等^[16]使用山茱萸樱桃汁、山楂汁、红李汁、玫瑰汁和石榴汁为底物,确定所有饮料在发酵结束时的pH值为3.45~3.97。储藏期间玫瑰果和石榴饮料的总酚类化合物和DPPH自由基清除活性最高且玫瑰果饮料中乳酸菌属和乳球菌属计数最高。另外,Walter等^[3]将6种地中海果汁(苹果、木瓜、葡萄、猕猴桃、仙人掌和石榴)经水开菲尔发酵后可溶性固体含量普遍下降,挥发性有机化合物数量增加。猕猴桃汁和石榴汁具有较高的抗氧化活性,葡萄、石榴和木瓜中酯类化合物的含量较高。乳酸菌在水开菲尔中作为优势菌群,能够赋予发酵底物全新储存性能和营养价值。刘芸等^[23]利用从水开菲尔中分离的红条液体乳杆菌FJAT-54887(*Liquorilactobacillus satsumensis* FJAT-54887)和类干酪乳酪杆菌坚韧亚种FJAT-54886(*Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *tolerans* FJAT-54886)来发酵荔枝,研究中发现FJAT-54886在发酵过程中可产气,使饮品挥发更多的荔枝香气。随着发酵时间延长,酸度和酒精含量较低,为了效果最佳发酵得到的水开菲尔饮料应尽快食用。尹琳琳等^[24]探究水开菲尔颗粒发酵草莓汁在4℃下28d内可保持较高的稳定性。另有学者^[25]用红火龙果和苹

果果肉作为底物来研究水开菲尔饮料保质期,将饮料在 7℃下储存 28 d 发现储存越久生物活性越低,尽管苹果果肉的添加增强了红火龙果发酵饮料的生物活性,但所得到的新型发酵饮料也应尽快食用。

2.2 谷物发酵

谷物中含有丰富的营养物质,如蛋白质、碳水化合物、可溶性膳食纤维、氨基酸、微量元素、抗氧化物质和植物营养素等,经过乳酸菌、酵母菌等益生菌发酵后,既有营养价值又具有益生功效。

大麦是重要的谷类作物,能够被用于酿造和麦芽生产。Wen 等^[26]用水开菲尔发酵麦芽汁生产出一种新型的低醇或无醇的饮料,在发酵过程中增加了麦芽汁的总黄酮含量,为健康发酵饮料开发提供了参考价值。水开菲尔作为发酵食品中常见的菌群混合物,通过发酵可以将复杂的分子分解成更小,更易消化的颗粒,从而提高植物蛋白的消化率。Mohammad 等^[27]对藜麦浓缩蛋白进行水开菲尔自然发酵研究,由于其颗粒中存在的微生物及天然酶使整个发酵过程中丁香酸、芥子酸、没食子酸、儿茶素、槲皮素、咖啡酸和芦丁等酚类化合物浓度都有所增加,通过发酵来提高藜麦浓缩蛋白的蛋白质质量及改变非营养性化合物水平。水开菲尔颗粒发酵有助于市场上植物蛋白食品的多元化选择。此外,用豆浆和黑豆奶也是生产开菲尔的良好替代基质。Lim 等^[28]验证了水开菲尔颗粒与豆浆或黑豆奶一起发酵的可能性,在 20℃下生产出的水开菲尔酸奶具有更好的技术性能。同样,水开菲尔颗粒与大豆乳清也能转化为一种新型功能性饮料,发酵后抗氧化能力明显增强,显著改善了异黄酮元并产生新的香气活性挥发物^[29]。这意味着水开菲尔在发酵谷物方面具有可观的应用价值。

2.3 茶类发酵

茶中含有维生素和矿物质,发酵茶饮料是以茶叶为基质。红茶中发现的酚类化合物^[30]具有强大的抗氧化、抗炎、抗微生物、抗肿瘤和抗衰老作用。利用茶中的营养物质将益生元来源与益生菌微生物相结合利于食品工业中新饮料的开发。Ayca 等^[31]在冷热浸泡法制备的红茶中加入葡萄汁来制备冰茶后使用水开菲尔粒发酵,生产出具有不同风味的功能性冰红茶,含有一定的益生菌并具有良好的感官品质,发酵后以冰茶为基础的水开菲尔饮料具有较高的抗氧化活性,用热浸泡法制成的水开菲尔冰茶饮料中含糖量较少、酚类物质更多,具有更好的可接受性。另外,康普茶与水开菲尔微生物组中细菌和酵母的共生能力突出了手工

共培养物的有用性^[32],发酵新配制的培养基能够增加发酵产物后生元组成的可能性,获得更高生物活性的发酵产物确保菌株的稳定性。

2.4 其他发酵底物

研究表明,水开菲尔除了可用于生产具有益生功能的新饮料之外,还能够提高产品的附加值,减少环境污染。如采用水开菲尔发酵香蕉皮^[33],发酵后香气有明显的增强,类似于果醋。野樱莓^[34]果渣在发酵后保留着大量的酚类化合物,被认为是膳食抗氧化剂的新颖来源。野樱莓果渣在水开菲尔生产中具有应用潜力,能够使其副产品得到有效应用。另外,在微藻生物质中含有丰富的营养物质,能够被用作人类食品补充剂。有研究人员使用螺旋藻替代常用的碳水化合物发酵水开菲尔来增加最终产品的营养价值^[35]。棕榈汁中含有细菌和酵母菌生长所需的营养物质而被知晓,其中蔗糖含量在 10%~12%,另有有机酸、矿物质、维生素(B、C)、可溶性蛋白质、氨基酸、酰胺类、酚类化合物和类黄酮。Oumarou 等^[36]利用棕榈产生的新鲜汁液为原料,用水开菲尔颗粒作为发酵剂生产益生菌饮料,为有特殊需求的人提供了食用益生菌产品的替代品。

3 水开菲尔发酵物功能活性的研究

由于开菲尔含有多种益生菌,在其开发应用中能获得新的益生菌及多功能性产物,可促进结肠中细菌数量的增加及血糖含量控制,同时降低血液胆固醇和平衡肠道微生物群,以及改善骨骼健康、提高免疫功能和抗癌等方面具有良好的功能活性。

需要强调的是,益生菌不能治愈疾病,但可以延长缓解期,提高患者的生活质量。表 1 描述了关于水开菲尔对人类健康调节作用的新信息。

3.1 调节肠道菌群

人体肠道中的微生物在影响人类健康方面发挥着关键作用,各种肠道和慢性疾病与肠道微生物的结构紊乱有关^[46]。水开菲尔能够通过产生短链脂肪酸的细菌定植来增加肠道微生物群的多样性^[47],并能使细菌病原体的细胞膜不稳定、细胞裂解、核酸降解、抑制蛋白质合成以及酵母的结合^[48]。胃痛、腹胀和排便习惯改变是肠易激综合症的主要表现,肠道微生物群被认为是其症状产生的重要因素,并且与脑肠轴之间存在相互作用。益生菌作为“活的微生物”,在量足够时能够改善肠道健康和整体免疫力。Çağlar 等^[49]评估水开菲尔对肠易激综合症疾病的控制,经水开菲尔喂

食后雌性大鼠的白细胞、淋巴细胞、单核细胞计数和降钙素原水平较低，并且在治疗后 TNF- α 、NF- κ B 表达和组织病理学结果显著降低。水开菲尔能够与肠道微环境发挥正向调节来诱导有益短链脂肪酸的产生，减少蛋白质和氮代谢的副产物。产脲酶的细菌和谷氨酰胺酶阳性细菌会介导肠内氨的产生，使有害蛋白减少。另外，水开菲尔中含有丰富的双歧杆菌属能够减少过敏或炎症性肠病等不良症状^[50]，该菌属属于人类肠道的早期定植者因其参与肠道中 B 族维生素和维生素 K 的合成而广为人知。总之，摄入水开菲尔对肠易激综合症及肠道其他不良症状具有预防作用，在饮食中加入水开菲尔以改善微生物群的产生和健康的肠道方面具有潜在的应用。

表 1 水开菲尔的功能活性			
Table 1 Functional activity of different Kefir species			
研究对象	功能活性	作用	参考文献
水开菲尔饮料	降血脂	改善肾脏组织的脂质状况和氧化应激，丙二醛水平的降低和超氧化物歧化酶活性的增加。	[37]
水开菲尔生物转化的大豆乳清饮料	抗氧化活性	较高的血管紧张素转换酶（ACE）抑制活性和 DPPH 自由基清除活性。	[38]
水开菲尔	胃保护	促进了对 HCl 或乙醇诱导的溃疡的胃保护，水开菲尔减少了蛋白质氧化，同时增加了超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性。	[39]
大豆胚芽相关的水开菲尔	抗焦虑、抗抑郁	水开菲尔治疗后，斑马鱼在胃消化阶段异黄酮含量的释放增加，肠道和结肠阶段的释放减少。	[40]
水开菲尔颗粒	抗癌	通过癌细胞凋亡抑制体外和体内肿瘤增殖，通过刺激辅助性 T 细胞和细胞毒性 T 细胞进行免疫调节，以及抗炎、抗转移和抗血管生成作用。	[41]
水开菲尔颗粒	抗菌	水开菲尔分离株超越或排除肠道病原体附着在 Caco-2 细胞上的能力并显示出对肠道病原体的抗菌活性。	[42]
水开菲尔颗粒	抗菌	处理后的青贮高粱籽粒中黄曲霉的生长以及黄曲霉毒素的伴随污染受到抑制。	[43]
马来西亚水开菲尔颗粒	降血糖	从马来西亚水开菲尔中分离的副干酪乳杆菌治疗调节了糖尿病小鼠中与葡萄糖稳态和脂质代谢相关的几个基因的表达。	[44]
水开菲尔颗粒	神经保护	水开菲尔保护分化的神经元细胞膜和内部结构完整性；免受氧化损伤并对细胞质和细胞骨架包涵体提供了更大的保护；能够保护神经元免于因氧化应激而退化。	[45]

3.2 降胆固醇

高胆固醇血症和膳食胆固醇浓度升高都与心血管疾病有关。减少肠道对膳食和胆固醇的吸收可以降低血浆胆固醇浓度。Rocha 等^[51]将水开菲尔颗粒和乳开菲尔分别在大鼠的营养方面进行了生理生化比较，研究表明两种颗粒都具有较相似的益生作用，但是水开菲尔喂养组在改善血脂状况方面效果更好且总胆固醇和低密度脂蛋白值较低，主要由于乳开菲尔本身可能含有较高的脂肪水平。据了解，马克斯克鲁维酵母^[52](*Kluyveromyces marxianus*) 菌株能够提高胆汁盐水解酶（BSH）活性，这与胆固醇降低的速度成正比。

3.3 抗癌作用

乳腺癌是女性最常见的癌症类型，其死亡原因大多是癌细胞扩散到身体其他部位所造成的。先前有研究证明经常食用益生菌在治疗结肠癌中最常见^[53]。例如，西藏开菲尔发酵乳^[54]对抑郁性结直肠癌具有抑制作用。王旭凤等^[55]在研究中发现水开菲尔发酵红甜菜汁能够抑制乳腺癌 MCF-7 增生，主要通过增加细胞内活性氧产生，使细胞周期停滞在 DNA 合成前期（G1 期），因难以进入细胞分裂期而增加其中晚期凋亡率；对肝癌 HepG2 细胞的生长抑制作用主要通过增加细胞内活性氧产生量，同样使细胞周期停滞在 G1 期，促进早期细胞凋亡。因此，开菲尔益生菌在开发精神益生菌产品和丰富患者膳食补充剂方面有良好发展空间。

3.4 抗氧化

抗氧化防御能力已被越来越多的人认为是导致衰老的原因。同时，它也被认为是阿尔茨海默症、帕金森病和肌萎缩侧索硬化症的核心病理因素。人体的抗氧化物质有自身合成的，也有由食物供给的。乳酸菌属通过酶水解来代替类黄酮和酚类化合物并作为发酵的最终产物。近年来，许多研究表明具有抗氧化潜力的水开菲尔可以预防与氧化应激相关的疾病。Brasil 等^[56]在研究中证明水开菲尔能够通过抗氧化特性来提高胃保护能力，改善蛋白质氧化、超氧化物歧化酶和过氧化氢活性水平。另外，水开菲尔在其他器官中也具有抗氧化活性，Kumar 等^[57]用测定法检查水开菲尔处理的 BALB/c 小鼠肝脏、肾脏、脾脏和脑的抗氧化活性，发现治疗后所有器官的 SOD 水平均高于对照组，并且样本中 NO 水平显著降低，结果表明食用水开菲尔能够有效提高机体的抗氧化能力，降低宿主氧化损伤和慢性疾病的发生频率。

3.5 降血糖

糖尿病是一种主要的慢性疾病，它的流行率在

界范围内呈上升趋势。目前抗糖尿病研究的一个主要重点就是开发安全且无副作用的抗高血糖药物。发酵食品中存在的微生物及其成分已被描述为具有“降血糖”作用。对于需要控制血糖水平的糖尿病患者来说,水开菲尔可能是一种有用且健康的食物选择。有学者在动物模型中研究水开菲尔的抗糖尿病和抗血脂的特性,经过5周观察,水开菲尔不仅对降血糖有益,而且对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠的体质量和血脂水平也显示出有益的影响。Koh等^[58]在水开菲尔中分离到的马里乳杆菌(*Lactobacillus mali* K8)能够产生生物活性成分来抑制体外 α -葡萄糖苷酶的活性,从而有益于血糖的调节。水开菲尔被发现是廉价的产品,即使在短时间内食用,也具有降血糖和降血脂作用。因此,对于需要控制血糖水平的糖尿病患者来说,水开菲尔可能是一种有用的功能性食物选择,并能降低患心血管疾病的风险。

3.6 抗菌、消炎作用

炎症是机体对于刺激的一种防御反应,主要由一些病原菌引起,例如金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)。病原微生物在体内蔓延扩散时,常出现明显的全身性反应。开菲尔的抗菌特性可抑制病原微生物的增殖,其提取物中多糖的抗炎特性影响伤口愈合过程。Kamila等^[4]利用水肿的鼠爪和乙醇诱导的胃溃疡模型评估水开菲尔啤酒的抗炎和抗溃疡活性,水开菲尔啤酒显著减少了卡拉胶诱导的爪子水肿,并且比对照组啤酒更有效的抑制了组胺诱导的水肿。用开菲尔啤酒和开菲尔本身治疗的组相比,开菲尔与啤酒具有协同作用对大鼠的伤口面积显示出更好的抗溃疡效果,与单独使用益生菌成分相比,它显示出更强的抗炎症和胃溃疡的功能特性。乳酸杆菌、双歧杆菌和酵母菌的益生菌物种能够潜在保护宿主免受肠道病原体引起的传染病和预防肠道疾病。志贺杆菌属为一种肠道革兰氏阴性菌,可引起人类痢疾综合症。Emiliano等^[59]对水开菲尔中分离的乳酸菌和酵母菌两种微生物混合物进行测试,来对抗培养物中志贺氏菌Hep-2(*Shigella* Hep-2)细胞的侵袭,在测定的菌株中,植物乳杆菌菌株CIDCA 83114(*Lactiplantibacillus plantarum* CIDCA 83114)对入侵的抑制作用最为显著,细胞壁和完整的细菌细胞都表现出对细胞单层的等效保护。为某些开菲尔菌株对志贺氏菌治病物种的潜在抑制特性提供了证据,以此为机体达到抗菌的作用。

4 水开菲尔颗粒和发酵产品中微生物的多样性

有研究人员指出,在水开菲尔颗粒中大多数是乳酸菌,约占整个微生物群落的53%^[60],酵母菌群约占整个微生物群落的47%^[61]。一些乳酸菌不仅能够产生乳酸,而且能够将其用作发酵的底物^[62]。一般而言,乳酸菌主要负责分解葡萄糖和果糖。当部分糖类被分解时,它们还会产生胞外多糖,如 α -葡聚糖和果聚糖^[16],因此细菌多样性往往比真菌多样性更常被检测到,这也是细菌多样性比真菌多样性更丰富的原因之一。微生物多样性会根据所使用的培养基和发酵时间而变化^[63](表2)。在细菌多样性中厚壁菌门和变形菌门常作为优势物种。酿酒酵母常作为优势真菌物种。Maria等^[64]使用16S rRNA宏基因组学分析水开菲尔的细菌多样性指出水开菲尔饮料和颗粒的微生物群落组成中存在差异,且饮料中可能会显示出更高水平的微生物多样性,饮料中的主要细菌是厌氧菌和罗尔斯顿菌,而在谷物中,甘草乳酸菌占主导优势,明串珠菌和软球菌的含量较低。

相对于传统的奶开菲尔发酵,水开菲尔具有相似的微生物关联,尤其是在乳酸菌和酵母菌中,例如乳酸菌、明串珠菌(*Leuconostoc*)、克鲁维酵母菌(*Kluyveromyces*)、毕赤酵母(*Pichia pastoris*)等酵母菌^[65]。也有研究人员表明,水开菲尔颗粒典型微生物包括副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)、纳格利乳杆菌(*Lactobacillus nagelii*)、希氏乳杆菌(*Lactobacillus hilgardii*)和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)^[66-68]。在开菲尔颗粒中还检测到属于哈萨克斯坦酵母(*Kazachstania*)、念珠菌(*Candida*)、伊萨酵母(*Issatchenkia*)和藻属(*Rhodotorula*)的其他酵母物种^[69]。据报道,在所有关于水开菲尔酵母菌群的研究中都检测到酿酒酵母^[70],主要与一些有益作用有关,例如抑制志贺氏菌(*Shigella*)的生长和艰难梭菌(*Clostridium difficile*)毒素的细胞毒性^[71]。Oktay等^[6]根据选择的特异性引物得到的宏基因组组成结果,确定水开菲尔颗粒中的优势菌种为瘤胃乳杆菌(*Lactobacillus ruminis*)和甲酸芽孢杆菌(*Bacillus methanolicus*),最常见的菌种为乳球菌(*Lactococcus lactis*)和屎肠球菌(*Enterococcus faecium*),苦瓜酵母是优势酵母菌种,酿酒酵母菌属、光滑念珠菌属和副多型酵母菌属是所有开菲尔酵母菌中常见的。

伴随着乳酸和乙酸的产生,水开菲尔的pH值通常低于pH值4.5,酸性环境还可以保护饮料免受不良微生物的破坏并抑制病原微生物的生长^[72,73]。在水

开菲尔中发现的微生物已被证明是非致病性的并对腐败和致病细菌具有抑制作用，例如沙门氏菌属，志贺氏菌属、大肠杆菌（*Escherichia coli*）、鼠伤寒沙门氏菌（*Salmonella typhimurium*）和金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）^[74,75]，还被证明能够抑制丝状真菌。除了常见的菌群之外，乙酸细菌在水开菲尔中通过氧化将乙醇转化为乙酸。然而，各种不同的物种微生物在饮料的酿造过程中存在共生关系^[76]，并且通过分享它们的生物产物作为能量来源或生长刺激因子而存活和繁殖。酵母为水开菲尔主要的乳酸杆菌提供必需的营养物质，乳酸杆菌在共培养物中触发酵母来

释放必需的营养物质^[13]。

由于乳酸菌是最常用的发酵剂之一，在发酵过程中能有效调节脂质代谢、蛋白质和碳水化合物的分解，生成肽等小分子，改善产品品质和风味，延长产品的保质期^[77,78]。酵母参与发酵也利于产品独特风味的形成^[79]，酿酒酵母可以产生高水平的乙酯和乙酸酯，这可以赋予发酵产品浓郁的苹果香气^[80]，这也在水开菲尔发酵饮料中发挥了重要的作用。甘草醇溶乳酸杆菌（*Liquorilactobacillus*）能够分泌葡聚糖样EPS，具有潜在的益生元特性^[10]。因此，水开菲尔发酵饮料中的微生物各不相同其特性也存在差异。

表 2 水开菲尔的微生物多样性

Table 2 Microbial diversity in water Kefir

底物	时间/h	细菌	优势细菌	真菌	优势真菌	文献
麦芽汁	48	氧化葡萄糖酸杆菌（ <i>Oxidized gluconobacter</i> ）、甘草乳杆菌（ <i>Lactobacillus licorice</i> ）、波斯醋杆菌（ <i>Acetobacter persian</i> ）、醋酸杆菌（ <i>Acetic acid</i> ）	氧化葡萄糖酸杆菌（ <i>Oxidized gluconobacter</i> ）	酿酒酵母（ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ）、勃氏布雷塔酵母（ <i>Bretton's yeast</i> ）	酿酒酵母（ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ）	[26]
葡萄干、柠檬		鞘氨醇单胞菌（ <i>Sphingomonas</i> ）、罗尔斯通氏菌（ <i>Rawlstonia</i> ）				[64]
无花果提取物	30	运动发酵单胞菌（ <i>Zymomonas mobilis</i> ）、双歧杆菌（ <i>Bifidobacterium</i> ）、大叶甘草乳杆菌（ <i>Liquorilactobacillus hordei</i> ）、萨苏氏白乳杆菌（ <i>Liquorilactobacillus satsumensis</i> ）、纳氏白兰克杆菌（ <i>Liquorilactobacillus nagelii</i> ）、瑞士明串珠菌（ <i>Leuconostoc suionicum</i> ）、扁豆乳杆菌（ <i>Lentilactobacillus hilgardii</i> ）、瑞士乳杆菌（ <i>L. suionicum</i> ）、副干酪乳杆菌（ <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> ）、植物乳杆菌（ <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> ）和萨苏门斯乳杆菌（ <i>L. satsumensis</i> ）	运动发酵单胞菌（ <i>Zymomonas mobilis</i> ）	酒香酵母（ <i>Brettanomyces bruxellensis</i> ）、酿酒酵母（ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ）、戴尔有孢圆酵母（ <i>Torulaspora delbrueckii</i> ）、真贝氏酵母（ <i>Saccharomyces eubayanus</i> ）	酒香酵母（ <i>Brettanomyces bruxellensis</i> ）	[81]
干椰子、椰子糖、菊粉	72	木葡糖醋酸杆菌（ <i>Gluconobacter morbifer</i> ）、弗氏葡糖杆菌（ <i>Gluconobacter frateurii</i> ）、木葡糖醋酸醋杆菌（ <i>gluconobacter cerinus</i> ）、肠膜明串珠菌（ <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ）、乌瓦氏乳杆菌（ <i>Lactobacillus uvarum</i> ）、马里乳杆菌（ <i>Lactobacillus mali</i> ）	乌瓦氏乳杆菌（ <i>Lactobacillus uvarum</i> ）、马里乳杆菌（ <i>Lactobacillus mali</i> ）、发酵毕赤酵母（ <i>Pichia fermentans</i> ）	埃切假丝酵母（ <i>Candida etchellsii</i> ）、酿酒酵母（ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ）	酿酒酵母（ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ）、发酵毕赤酵母（ <i>Pichia fermentans</i> ）	[82]
椰子水开菲尔发酵面团和水开菲尔发酵椰子水	96	乳杆菌属（ <i>Lactobacillus</i> ）、醋酸杆菌（ <i>Acetobacterium Balch</i> ）	乳杆菌属（ <i>Lactobacillus</i> ）	酿酒酵母（ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ）、膜毕赤酵母（ <i>Pichia membranifaciens</i> ）、	酿酒酵母（ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ）	[38]
洋葱、芹菜和番茄	120	欧文氏菌属（ <i>Erwinia</i> ）、拉氏菌属（ <i>Larcoella spp</i> ）、假单胞菌属（ <i>Pseudomonas</i> ）、不动杆菌属（ <i>Latin Name Acinetobacter sp</i> ）、乳酸菌属（ <i>Lactobacillus</i> ）和肠杆菌属（ <i>Enterobacter</i> ）、假单胞菌（ <i>Pseudomonas adaceae</i> ）	乳酸菌属（ <i>Lactobacillus</i> ）			[83]
可可果肉	48/72	开菲尔乳杆菌（ <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> ）、植物乳杆菌（ <i>Lactobacillus plantarum</i> ）、发酵乳杆菌（ <i>Lactobacillus fermentum</i> ）、开菲尔乳杆菌（ <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> ）、哈萨克斯坦菌（ <i>Kazachstania unisporaO</i> ）	开菲尔乳杆菌（ <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> ）、开菲尔乳杆菌（ <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> ）	马克斯克鲁维酵母（ <i>Khyveromyces marxianus</i> ）、酿酒酵母（ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ）、单孢哈萨克斯坦酵母（ <i>Kazachstania unispora</i> ）	酿酒酵母（ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ）	[19]

5 结论与展望

我国对于开菲尔的研究大约从 20 世纪 90 年代开始,主要着重于研究其成分、菌相和功效。国外对于开菲尔的研究可以追溯到 19 世纪末。国内外对开菲尔已进行一个多世纪的研究与探索,在其健康特性方面有着悠久的历史,但是在研究水开菲尔方面还存在较大差距,主要在其发酵剂、功能、作用机制和活性物质等方面研究仍停留在较浅的层次,生产方面面临发酵不稳定、颗粒生长缓慢、污染物及环境条件的不适宜。解决这些问题需要严格控制发酵条件,正确处理和储存颗粒,严格遵守质量安全标准^[84]。记录表明,近年来在水开菲尔上发表的研究文章数量有所增加,但仍有许多技术方面不在已发表的科学文献中。例如,生产水开菲尔的最佳生产参数,不同的生产方法对潜在健康益处的影响。水开菲尔可以在家庭中生产,但是工业生产水开菲尔仍然存在许多知识空白,这仍然是一个传统和经验的过程。对于微生物与产品质量之间的详细关系以及在扩大工艺规模时,人们对统一产品的生产技术和功能方面了解得不够。而且,水开菲尔生物学和化学都很复杂,它们需要对受控工艺条件下的所有方面进行全面分析,对整个生产过程做到更精确的理解,实现标准化也是亟待解决的问题。另外,还需要进一步研究水开菲尔不同颗粒中存在的微生物成分以及生物体的独特结构、营养需求和发酵产品,加强微生物和功能属性的稳定性,确保营养成分的实现及更优的感官质量。

但是,随着“绿色消费主义”概念的渗入,消费者更多的去追求产品的品质及效果,多元化产品的开发推动着发酵技术和行业的不断发展。水开菲尔作为益生菌产品具有巨大的发展潜力,从水开菲尔的发酵种类来看,发酵类型不断满足人类对健康食品多元化需求,提高了发酵底物原有的营养价值和功能特性。而且,在功能活性方面也具有较大的发展潜力,能够用于防治疾病和健康保健^[85],药用潜力也是无限的,可以用其丰富的益生菌群研制具有治疗功效的药品,促进水开菲尔在医学领域的进一步研究。

参考文献

- [1] 高莞超,肖爱波,王成,等.水开菲尔和水开菲尔粒细菌多样性分析及乳酸菌分离鉴定[J].粮油食品科技,2022,30(1):182-189.
- [2] 张瑞,刘敬科,常世敏,等.谷物饮料的研究进展[J].食品科技,2023,48(8):152-158.
- [3] RANDAZZO W, CORONA O, GUARCELLO R, et al. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms [J]. Food

Microbiology, 2016, 54: 40-51.

- [4] RODRIGUES K L, ARAÚJO T H, SCHNEEDORF J M, et al. A novel beer fermented by kefir enhances anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities found isolated in its constituents [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 21: 58-69.
- [5] TOGHYANI M, MOSAVI S K, MODARESI M, et al. Evaluation of kefir as a potential probiotic on growth performance, serum biochemistry and immune responses in broiler chicks [J]. Animal Nutrition, 2015, 1(4): 305-309.
- [6] YERLIKAYA O, AKAN E, KINIK Ö. The metagenomic composition of water kefir microbiota [J]. International Journal of Gastronomy and Food Science, 2022, 30: 100621.
- [7] DONG J, LIU B, JIANG T M, et al. The biofilm hypothesis: The formation mechanism of Tibetan kefir grains [J]. International Journal of Dairy Technology, 2018, 71: 44-50.
- [8] LIOU H-C, SABBA F, WANG Z, et al. Layered viscoelastic properties of granular biofilms [J]. Water Research, 2021, 202: 117394.
- [9] FELLS L, JAKOB F, VOGEL R F, et al. Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 189: 296-303.
- [10] TAN L L, NGIAM J J, SIM E S Z, et al. *Liquorilactobacillus satsumensis* from water kefir yields α -glucan polysaccharides with prebiotic and synbiotic qualities [J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 290: 119515.
- [11] WANG X, ZHANG X, WANG Y, et al. Yeast cell wall polysaccharides in Tibetan kefir grains are key substances promoting the formation of bacterial biofilm [J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 300: 120247.
- [12] CHEN Z, LIU T, YE T, et al. Effect of lactic acid bacteria and yeasts on the structure and fermentation properties of Tibetan kefir grains [J]. International Dairy Journal, 2021, 114: 104943.
- [13] STADIE J, GULITZ A, EHRMANN M A, et al. Metabolic activity and symbiotic interactions of lactic acid bacteria and yeasts isolated from water kefir [J]. Food Microbiology, 2013, 35(2): 92-8.
- [14] KOLEV P, ROCHA-MENDOZA D, RUIZ-RAMÍREZ S, et al. Screening and characterization of β -galactosidase activity in lactic acid bacteria for the valorization of acid whey [J]. JDS Communications, 2022, 3(1): 1-6.
- [15] VARSHA K K, DEVENDRA L, SHILPA G, et al. 2,4-Di-tert-butyl phenol as the antifungal, antioxidant bioactive purified from a newly isolated *Lactococcus* sp [J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 211: 44-50.
- [16] OZCELIK F, AKAN E, KINIK O. Use of Cornelian cherry, hawthorn, red plum, roship and pomegranate juices in the production of water kefir beverages [J]. Food Bioscience, 2021, 42: 101219.
- [17] DARVISHZADEH P, ORSAT V, MARTINEZ J L. Process optimization for development of a novel water kefir drink with high antioxidant activity and potential probiotic properties from russian olive fruit (*Elaeagnus angustifolia*) [J]. Food and Bioprocess Technology, 2021, 14(2): 248-260.
- [18] HAMPTON J, TANG C, SUBHASH A J, et al. Assessment of pear juice and puree as a fermentation matrix for water kefir [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2021, 45(3): 15223.
- [19] PUERARI C, MAGALHÃES K T, SCHWAN R F. New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis [J]. Food Research International, 2012, 48(2): 634-40.
- [20] GÜZEL-SEYDİM Z, SATIR G, GÖKIRMAKLI C. Use of mandarin

- and persimmon fruits in water kefir fermentation [J]. Food Science and Nutrition, 2023, 11(10): 5890-5897.
- [21] CORONA O, RANDAZZO W, MICELI A, et al. Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 66: 572-581.
- [22] KOH W Y, UTRA U, ROSMA A, et al. Development of a novel fermented pumpkin-based beverage inoculated with water kefir grains: a response surface methodology approach [J]. Food Science and Biotechnology, 2018, 27(2): 525-535.
- [23] 刘芸,曹宜,阮传清.水开菲尔粒中乳酸菌的分离及其发酵荔枝汁的特性分析[J].福建农业科技,2023,54(2):13-21.
- [24] 尹琳琳,陈志娜,孙瑞雪,等.水开菲尔粒发酵草莓汁在冷藏期间品质稳定性分析[J].食品工业科技,2025,46(2):301-307.
- [25] BUENO R S, RESSUTTE J B, HATA N N Y, et al. Quality and shelf life assessment of a new beverage produced from water kefir grains and red pitaya [J]. LWT, 2021, 140: 110770.
- [26] WEN S, DONG N, ZHANG Y, et al. Metabolic profiling of wort fermented with water kefir grains and its effect on wort quality [J]. Food Bioscience, 2024, 59: 104181.
- [27] ALROSAN M, TAN T-C, EASA A M, et al. Evaluation of quality and protein structure of natural water kefir-fermented quinoa protein concentrates [J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134614.
- [28] LIMBAD M, MADDOX N G, HAMID N, et al. Identification of the microbiota in coconut water, kefir, coconut water kefir and coconut water kefir-fermented sourdough using culture-dependent techniques and illumina-miseq sequencing [J]. Microorganisms, 2024, 12(5): 919.
- [29] TU C, AZI F, HUANG J, et al. Quality and metagenomic evaluation of a novel functional beverage produced from soy whey using water kefir grains [J]. LWT, 2019, 113: 108258.
- [30] LIU Z, VINCKEN J-P, DE BRUIJN W J C. Tea phenolics as prebiotics [J]. Trends in Food Science and Technology, 2022, 127: 156-68.
- [31] GÜLHAN A. Use of ice teas formulated with black teas prepared with different infusion methods and grape juice in the production of water kefir beverages [J]. Food and Humanity, 2024, 2: 100219.
- [32] PIHUROV M, PACULARU-BURADA B, COTÂRLET M, et al. Kombucha and water kefir grains microbiomes' symbiotic contribution to postbiotics enhancement [J]. Foods, 2023, 12(13): 14.
- [33] 翟苗苗,欧阳信,李梦茹,等.水开菲尔粒发酵香蕉皮过程中成分变化研究[J].中国酿造,2018,37(7):51-54.
- [34] ESATBEYOGLU T, FISCHER A, LEGLER A D S, et al. Physical, chemical, and sensory properties of water kefir produced from Aronia melanocarpa juice and pomace [J]. Food Chemistry: X, 2023, 18: 100683.
- [35] NASCIMENTO R Q, DEAMICI K M, TAVARES P P L G, et al. Improving water kefir nutritional quality via addition of viable Spirulina biomass [J]. Bioresource Technology Reports, 2022, 17: 100914.
- [36] ZONGO O, CRUVELLIER N, LERAY F, et al. Physicochemical composition and fermentation kinetics of a novel Palm Sap-based Kefir Beverage from the fermentation of *Borassus aethiopum* Mart. fresh sap with kefir grains and ferments [J]. Scientific African, 2020, 10: e00631.
- [37] PRABOWO R, MARIANA S, PRAMANINGTYAS M D. W050 The effect of orange water kefir on malondialdehyde (MDA) level and superoxide dismutase (SOD) activity in the kidney tissue of the hyperlipidemic rats (*Rattus norvegicus*) [J]. Clinica Chimica Acta, 2022, 530: S237-S8.
- [38] AZI F, TU C, MENG L, et al. Metabolite dynamics and phytochemistry of a soy whey-based beverage bio-transformed by water kefir consortium [J]. Food Chemistry, 2021, 342: 128225.
- [39] FALSONI R M P, MORAES F D A, DE REZENDE M S, et al. Pretreatment with water kefir reduces the development of acidified ethanol-induced gastric ulcers [J]. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2022, 58: e191046.
- [40] DE MELO E L, PINTO A M, BAIMA C L B, et al. Evaluation of the *in vitro* release of isoflavones from soybean germ associated with kefir culture in the gastrointestinal tract and anxiolytic and antidepressant actions in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 70: 103986.
- [41] ZAMBERI N R, ABU N, MOHAMED N E, et al. The antimetastatic and antiangiogenesis effects of kefir water on murine breast cancer cells [J]. Integrative Cancer Therapies, 2016, 15(4): NP53-NP66.
- [42] TAN L L, TAN C H, NG N K J, et al. Potential probiotic strains from milk and water kefir grains in singapore-use for defense against enteric bacterial pathogens [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 857720.
- [43] GONDA M, GARMENDIA G, RUFO C, et al. Biocontrol of *Aspergillus flavus* in Ensiled sorghum by water kefir microorganisms [J]. Microorganisms, 2019, 7(8).
- [44] TALIB N, MOHAMAD N E, YEAP S K, et al. Anti-diabetic effect of *Lactobacillus paracasei* isolated from malaysian water kefir grains [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2024, 16: 2161.
- [45] KUMAR M R, YEAP S K, LEE H C, et al. Selected kefir water from malaysia attenuates hydrogen peroxide-induced oxidative stress by upregulating endogenous antioxidant levels in sh-sy5y neuroblastoma cells [J]. Antioxidants, 2021, 10(6): 940.
- [46] SHREINER A B, KAO J Y, YOUNG V B. The gut microbiome in health and in disease [J]. Current Opinion in Gastroenterology, 2015, 31(1): 69-75.
- [47] COLLADO M C, SURONO I S, MERILUOTO J, et al. Potential probiotic characteristics of lactobacillus and enterococcus strains isolated from traditional dadih fermented milk against pathogen intestinal colonization [J]. Journal of Food Protection, 2007, 70(3): 700-705.
- [48] GUT A M, VASILJEVIC T, YEAGER T, et al. Kefir characteristics and antibacterial properties-potential applications in control of enteric bacterial infection [J]. International Dairy Journal, 2021, 118: 105021.
- [49] GÖKIRMAKLI C, EROL Z, GUN I H, et al. Prophylaxis effects of water kefir on post-infectious irritable bowel syndrome in rat model [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2023, 58(6): 3371-3378.
- [50] CALATAYUD M, BOERNER R A, GHYSELINCK J, et al. Water kefir and derived pasteurized beverages modulate gut microbiota, intestinal permeability and cytokine production *in vitro* [J]. Nutrients, 2021, 13(11).
- [51] ROCHA-GOMES A, ESCOBAR A, SOARES J S, et al. Chemical composition and hypocholesterolemic effect of milk kefir and water kefir in Wistar rats [J]. Revista De Nutricao-Brazilian Journal of Nutrition, 2018, 31(2): 137-145.
- [52] CUI Y, NING M, CHEN H, et al. Microbial diversity associated with Tibetan kefir grains and its protective effects against ethanol-induced oxidative stress in HepG2 cells [J]. Food Bioscience, 2022, 50: 102151.
- [53] DOS REIS S A, DA CONCEIÇÃO L L, SIQUEIRA N P, et al. Review

- of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer [J]. *Nutrition Research*, 2017, 37: 1-19.
- [54] SUN Y, CHANG M, ZHAO H, et al. Metagenome of Tibetan kefir grains and its alleviating effect on dysfunction of gut microbiome and depressive colorectal cancer comorbidity induced by chronic stress and AOM/DSS [J]. *Food Bioscience*, 2024, 59: 104265.
- [55] 王旭凤. 水开菲尔粒发酵红甜菜对红细胞携氧能力及癌细胞 MCF-7、HepG2 的影响[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2024.
- [56] BRASIL G A, MORAES F S A, FALSONI R M P, et al. Pretreatment with water kefir promotes a decrease in ulcer development in an ethanol-acidified ulcer model [J]. *Faseb Journal*, 2019, 33: 760.
- [57] KUMAR M R, YEAP S K, MOHAMAD N E, et al. Metagenomic and phytochemical analyses of kefir water and its subchronic toxicity study in BALB/c mice [J]. *Bmc Complementary Medicine and Therapies*, 2021, 21(1): 3987.
- [58] KOH W Y, UTRA U, AHMAD R, et al. Evaluation of probiotic potential and anti-hyperglycemic properties of a novel *Lactobacillus* strain isolated from water kefir grains [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2018, 27(5): 1369-1376.
- [59] KAKISU E, BOLLA P, ABRAHAM A G, et al. *Lactobacillus plantarum* isolated from kefir: Protection of cultured Hep-2 cells against Shigella invasion [J]. *International Dairy Journal*, 2013, 33(1): 22-26.
- [60] LAUREYS D, DE VUYST L. Microbial species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of water kefir fermentation [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80(8): 2564-2572.
- [61] WANG X, XIAO J, JIA Y, et al. *Lactobacillus kefirifaciens*, the sole dominant and stable bacterial species, exhibits distinct morphotypes upon colonization in Tibetan kefir grains [J]. *Heliyon*, 2018, 4(6): e00649.
- [62] OUDE ELFERINK STEFANIE J W H, KROONEMAN J, GOTTSCHAL JAN C, et al. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(1): 125-132.
- [63] GAMBA R R, YAMAMOTO S, SASAKI T, et al. Microbiological and functional characterization of kefir grown in different sugar solutions [J]. *Food Science and Technology Research*, 2019, 25(2): 303-312.
- [64] RODRÍGUEZ M A, FERNÁNDEZ L A, DÍAZ M L, et al. Bacterial diversity using metagenomics of 16S rDNA in water kefir, an innovative source of probiotics for bee nutrition [J]. *Revista Argentina de Microbiología*, 2024.
- [65] ALRADDADI F A J, ROSS T, POWELL S M. Evaluation of the microbial communities in kefir grains and kefir over time [J]. *International Dairy Journal*, 2023, 136: 105490.
- [66] LAUREYS D, DE VUYST L. The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2017, 122(3): 719-732.
- [67] VARDJAN T, MOHAR LORBEG P, ROGELJ I, et al. Characterization and stability of lactobacilli and yeast microbiota in kefir grains [J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(5): 2729-2736.
- [68] GAROFALO C, OSIMANI A, MILANOVIĆ V, et al. Bacteria and yeast microbiota in milk kefir grains from different Italian regions [J]. *Food Microbiology*, 2015, 49: 123-33.
- [69] DERTLI E, ÇON A H. Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 85: 151-157.
- [70] PENDÓN M D, BENGÓA A A, IRAPORDA C, et al. Water kefir: Factors affecting grain growth and health-promoting properties of the fermented beverage [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 133(1): 162-180.
- [71] BOLLA P A, CARASI P, BOLLA M D L A, et al. Protective effect of a mixture of kefir-isolated lactic acid bacteria and yeasts in a hamster model of *Clostridium difficile* infection [J]. *Anaerobe*, 2013, 21: 28-33.
- [72] LAUREYS D, AERTS M, VANDAMME P, et al. Oxygen and diverse nutrients influence the water kefir fermentation process [J]. *Food Microbiology*, 2018, 73: 351-361.
- [73] VIANA R O, MAGALHÃES-GUEDES K T, BRAGA R A, et al. Fermentation process for production of apple-based kefir vinegar: microbiological, chemical and sensory analysis [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2017, 48(3): 592-601.
- [74] GULITZ A, STADIE J, WENNING M, et al. The microbial diversity of water kefir [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 151(3): 284-288.
- [75] LYNCH K M, WILKINSON S, DAENEN L, et al. An update on water kefir: Microbiology, composition and production [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 345: 109128.
- [76] 闫彬, 贺银凤. 酸马奶中乳酸菌与酵母菌的共生发酵特性[J]. *食品科学*, 2012, 33(7): 131-137.
- [77] HU Y, TIAN Y, ZHU J, et al. Technological characterization and flavor-producing potential of lactic acid bacteria isolated from traditional dry fermented sausages in northeast China [J]. *Food Microbiology*, 2022, 106: 104059.
- [78] ZANG J, XU Y, XIA W, et al. Correlations between microbiota succession and flavor formation during fermentation of Chinese low-salt fermented common carp (*Cyprinus carpio* L.) inoculated with mixed starter cultures [J]. *Food Microbiology*, 2020, 90: 103487.
- [79] KANG H Y, AO X L, TANG Q, et al. Effects of yeast screened from traditional fermented milk on commercial fermented milk as adjunct flavor culture [J]. *Food Bioscience*, 2024, 57: 103551.
- [80] LUO S, DEMARSH T A, DERIANCHO D, et al. Characterization of the fermentation and sensory profiles of novel yeast-fermented acid whey beverages [J]. *Foods*, 2021, 10(6): 1204.
- [81] PATEL S H, TAN J P, BÖRNER R A, et al. A temporal view of the water kefir microbiota and flavour attributes [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2022, 80: 103084.
- [82] ALVES V, SCAPINI T, CAMARGO A F, et al. Development of fermented beverage with water kefir in water-soluble coconut extract (*Cocos nucifera* L.) with inulin addition [J]. *LWT*, 2021, 145: 111364.
- [83] WANG J, FENG Z, YANG Q, et al. The correlation between the succession of microflora and volatile flavor compounds in kefir vegetable juice fermentation [J]. *Food Bioscience*, 2024, 57: 103477.
- [84] MORETTI A F, MOURE M C, QUIÑOY F, et al. Water kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: From ancient and artisanal manufacture to industrialized and regulated commercialization [J]. *Future Foods*, 2022, 5: 100123.
- [85] ZHENG Y, LEE Y, KWEON M, et al. Evaluate and compare the anti-obesity effects of two probiotic preparations in high-fat diet-induced obese mice [J]. *Journal of Functional Foods*, 2024, 116: 106199.