

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja kemiantekniikka, insinööri

2023

Kati Mikkonen

# Vesikefiirijuoman valmistusprosessin kehittäminen

– Lapin Maria Oy



Opinnäytetyö (AMK) | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Bio- ja kemiantekniikka, insinööri

2023 | 55+11 sivua

Kati Mikkonen

## Vesikefiirijuoman valmistusprosessin kehittäminen

- Lapin Maria Oy

Vesikefiirijuoma on Euroopassa nouseva trendijuoma, mutta Suomessa se on tuntemattomampi. Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli löytää toimiva prosessi vesikefiirijuoman valmistamiselle Lapin Maria Oy:lle. Vesikefiiriä haluttiin kehittää, koska sillä nähtiin olevan potentiaalista markkina-arvoa.

Vesikefiiri on fermentoimalla valmistettu juoma, joka sisältää eläviä mikrobeja. Vesikefiiri ei ole yhtä tunnettu ja tutkittu kuin maitokefiiri, ja niillä onkin monia eroavaisuuksia. Työ aloitettiin valitsemalla ehdolla olevista siemenkannoista lupaavin, jonka avulla prosessia lähdettiin rakentamaan. Valmistuksessa testattiin eri sokerilaatuja sekä muita raaka-aineita. Valmistusprosessin ohessa testattiin pullokäymisprosessia sekä tehtiin aistinvaraisia vertailuja kaupallisista sekä valmistetuista kefiireistä.

Tuloksena saatiin sopivat prosessiolosuhteet siementen massan kasvattamiselle sekä mitä raaka-aineita voidaan käyttää vesikefiirijuoman valmistamiseksi ja mitä kannattaa ottaa huomioon pullokäyntiprosessissa. Aistinvaraisten arviointien perusteella vesikefiirillä nähdään olevan hyvinkin potentiaalia markkinoille.

Asiasanat:

vesikefiiri, vesikefiirin siemenet, prosessin kehittäminen

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Biotechnology and Chemical Engineering

2023 | 55+11 pages

Kati Mikkonen

## Development of Manufacturing Process for Water Kefir

- Lapin Maria Oy

Water kefir is an upward trending beverage in Europe but in Finland it is less known. The aim of this thesis was to find a functional process for the company Lapin Maria for production of water kefir. The interest in developing the water kefir process came from seeing potential for success in the Finnish market.

Water kefir is a fermented beverage which contains living microbes. Water kefir is less known and studied than milk kefir, and there are many differences between them. The thesis project was started by choosing the most promising kefir grain strain from two different options and process development was started with the chosen strain. Different sugar grades and other raw materials were tested in the manufacturing process. Besides the manufacturing process, a bottle fermentation process was tested, and sensory analyses between commercial water kefir and manufactured water kefir were made.

As a result, suitable process conditions were determined for increasing the mass of grains. Raw materials for water kefir production were listed, and it was determined which raw materials should be considered in the bottle fermentation process. Based on sensory analyses, water kefir is seen to have great potential for the market.

Keywords:

water kefir, water kefir grains, development of process

# Sisältö

<b>1 Johdanto</b>	<b>8</b>
<b>2 Vesikefiirijuoma</b>	<b>9</b>
2.1 Vesikefiirin historia	10
2.2 Vesikefiirin koostumus	10
2.2.1 Vesikefiirin siementen sisältämät bakteerit sekä hiivat	12
2.2.2 Vesikefiirin siementen kemiallinen rakenne	14
2.3 Terveystyödyt ja markkinointi	15
2.4 Maitokefiirin ja vesikefiirin eroavaisuuksia	15
<b>3 Valmistusprosessi</b>	<b>19</b>
<b>4 Käytännön osuus Turun AMK:lla</b>	<b>21</b>
4.1 Kefiirien pullokäyminen	23
4.2 Mikrobiologinen alustava tunnistus	25
<b>5 Tulokset ja pohdinta</b>	<b>28</b>
5.1 Valmistus eri sokerilaaduilla	28
5.2 Herukanlehtiuutteen käyttö	30
5.3 Pullokäymisprosessi: maustamattomat kefiirit	32
5.3.1 Maustamaton kefiiri juurikassokerilla valmistettuna	33
5.3.2 Maustamaton kefiiri intiaani- ja juurikassokeriseoksella valmistettuna	33
5.4 Herukanlehtiuutteella valmistetut sekä maustetut kefiirit	33
5.4.1 Herukanlehtiuutteella ja juurikassokerilla käyneet kefiirit	34
5.4.2 Herukanlehtiuutteella sekä intiaani- ja valkoisella sokeriseoksella valmistetut kefiirit	36
5.4.3 Juurikassokerilla valmistetut ja herukanlehtiuutteella maustetut kefiirit	37
5.4.4 Herukanlehtiuutteella maustetut, intiaani- ja juurikassokerilla fermentoidut kefiirit	40
5.5 Sitruunamehutiivisteiden käyttö maustamattomassa kefiirissä	43

5.5.1 Sitruunamehutiivisteen käyttö juurikassokerilla valmistetuissa kefiireissä	43
5.5.2 Sitruunamehutiivisteen käyttö intiaani- ja juurikassokerilla valmistetuissa kefiireissä	44
5.6 Aistinvaraiset vertailut kaupalliseen vesikefiiriin	46
5.7 Mikrobiologinen alustava tunnistus	46
<b>6 Loppupäätelmät</b>	<b>50</b>
<b>Lähteet</b>	<b>53</b>

## **Liitteet**

Liite 1. Juurikassokerilla fermentoitujen sekä niistä pullotettujen kefiirien mittaustulokset

Liite 2. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen sekä niistä pullotettujen kefiirien mittaustulokset

Liite 3. Herukanlehtiuutteella ja juurikassokerilla fermentoidut sekä sitruunamehutiivisteellä ja sokerilla maustetut ja niistä pullotettujen kefiirien mittaustulokset

Liite 4. Herukanlehtiuutteella ja intiaani- ja juurikassokerilla fermentoidut sekä sitruunamehutiivisteellä ja sokerilla maustetut ja niistä pullotettujen kefiirien mittaustulokset

Liite 5. Juurikassokerilla fermentoidut ja herukanlehtiuutteella sekä sitruunamehutiivisteellä maustetut ja niistä pullotettujen kefiirien mittaustulokset

Liite 6. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoidut, herukanlehtiuutteella sekä sitruunamehutiivisteellä maustetut ja niistä pullotettujen kefiirien mittaustulokset

Liite 7. Juurikassokerilla fermentoitujen sekä sitruunalla maustettujen kefiirien ja niistä pullotettujen kefiirien mittaustulokset

Liite 8. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen ja sitruunamehutiivisteellä maustettujen ja niistä pullotettujen kefiirien mittaustulokset

Liite 9. Aistinvaraiset arvioinnit

## **Kaavat**

Kaava 1. Laskukaava mikrobikonsentraatiolle	52
---	----

## **Kuvat**

Kuva 1. Vesikefiirin siemenet	11
Kuva 2. Vesikefiirin matriisirakenne (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53)	14
Kuva 3. Teoreettinen vesikefiirin prosessikaavio	19
Kuva 4. Käytännön työskentelyn prosessikaavio	21
Kuva 5. Pullokäymisen prosessikaavio	22
Kuva 6. Laimennossarjojen kaavio	26
Kuva 7. Mikroskopoinnin löytöjä	48

## **Kuviot**

Kuvio 1. Siementen kasvu juurikassokeria käytettäessä	28
Kuvio 2. Siemen kasvu intiaani- & juurikassokeria käytettäessä	29
Kuvio 3. Siementen kasvaminen herukanlehtiutteen & juurikassokerin kanssa	30
Kuvio 4. Siementen kasvu herukanlehtiutteen, intiaani- & juurikassokerin kanssa	31
Kuvio 5 Raaka-aineiden vaikutus kefiirin siementen kasvamiseen	32
Kuvio 6. Hiilidioksidilavuuden ja pH:n korrelaatio	42

## **Taulukot**

Taulukko 1. Perusreseptipohja	21
Taulukko 2. Herukanlehtiutteen käytön vertailu	34
Taulukko 3. Herukanlehtiutteella sekä juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien mittaustulosten vertailua	35

Taulukko 4. Herukanlehtiutteella sekä intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien mittaustulosten vertailua	36
Taulukko 5. Juurikassokerilla fermentoidut ja herukanlehtiutteella maustettujen kefiirien vertailu	38
Taulukko 6. Juurikassokerilla fermentoitujen ja sitruunamehutiivisteiden sekä herukanlehtiutteella maustetuissa kefiirien tuloksia	39
Taulukko 7. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoidut ja herukanlehtiutteella sekä sitruunamehutiivisteellä maustettujen kefiirien vertailua	41
Taulukko 8. Sitruunalla maustettujen kefiirien vertailuja	43
Taulukko 9. Sitruunamehutiivisteiden käyttö intiaani- ja juurikassokerilla valmistuissa kefiireissä	45
Taulukko 10. Kuivakanta 2 maljaviljelyiden tulokset	47
Taulukko 11. Kanta 2 maljaviljelyiden tulokset	47
Taulukko 12. Kanta 1 maljaviljelyiden tulokset	48
Taulukko 13. Maljaviljelyiden pesäkkeiden tulokset testien päätyttyä	49
Taulukko 14. Mittaustulokset juurikassokerilla fermentoidusta kefiiristä	56
Taulukko 15. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien tulokset	57
Taulukko 16. Herukanlehtiutteella ja juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien tulokset	58
Taulukko 17. Herukanlehtiutteella ja intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien tulokset	59
Taulukko 18. Juurikassokerilla fermentoidut ja herukanlehtiutteella maustetut kefiirit	60
Taulukko 19. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoidut ja herukanlehtiutteella maustetut kefiirit	62
Taulukko 20. Juurikassokerilla fermentoidut ja sitruunamehutiivisteellä maustettujen kefiirien tulokset	63
Taulukko 21. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen ja sitruunamehutiivisteellä maustettujen kefiirien tulokset	65
Taulukko 22. Aistinvaraiset arvioinnit valmistetuista sekä kaupallisista kefiireistä	66

# 1 Johdanto

Opinnäytetyön aiheena oli kehittää toimiva valmistusprosessi vesipohjaiselle kefiirijuomalle Lapin Maria Oy:lle. Yritys on perustettu vuonna 2009 ja sen tavoitteena on tuoda suomalaisten arkeen luonnosta saatavia raaka-aineita mahdollisuuksien mukaan luomutuotteiden muodossa. Yrityksen tuotteissa ekologisuus ja hyvinvointi ovat vahvasti esillä. (Lapin Maria Oy). Euroopassa vesikefiiri on tunnetumpaa, mutta Suomessa vesikefiiriä on hyvin vähän saatavilla. Fermentaatio ja sen avulla valmistetut tuotteet ovat nouseva trendi. Vesikefiirillä nähdään olevan mahdollisuutta menestyä Suomen markkinoilla ja se voisi olla terveellisempi vaihtoehto esimerkiksi virvoitusjuomille.

Vesikefiirijuoma on bakteeri- ja hiivaviljelmän sekoituksella hapatettu juoma ja se sisältää eläviä mikro-organismeja. Juoman sisältämien mikro-organismien takia juomalla on potentiaalisia terveysvaikutuksia, mutta joista ei ole tutkittua tietoa. Esitettyjä terveysvaikutuksia ovat muun muassa aineenvaihdunnan parantaminen sekä suoliston bakteerikannan eli mikrobiomin parantaminen. (Lynch ym. 2021; Dolores Pendón ym. 2021, 162-180.)

Tavoitteena oli löytää sopivat prosessiolosuhteet juoman valmistamiselle. Prosessin alussa tehtiin alustavia testejä käytössä oleville siemenkannoille, joiden perusteella valitaan yksi siemenkanta, jolla prosessia lähdetään optimoimaan. Opinnäytetyössä tarkasteltiin sokerien vaikutusta siementen kasvamiseen ja fermentaatioon. Fermentointiprosessin ohella testattiin pullokäymistä ja sen vaikutuksia tuotteeseen. Pullokäymisprosessissa tarkastellaan sitruunamehutiivisteiden ja herukanlehtiuteiden vaikutuksia tuotteen makuun sekä hiilidioksidin muodostumiseen pullokäymisen aikana.

Valmiista tuotteista tehtiin aistinvaraisia arviointeja sekä vertailtiin valmistettua tuotetta kaupallisiin vesikefiireihin. Prosessin alussa ja lopussa tehtiin alustavia mikrobiologisia tunnistuksia kefiirin siemenille.

Mikäli kehitetty prosessi saadaan toimivaksi, saadaan siitä luotua prosessipohja vesikefiirijuoman valmistamiseen Lapin Maria Oy:lle.



## 2 Vesikefiirijuoma

Vesikefiirijuoma on fermentoitu, hiilihapollinen, hapan juoma, joka valmistetaan vesipohjaisesta liuksesta sokerin ja vesikefiirisiementen avulla. Vesikefiiriä voidaan maustaa esimerkiksi tuoreilla tai kuivatuilla hedelmillä. Ympäri maailmaa kotitekoiset vesikefiirijuomat ovat suosittuja ja sen valmistusta on teollistettu Euroopassa, Aasiassa sekä Pohjois-Amerikassa. (Lynch ym. 2021; Dolores Pendón ym. 2021, 162-180.)

Tässä työssä keskityttiin vesikefiirin valmistusprosessiin, joka on kuvattuna tarkemmin luvussa 4.

Tarkkaa historiaa tai alkuperää vesikefiiristä ei ole tiedossa, mutta vesikefiirinsiementen uskotaan rantautuneen Eurooppaan Krimin sodan jälkeen sotilaiden mukana. Vesikefiiri on yleinen tuote esimerkiksi Etelä-Amerikassa, Venäjällä sekä Itä-Euroopassa. (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53.)

Vesikefiirisiementen tärkeimmät mikrobikannat ovat maitohappobakteerit, hiiva- ja etikkahappobakteerit. Vesikefiiri sisältää useita erilaisia probioottisia mikro-organismeja ja on hyvä probioottinen tuote heille, jotka ovat allergisia maitopohjaisille tuotteille tai muuten noudattavat maidotonta ruokavaliota. Vesikefiirien sisältämien mikro-organismien takia sitä nauttimalla voi parantaa yleistä terveyttä sekä immunitettia. Vesikefiireillä voi olla myös muun muassa kolesterolia sekä verensokeria alentava vaikutus ja ne voivat edistää haavojen parantumista. Terveysväitteillä ei ole tutkittua tietoa, minkä vuoksi niitä ei ole sallittua käyttää juomasta. (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53; Lynch ym. 2021.)

Vesikefiirin lisäksi on olemassa myös maitokefiiriä. Molemmat juomat ovat fermentoituja, mutta juomilla on eroja esimerkiksi siementen rakenteissa sekä käytettävissä raaka-aineissa. (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53.)

## 2.1 Vesikefiirin historia

Valmista, fermentoitua juomaa, josta vesikefiirin siemenet on siivilöity pois, kutsutaan vesikefiiriksi. Vesikefiiriä kutsutaan myös sokerikefiirinä.

Vesikefiirirakeet tunnetaan monella eri nimellä, esimerkiksi tibi grains, japanese beer seeds, ginger-beer plant ja australian bees. Kenties ensimmäiset havainnot vesikefiirin siemenistä on esitelty Isossa Britanniassa vuoden 1855 tienoilla, jolloin britannialaiset sotilaat ovat palanneet Krimin sodasta tuoden mukanaan ginger beer-plant nimellä olevia siemeniä, joiden alkuperänä pidetään Kaukasian aluetta. Meksikossa tibi grains -nimellä tunnettujen siemenien on tiedetty olevan peräisin meksikolaisen kaktuksen, *Optunia*, lehdistä. Vesikefiirinsiemeniä on onnistuttu erottamaan toisistaan, joiden alkuperäksi on pystytty toteamaan Meksiko ja Kaukasia. Fermentaatiossa käytettävät siemenet voidaan käyttää uudelleen heti seuraavaan fermentaatioon tai ottamalla osa aiemmasta käymisestä ja laittamalla ne kasvamaan uuteen kasvualustaan. Tämän takia vesikefiirin siemeniä voidaan siirtää tai jakaa sukupolvelta toiselle, sillä perinteisesti vesikefiiriä valmistetaan kotioloissa. Vesikefiirit ovat suosittuja erityisesti Etelä-Amerikassa, Itä-Euroopassa sekä Venäjällä. (Dolores Pendón ym. 2021, 162-180; Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53; Moretti ym. 2022; Gulitz ym. 2011, 284-288.)

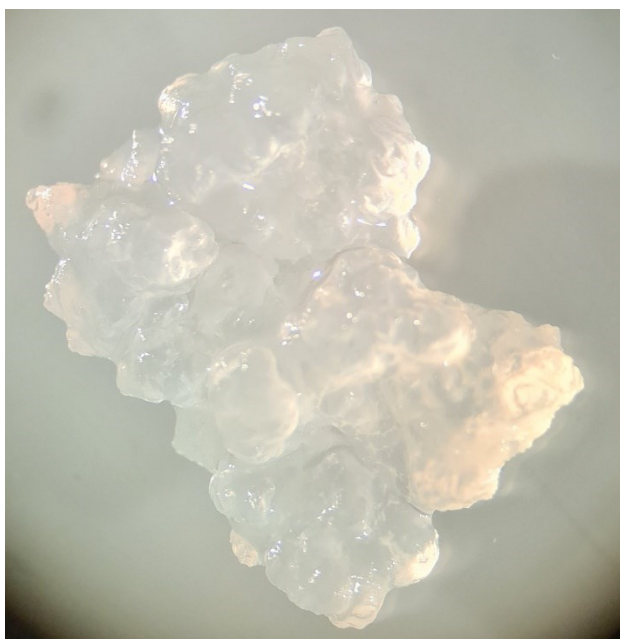
Euroopassa esimerkiksi Belgiassa vesikefiiriä valmistaa teollisesti sekä markkinoi Thylbert Company ja Italiassa vesikefiiriä markkinoi BioNova (Moretti ym. 2022).

## 2.2 Vesikefiirin koostumus

Valmis vesikefiirijuoma sisältää eläviä mikro-organismeja, ihmisen aineenvaihduntaan osallistuvia yhdisteitä sekä fermentoinnista jääneitä sokereita. Mikro-organismit elävät symbioottisesti siemenissä ja osa niistä päätyy prosessissa valmiiseen tuotteeseen. Valmista vesikefiiriä voi maustaa esimerkiksi kuivatuilla hedelmillä tai uutteilla tai maustamisen voi tehdä myös fermentoinnin aikana. Vesikefiirissä on runsaasti maitohappoa, jopa 2 % ja sen

alkoholipitoisuus on alhainen, yleensä vähemmän kuin 1 %, mutta alkoholipitoisuus voi myös olla korkeampi, mikäli prosessissa on käytetty esimerkiksi mansikoita, jotka tuovat lisää sokeria. Vesikefiirin pH on 20 °C:ssa tehdyn 24 tunnin mittaisen fermentaation jälkeen lähellä 4, mutta pH vaihtelee 3,6-5 välillä, johon vaikuttavat juoman valmistuksessa käytetyt hedelmät ja vihannekset. (Dolores Pendón ym. 2021, 162-180; Moretti ym. 2022.)

Vesikefiirin siemenet ovat ulkonäöltään merisuolaa muistuttavia pieniä, harmaanvalkoisia ja läpinäkyviä, hyytelömäisiä, epäsäännöllisen muotoisia sekä kokoisia kappaleita. Siemenet ovat heiveröisiä ja hajoavat puristettaessa. Käytettävä sokerilaatu vaikuttaa siementen väriin ja lisäksi ne voivat saada väriä fermentoinnissa käytetyistä hedelmistä ja uutteista. Kooltaan siemenet vaihtelevat muutamasta millimetristä senttimetriin. Siementen sisältämän kuiva-ainepitoisuuden ja vesipitoisuuden suhdetta ei ole tiedossa. (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53; Dolores Pendón ym. 2021, 162-180; Moretti ym. 2022.) Kuvassa 1 on kuvattuna opinnäytetyössä käytettyjä vesikefiirin siemeniä.



Kuva 1. Vesikefiirin siemenet

### 2.2.1 Vesikefiirin siementen sisältämät bakteerit sekä hiivat

Tutkimuksia vesikefiirin sisältämistä bakteereista ja hiivoista on tehty monen vuosikymmenen ajan eri maissa. Vesikefiirinsiemenet sisältävät monia erilaisia bakteereja sekä hiivoja. Käytetystä siemenkannasta riippuen bakteerien ja hiivojen suhteet sekä määrät voivat vaihdella. Yleisimmät bakteerisuvut, joita vesikefiirinsiemenet sisältävät ovat *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter*, *Bifidobacterium*. Lisäksi noin viisi prosenttia on sekalainen määrä muita bakteerisukuja. Yleisimmät hiivasuvut ovat *Saccharomyces*, *Lachancea*, *Pichia*, *Hanseniaspora*, *Kazachstania* sekä viisi prosenttia on muita hiivasukuja. (Assumpção Fiorda ym. 2017, 86-95.)

*Lactobacillus*-suvun bakteerit ovat tavallisesti sauvanmuotoisia ja usein ketjussa havaittavia, ei-itiöitä muodostavia bakteereja. Suvun bakteerien optimaalisin lämpötila lisääntymiselle on 30-40 °C, mutta kasvua voi tapahtua myös 2-53 °C:ssa. Optimaalisin pH alue näiden bakteerien kasvamiselle on 3-8. Yleisesti tämän suvun bakteerit sietävät happea, mutta kasvavat paremmin anaerobisissa olosuhteissa. (Holzapfel & Wood 2024. 249.)

*Leuconostoc*-suvun bakteerit ovat gram-positiivisia kokkeja pareiksi tai ketjuiksi muodostuneita ja ovat fakultatiivisesti anaerobeja eli voivat kasvaa vähähappisessa tai hapettomissa olosuhteissa. Optimaalisin lämpötila bakteerien kasvun kannalta on 20-30 °C. Mikäli lämpötila nousee yli 40°C:een, kasvua ei juurikaan tapahdu. Bakteerit ovat usein ei-asedofiilisiä eli kasvun kannalta ympäristön pH:n ei tarvitse olla hapan, mutta kasvun alkuvaiheessa ympäristön pH:n suositellaan olevan pH 6 ja 7 välillä. (Ogier ym. 2008. 286-290; Huihui Fu ym. 2015. 28-35; Holzapfel & Wood 2024. 249.)

*Acetobacter*-suvun bakteerit ovat gram-negatiivisia sauvabakteereja, jotka voivat esiintyä pareittain tai ketjuissa. Suvun bakteerit ovat fakultatiivisesti aerobisia eli kasvuympäristössä on oltava happea, jotta bakteerit voivat kasvaa. Sukuun kuuluu myös joitain bakteerilajeja, jotka voivat kasvaa myös kun happea ei ole läsnä. Bakteerien kasvua tapahtuu laajalla lämpötila-alueella: 4-42 °C:ssa, mutta optimaalisinta kasvu on 25-30 °C:ssa. Kasvuympäristön pH:n

ollessa 5.4-6.3 on bakteerien kasvulle optimaalisinta. (Hommel & Ahnert. 1999. 1-7.)

*Bifidobacteria*-suvun bakteerit luokitellaan yleisesti gram-positiivisiksi, itiöitä muodostamattomiksi ja anaerobisiksi organismeiksi. Ne ovat yleisesti anaerobisissa olosuhteissa kasvavia, mutta jotkut lajit voivat myös kasvaa aerobisesti. Bifidobakteereja pidetään ei-patogeenisinä ja joitakin lajeja esiintyy käymisteitse valmistetuissa ruoissa ja juomissa. Muodoltaan bakteerit ovat haarautuvia sauvoja, jotka esiintyvät yksittäin rykelmissä tai ketjuissa. (Charteris ym. 1997. 1-27; Felis & Dellaglio 2007, 44-61; Laureys ym. 2016.)

Hiivat ovat hyvin monipuolinen ryhmä verrattuna bakteereihin: niiden aineenvaihdunta on riippuvaista vesikefiirisiementen fermentoinnin aikana saatavilla olevasta hiilen ja energian lähteistä. Korkea sokeripitoisuus sokerimatrikseissa todennäköisesti stimuloi *Saccharomyces* – suvun hiivojen kasvua. (Assumpção Fiorda ym. 2017, 86-95.)

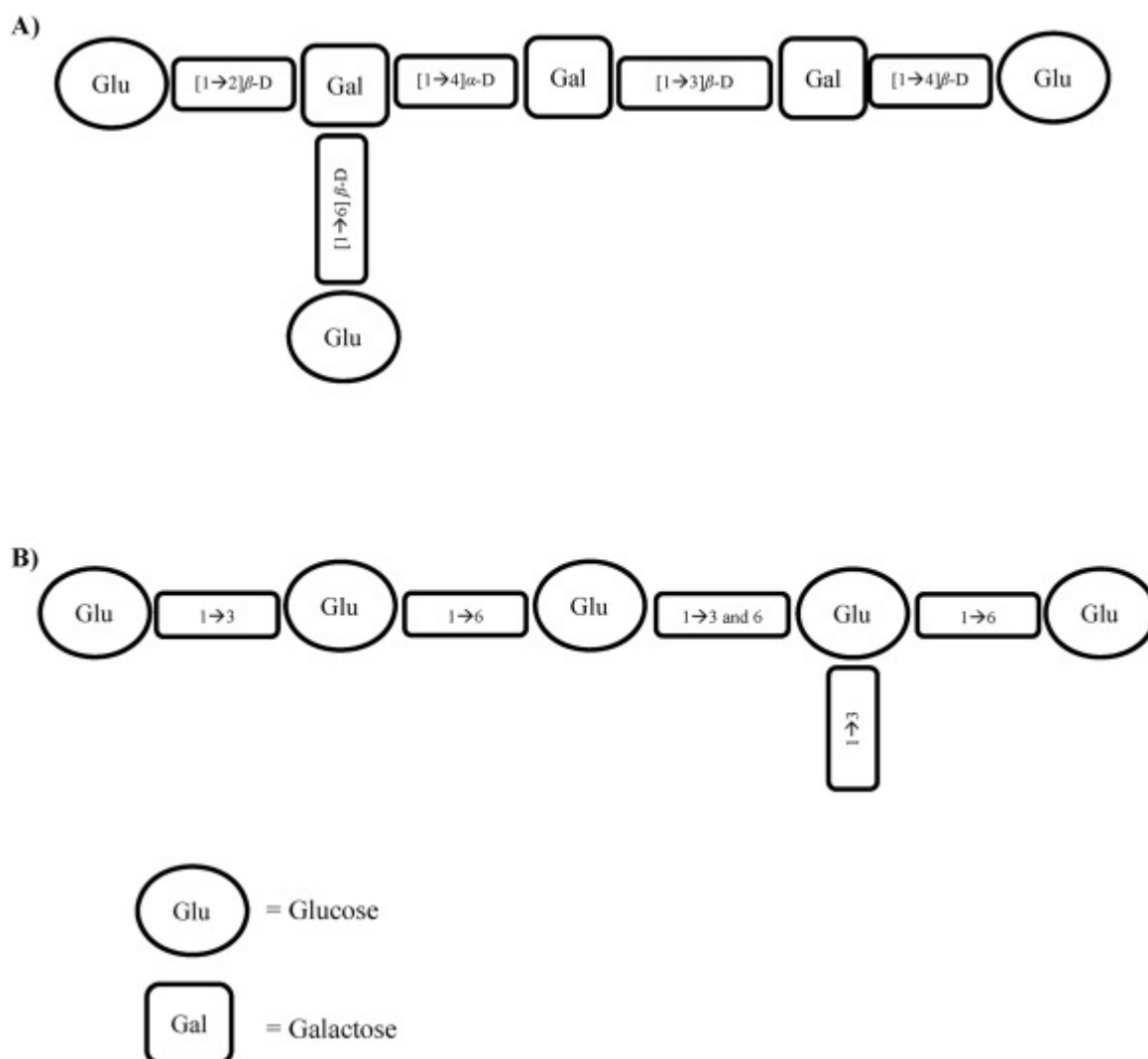
*Saccharomyces*-suvun hiivoista *Saccharomyces cerevisiae* -lajia on pystytty tunnistamaan vesikefiiristä (Assumpção Fiorda ym. 2017, 86-95). Muodoltaan *Saccharomyces cerevisiae* on tavallisesti pyöreä tai ovoidi eli munanmuotoinen. Se voi kasvaa aerobisesti sekä anaerobisesti. Kasvuympäristön pH:n ollessa lähellä 4 ja lämpötila 28-30 °C:ssa, on hiivan kasvu optimaalisinta. (Salari & Salari 2017; Lip ym. 2020; Arroyo-López ym. 2009, 120-127.)

*Lachancea*-suvun hiivoista vesikefiiristä on pystytty identifioimaan *Lachancea fermentati* sekä *Lachancea meyersii* -lajit. *Pichia*-suvun hiivoista vesikefiirissä on havaittu *Pichia membranifaciens* ja *Pichia kudriavzevii* -lajit. *Hanseniaspora* -suvusta *Hanseniaspora valbyensis* sekä *Hanseniaspora uvarum* -lajeja on pystytty tunnistamaan vesikefiiristä. *Kazachstania*-suvun hiivoista on onnistuttu tunnistamaan *Kazachstania aerobia* sekä *Kazachstania unispora* – lajit. Näistä hiivoista esimerkiksi *Hanseniaspora*, *Pichia* sekä *Lachancea* – suvut omaavat korkean käymiskyvyn. Vesikefiirissä tällaisten hiivojen esiintyminen parantaa niiden aistinvaraista laatua, edistävät vahvaa ja tyyppillisesti hiivamaista aromia sekä virkistävää ja pistävää makua. Näitä hiivoja käytetään yleensä viinin

valmistusprosessissa tuomaan aromaattisia yhdisteitä valmiiseen tuotteeseen. (Assumpção Fiorda ym. 2017, 86-95.)

## 2.2.2 Vesikefiirin siementen kemiallinen rakenne

Siemenet sisältävät dekstraanimatriisin, kuvassa 2B) nähtävissä dekstraanimatriisin sidosmuodot. Dekstraani on eksopolysakkaridi, joka on muodostunut sakkaroosin läsnä ollessa maitohappobakteerien tai niiden entsyymien syntetisoimana. Vesikefiirisiemenissä dekstraani rakenne muodostuu  $\alpha$ -D- (1  $\rightarrow$  6) -sidoksisista glukopyranosyylijäämistä, joissa on (1  $\rightarrow$  3)-sidoksisista sivuketjua. (Guzel-Seydim ym. 2021, 42–53; Díaz-Montes. 2021.)



Kuva 2. Vesikefiirin matriisirakenne (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53)

### 2.3 Terveysyödyt ja markkinointi

Vesikefiirillä on hyvä potentiaali toimia probioottien lähteenä. Se sisältää laajan spektrin mikro-organismeja, jotka voivat parantaa yleistä terveyttä ja immuniteettia. Esimerkiksi Gulitz ym. (2011, 248-288) tekemän tutkimuksen mukaan yhdestä grammasta vesikefiirin siemeniä löytyi  $10^8$  lactobacillusta,  $10^6$ - $10^8$  etikkahappobakteeria ja  $10^6$ - $10^7$  hiivaa. Vesikefiiristä löydettyjen mikro-organismien on osoitettu olevan ei-patogeenisiä eli ihmiselle vaarattomia. Lisäksi niiden on osoitettu voivan estää yhdessä niiden tuottamien orgaanisten happojen kanssa patogeenisten mikro-organismien kasvua, esimerkiksi *Salmonella* ja *Shigella*-lajeja. Tämä ominaisuus liittyy tuotteen happamuuteen, jota heikot orgaaniset hapot kuten etikka- ja maitohapot tuovat tuotteeseen. (Moretti ym. 2022.)

Vesikefiiriä ei mainita nimellä Euroopan Unionin elintarvikkeita käsittelevien lakien elintarvikekoodeksissa. Vesikefiiriä kaupallistetaan Euroopassa elintarviketurvallisuuslainsäädännön alla probioottina. (Moretti ym. 2022.) Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 1924/2006 elintarvikkeita koskevien ravitsemus- ja terveystuotteiden täytäntöönpanosta laadittu komission soveltamisohje määrittelee probiootin ja probioottinen -termit terveystuotteiksi. Kuvausta tai viittausta funktionaalisuuteen on käytetty aineen tai aineryhmän nimeämiseen tai annettu ymmärtää sillä olevan terveystuotteita. Tämän tyyppisiä terveystuotteita ei ole hyväksytty eikä niitä voi esittää elintarvikkeista. (Ruokavirasto 2021). Vatsaystävällisenä tuotteena voidaan markkinoida siinä tapauksessa, mikäli tuote on kalsiumin lähde, sillä kalsium edistää ruoansulatusentsyymien normaalia toimintaa (Komission asetus 432/2012).

### 2.4 Maitokefiirin ja vesikefiirin eroavaisuuksia

Maitokefiiri ja vesikefiiri sekoitetaan helposti keskenään, mutta niillä on erilaiset symbioottiset systeemit. Kefiirien siemenistä löydettävät bakteeri- ja hiivasuvut eivät ole samanlaiset: siinä missä vesikefiirissä on havaittavissa

*Acetobacterium* ja *Bifidobacterium* -suvun bakteereja, niitä ei ole havaittu maitokefiiristä. Maitokefiirissä sen sijaan on havaittu *Pedococcus* – suvun bakteereja, joita ei vastaavasti ole havaittu vesikefiirissä. Vaikka maitokefiirin siemenet voivat kasvaa maitoa sisältämättömissä substraateissa, on mikro-organismien fermentoimat disakkaridit, sakkaroosi ja laktoosi, erilaisia. Maitokefiirin siemenet ovat pieniä, rakeisia muodoltaan ja väri vaihtelee kermasta valkoiseen, kun taas vesikefiirin siemenien koko sekä muoto vaihtelevat ja väriltään ne ovat kirkkaita. Maitokefiirin siemenet ovat rakenteeltaan polysakkarideja ja vesikefiirisiemenet sisältävät dekstraanimatriisin. (Assumpção Fiorda ym. 2017, 86-95; Moretti ym. 2022; Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53.)

Perinteisesti maitokefiirin valmistamisessa käytetään lehmänmaitoa, mutta sitä voidaan valmistaa myös muiden eläinten, esimerkiksi vuohen, lampaan tai kamelin maidosta. Lisäksi kasvipohjaisia juomia, esimerkiksi soija-, riisi- tai kookosjuomia, voi käyttää maitokefiirin valmistuksessa. Vesikefiirin valmistuksessa tarvitaan vettä ja sokeria. Sokerin lisäksi tai sokerin sijasta voi käyttää monenlaisia kasviksia kuten inkivääriä, porkkanaa, tai erilaisia hedelmiä esimerkiksi omenaa, päärynää, melonia. Lisäksi keskeisessä asemassa vesikefiirien siementen mikro-organismien metaboliassa ja kasvussa ovat hiililähde, joka on tyypillisesti sakkaroosi sekä typpilähde, esimerkiksi tuoreet tai kuivatut hedelmät (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53; Lynch ym. 2021.)

Kefiirien valmistusprosesseissa on eroavaisuuksia. Maitokefiirin valmistamisessa on yleisesti käytetty kahta erilaista menetelmää. Perinteisessä menetelmässä maitokefiirin siemenet lisätään pastöroituun maitoon ja vastaavasti niin kutsutussa teollisessa menetelmässä kefiirinsiemenistä valmistettua liuosta lisätään pastöroituun maitoon. Molemmissa menetelmissä fermentointiaika on 18-28 tuntia. Fermentoinnin jälkeen perinteisessä menetelmässä maitokefiirin siemenet erotetaan nesteestä, joka pakataan ja varastoidaan 4 °C:ssa. Teollisessa menetelmässä fermentoinnin jälkeen seoksen annetaan kypsyä 12 tuntia 8-10 °C:ssa, jonka jälkeen se viilennetään 4 °C:een, pakataan ja varastoidaan samaan lämpötilaan. Vesikefiirin



valmistusprosessissa vesi ja sokeri sekoitetaan sekä lisätään mahdolliset hedelmät tai muut mausteet ja pastöroidaan. Pastöroitu seos viilennetään, johon lisätään vesikefiirin siemenet ja fermentoidaan 20-25 tuntia 25-30 °C:ssa. Vesikefiirin siemenet erotellaan fermentoinnin jälkeen ja eroteltu neste suodatetaan. Suodatuksen jälkeen pakataan ja varastoidaan 4 °C:ssa. Maitokefiiri- ja vesikefiiriprosesseja yhdistävä tekijä on siementen hyödyntäminen fermentoimisen jälkeen uuteen tuotantoerään. Maitokefiiriprosessissa voidaan käyttää myös niin sanottuja kertakäyttöisiä, teollisia ravinneliuoksia.. (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53.)

Maitokefiirin käymisen aikana tuotetut hiilidioksidi, maitohappo, asetaldehydi, asetonini sekä pieni määrä etanolia vaikuttavat maitokefiirin aistinvaraisiin ominaisuuksiin. Vesikefiirissä käymisen jälkeen muodostuu maitohappoa, etikkahappoa, etanolia ja hiilidioksidia. Maitokefiiristä on pystytty tunnistamaan yli 50 erilaista aromiyhdistettä tai fermentaatio metaboliittia, kun vastaavasti vesikefiirissä noin 30 erilaista yhdistettä on pystytty tunnistamaan. Vesikefiirissä monet makuyhdisteet sisältävät metyyliestereitä, jotka ovat peräsin prosessissa käytetyistä hedelmistä, sekä luontaisten bakteeri- ja hiivaviljelmien käymistuotteita. (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53.)

Kefiireillä on selkeästi erilaiset fysikaalis-kemialliset ominaisuudet. Maitokefiiri on viskoosinen ja läpinäkymätön maitojuoma. Maultaan se on hieman hapan, ja siinä on hieman hiilidioksidia. Etanolipitoisuudeltaan maitokefiiri on alhainen ja alkoholipitoista makua ei yleensä huomaa. Vesikefiirillä on matalampi viskositeetti ja se on kirkas. Kasviksia tai hedelmiä käytettäessä vesikefiiristä tulee vähemmän läpikuultava. Vesikefiiri sisältää enemmän hiilidioksidia sekä etanolia. Yhteistä kefiirien maussa on sen virkistävä maku, joka tulee juomien hiilihapotuksesta. (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53.)

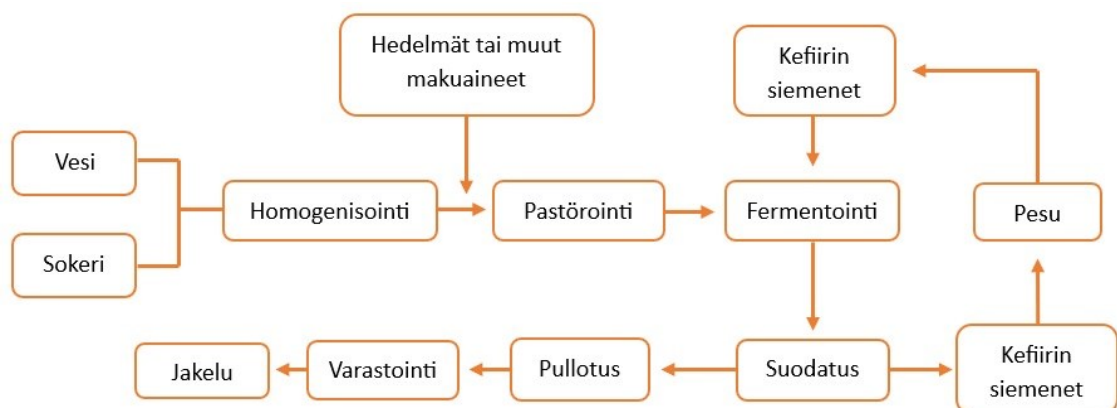
Maitokefiirin terveyshyötyjä on tutkittu pitkään ja se onkin liitetty terveyteen sekä pitkäikäisyyteen. Vesikefiirin toiminnallisia ominaisuuksia puolestaan on tutkittu vasta hyvin vähän. Maitokefiirin ilmoitettuja terveyshyötyjä ovat muun muassa kolesterolia sekä verensokeria alentava vaikutus, lisäksi se helpottaa laktoosin pilkkoutumista ja sillä on myös väsymystä estävä vaikutus. Vesikefiirin

terveyshyötyinä on esitetty esimerkiksi tulehdusta ehkäisevä sekä edistää haavojen paranemista. (Guzel-Seydim ym. 2021, 42-53.)

### 3 Valmistusprosessi

Vesikefiirijuoman valmistukseen tarvitaan vesikefiirin siemeniä, vettä ja sokeria sekä muita mahdollisia ravintoaineita, esimerkiksi tyypeä. Kefiiriä voi halutessaan maustaa kuivatuilla tai tuoreilla hedelmillä, esimerkiksi viikunoilla, aprikooseilla tai rusinoilla, tai niistä valmistetuilla uutteilla. Käytettävä sokeri voi olla esimerkiksi ruokosokeria tai kidesokeria.

Kuvassa 3 on kuvattu vesikefiirijuomien valmistusprosessi. Prosessi aloitetaan sekoittamalla tarvittava määrä vettä ja sokeria yhteen, jonka jälkeen ne homogenisoidaan ja pastöroidaan. Ennen pastörointia voidaan lisätä myös valitut hedelmät, vihannekset tai mausteet. Liuksen annetaan jäähtyä ja jäähtyneeseen liukseen lisätään pestyt kefiirinsiemenet. Tämän jälkeen aloitetaan fermentointi: 20–37 °C:ssa (optimaalisin 20-25 °C) yleisesti 20-24 tuntia, mutta fermentointiaika voi olla myös jopa 72 tuntia. Fermentoinnin jälkeen kefiirin siemenet siivilöidään pois sekä pestään, jonka jälkeen siemenet voidaan käyttää uuteen erään. Vesikefiiri suodatetaan, jonka jälkeen se pullotetaan ja varastoidaan 4 °C:ssa, josta valmis tuote lähtee jakeluun. (Guzel-Seydim ym. 2021, 42–53; Assumpção Fiorda ym. 2017, 86-95; Cufaoglu & Erdinc. 2023, 21-31).



Kuva 3. Teoreettinen vesikefiirin prosessikaavio

On raportoitu, että siemenien säilyttäminen  $-20\text{ °C}$ :ssa ei ole suositeltavaa, sillä jäätyminen ja sulaminen vahingoittavat siemenien rakennetta ja/tai mikrobeja pysyvästi, koska siemenet sisältävät 86–90 % vettä (Lynch ym. 2021; Cufaoglu & Erdinc. 2023, 21–31). Kefiirien siemeniä myyvän yrityksen Cultures for health (2022) mukaan jääkaapissa säilytettäessä kylmä saa siemenet siirtymään aineenvaihdunnassaan lepotilaan ja näin siemenet saavat aikaa levätä sekä korjaantua.

Koska kefiiri sisältää eläviä mikro-organismeja, on riski, että fermentaatio jatkuu pullossa, jolloin kefiiriin voi muodostua etanolia. Hiivat tuottavat hapettomissa olosuhteissa hiilihydraateista etanolikäymisessä hiilidioksidia ja etanolia. Hiivan optimaalinen kasvulämpötila on  $20\text{--}30\text{ °C}$ :een välillä. Muodostunutta hiilidioksidia liukenee nesteeseen enemmän alhaisessa lämpötilassa kuin korkeassa. (Luo ym. 2018, 25–33; Lynch ym. 2021; Enari & Mäkinen, 2014, 154.).

Pullotusvaihetta kutsutaan Cultures for health -yrityksen (2022) mukaan toiseksi fermentoinniksi. Pullojen annetaan olla huoneenlämmössä 24–72 tuntia ja lämpimissä olosuhteissa pulloista suositellaan päästämään ylimääräistä kaasua ulos, jotta vältetään liialliselta paineen muodostumiselta. Tämän jälkeen pullot voi halutessaan siirtää jääkaappiin käymisreaktion hidastamiseksi.

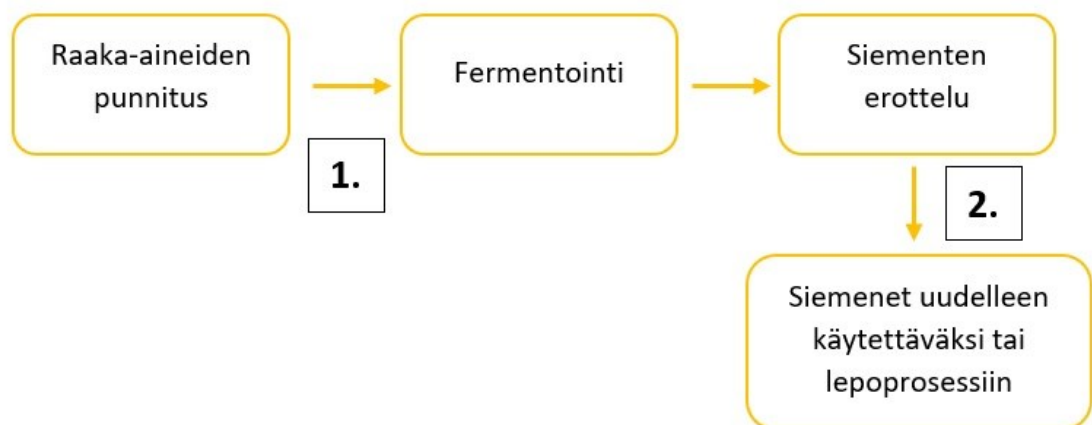
## 4 Käytännön osuus Turun AMK:lla

Käytännön osuus suoritettiin Turun Ammattikorkeakoululla. Prosessissa käytettiin perustana teoriapohjaista prosessikaaviota, jota modifioitiin laboratoriomittakaavaan saatavilla oleville laitteille sopivaksi sekä toimeksiantajan toiveiden mukaisesti. Kuvassa 4 on esitetty prosessikaavio, jonka mukaisesti fermentaatioprosessi suoritettiin käytännön osuudessa. Kohdissa 1. ja 2. tehtiin lämpötilamittaukset, siementen painon tarkastus sekä pH-mittaus. Vesikefiirin valmistuksessa käytettiin jokaisessa erässä samaa perusreseptipohjaa (taulukko 1).

Taulukko 1. Perusreseptipohja

Raaka-aine	Määrä, g
Vesikefiirin siemen	X
Sokeri/sokerit	X
Hanavesi	25 · X

Fermentointiaika oli noin 48 tuntia, mutta joissain valmistuserissä viikonlopun vuoksi se oli noin 72 tuntia.



Kuva 4. Käytännön työskentelyn prosessikaavio

Käymisprosessin ohella kokeiltiin pullokäymisprosessia, jotta nähtiin miten vesikefiirin ominaisuudet muuttuvat pullokäymisen aikana.

Pullokäymisprosessikaavio nähtävissä kuvassa 5 ja tarkempi kuvaus pullokäymisen toteuttamisesta kappaleessa 5.1.



Kuva 5. Pullokäymisen prosessikaavio

Kohdissa 3. ja 4. mitattiin pH, lisäksi kohdassa 4. ja/tai 5. mitattiin paine.

Ennen käytännön osuuden alkamista siemenistä tehtiin alustava mikrobiologinen tunnistaminen. Tunnistaminen suoritettiin uudestaan käytännön osuuden päätteeksi.

Työ aloitettiin käytettävissä olevien siemenkantojen herättämisellä. Siemenet siivilöitiin säilytysliemestä ja punnittiin. Punnitut siemenet laitettiin omiin astioihinsa, joihin lisättiin reseptipohjan mukaan (taulukko 1) oikea määrä sokereita; sokerin kokonaismäärästä puolet luomuintiaanisokeria (intiaanisokeri) ja luomujuurikassokeria (juurikassokeri), sekä hanavettä.

Astioihin laitettiin kannet ja vietiin lämpökaappiin 22 °C:een ja annettiin fermentoitua 48 tuntia. Tämän jälkeen herätysprosessi aloitettiin alusta ja tätä toistettiin niin kauan, että siementen massan huomattiin selkeästi kasvavan sekä astioissa havaittiin silmämääräisesti hiilidioksidin muodostumista, mikä kertoo siementen aktivoituneen. Siemenet herätettiin, jotta ne aktivoituvat ja jonka jälkeen niitä voidaan käyttää vesikefiirin valmistuksessa.

Herätetyistä siemenkannoista valittiin yksi, jonka avulla prosessia lähdettiin optimoimaan. Herätetyissä siemenkannoissa oli kaksi erilaista tuoresiemenkantaa, kanta 1 ja kanta 2. Viikon aikana kanta 1 lähti selkeästi kasvamaan, kun taas kanta 2:n huomattiin kontaminoituneen.

Kontaminoituminen on voinut tapahtua lähetysketjun aikana ennen koululle saapumista, sillä herätysprosessin aikana kanta 1 ei ollut kontaminoitunut. Tämän vuoksi kanta 1 valikoitui automaattisesti prosessiin testattavaksi.

Herätysprosessin aikana huomattiin, että siementen erottelussa valutusajalla on huomattava merkitys siementen painoon, minkä vuoksi valumisaika vakioitiin 2 minuuttiin, jotta punnitustulokset olivat vertailukelpoisia.

Lämpökaapista muutettiin lämpötilaa asteen verran matalammaksi, sillä herätyksen aikana fermentoinnin jälkeen kefiirien lämpötilat nousivat lähelle 25 °C:ta, ja haluttiin että ne pysyisivät lähempänä 23 °C:ta. Ennen fermentointia pH mitattiin olevan 6,88, joka on käytetyn Turun Seudun Veden pH ja on sama kaikissa kefiirierissä.

Herätysprosessin jälkeen valitun siemenkannan kanssa prosessia lähdettiin testaamaan käyttäen eri sokerilaatuja. Käymisessä kokeiltiin myös käyttää herukanlehtiutetta sen perusteella, että kefiirin siemenet kaipaavat typhen sekä hiilen lähdettä kasvaakseen ja haluttiin selvittää, onko tällä vaikutusta siementen kasvamiseen.

#### 4.1 Kefiirien pullokäyminen

Käymisprosessin jälkeen vesikefiiriä pullotettiin. Pullokäymisen toivottu lopputulos on, että tuotteeseen on muodostunut hiilidioksidia. Ennen pullottamista kefiiriä arvioitiin aistinvaraisesti haistamalla: mikäli haistaessa ilmeni pistävä haju, kefiiriä ei pullotettu vaan siemenet pestiin vedessä ja laitettiin uudestaan käymään.

Joitakin kefiirieriä maustettiin ennen pullottamista ja joitakin pullotettiin sellaisenaan. Herukanlehtiutetta, sitruunamehutiivistettä ja mansikka-aromia käytettiin kefiirin maustamisessa. Mansikka-aromia kokeiltiin ensimmäisen kefiirierän kanssa, mutta todettiin maistamisen jälkeen lopputuotteen maun olevan liian esanssinen mikä ei ollut haluttu lopputulos ja mansikka-aromin käyttäminen lopetettiin.

Herukanlehtiutetta kokeiltiin käyttää käymisen jälkeen eri massaprosenttipitoisuuksilla (m-%): 2 %, 5 %, 8 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 % ja 30 %.

Lisäksi kokeiltiin lisätä sitruunamehutiivistettä nähdäksemme, onko sillä vaikutusta pullokäymisen aikana hiilidioksidin muodostumiseen.

Sitruunamehutiivistettä lisättiin intiaani- sekä juurikassokeriseoksella sekä herukanlehtiutteella fermentoituun kefiiriin 0,2 m-% ja 1,0 m-% pitoisuuksilla ja valkoisella sokerilla ja herukanlehtiutteella fermentoituun kefiiriin 0,2 m-%, 1,0 m-% ja 2,0 m-% pitoisuuksilla.

Herukanlehtiutetta lisättäessä makuaineena käymisen jälkeen, sitruunamehutiivistettä käytettiin 1,0 m-% ja m-2,0 % pitoisuuksilla sekä intiaani- sekä juurikassokeriseoksella fermentoiduissa, että pelkällä juurikassokerilla fermentoiduissa kefiireissä herukanlehtiutepitoisuuksien ollessa 15 m-%, 20 m-% ja 25 m-%.

Sitruunamehutiivistettä laitettiin maustamattomaan, siemenistä erotettuun kefiiripohjaan käymisen jälkeen, jotta voitiin verrata, onko tällä jotain vaikutusta pullokäymiseen. Sitruunamehutiivistettä kokeiltiin käyttää 0,2 m-%, 1,0 m-%, 1,2 m-% ja 2 m-% pitoisuuksia intiaani- ja juurikassokeriseoksella fermentoiduissa kefiirissä ja 0,2 m-%, 0,5 m-%, 1,0 m-%, 1,2 m-% ja 2 m-% pitoisuuksilla juurikassokerilla fermentoiduissa kefiirissä.

Ensimmäisten kefiirierien kanssa pulloon laitettiin n. 200 ml kefiiriä, mutta todettiin, että parhain täyttömäärä oli vaa'alla mitattuna n. 200 g per pullo, jolloin pullo ei jäänyt vajaaksi tai tullut liian täyteen.

Ensimmäisten erien kanssa mitattiin vesikefiirin ominaispaino, jotta voitiin arvioida, muodostuuko tuotteisiin alkoholia pullokäymisen aikana. Ominaispainomittarin asteikko oli kuitenkin liian suuri, jonka vuoksi ominaispainoa ei voinut mitata luotettavasti ja sen mittaamisesta luovuttiin.

Ennen pullokäymisen alkamista mitattiin vesikefiirin pH, jotta nähtiin pullokäymisen jälkeen tapahtunut muutos tuotteen happamuudessa. Kefiirien



pH:n mittauksessa näytteet olivat huoneenlämpöisiä, n. 21 °C. Käymisen jälkeen kefiiripohjiin lisättiin halutut makuaineet, jonka jälkeen niistä mitattiin pH ja pulloitettiin. Pullokäymisen jälkeen pH mitattiin paineen mittauksen yhteydessä. Paineen mittauksessa käytettiin toimeksiantajayrityksen omaa painemittaria. Painemittarin tarkkuusasteikko oli liian karkea ja sen vuoksi painemittaukset olivat suuntaa antavia.

Pullokäyminen aloitettiin jättämällä pullo huoneenlämpöön. Huoneenlämpötila vaihteli 21–22 °C:een välillä. Aika, jolloin pulloja pidettiin huoneenlämmössä, vaihteli muutamista vuorokausista useisiin vuorokausiin. Pullokäymistä arvioitiin silmämääräisesti: mikäli korkki oli napakan tuntuinen ja pulloa käännettäessä oli havaittavissa kuplien nousua pintaan, pullo siirrettiin kylmiöön, jotta pullokäyminen saatiin hidastumaan. Kylmiön lämpötila vaihteli käytännön jakson aikana 5,7–8,2 °C:een välillä. Kylmiössä pulloja säilytettiin yhdestä vuorokaudesta 23 vuorokauteen ennen paineen mittaamista.

#### 4.2 Mikrobiologinen alustava tunnistus

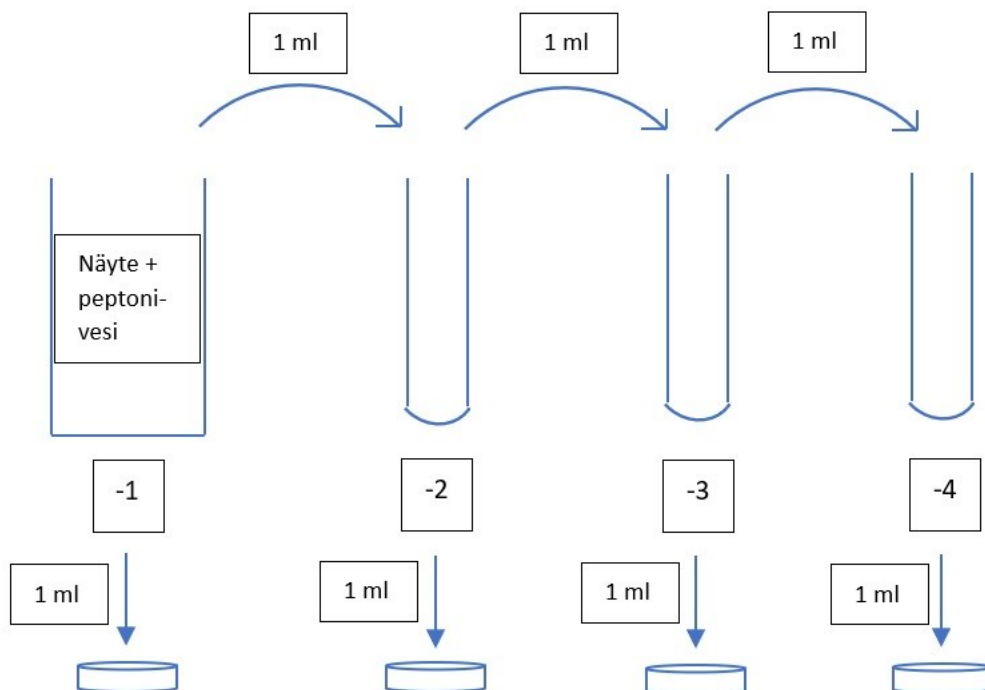
Ennen prosessin alkua siemenistä tehtiin alustava mikrobiologinen tunnistus maljaviljelyyn avulla, jotta varmistuttiin siementen elinvoimaisuus ja todettiin bakteeri- sekä hiivakasvu. Maljaviljelyissä tutkittiin molemmat tuorekannat sekä kaksi kuivakantaa. Maljaviljelyt tehtiin soveltaen Nordic Committee on food analysis -menetelmiä nro 86 ja nro 91 (Nordic Committee on food analysis Nro 86, 2006; Nordic Committee on food analysis Nro 91, 2010).

Valmistettiin Plate Count Agar -liuos (PCA-liuos) valmistajan ohjeiden mukaisesti ja laitettiin säilöpulloihin. Peptonivettä valmistettiin punnitsemalla tarvittavat määrät natriumkloridia ja peptonia sekä mitattiin laborioivettä ja laitettiin säilöpulloon. Nämä sekä tarvittavat työvälineet autoklaavattiin 121 °C:ssa 15 minuuttia.

Tuoresiemenkantanäytteitä punnittiin 10 g, kuivasiemenkantoja 5 g ja kaikki laitettiin omiin homogointipusseihinsa. Tuoresiemenkantanäytettä sisältäviin homogointipusseihin laitettiin 90 ml peptonivettä ja kuivasiemenkantoihin 45

ml peptonivettä. Tuoresiemenkantoja sisältäviä pusseja ravisteltiin homogenisaattorilla normaalinopeudella 60 s ja kuivasiemenkantoja 60 s alhaisella nopeudella.

Jokaisesta kannasta tehtiin laimennossarjat koeputkiin kuvan 6 mukaisesti ja pipetoitiin petrialjoille. Koeputket sisälsivät 9 ml peptonivettä. Merkinnät -1, -2, -3 ja -4 tarkoittavat laimennossuhdetta: -1 on 1:100, -2 1:1000, -3 1:10000 ja -4 1:100000. Jokaista laimennossuhdetta pipetoitiin 1 ml petrialjalle ja päälle kaadettiin PCA-liuosta n. 20 ml. Tehtyjen kontrollimaljojen avulla voitiin arvioida aseptiikan onnistuminen sekä steriloinnin tehokkuus.



Kuva 6. Laimennossarjojen kaavio

Maljat laitettiin lämpökaappiin 30 °C:een ja pidettiin siellä 48 tuntia.

Gram-värjäyksessä valmistettiin preparaattit siirtämällä kasvustoa maljalta siirrossilmukalla preparaatile laitettuun steriiliin veteen ja jätettiin ilmakeivumaan huoneenlämpöön. Kuivumisen jälkeen bakteerit kiinnitettiin preparaatile lämpökäsittelyn avulla. Itse gram-värjäys aloitettiin 30 sekunnin kristallivioletti värjäyksellä, jonka jälkeen preparaattia huuhdeltiin viiden sekunnin

ajan vedellä. Väri kiinnitettiin pitämällä preparaattia yhden minuutin ajan gram-jodinissa, minkä jälkeen preparaatti huuhdeltiin viiden sekunnin ajan vedellä ja sen jälkeen vielä poistettiin ylimääräinen väri huuhtelemalla preparaattia 15 sekuntia 95 % etanolilla. Etanolikäsittelyä seurasi viiden sekunnin vesihuuhtelu, josta preparaattilla olevat bakteerit sekä hiivat vastavärjättiin safraniinilla 60 sekunnin ajan ja lopuksi huudeltiin viisi sekuntia vedellä. Värjäyksen jälkeen preparaattien annettiin kuivua. Preparaattien kuivuttua ne mikroskopoitiin.

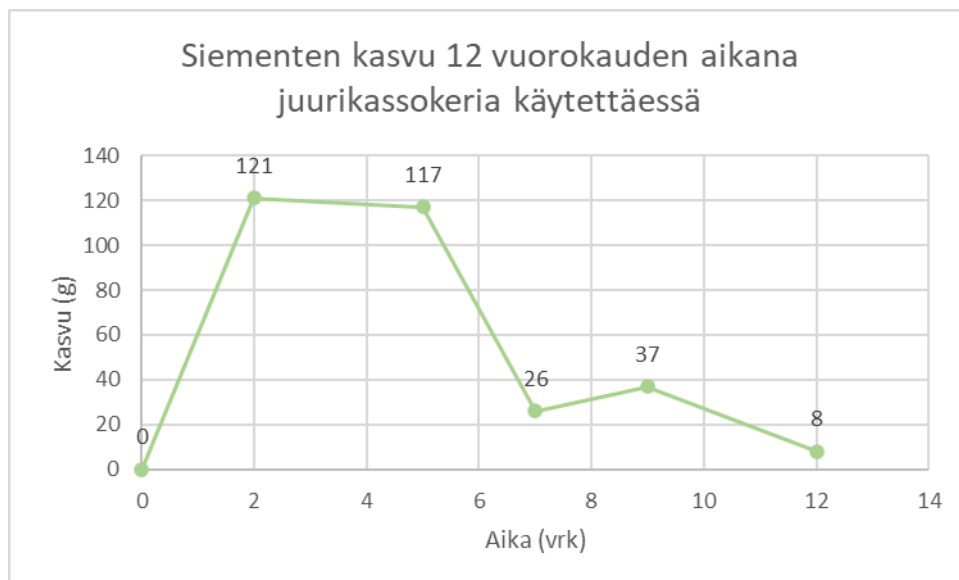
Testien jälkeen maljaviljelyt suoritettiin uudestaan prosessissa käytetyille tuorekanta 1 siemenille, levossa olleille tuorekanta 1 siemenille sekä uudestaan käyttöön saadulle tuorekanta 2 siemenille. Maljaviljelyt tehtiin muutoin samalla tavalla, mutta näytteet pipetoitiin petrimaljoihin, joihin oli valettu PCA-liuos ja näytteistä tehtiin -5 sekä -6 laimennokset ja petrimaljoille pipetoitiin 0,1 ml. Maljat luettiin neljä päivää inkuboinnin loppumisen jälkeen ja gram-värjättiin heti lukemisen jälkeen.

## 5 Tulokset ja pohdinta

Tuloksissa käsiteltiin siementen massan kasvatusta ja prosessin optimointia sekä herukanlehtiutteen vaikutusta siementen kasvuun, jonka mittarina käytettiin siementen massaa. Sitruunamehutiivisteiden sekä herukanlehtiutteen käytön vaikutuksia lopputuotteeseen arvioitiin hiilidioksiditilavuuden ja happamuuden avulla. Valmistettuja kefiirejä verrattiin aistinvaraisesti markkinoilla oleviin vesikefiireihin. Aistinvaraisesti arvioitiin ulkonäköä, tuoksua ja makua.

### 5.1 Valmistus eri sokerilaaduilla

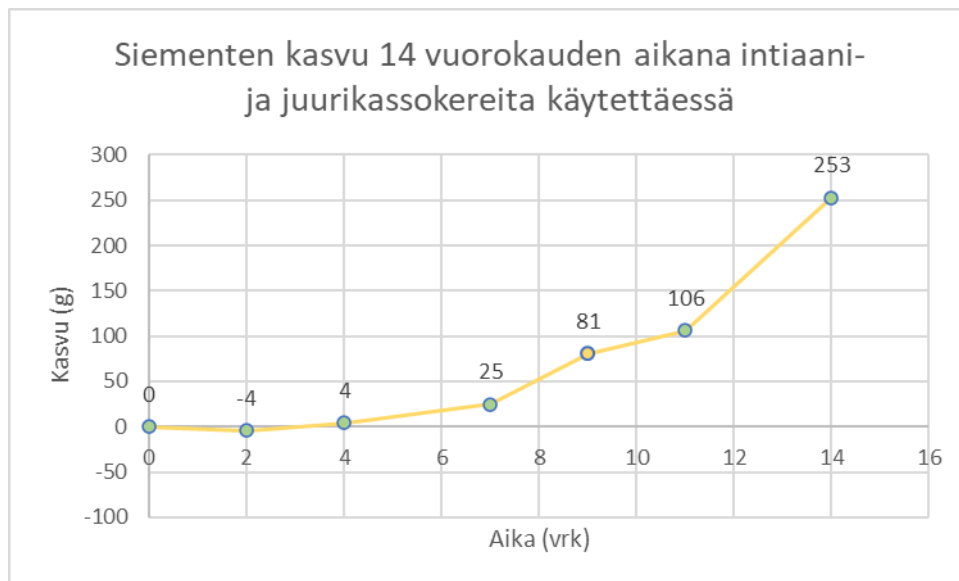
Herätysprosessin jälkeen valitun siemenkannan kasvattamista testattiin käyttämällä pelkkää juurikassokeria. Valmistus tehtiin kuvan 4 prosessikaavion ja taulukon 1 perusreseptipohjan mukaisesti. Siementen paino kasvatusprosessin alussa oli 220 g. Juurikassokerilla fermentointia testattiin 12 vuorokauden ajan.



Kuvio 1. Siementen kasvu juurikassokeria käytettäessä

Kuviosta 1 nähdään, että alussa kasvua tapahtui enemmän, mutta kasvu hidastui loppua kohden. Kasvun avulla voitiin päätellä, että siemenet olivat aktiivisia ja niiden metabolia toimi. Alussa tapahtunut kasvu on todennäköisesti johtunut herätysprosessista siemeniin jääneistä ravinteista, joiden avulla kasvua tapahtui, mutta ravinteiden loputtua kasvu alkoi hiipumaan. Käymisajat ovat nähtävissä liitteessä 1. Käymisen jälkeen mitatun pH:n keskiarvoksi mitattiin 5,7. Verrattuna ennen fermentointia mitattuun pH arvoon voitiin havaita, että käyminen on ollut vähäistä.

Tulosten perusteella voitiin todeta, että pelkällä juurikassokerilla siementen kasvattaminen ei ole mahdollista. Mikäli vesikefiiristä halutaan väriltään läpinäkyvää tai vaaleaa, täytyy juurikassokerin kanssa fermentoimiseen käyttää hiivan ravintoaineita, jotta fermentointi onnistuu.



Kuvio 2. Siemen kasvu intiaani- sekä juurikassokeria käytettäessä

Molempia sokereita, intiaani- ja juurikassokeria, käyttäessä kasvu on nähtävissä kuviossa 2 ja käymisajat liitteessä 2. Sokerin vaihdoksen jälkeen alussa kasvu oli negatiivinen, joka on johtunut todennäköisimmin siementen valutuksesta; siemenet ovat olleet valutuksessa pidempään, minkä vuoksi niistä on valunut

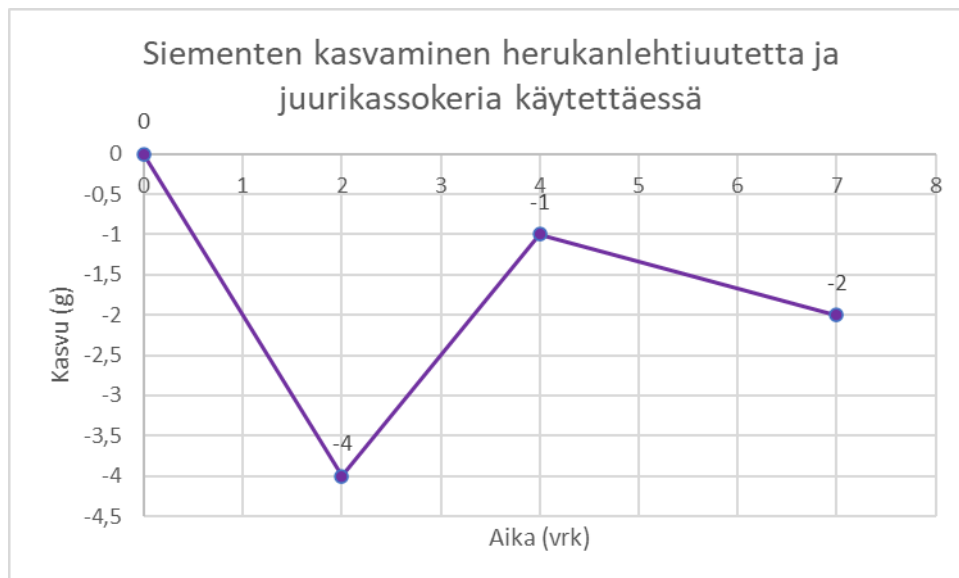
enemmän nestettä pois. Käymisen aikana tapahtunut pH:n muutos on huomattava: verrattuna ennen fermentaatiota olevaan pH arvoon, pH arvo on mennyt selkeästi happamammaksi. Tästä voidaan päätellä, että käymistä on tapahtunut ja fermentointi on onnistunut.

Tulosten perusteella voitiin todeta, että intiaanisokerin käyttö prosessissa sai käymistä aikaan ja kasvatti siementen massaa. Yrityksen toiveena oli, että valmis vesikefiiri olisi väriltään kirkasta tai vaaleaa. Tämän perusteella testattiin, olisiko käyttämällä herukanlehtiutetta ravintoaineena fermentoinnissa, vaikutusta käymiseen ja kefiirin pysymiseen vaaleampana, kuin intiaanisokeria käytettäessä.

## 5.2 Herukanlehtiutteen käyttö

Herukanlehtiutetta kokeiltiin käyttää pelkästään juurikassokerin sekä intiaani- ja juurikassokerisekoituksen kanssa. Herukanlehtiutetta laitettiin saman verran kuin siemeniä eli herukanlehtiutepitoisuus oli n. 3,57 m-%.

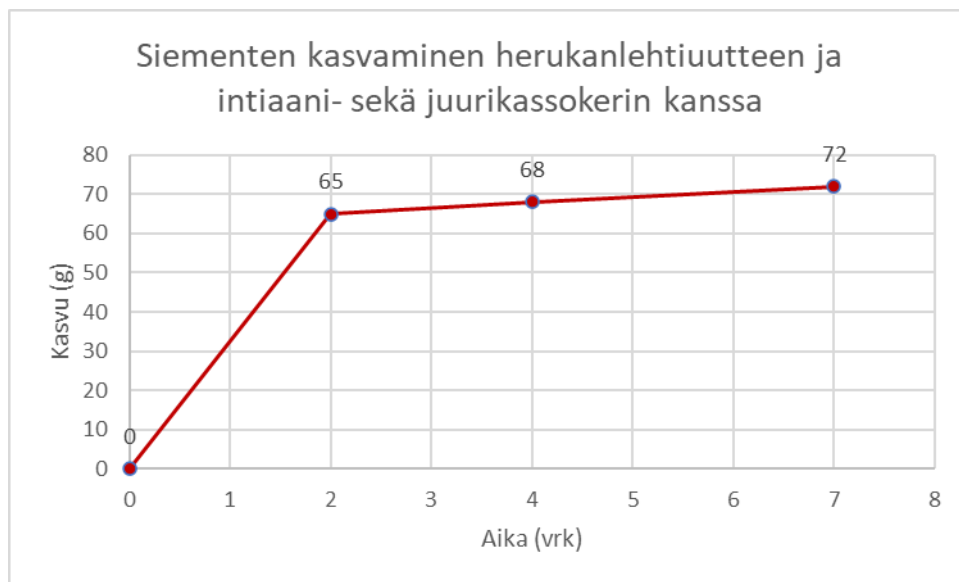
Herukanlehtiutteella fermentointikokeilua tehtiin 7 vuorokauden ajan.



Kuvio 3. Siementen kasvaminen herukanlehtiutteen ja juurikassokerin kanssa

Kuviossa 3 esitetään herukanlehtiutetta ja juurikassokeria käytettäessä oleva siementen kasvu. Käymisajat on esitetty liitteessä 3. Herukanlehtiutepohjan pH:n keskiarvo oli 4,69 ja maustamattoman, juurikassokerilla valmistetun kefiirin 5,70 ennen pullotusta. Voidaan havaita selkeästi, että herukanlehtipohjassa käymistä on tapahtunut pH:n laskun muutoksen takia.

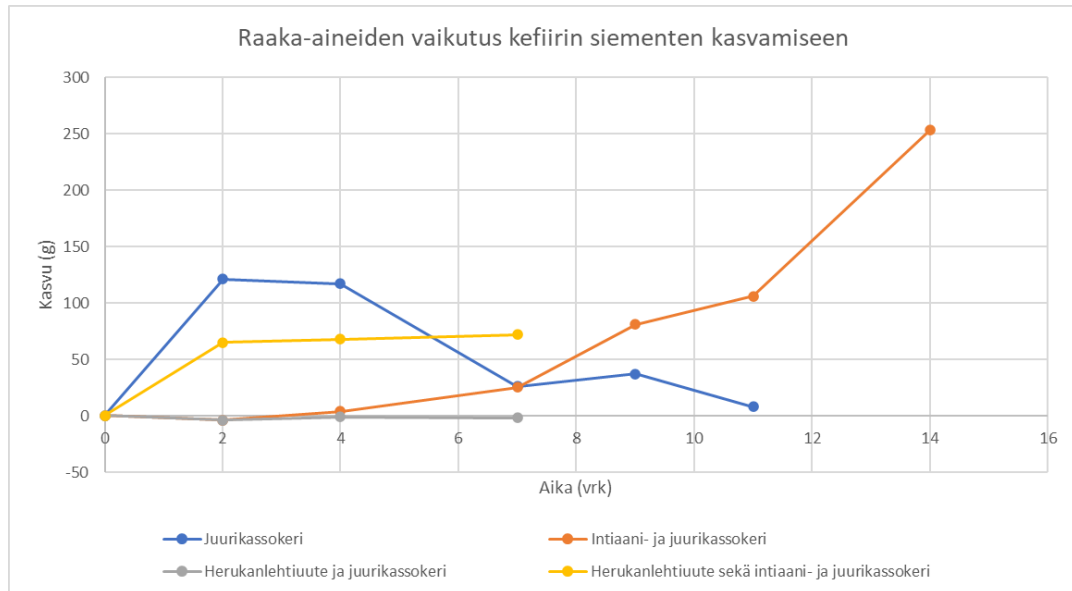
Havaittiin, että siemenet eivät lähteneet kasvamaan herukanlehtiutetta ja juurikassokeria käytettäessä, joten tämän testaamista ei jatkettu. Tämä on voinut johtua siementen metabolian hidastumisesta, kun siemeniä on käytetty yhtäjaksoisesti monen erän fermentoinnissa.



Kuvio 4. Siementen kasvu herukanlehtiutteen, intiaani- & juurikassokerin kanssa

Kuviossa 4 esitetään herukanlehtiutteen ja molempien sokerien vaikutus siementen kasvuun ja liitteessä 4 käymisajat. Keskiarvo pH:lle käymisen jälkeen oli 3,71 eli voidaan havaita, että käymistä on tapahtunut. Verrattuna maustamattomaan intiaani- ja juurikassokeri -kefiiripohjan pH keskiarvoon fermentoinnin jälkeen, pH on suurin piirtein samaa luokkaa. Tästä voidaan päätellä, että käymistä on tapahtunut, mutta ainakaan tämän perusteella herukanlehtiuttelella ei ole ollut selkeää vaikutusta käymiseen.

Kasvun voidaan olettaa johtuvan intiaanisokerin käyttämisestä, sillä kasvua ei tapahtunut herukanlehtiutetta käytettäessä juurikassokerin kanssa. Tämän vuoksi herukanlehtiutteen käyttäminen fermentoinnissa ei ole tarpeellista.



Kuvio 5 Raaka-aineiden vaikutus kefiirin siementen kasvamiseen

Kuviosta 5 nähdään vertailtuna miten käytetyt raaka-aineet ovat vaikuttaneet siementen kasvuun. Pelkän juurikassokerin käytössä siementen kasvu lähti laskemaan ja juurikassokeria sekä herukanlehtiutetta käytettäessä kasvua ei ollut havaittavissa. Herukanlehtiutetta ja molempia sokereita käytettäessä vähäistä kasvua oli havaittavissa. Näiden perusteella parhain kasvatustulos saatiin intiaani- ja juurikassokeria käytettäessä.

### 5.3 Pullokäymisprosessi: maustamattomat kefiirit

Maustamattomissa vesikefiireissä käymisen jälkeen kefiiriä pulloitettiin sellaisenaan ilman makuaineita. Tuloksissa vertailtiin pullokäymisen kestoja niin huoneenlämmössä kuin kylmiössä sekä hiilidioksidilavuutta.



### 5.3.1 Maustamaton kefiiri juurikassokerilla valmistettuna

Juurikassokerilla valmistettujen kefiirien pH mittaukset ennen pullotusta nähtävissä liitteessä 1. pH ennen pullotusta on ollut happamimmillaan 5,4 ja laimeimmillaan 5,9. Verrattuna ennen fermentointia otettuun pH arvoon 6,88, kefiiri on mennyt happamammaksi eli käymistä on tapahtunut, mutta ei kovin voimakkaasti. pH pullokäymisen jälkeen riippumatta käymisen kestosta on selkeästi laskenut. Hiilidioksiditilavuus ei ollut suuri, eli pullokäymisen aikana ei ole muodostunut toivotulla tavalla hiilidioksidia. Maultaan kefiirit ovat olleet vain sokerilla makeutettuja vesiä. Tästä voidaan päätellä, että pelkästään juurikassokerilla fermentoituja ja ilman pullotusvaiheessa lisättyjä makuaineita ei ole kannattavaa tehdä.

### 5.3.2 Maustamaton kefiiri intiaani- ja juurikassokeriseoksella valmistettuna

Intiaani- ja juurikassokerilla valmistettujen kefiirien mittaustulokset liitteessä 2. Pullokäymisen keston keskiarvo huoneenlämmössä on 3,5 vuorokautta ja kylmässä 6,5 vuorokautta. pH on hieman laskenut pullokäymisen aikana, mutta ei kovin merkittävästi. Maku pullokäymisen jälkeen kefiireissä oli simamainen, mutta vähemmän makea. Yksi pullo oli jäänyt kylmiöön 23 vuorokaudeksi ja lopputuloksena oli suutuntumaltaan sopiva hiilidioksidipitoisuus ja maultaan raikas, ei liian makea kefiiri. Tämän perusteella pääteltiin, että pitkä, kylmässä tapahtuva pullokäyminen voi kasvattaa hiilidioksidipitoisuutta.

### 5.4 Herukanlehtiuutteella valmistetut sekä maustetut kefiirit

Kefiirejä, joiden fermentoinnissa käytettiin herukanlehtiuutetta, pullotettiin sellaisenaan sekä maustettiin sitruunamehutiivisteellä. Sitruunamehutiivisteen ja sokerin lisäämisellä fermentoinnin jälkeen haluttiin katsoa, onko tällä vaikutusta pullokäymiseen tai sen aikana muodostuvan hiilidioksidin määrään. Tuloksissa vertailtiin pullokäymisen kestoja niin huoneenlämmössä kuin kylmiössä sekä hiilidioksiditilavuutta.

#### 5.4.1 Herukanlehtiutteleella ja juurikassokerilla käyneet kefiirit

Taulukkoon 2 on koottu herukanlehtiutteleella ja juurikassokerilla sekä pelkällä juurikassokerilla valmistettujen kefiirien tärkeimpiä vertailtavia tuloksia pullokäymistä ennen sekä sen jälkeen. Liitteessä 3 mittaukselliset löytyvät laajemmin.

Taulukko 2. Herukanlehtiutteen käytön vertailu

	Herukanlehtiute ja juurikassokerikefiiri	Juurikassokerilla valmistettu kefiiri
pH ennen pullokäymistä	4,69	5,7
Pullokäymisen kesto huoneenlämmössä (vrk)	4,0	4,4
Pullokäymisen kesto kylmässä (vrk)	2,3	29,0
pH pullokäymisen jälkeen	4,15	4,16
Hiilidioksiditilavuus CO <sub>2</sub>	1,19	1,02

Verrattuna pH arvoja keskenään ennen pullokäymistä, herukanlehtiutetta fermentoinnissa käytetyssä kefiirissä pH on ollut selkeästi happamampi ja käymistä on tapahtunut. Huoneenlämmössä tapahtuneen pullokäymisen keskiarvot ovat lähellä toisiaan, mutta kylmiössä tapahtuneessa pullokäymisessä on suuri ero.

Pullokäymisen jälkeen pH arvo on selkeämmin laskenut maustamattomassa kefiireissä eikä niiden välillä ole suurta eroavaisuutta. Hiilidioksiditilavuudessa on havaittavissa pientä eroavaisuutta. Ero voi johtua herukanlehtiutteen käytöstä tai siitä, että juurikassokerilla valmistetuissa kefiireissä fermentointi ei ole ollut voimakasta mikä on vaikuttanut hiilidioksidin muodostumisen vähyyteen pullokäymisessä.

Lopputuotteen maussa ei erottanut, että herukanlehtiutetta olisi käytetty fermentoidessa, mutta tuote ei myöskään ollut niin makea verrattuna juurikassokerilla valmistettuun kefiiriin. Tämän perusteella voitiin päätellä, että

käytettäessä herukanlehtiutetta fermentoidessa ei ollut selkeästi lopputuotetta parantavaa vaikutusta.

Taulukkoon 3 on koottu herukanlehtiutteella ja juurikassokerilla fermentoitujen sekä sitä käymisen jälkeen sitruunamehutiivisteellä sekä sokerilla maustettujen kefiirien mittaustulokset.

Taulukko 3. Herukanlehtiutteella sekä juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien mittaustulosten vertailua

	Herukanlehti- uute ja juurikas- sokerikefiiri	Herukanlehti- uute ja juurikas- sokerikefiiri sekä 0,2 m-% sitruuna	Herukanlehti- uute ja juurikas- sokerikefiiri sekä 1,0 m-% sitruuna	Herukanlehti- uute ja juurikas- sokerikefiiri sekä 2,0 m-% sitruuna	Herukanlehti- uute ja juurikas- sokerikefiiri, 0,2 m-% sitruuna sekä 0,4 m-% sokeri
pH ennen pullokäymistä	4,69	2,96	2,60	2,81	3,04
Pullokäymisen kesto huoneen- lämmössä (vrk)	4,0	3,5	5	2	3,5
Pullokäymisen kesto kylmässä (vrk)	2,3	3,5	0	0	3,5
pH pullokäymisen jälkeen	4,15	3,06	2,64	2,53	3,07
Hiilidioksidi- tilavuus CO <sub>2</sub>	1,19	1,14	1,40	1,04	1,03

Huomattavampana erona näiden kefiirien välillä on, että parhain hiilidioksiditilavuus oli herukanlehtiutteella sekä juurikassokerilla fermentoitu ja 1,0 m-% sitruunalla maustetussa kefiirissä. Tuloksista voitaisiin päätellä, että 2,0 m-% sitruunapitoisuudella tai sokerin lisäyksellä pulloitusvaiheessa ei ollut vaikutusta lopputuotteen hiilidioksiditilavuuden parantamiseen. On kuitenkin otettava huomioon, että tulokset eivät ole suoraan verrattavissa toisiinsa, koska pullokäyminen on ollut eri pituista. Tämän vuoksi tulokset ovat enemmän suuntaa antavia.

Makuun sitruunan lisäyksellä oli vaihtelevia vaikutuksia. Sitruunaa 0,2 m-% sisältävät kefiireissä sitruuna ei maistunut lopullisessa tuotteessa. 1,0 m-%

pitoisuudessa sitruunan maku tuli sopivasti esiin ja toimi hyvin makua antavana raaka-aineena. Sitruunapitoisuuden ollessa 2,0 m-% sitruunan maku oli liian vahva ja teki kefiiristä liian happaman. Maun sekä hiilidioksiditilavuuden perusteella 1,0 m-% sitruunaa sisältävät kefiirit olivat parhaimpia ja tällä sitruunamehutiivistemäärällä tuotteen makua sekä hiilidioksiditilavuutta saadaan parannettua.

#### 5.4.2 Herukanlehtiuutteella sekä intiaani- ja valkoisella sokeriseoksella valmistetut kefiirit

Taulukkoon 4 on koottuna herukanlehtiuutteella sekä intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien mittaustuloksien keskiarvot, joita verrataan intiaani- ja juurikassokerilla valmistettuun kefiiriin. Lisäksi taulukkoon on otettu vertailuun sitruunamehutiivistettä sekä sokeria sisältävät herukanlehtiuutteella sekä intiaani- ja juurikassokerilla valmistetut kefiirit. Laajemmat mittaustulokset liitteessä 4.

Taulukko 4. Herukanlehtiuutteella sekä intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien mittaustulosten vertailua

	Herukanlehtiuute sekä intiaani- ja juurikassokerikefiiri	Intiaani- ja juurikassokerikefiiri	Herukanlehtiuute sekä intiaani- ja juurikassokerikefiiri sekä 0,2 m-% sitruuna	Herukanlehtiuute sekä intiaani- ja juurikassokerikefiiri sekä 1,0 m-% sitruuna	Herukanlehtiuute sekä intiaani- ja juurikassokerikefiiri sekä 0,5 m-% sitruuna ja 0,4 m-% sokeri
pH ennen pullokäymistä	3,71	3,76	3,31	2,71	3,31
Pullokäymisen kesto huoneenlämmössä (vrk)	3,5	3,5	3,5	5	2
Pullokäymisen kesto kylmässä (vrk)	1,8	6,5	3,5	0	5
pH pullokäymisen jälkeen	3,59	3,29	3,28	2,74	3,28
Hiilidioksidi-tilavuus CO <sub>2</sub>	1,11	1,72	1,32	2,02	1,16

Huoneenlämmössä tapahtuneen pullokäymisen kestossa ei ole valtavia eroja, pisin käyminen on 1,0 m-% sitruunaan sisältäneissä kefiireissä.

Pullokäymisessä selkeästi pisin aika on ollut maustamattomassa intiaani- ja juurikassokerilla valmistetuissa kefiireissä, kun taas 1,0 m-% sitruunaa sisältävissä kylmäkäymistä ei ole ollut ollenkaan. Tästä huolimatta hiilidioksidipitoisuus on ollut parhain 1,0 m-% sitruunaa sisältävissä kefiireissä.

Verrattuna herukanlehtiutteen käyttämistä fermentoinnissa ilman sitä sisältävään kefiiriin, ei sillä ole ollut vaikutusta hiilidioksiditilavuuden kasvamiseen. Suoraan ei voi sanoa, onko herukanlehtiutteella ollut vaikutusta hiilidioksiditilavuuden vähäisyyteen vai onko lyhyellä kylmässä tapahtuneella pullokäymisellä ollut suurempi vaikutus. Sokerin käyttämisellä pulloituksen yhteydessä ei ollut hiilidioksiditilavuutta parantavaa vaikutusta.

Makuun sitruunamehutiiviste vaikutti samalla tavalla kuin herukanlehtiutteella ja valkoisella sokerilla fermentoiduissa kefiireissä: pienimmällä sitruunapitoisuudella maku ei tullut esiin ja suurimmalla pitoisuudella sitruunan maku oli liian vahva. Herukanlehtiute ei myöskään maistunut tuotteesta.

Tulosten perusteella voidaan päätellä, että herukanlehtiutetta fermentoinnissa käytettäessä ei ole ollut vaikutusta hiilidioksiditilavuuden kasvamiseen. Parhain tulos saatiin herukanlehtiutteella fermentoidussa ja sitruunaa 1,0 m-% sisältävässä kefiirissä. Voidaan siis todeta, että näissä kokeiluissa 1,0 m-% sitruunamehutiivistepitoisuus oli parhain ja paransi lopputuotetta.

#### 5.4.3 Juurikassokerilla valmistetut ja herukanlehtiutteella maustetut kefiirit

Juurikassokerilla fermentoituja kefiirejä maustettiin käymisen jälkeen herukanlehtiutteella. Aluksi kokeiltiin maustaa herukanlehtiutteella juurikassokerilla valmistettua kefiiriä 2 m-%, 5 m-% ja 8 m-% pitoisuuksilla, mutta ensimmäisten maistamisten jälkeen huomattiin, että kyseiset pitoisuudet ovat hyvin alhaisia eivätkä maistu lopputuotteessa, minkä vuoksi niiden testaamista ei jatkettu. Liitteessä 5 laajemmat tulokset mittauksista ja taulukossa 5 kerätty tuloksia vertailuun.

Taulukko 5. Juurikassokerilla fermentoidut ja herukanlehtiutteleella maustettujen kefiirien vertailu

	Juurikas- sokerilla valmistettu kefiiri	Juurikas- sokerilla valmistettu, 10 m-% herukan- lehtiute kefiiri	Juurikas- sokerilla valmistettu, 15 m-% herukan- lehtiute kefiiri	Juurikas- sokerilla valmistettu, 20 m-% herukan- lehtiute kefiiri	Juurikas- sokerilla valmistettu, 25 m-% herukan- lehtiute kefiiri	Juurikas- sokerilla valmistettu, 30 m-% herukan- lehtiute kefiiri
pH ennen pullokäymistä	5,7	6,08	6,00	5,82	5,92	-
Pullokäymisen kesto huoneen- lämmössä (vrk)	4,4	4,75	5	4,8	5	3
Pullokäymisen kesto kylmässä (vrk)	29,0	1,75	0,7	1,8	0,7	2
pH pullokäymisen jälkeen	4,2	4,39	4,39	4,40	4,44	4,56
Hiilidioksidi- tilavuus CO <sub>2</sub>	1,02	1,46	1,41	1,45	1,38	1,65

Herukanlehtiutetta 30 m-% sisältävissä kefiireissä pH mittausta ennen pullokäymistä ei suoritettu. Muiden pH lukujen perusteella ennen ja jälkeen pullokäymisen voidaan todeta, että jonkinasteista käymistä on tapahtunut.

Hiilidioksiditilavuuksia verrattaessa parhain tulos on 30 m-% herukanlehtiutetta sisältävässä kefiirissä. Maultaan kefiiri oli kuitenkin kitkerää eikä sen vuoksi ole testailtuista herukanlehtiutepitoisuuksista parhain. Myös 25 m-% herukanlehtiutepitoisuus oli maultaan kitkerää. Maultaan parhain tulos saatiin 20 m-% herukanlehtiutepitoisuudella ja kefiiri oli myös tuoksultaan miellyttävän herukkainen. Sitä alemmat herukanlehtiutepitoisuudet sisältävissä kefiireissä herukanlehtiutetta ei maistanut.

Makutulosten perusteella parhain herukanlehtiutepitoisuus oli 20 m-%, vaikka hiilidioksidilavuus ei ollut parhain. Verrattuna vain juurikassokerilla maustettuun kefiiriin hiilidioksidilavuus sekä maku olivat selkeästi parempia. Näiden tulosten perusteella voidaan todeta, että herukanlehtiutteen lisäyksellä voi olla positiivista vaikutusta hiilidioksidilavuuteen.

Herukanlehtiutteella sekä sitruunamehutiivisteellä maustettuja, juurikassokerilla valmistettujen kefiirien tuloksia on vertailtu keskenään taulukossa 6.

Taulukko 6. Juurikassokerilla fermentoitujen ja sitruunamehutiivisteen sekä herukanlehtiutteella maustetuissa kefiirien tuloksia

	Juurikas- sokerilla valmistettu kefiiri	Juurikas- sokerilla valmistettu, 15 m-% herukan- lehtiute kefiiri + 1,0 m-% sitruuna	Juurikas- sokerilla valmistettu, 20 m-% herukan- lehtiute kefiiri + 1,0 m-% sitruuna	Juurikas- sokerilla valmistettu, 20 m-% herukan- lehtiute kefiiri + 2,0 m-% sitruuna	Juurikas- sokerilla valmistettu, 25 m-% herukan- lehtiute kefiiri + 1,0 m-% sitruuna
pH ennen pullokäymistä	5,7	3,93	4,10	3,42	5,35
Pullokäymisen kesto huoneen- lämmössä (vrk)	4,4	3	4	4	4,5
Pullokäymisen kesto kylmässä (vrk)	29,0	0	3,5	5	0,5
pH pullokäymisen jälkeen	4,2	3,74	3,75	3,27	4,32
Hiilidioksidi- tilavuus CO <sub>2</sub>	1,02	1,12	1,33	1,33	1,34

Hiilidioksiditilavuudessa ei ole suuria eroja sitruunamehupitoisuuden ollessa 1,0 m-% tai 2,0 m-%. Kefiirissä, jossa oli 15 m-% herukanlehtiutetta ja 1,0 m-% sitruunamehutiivistettä, hiilidioksiditilavuus oli jäänyt pienemmäksi verrattuna muihin sitruunaa sisältäviin kefiireihin. Tämä on voinut johtua kylmiössä tapahtuneen pullokäymisen puuttumisesta, sillä muut vertailukefiirit ovat olleet kylmiössä vähintään 0,5 vuorokautta. Toinen mikä hiilidioksidin vähyyteen on voinut vaikuttaa, on siementen metabolia. Jos siementen metabolia on ollut hidasta ja käyminen on ollut vähäistä, on tällä voinut olla vaikutusta pullokäymiseen ja näin ollen hiilidioksiditilavuuteen.

Maultaan parhain kefiiri näistä vertailuista oli 20 m-% herukanlehtiutetta ja 1,0 m-% sitruunaa sisältävä kefiiri. Herukanlehtiute toi hennosti makua ja sitruuna antoi pientä kirpeyttä juomalle.

#### 5.4.4 Herukanlehtiutteella maustetut, intiaani- ja juurikassokerilla fermentoidut kefiirit

Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoituja kefiirejä maustettiin käymisen jälkeen herukanlehtiutteella sekä sitruunamehutiivisteellä. Tarkemmat mittaustulokset liitteessä 6, joista on koostettu tuloksia vertailuun taulukkoon 7.

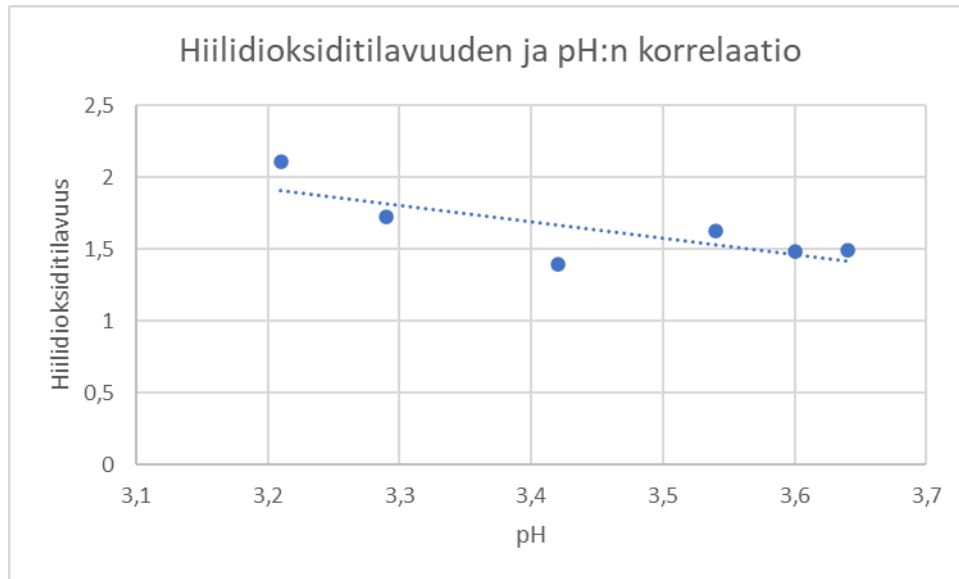
Herukanlehtipitoisuudella 10 m-% tai alle maustamista ei testattu näiden kefiirien kanssa, sillä aiemmin näitä pitoisuuksia juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien kanssa testattua pitoisuudet todettiin liian alhaisiksi. Lisäksi aiemmin saatujen sitruunamehutiivistekäytön tulosten perusteella ja vähäsen kefiirinesteen vuoksi pulloitetiin ainoastaan sitruunaa sisältävä kefiirejä sekä parhaimpana todettua 20 m-% herukanlehtiutepitoisuutta ilman sitruunaa sisältävää kefiiriä.



Taulukko 7. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoidut ja herukanlehtiutulla sekä sitruunamehutiivisteellä maustettujen kefiirien vertailua

	Intiaani- ja juurikas-sokerikefiiri	Intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu, 20 m-% herukanlehtiute kefiiri	Intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu, 15 m-% herukanlehtiute kefiiri + 1,0 m-% sitruuna	Intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu, 20 m-% herukanlehtiute kefiiri + 1,0 m-% sitruuna	Intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu, 20 m-% herukanlehtiute kefiiri + 2,0 m-% sitruuna	Intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu, 25 m-% herukanlehtiute kefiiri + 1,0 m-% sitruuna
pH ennen pullokäymistä	3,76	3,74	3,79	3,86	3,31	3,95
Pullokäymisen kesto huoneenlämmössä (vrk)	3,5	4	3	3,7	3	3
Pullokäymisen kesto kylmässä (vrk)	6,5	5	0	5,3	12	0
pH pullokäymisen jälkeen	3,29	3,64	3,42	3,54	3,21	3,60
Hiilidioksidi-tilavuus CO <sub>2</sub>	1,72	1,49	1,39	1,63	2,11	1,48

Tulosten perusteella parhain hiilidioksidipitoisuus oli 20 m-% herukanlehtiutetta ja 2,0 m-% sitruunaa sisältävässä kefiirissä. Tähän on vaikuttanut suurimmalla todennäköisyydellä kylmiössä tapahtuneen pullokäymisen pituus kuin herukanlehtiutteen tai sitruunan käyttö.



Kuvio 6. Hiilidioksiditilavuuden ja pH:n korrelaatio

Kuviossa 6 olevan kuvaajan perusteella voidaan todeta, että hiilidioksiditilavuuden kasvaessa pH laskee eli muuttuu happamammaksi.

Verrattuna 20 m-% herukanlehtiutetta, ilman sitruunaa sisältävää kefiiriä saman verran herukanlehtiutetta sisältävään sekä 1,0 m-% sitruunaa sisältävään kefiiriin, on huomattavissa eroa hiilidioksiditilavuudessa. Sitruunaa sisältävässä kefiirissä hiilidioksiditilavuus on hieman suurempi. Pullokäymiset niin huoneenlämmössä kuin kylmiössä ovat olleet pituudeltaan samaa luokkaa, minkä perusteella voidaan päätellä, että sitruunamehutiivistelisyksellä on ollut vaikutusta hiilidioksidinmuodostumiseen.

Kun vertaa tuloksia pelkästään intiaani- ja juurikassokerilla valmistettuun kefiiriin, voidaan päätellä, että pelkästään herukanlehtiutteen käyttämisellä ei ole ollut vaikutusta hiilidioksiditilavuuden kasvamiseen. Hiilidioksiditilavuus 1,0 m-% sitruunaa sekä 20 m-% herukanlehtiutetta sisältävässä kefiirissä on lähellä intiaani- ja juurikassokerilla valmistetun kefiirin hiilidioksiditilavuuteen. Tämän perusteella voidaan todeta, että sitruunamehutiiviste lisää hiilidioksiditilavuutta, mutta suurempi merkitys hiilidioksidin muodostumiselle on kylmiössä tapahtuvalla pullokäymisellä.

Maultaan 2,0 m-% sitruunamehutiivistettä sisältävät kefiirit ovat olleet liian happamia, kun taas 1,0 m-% sitruunapitoisuus on vaikuttanut makuun tuomalla sopivasti pientä kirpeyttä. Herukanlehtiutepitoisuuksista parhain näissäkin kefiireissä oli 20 m-%. Tämän perusteella voidaan todeta, että näissä kokeiluissa parhain makuyhdistelmä oli 20 m-% herukanlehtiutetta ja 1,0 m-% sitruunamehutiivistettä sisältävät kefiirit.

## 5.5 Sitruunamehutiivisteiden käyttö maustamattomassa kefiirissä

Sitruunamehutiivistettä kokeiltiin käyttäessä pullotusvaiheessa juurikassokerilla valmistettujen kefiirien kanssa 0,2 m-%, 0,5 m-%, 1,0 m-%, 1,2 m-% ja 2,0 m-% pitoisuuksilla ja intiaani- ja juurikassokerilla valmistetun kefiirin kanssa 0,2 m-%, 1,0 m-%, 1,2 m-% ja 2,0 m-% pitoisuuksilla. Sitruunamehua sisältäviä kefiirejä verrattiin ilman sitruunaa sisältäviin kefiireihin.

### 5.5.1 Sitruunamehutiivisteiden käyttö juurikassokerilla valmistetuissa kefiireissä

Taulukkoon 8 on koostettu vertailua helpottamaan tuloksia niin ilman sitruunaa sisältäviä kuin sitruunaa sisältäviä kefiirejä. Laajemmat tulokset nähtävillä liitteessä 7.

Taulukko 8. Sitruunalla maustettujen kefiirien vertailuja

	Juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri	Juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri + 0,2 m-% sitruuna	Juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri + 0,5 m-% sitruuna	Juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri + 1,0 m-% sitruuna	Juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri + 1,2 m-% sitruuna	Juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri + 2,0 m-% sitruuna
pH ennen pullokäymistä	5,7	2,94	2,74	2,62	2,99	2,73
Pullokäymisen kesto huoneen- lämmössä (vrk)	4,4	4,3	5	3,9	5,3	3,7
Pullokäymisen kesto kylmässä (vrk)	29,0	2,3	9	26,7	9,3	4,7
pH pullokäymisen jälkeen	4,2	3,17	3,01	2,71	2,93	2,62
Hilidioksiditiilavuus CO <sub>2</sub>	1,02	1,04	1,11	1,43	0,93	1,02

Tuloksista huomataan selkeästi, että parhain hiilidioksidipitoisuus on 1,0 m-% sitruunaa sisältävällä kefiirillä. Tähän on suoraan vaikuttanut kylmiössä tapahtuneen pullokäymisen pituus. Vähäisimmällä sitruunamehutiivistepitoisuudella eli 0,2 m-% ei ollut hiilidioksidilavuutta parantavaa vaikutusta, mutta 0,5 m-% sitruunapitoisuudella on jo selkeämpää eroa hiilidioksidilavuudessa.

Liitteen 7 laajemmista tuloksista huomataan, että joissakin kefiireissä kylmiössä tapahtuva pullokäyminen on ollut erittäin pitkä. Tämä johtuu suurelta osin siitä, että mittaamiseen käytettävä laite oli yrityksessä käytössä ja näin ollen pitkitti mittausten ottamista. Pitkään kylmässä olleet kefiirit olivat hiilidioksidipitoisuudeltaan jo niin suuria, että kuohuivat pullosta yli paineita mitattaessa sekä pelkästään pullon avatessa. Maultaan nämä kefiirit olivat kirpeämpiä kuin vähemmän aikaa kylmiössä olleet, saman määrän sitruunaa sisältäneet kefiirit. Tästä voidaan päätellä, että kylmiössä tapahtuvalla pullokäymisellä on tärkeä merkitys hiilidioksidinmuodostumiseen, mutta mikäli pullokäyminen kylmässä on jatkunut hyvin pitkään, alkaa sillä olemaan tuotetta huonontavia vaikutuksia.

Sitruunamehupitoisuuden ollessa 1,2 m-%, hiilidioksidilavuus on kaikista alin. Tähän on voinut vaikuttaa käymisen jääminen vähäiseksi, mikä on ollut seurausta siementen metabolian hidastumisella.

Maultaan 1,0 m-% sitruunaa sisältävät kefiirit olivat parhaimpia, jolloin sitruunan maku tuli tunnistettavasti esiin, mutta ei ollut liian voimakas.

#### 5.5.2 Sitruunamehutiivisteiden käyttö intiaani- ja juurikassokerilla valmistetuissa kefiireissä

Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoituja ja sitruunamehutiivisteellä maustettujen kefiirien vertailtavia tuloksia koottu taulukkoon 9. Laajemmin mittaustulokset nähtävillä liitteessä 8.

Taulukko 9. Sitruunamehutiivisteiden käyttö intiaani- ja juurikassokerilla valmistuissa kefiireissä

	Intiaani- ja juurikas-sokerikefiiri	Intiaani- ja juurikas-sokerikefiiri + 0,2 m-% sitruuna	Intiaani- ja juurikas-sokerikefiiri + 1,0 m-% sitruuna	Intiaani- ja juurikas-sokerikefiiri + 1,2 m-% sitruuna	Intiaani- ja juurikas-sokerikefiiri + 2,0 m-% sitruuna
pH ennen pullokäymistä	3,76	3,16	-	3,15	2,95
Pullokäymisen kesto huoneenlämmössä (vrk)	3,5	3,5	4	5,3	4
Pullokäymisen kesto kylmässä (vrk)	6,5	3,5	8	1,23	5
pH pullokäymisen jälkeen	3,29	3,29	3,29	3,15	2,91
Hiilidioksiditiilavuus CO <sub>2</sub>	1,72	1,29	1,39	1,67	1,54

Sitruunamehutiivisteiden 1,0 m-% kefiirissä ei suoritettu pH mittausta ennen pulloamista.

Parhaimmat hiilidioksiditiilavuudet ovat ilman sitruunaa sisältävässä ja 1,2 m-% sitruunaa sisältävässä kefiirissä. Näiden tulosten perusteella voidaan päätellä, että kylmiössä tapahtuvalla pullokäymisellä suurempi vaikutus kuin sitruunamehutiivisteiden käytöllä.

Verrattuna ilman sitruunamehua sisältävään kefiiriin, hiilihappojen määrä maisteltaessa oli sopiva, mutta maultaan sitruunaa sisältävä kefiiri oli huonompi kuin maustamaton kefiiri. Maussa sitruuna tuli liian vahvasti esiin ja oli epämiellyttävä. Näiden tulosten perusteella voidaan todeta, että sitruunamehulla ei ollut tuotetta parantavaa vaikutusta.

## 5.6 Aistinvaraiset vertailut kaupalliseen vesikefiiriin

Valmistettuja kefiirejä vertailtiin aistinvaraisesti kahteen erilaiseen kaupalliseen vesikefiiriin, liitteessä 9 nähtävillä taulukoituna aistinvaraiset arvioinnit.

Ulkonäöllisesti valmistetut kefiirit olivat joko kirkkaita, hieman sameita tai vaalean ruskeita ja kaupalliset kefiirit olivat vaaleanpunaisia. Valmistetut kefiirit olivat tuoksultaan joko hajuttomia, happamia tai herukkaisia, parhaimman tuoksuksena pidettiin 20 m-% herukanlehtiuutetta sisältävää, juurikassokerilla fermentoitua kefiiriä. Kaupalliset kefiirit olivat hajultaan sekä maultaan pistäviä ja epämiellyttäviä. Valmistetuista kefiireistä parhaimman makuisina pidettiin maustamatonta, intiaani- ja juurikassokerilla valmistettua kefiiriä, joka oli ollut kylmiössä pullokäymässä 23 vuorokautta. Lisäksi 1,0 m-% sekä 2,0 m-% sitruunapitoisuudella maistettua, juurikassokerilla fermentoituja kefiirejä pidettiin maultaan miellyttävinä. Näiden perusteella voidaan todeta, että pienellä sitruunamehupitoisuudella, herukanlehtiuutelisäyksellä ja pidemmällä kylmiössä pullokäymisellä saadaan parhain lopputulos.

## 5.7 Mikrobiologinen alustava tunnistus

Ennen prosessin alkua suoritettujen maljaviljelyiden tulokset luettiin neljä päivää inkuboinnin jälkeen ja gram-värjättiin 10 päivää pesäkkeiden lukemisen jälkeen. Pesäkkeet ovat voineet kasvaa lisää jääkaapissa pitämisen ajan, mikä on voinut vaikuttaa tuloksiin.

Mikrobien konsentraatio maljalla laskettiin seuraavalla kaavalla:

$$y = \frac{c}{v}$$

Kaava 1. Laskukaava mikrobikonsentraatiolle

Kaavassa 1 y tarkoittaa mikrobi konsentraatiota, c tarkoittaa pesäkkeiden lukumäärää (pmy) ja v tarkoittaa laimennostilavuutta (ml).

Kaikissa viljelyissä -4 eli 1:100000 laimennos oli liian suuri ja joistakin kannoista oli mahdotonta laskea pesäkemääriä. Kuivakanta 1:stä oli mahdoton laskea pesäkemääriä. Taulukossa 10 on laskettuna mikrobikonsentraatio – 4 laimennoksessa kuivakanta 2:ssa sekä pesäkkeiden lukumäärä.

Taulukko 10. Kuivakanta 2 maljaviljelyiden tulokset

Muoto	Pesäkkeiden määrä	Mikrobikonsentraatio (pmy/ml)
Pallomainen	12	$1,2 \cdot 10^5$
Pitkulainen	67	$6,7 \cdot 10^5$

Taulukossa 11 laskettuna kanta 2 mikrobikonsentraatiot -4 laimennoksessa sekä pesäkkeiden määrä.

Taulukko 11. Kanta 2 maljaviljelyiden tulokset

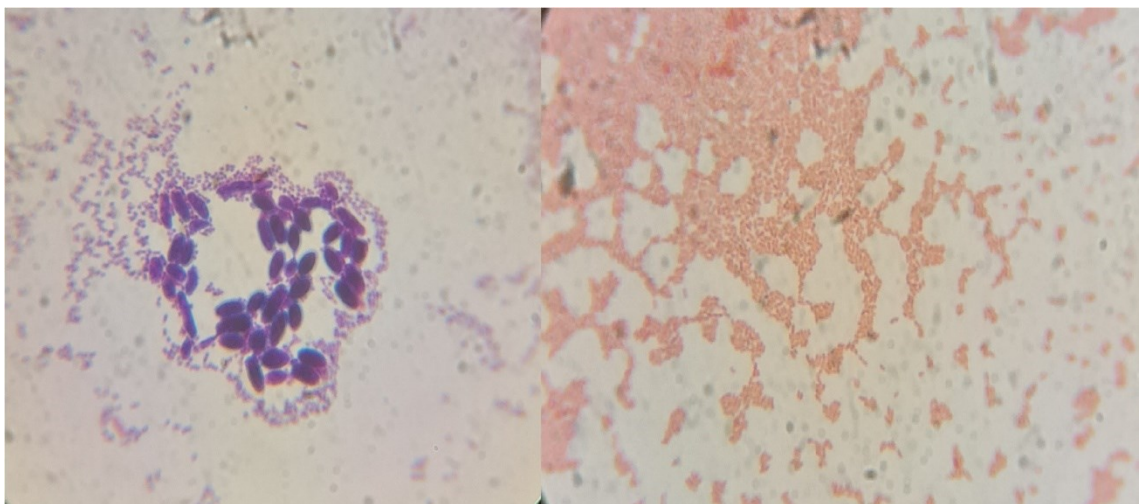
Pesäkemuoto	Pesäkkeiden määrä	Mikrobikonsentraatio (pmy/ml)
Homepesäke, pesäkemuoto pyöreä	43	$4,3 \cdot 10^5$
Bakteeripesäke, pesäkemuoto soikea	200	$2,0 \cdot 10^7$
Bakteeripesäke, pesäkemuoto pyöreä	44	$4,4 \cdot 10^5$

Kanta 1 eli prosessiin valikoidussa kannassa pesäkkeet laskettiin -3 laimennosmaljoilta, sillä -4 laimennosmaljat eivät olleet hyytyneet ja näin ollen olivat lukukelvottomia. Taulukossa 12 laskettujen pesäkkeiden määrät sekä mikrobikonsentraatiot. Maljasta havaittiin kolmea erilaista kasvustoa, mutta kolmatta, pyöreää muotoa, oli mahdoton laskea, mutta se erotettiin silmämääräisesti.

Taulukko 12. Kanta 1 maljaviljelyiden tulokset

Pesäkemuoto	Pesäkkeiden määrä	Mikrobikonsentraatio (pmy/ml)
Homepesäke, pyöreä	26	$2,6 \cdot 10^4$
Bakteeripesäke, pitkulainen	100	$1,0 \cdot 10^5$

Gram-värjäyksien tuloksissa kuivakanta 1:ssä havaittiin selkeästi hiivasolu sekä gram negatiivinen sauvabakteeri ja kuivakanta 2 havaittiin selkeästi hiivasolu. Tuorekanta 2 havaittiin pienempi ja isompi gram-positiivinen sauvabakteeripesäke. Tuorekanta 1 eli prosessissa käytetystä kannasta havaittiin gram-negatiivinen sauvabakteeri sekä kokkibakteeri. Kuvissa 7 mikroskopoidessa havaittuja hiivasoluja vasemmalla ja oikealla bakteerisoluja.



Kuva 7 Gram-värjättyjä näytteitä

Käytännön osuuden loputtua maljaviljelyt tehtiin levossa olevista tuorekanta 1 siemenistä, prosessissa vasta ikään käytetyistä tuorekanta 1 siemenistä sekä tuorekanta 2 siemenistä. Maljat luettiin 4 vuorokautta inkuboimisen jälkeen ja gram-värjättiin heti lukemisen jälkeen laimennoksista -6 eli 1:10000000. Taulukossa 13 maljaviljelyiden tulokset siemenistä testien päätyttyä.



Taulukko 13. Maljaviljelyiden pesäkkeiden tulokset testien päätyttyä

Malja	Pesäkettä muodostava yksikkö (pmy)
Kanta 1 lepo	$2,2 \cdot 10^7$
Kanta 1 prosessissa käytetyt	$3,5 \cdot 10^7$

Levossa olleista tuorekanta 1 siemenien -6 laimennoksesta laskettiin 22 pesäkettä. Gram-värjäyksissä havaittiin selkeitä hiivasauvoja sekä hiivapalloja. Prosessissa käytetyistä tuorekanta 1 siemenien -6 laimennoksesta laskettiin 35 pesäkettä. Gram-värjäyksistä havaittiin gram-positiivisia sekä gram-punaisia kokkibakteereja. Lisäksi havaittiin selkeitä hiivapalloja. Tuorekanta 2 siemenien -6 laimennoksesta laskettiin 20 pesäkettä sekä kolme väriltään punaista pesäkettä. Gram-värjäyksistä havaittiin gram-negatiivisia pyöreitä bakteereja.

## 6 Loppupäätelmät

Prosessille löydettiin sopiviksi lämpötilaksi 21 °C:tta ja käymisaika noin 48 tuntia. Tässä ajassa kefiiri oli alkanut selkeästi käymään ja oli valmis jatkokäsittelyä varten. Huoneenlämmössä tapahtuva pullokäymistä on seurattava aistinvaraisesti ja eräkohtaisesti. Kehitysehdotuksena fermentoimista voisi kokeilla 24 tunnin ajan, mikä myös teoreettisessa prosessissa on mainittuna ja verrata, onko lyhyemmällä fermentointiajalla jotain vaikutusta lopputuotteeseen.

Testeissä käytettiin hanavettä, mutta jatkoehdotuksena on kokeilla, olisiko suodatetulla vedellä vaikutusta lopputuotteen laatuun. Joidenkin lähteiden mukaan suodatetun veden käyttäminen tekee kefiiristä parempaa, kun vedestä on suodatettu pois mahdolliset kloorin sekä muiden aineiden jäämiä, hajuja että makuja. Testeissä maustamattomissa kefiireissä missä vain sokeri tai sokerit antoivat makeuden, oli ongelmana juoman pelkkä makeus, mutta mikäli hiilihappoja oli muodostunut, se teki juomasta selkeästi parempaa.

Käytettyinä sokereina intiaani- ja juurikassokeri yhdistelmä toimi parhaiten, mikäli haluttiin kasvattaa siementen määrää. Sokerien yhdistämisellä siementen metabolia ei myöskään hidastunut vaan fermentoitumista tapahtui, vaikka siemeniä käytettiin uusien erien fermentoimiseen. Tavoitteena oli kuitenkin lopputuloksena saada vaaleapohjainen juoma, minkä vuoksi pelkällä juurikassokerilla fermentoiminen oli ensisijainen tavoite.

Siementen metabolia hidastui kolmen peräkkäisen erän jälkeen selkeästi käytettäessä vain juurikassokeria, minkä jälkeen ne täytyi laittaa lepoliemeen elpymään. Tämä voi aiheuttaa tehdasolosuhteissa haasteita, sillä mikäli tuotteen kysyntä olisi suurta ja tuotannon täytyisi olla suurta, tulisi varalla olla niin sanotusti tuliteriä siemeniä, jotka voisi vain herättää käytettäväksi tuotantoon ja käytetyt siemenet voitaisiin laittaa lepoon. Tätä pitäisi kuitenkin tutkia tarkemmin, kuinka monta kertaa siemenet tällaista kiertoprosessia kestävät ja missä vaiheessa siemenet ovat niin sanotusti loppuun käytetyt. Lisäksi kehitysehdotuksena on tutkia elvyttääkö lepoliemessä oleminen

siemeniä riittävästi, että niitä voisi käyttää määrittämättömän ajan. Toisena kehitysehdotuksena on, löytyisikö valkoisen sokerin rinnalle joku raaka-aine, joka toisi siemenille tarvittavaa ravintoa käymiseen, mutta ei värjäisi nestettä.

Fermentoinnissa kokeiltu herukanlehtiute ei vaikuttanut parantavasti lopputuotteeseen eikä käymiseen. Pientä eroa oli hiilidioksiditilavuudessa, mutta ero on todennäköisimmin johtunut pidempään kylmiössä tapahtuneesta pullokäymisestä. Makuun vähäinen määrä ei myöskään vaikuttanut ja sitruunamehutiivisteiden lisäyksessä 1,0 m-% pitoisuudella on voinut olla pientä vaikutusta tuotteen hiilidioksiditilavuuden kasvamiseen, mutta tähänkin pullokäymisellä on voinut olla suurempi vaikutus. Herukanlehtiutetta käytettiin suhteellisen vähäinen määrä, joten jatkoehdotuksena on lisätä herukanlehtiutteen määrää käymiseen ja katsoa onko sillä jotain vaikutusta.

Fermentoinnin jälkeen lisätyllä herukanlehtiutteella parhain lopputulos saatiin 20 % pitoisuudella. Sitä alemmat pitoisuudet eivät maistuneet lopputuotteessa ja sitä suuremmat toivat katkeraa makua, mikä muistutti liian pitkään haudutetulta teeltä. Kuitenkin pitkän kylmiössä tapahtuneen pullokäymisen jälkeen lopputuotteen maku tällä herukanlehtiutepitoisuudella oli epämiellyttävän kitkerä, mutta tuotteen tuoksu oli miellyttävä. Herukanlehtien sisältämällä villihiivoilla on voinut olla vaikutusta lopputuotteeseen, vaikka herukanlehtiute on kiehautettu villihiivojen poistamiseksi. Jatkoehdotuksena on kokeilla matalampaa pitoisuutta, mutta pitkää kylmiössä tapahtuvaa käymisaikaa ja katsoa, olisiko silloin maku parempi. Toinen vaihtoehto olisi testata lisätä jotain raaka-ainetta, mikä ei peitä liikaa herukanlehden makua, mutta auttaa kitkerän maun poistamisessa.

Käymisen jälkeen kefiiristä siivilöitiin siemenet erilleen tavallisen, tiheäreikäisen siivilän avulla. Erotettua nestettä eli kefiiriä ei suodatettu, ainoastaan joissakin tapauksissa maustettiin ennen pullotusta. Suodattamisen kokeileminen ennen pullotusta olisi hyvä testattava ja katsoa, vaikuttaisiko se tuotteen lopputulokseen. Suodattamisessa kuitenkin haasteena on, että suodattamalla nesteessä olevat mikrobit tai ainakin osa niistä voi jäädä suodattimeen ja näin

ollen lopputuotteessa ei välttämättä ole riittävästi mikrobeja, jotta sen voitaisiin edes kuvitella olevan probioottinen juoma.

Tässä opinnäytetyössä ei tutkittu etanolipitoisuutta pullotuksen jälkeen. Tämä olisi tärkeää selvittää, sillä joissakin tutkimuksissa on havaittu, että etanolipitoisuus kasvaa seitsemän päivän jälkeen liian suureksi, että tuotetta ei voi kutsua enää alkoholittomaksi. Tähän auttaisi tuotteen pastöroiminen sen jälkeen, kun tuotteessa on havaittu olevan halutun verran hiilidioksidia, mutta pastörointi tappaisi tuotteessa olevat mikrobit, minkä jälkeen tuote ei enää sisältäisi eläviä mikrobeja. Toinen vaihtoehto olisi, että tuote pastöroitaisiin heti fermentoinnin jälkeen, kun tuotteeseen on lisätty halutut makuaineet ja jälkikäteen lisättäisiin esimerkiksi maitohappobakteerikantaa tuomaan mikrobeja sekä lisättäisiin hiilihapot mekaanisesti hiilidioksidilaitteella.

Alustavien mikrobiologisten tunnistusten perusteella havaittiin, että molemmat tuorekannat sisälsivät selkeästi bakteereja sekä hiivoja, mutta kuivakannoista löytyi pelkkiä hiivasoluja. Tämän perusteella voidaan todeta, että prosessissa käytetyssä tuorekannassa oli selkeästi havaittavissa bakteereja.

Aistinvaraisten testien perusteella valmistetut kefiirit olivat maultaan parempia kuin kaupalliset kefiirit. Vaikka valmistetuissa kefiireissäkin oli parantamisen varaa, olivat ne silti parempia. Tästä voidaan päätellä, että oikeat raaka-aineet ja niiden määrät löytämällä sekä pullokäymisprosessin optimoimisella tuotteella olisi ehdottomasti mahdollista potentiaalia markkinoille.

## Lähteet

Arroyo-López, F.N.; Orlić, S.; Querol, A. & Barrio, E. 2009. Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their interspecific hybrid. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 131, 120-127.

Charteris, W.P.; Kelly, P.M.; Morelli, L.; Collins, J.K. 1997. Selective detection, enumeration and identification of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in mixed bacterial populations. Vaatii käyttäjätunnuksen. *International Journal of Food Microbiology*. Vol 35, 1-27.

Cultures for health 2022. Rehabilitating water kefir grains. Viitattu 17.04.2023. <https://culturesforhealth.com/blogs/learn/water-kefir-rehabilitating-water-kefir-grains>

Cultures for health 2022. Bottling water kefir. Viitattu 03.05.2023. <https://culturesforhealth.com/blogs/learn/water-kefir-bottling-water-kefir> POISTA JOS PULLOTUKSESTA POISTETAAN

Díaz-Montes, E. 2021. Dextran: Sources, Structures, and Properties. *Polysaccharides*. Vol 2, No 3, 554-565

Dolores Pendón, M.; Agustina Bengoa, A.; Iraporda, C.; Medrano, M.; Garrote, G. & Abraham, A. 2021. Water kefir: Factors affecting grain growth and health-promoting properties of the fermented beverage. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 100, No 1, 162–180.

Enari, T-M & Mäkinen, V. *Panimotekniikka*. 2014. *Panimotekniikka*. 3. uusittu ja laajennettu painos. Kuopio: Grano Oy.

Felis, G.E.; Dellaglio, F. 2007. Taxonomy of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. *Current Issues in Intestinal Microbiology*. Vol 8, 44-61.

Fiorda, F.A.; Vinicius de Melo Pereira, G.; Thomaz-Soccol, V.; Kumar Rakshit, S.; Giovana Binder Pagnoncelli, M.; Porto de Souza Vandenberghe., L & Ricardo Soccol, C. 2017. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation. *Food Microbiology*. Vol. 66, 86-95.

Fu, H.; Yuan, J. & Gao, H. 2015. Microbial oxidative stress response: Novel insights from environmental facultative anaerobic bacteria. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Vol 584, 28-35.

Gulitz, A.; Stadie, J.; Wenning, M.; Ehrmann, M.A. & Vogel, R.F. 2011. The microbial diversity of water kefir. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 151, No 3, 284-288.

Guzel-Seydim, Z.; Gökırmaklıa Ç. & Greene A. Ç. 2021. A comparison of milk kefir and water kefir: Physical, chemical, microbiological and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 113, 42-53.

Holzapfel, W.; Wood, B. 2014. *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*. E-kirja Ebook Central-palvelussa. 1. painos. Iso-Britannia. John Wiley & Sons, Ltd. Vaatii kirjautumisen palveluun. Viitattu 06.04.2023

<https://ebookcentral.proquest.com/lib/turkuamk-ebooks/detail.action?docID=1684368>

Hommel, R.K. & Ahnert, P. 1999. ACETOBACTER. *Encyclopedia of Food Microbiology*. 1-7.

Lapin Maria Oy. Viitattu 02.05.2023. <https://www.lapinmaria.fi/>

Laureys, D.; Cnockaert, M.; Vuyst, L.D. & Vandamme, P. 2016. *Bifidobacterium aquikefiri* sp. nov., isolated from water kefir. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol. 66, No 3.

Lip, K.Y.F.; García-Ríos, E.; Costa, C.E.; Guillamón, J.M.; Domingues, L.; Teixeira, J. & M. van Gulik, W. 2020. Selection and subsequent physiological characterization of industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains during continuous growth at sub- and- supra optimal temperatures. *Biotechnology Reports*. Vol. 26.

Lynch, K.; Wilkinson, S.; Daenen, L. & Arendt, E. 2021. An update on water kefir: Microbiology, composition and production. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 345.

Moretti, A.F.; Moure, M.C.; Quiñoy, F.; Esposito, F.; Simonelli, N.; Medrano, M. & León-Peláez, Á. 2022. Water kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: From ancient and artisanal manufacture to industrialized and regulated commercialization. *Future Foods*. Vol.

Nordic Committee on food analysis. 2006. Nro 86 Aerobiset mikro-organismit määrittäminen elintarvikkeista lämpötiloissa 30 °C, 20 °C tai 6,5 °C.

Nordic Committee on food analysis. 2010. Nro 91 Näytteenotto ja esikäsittely kvantitatiivista mikrobiologista tutkimusta varten. Elintarvike- ja rehunäytteet.

Ogier, J.-C.; Casalta, E.; Farrokh, C. & Saïhi, A. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Leuconostoc* genus. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 126, No 3, 286-290.

Ruokavirasto 2021. Maitohappobakteerit. Viitattu 19.04.2023.

<https://www.ruokavirasto.fi/elintarvikkeet/elintarvikeala/pakkausmerkinnat-ja-markkinointi/ravitsemus--ja-terveysvaimteet/terveysvaimteet/toiminnalliset-terveysvaimteet/maitohappobakteerit/>

Salari, R. & Salari, R. 2017. Investigation of the Best *Saccharomyces cerevisiae* Growth Condition. *Electronic Physician*. Vol. 9, No 1, 3592-3597

## Juurikassokerilla fermentoitujen sekä niistä pulloitetujen kefiirien mittaustulokset

Taulukko 14. Mittaustulokset juurikassokerilla fermentoidusta kefiiristä

	Käymisaika (h)	pH ennen pulloitusta	Pullokäyminen huoneenlämmössä (vrk)	Pullokäyminen kylmiössä (vrk)	pH pullokäymisen jälkeen	Paine (bar)	CO <sub>2</sub>	Lämpötila painemittauksen yhteydessä
	47	X	4	0	X	0,3	0,95	22,1
	70	5,85	6	0	4,63	0,3	0,95	22,1
	47	5,85	5	14	4,4	0,1	0,94	17,3
	71	5,57	4	5	4,74	0,1	0,84	20,2
	47,5	5,57	4	5	4,08	0,3	1,05	19,4
	46	5,74	3	2	4,48	0,1	0,87	19,1
	69,5	X	4	55	3,85	0,6	1,51	15,3
	47,5	5,57	5	52	4,44	0,3	1,2	15,5
	46	5,74	3	52	3,89	0	0,89	15,9
	70	5,4	4	48	4,46	0,2	1,12	15,1
	46,5	X	4	45	4,4	0,4	1,32	15,1
	47,5	5,58	5	43	4,73	0,1	1,01	15,2
	70	5,62	7	38	3,29	0,1	0,95	16,8
	47	5,9	5	38	3,35	0	0,85	16,9
	47	5,67	3	38	3,5	0	0,85	16,9
<b>Keskiarvo</b>	<b>54,6</b>	<b>5,67</b>	<b>4,4</b>	<b>29,0</b>	<b>4,16</b>	<b>0,2</b>	<b>1,02</b>	<b>17,5</b>

X= mittausta ei suoritettu



## Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen sekä niistä pullotettujen kefiirien mittaustulokset

Taulukko 15. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien tulokset

	Käymisaika (h)	pH ennen pullotusta	Pullokäyminen huoneenlämmössä (vrk)	Pullokäyminen kylmiössä (vrk)	pH pullokäymisen jälkeen	Paine (bar)	CO <sub>2</sub>	Lämpötila painemittauksen yhteydessä
	44	X	0	13	X	0,1	1,15	12,1
	44	X	2	11	X	0,2	1,21	12,8
	46	X	2	4	X	0,49	1,15	11,9
	46	X	5	1	X	2,3	3,34	14,3
	46	X	2	5	3,49	X	X	X
	46	X	5	2	3,07	X	X	X
	47,5	4,51	6	0	3,51	X	X	X
	70	3,77	3	0	3,38	0,3	0,95	22,1
	47	3,75	5	14	3,11	1,7	2,5	17,1
	71	3,19	4	5	3,13	0,5	1,23	19,5
	46,5	3,68	2	5	3,48	0,3	1,05	19,5
	46,5	3,68	5	2	3,18	1,5	2,16	19,5
	47	3,75	5	23	X	2	2,46	21,9
<b>Keskiarvo</b>	<b>49,8</b>	<b>3,76</b>	<b>3,5</b>	<b>6,5</b>	<b>3,29</b>	<b>0,9</b>	<b>1,72</b>	<b>17,1</b>

X= mittausta ei suoritettu

## Herukanlehtiutteella ja juurikassokerilla fermentoidut sekä sitruunamehutiivisteellä ja sokerilla maustetut ja niistä pulloitetujen kefiirien mittaustulokset

Taulukko 16. Herukanlehtiutteella ja juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien tulokset

	Käymisaika (h)	Sitruunamehutiivistepitoisuus (%)	Sokeripitoisuus (%)	pH ennen pullotusta	Pullokäyminen huoneenlämmössä (vrk)	Pullokäyminen kylmiössä (vrk)	pH pullokäymisen jälkeen	Paine (bar)	CO <sub>2</sub>	Lämpötila painemittauksen yhteydessä
	46,5	-	-	4,73	2	5	4,32	0,5	1,22	19,8
	46,5	-	-	4,73	5	2	4,07	0,5	1,21	19,7
	46,5	-	-	4,62	5	0	4,07	0,51	1,14	21,9
	75,0	-	-	X	X	X	X	X	X	X
<b>KA*</b>	<b>53,6</b>	-	-	<b>4,69</b>	<b>4,0</b>	<b>2,3</b>	<b>4,15</b>	<b>0,50</b>	<b>1,19</b>	<b>20,5</b>
	46,5	0,2	-	2,96	2	5	3,07	0,3	1,05	19,2
	46,5	0,2	-	2,96	5	2	3,05	0,5	1,22	19,6
<b>KA</b>	<b>46,5</b>	<b>0,2</b>	-	<b>2,96</b>	<b>3,5</b>	<b>3,5</b>	<b>3,06</b>	<b>0,4</b>	<b>1,14</b>	<b>19,4</b>
	46,5	0,2	0,4	3,11	2	5	3,09	0,3	1,03	19,9
	46,5	0,2	0,4	3,11	5	2	3,08	X	X	19,7
<b>KA</b>	<b>46,5</b>	<b>0,2</b>	<b>0,4</b>	<b>3,04</b>	<b>3,5</b>	<b>3,5</b>	<b>3,07</b>	<b>0,4</b>	<b>1,03</b>	<b>19,6</b>
	46,5	1	-	2,60	5	0	2,64	0,8	1,40	21,9
<b>KA</b>	<b>46,5</b>	<b>1</b>	-	<b>2,60</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>2,64</b>	<b>0,8</b>	<b>1,40</b>	<b>21,9</b>
	75	2	-	2,81	2	0	2,53	0,4	1,04	22,1
<b>KA</b>	<b>75</b>	<b>2</b>	-	<b>2,81</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>2,53</b>	<b>0,4</b>	<b>1,04</b>	<b>22,1</b>

x= mittausta ei suoritettu

\* KA= keskiarvo

- = tuote ei sisällä kyseistä raaka-ainetta

## Herukanlehtiututeella ja intiaani- ja juurikassokerilla fermentoidut sekä sitruunamehutiivisteellä ja sokerilla maustetut ja niistä pulloitetujen kefiirien mittaustulokset

Taulukko 17. Herukanlehtiututeella ja intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien tulokset

	Käymisaika (h)	Sitruunamehutiivistepitoisuus (%)	Sokeripitoisuus (%)	pH ennen pulloitusta	Pullokäyminen huoneenlämmössä (vrk)	Pullokäyminen kylmiössä (vrk)	pH pullokäymisen jälkeen	Paine (bar)	CO <sub>2</sub>	Lämpötila painemittauksen yhteydessä
	46,5	-	-	3,91	2	5	3,81	0,3	1,03	19,9
	46,5	-	-	3,91	5	2	3,75	0,49	1,2	19,9
	46,5	-	-	3,41	2	0	3,17	0,49	1,1	22,5
	46,5	-	-	3,61	5	0	3,63	0,5	1,12	22,1
<b>KA*</b>	<b>46,5</b>	-	-	<b>3,71</b>	<b>3,5</b>	<b>1,8</b>	<b>3,59</b>	<b>0,45</b>	<b>1,11</b>	<b>21,1</b>
	46,5	0,2	-	3,31	2	5	3,28	0,49	1,19	20,3
	46,5	0,2	-	3,31	5	2	3,28	0,8	1,45	20,8
<b>KA</b>	<b>46,5</b>	<b>0,2</b>	-	<b>3,31</b>	<b>3,5</b>	<b>3,5</b>	<b>3,28</b>	<b>0,65</b>	<b>1,32</b>	<b>20,6</b>
	46,5	1	-	2,71	5	0	2,74	1,5	2,02	21,8
<b>KA</b>	<b>46,5</b>	<b>1</b>	-	<b>2,71</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>2,74</b>	<b>1,5</b>	<b>2,02</b>	<b>21,8</b>
	46,5	0,2	0,4	3,31	2	5	3,28	0,49	1,16	20
<b>KA</b>	<b>46,5</b>	<b>0,2</b>	<b>0,4</b>	<b>3,31</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>3,28</b>	<b>0,49</b>	<b>1,16</b>	<b>20</b>

X= mittausta ei suoritettu

\* KA= keskiarvo

## Juurikassokerilla fermentoidut ja herukanlehtiutteella sekä sitruunamehutiivisteellä maustetut ja niistä pulloitetujen kefiirien mittaustulokset

Taulukko 18. Juurikassokerilla fermentoidut ja herukanlehtiutteella maustetut kefiirit

Herukanlehtiute- pitoisuus	Käymisaika (h)	Sitruunamehu- tiiviste-pitoisuus (%)	pH ennen pulloitusta	Pullokäyminen huoneenlämmössä (vrk)	Pullokäyminen kylmiössä (vrk)	pH pulloikäymisen jälkeen	Paine (bar)	CO <sub>2</sub>	Lämpötila painemittauksen yhteydessä
2 %	47	-	X	2	5	4,47	0,3	1,24	14,6
2 %	47	-	X	5	2	4,2	0,5	1,46	14,3
<b>Keskiarvo</b>	<b>47</b>	-	-	<b>3,5</b>	<b>3,5</b>	<b>4,335</b>	<b>0,4</b>	<b>1,35</b>	<b>14,45</b>
5 %	47	-	X	2	5	4,54	0,4	1,4	13,4
5 %	47	-	X	5	2	4,32	0,51	1,5	13,6
<b>Keskiarvo</b>	<b>47</b>	-	-	<b>3,5</b>	<b>3,5</b>	<b>4,43</b>	<b>0,46</b>	<b>1,45</b>	<b>13,5</b>
8 %	47	-	X	2	5	4,55	0,49	1,49	13,5
8 %	47	-	X	5	2	4,31	0,6	1,59	13,7
<b>Keskiarvo</b>	<b>47</b>	-	-	<b>3,5</b>	<b>3,5</b>	<b>4,43</b>	<b>0,55</b>	<b>1,54</b>	<b>13,6</b>
10 %	47	-	X	2	5	4,59	0,5	1,51	13,3
10 %	47	-	X	5	2	4,36	0,6	1,54	14,7
10 %	71	-	6,08	2	0	4,48	0,4	1,03	22,3
10 %	71	-	6,08	10	0	4,12	1,2	1,74	22,1
<b>Keskiarvo</b>	<b>59</b>	-	<b>6,08</b>	<b>4,75</b>	<b>1,75</b>	<b>4,39</b>	<b>0,68</b>	<b>1,46</b>	<b>18,1</b>

X=mittausta ei suoritettu

(jatkuu)

Taulukko 14. (jatkuu)

15 %	47	-	X	3	2	4,5	0,6	1,53	15
15 %	71	-	6,00	2	0	4,55	0,4	1,04	22,1
15 %	71	-	6,00	10	0	4,11	1,1	1,65	22,1
<b>Keskiarvo</b>	<b>63</b>	-	<b>6,00</b>	<b>5</b>	<b>0,7</b>	<b>4,39</b>	<b>0,7</b>	<b>1,41</b>	<b>19,7</b>
15 %	70	1	3,93	3	0	3,74	0,5	1,12	22,1
<b>Keskiarvo</b>	<b>70</b>	<b>1</b>	<b>3,93</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>3,74</b>	<b>0,5</b>	<b>1,12</b>	<b>22,1</b>
20 %	47	-	X	3	2	4,53	0,6	1,56	14,3
20 %	71	-	5,95	2	0	4,58	0,5	1,12	22,1
20 %	71	-	5,95	10	0	4,1	X	X	22,1
20 %	71	-	5,55	4	5	4,39	0,8	1,66	16,4
<b>Keskiarvo</b>	<b>65</b>	-	<b>5,82</b>	<b>4,8</b>	<b>1,8</b>	<b>4,40</b>	<b>0,6</b>	<b>1,45</b>	<b>18,7</b>
20 %	70	1	4,10	3	0	3,82	0,5	1,12	22,1
20 %	47	1	X	5	7	3,68	0,75	1,54	17,8
<b>Keskiarvo</b>	<b>58,5</b>	<b>1</b>	<b>4,10</b>	<b>4</b>	<b>3,5</b>	<b>3,75</b>	<b>0,63</b>	<b>1,33</b>	<b>20,0</b>
20 %	71	2	3,42	4	5	3,27	1,45	1,33	17,0
<b>Keskiarvo</b>	<b>71</b>	<b>2</b>	<b>3,42</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>3,27</b>	<b>1,45</b>	<b>1,33</b>	<b>17,0</b>
25 %	47	-	X	3	2	4,57	0,5	1,45	14,5
25 %	71	-	5,92	2	0	4,62	0,5	1,12	22,1
25 %	71	-	5,92	10	0	4,14	1	1,56	22,1
<b>Keskiarvo</b>	<b>63</b>	-	<b>5,92</b>	<b>5</b>	<b>0,7</b>	<b>4,44</b>	<b>0,7</b>	<b>1,38</b>	<b>19,6</b>
25 %	70	1	4,2	3	0	3,93	0,6	1,21	22,1
<b>Keskiarvo</b>	<b>64,8</b>	<b>1</b>	<b>5,35</b>	<b>4,5</b>	<b>0,5</b>	<b>4,32</b>	<b>0,7</b>	<b>1,34</b>	<b>20,2</b>
30 %	47	-	X	3	2	4,56	0,7	1,65	14,6
<b>Keskiarvo</b>	<b>47,0</b>	-	-	<b>3,0</b>	<b>2,0</b>	<b>4,56</b>	<b>0,7</b>	<b>1,65</b>	<b>14,6</b>

X= mittaus ei suoritettu; - = kyseistä raaka-ainetta ei käytetty

## Intiaani- & juurikassokerilla fermentoidut, herukanlehtiuutteella sekä sitruunamehutiivisteellä maustetut ja niistä pullotettujen kefiirien mittaustulokset

Taulukko 19. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoidut ja herukanlehtiuutteella maustetut kefiirit

Herukanlehtiuute-pitoisuus	Käymisaika (h)	Sitruunamehutiivistepitoisuus (%)	pH ennen pullotusta	Pullokäyminen huoneenlämmössä (vrk)	Pullokäyminen kylmiössä (vrk)	pH pullokäymisen jälkeen	Paine (bar)	CO <sub>2</sub>	Lämpötila painemittauksen yhteydessä
15 %	70	1	3,79	3	0	3,41	0,8	1,39	22,1
<b>Keskiarvo</b>	<b>70</b>	<b>1</b>	<b>3,79</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>3,41</b>	<b>0,8</b>	<b>1,39</b>	<b>22,1</b>
20 %	71	-	3,74	4	5	3,64	0,7	1,49	17,8
<b>Keskiarvo</b>	<b>71</b>	<b>-</b>	<b>3,74</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>3,64</b>	<b>0,7</b>	<b>1,49</b>	<b>17,8</b>
20 %	70	1	3,86	3	0	3,52	0,8	1,38	22,3
20 %	47	1	X	3	9	3,56	0,8	1,55	18,6
20 %	47	1	X	5	7	3,55	1,2	1,96	18,0
<b>Keskiarvo</b>	<b>54,7</b>	<b>1</b>	<b>3,86</b>	<b>3,7</b>	<b>5,3</b>	<b>3,54</b>	<b>0,9</b>	<b>1,63</b>	<b>19,6</b>
20 %	71	2	3,31	4	5	3,21	1,1	1,89	17,5
20 %	71	2	3,31	4	19	X	1,8	2,32	21,3
<b>Keskiarvo</b>	<b>71</b>	<b>2</b>	<b>3,31</b>	<b>4</b>	<b>12</b>	<b>3,21</b>	<b>1,45</b>	<b>2,11</b>	<b>19,4</b>
25 %	70	1	3,95	3	0	3,6	0,9	1,48	22,1
<b>Keskiarvo</b>	<b>70,0</b>	<b>1</b>	<b>3,95</b>	<b>3,0</b>	<b>0,0</b>	<b>3,60</b>	<b>0,9</b>	<b>1,48</b>	<b>22,1</b>

X= mittausta ei suoritettu

- = kyseistä raaka-ainetta ei käytetty

## Juurikassokerilla fermentoitujen kefiirien ja sitruunalla maustettujen sekä niistä pulloitetujen kefiirien mittaustulokset

Taulukko 20. Juurikassokerilla fermentoidut ja sitruunamehutiivisteellä maustettujen kefiirien tulokset

	Käymisaika (h)	Sitruunamehutiivistepitoisuus (%)	pH ennen pullotusta	Pullokäyminen huoneenlämmössä (vrk)	Pullokäyminen kylmiössä (vrk)	pH pullokäymisen jälkeen	Paine (bar)	CO <sub>2</sub>	Lämpötila painemittauksen yhteydessä
	47,5	0,2	X	6	0	3,57	0,7	1,3	22,1
	46,5	0,2	2,94	2	5	2,97	0,1	0,84	19,9
	46,5	0,2	2,94	5	2	2,98	0,25	0,98	20,0
<b>Keskiarvo</b>	<b>46,8</b>	<b>0,2</b>	<b>2,94</b>	<b>4,3</b>	<b>2,3</b>	<b>3,17</b>	<b>0,35</b>	<b>1,04</b>	<b>20,7</b>
	47	0,5	2,74	5	9	3,01	0,4	1,11	20,2
	47	0,5	2,74	5	59	2,96	0,9	2,96	14,9
<b>Keskiarvo</b>	<b>47</b>	<b>0,5</b>	<b>2,74</b>	<b>5</b>	<b>9</b>	<b>3,01</b>	<b>0,40</b>	<b>1,11</b>	<b>20,2</b>
	47	1	X	3	9	3,02	0,2	0,98	18,7
	47	1	X	5	7	3,00	0,25	1,05	19,0
	47	1	2,61	5	9	2,59	0,49	1,19	19,6
	69,5	1	2,6	4	5	2,63	0,4	1,15	19,2
	47,5	1	2,6	5	2	2,62	0,4	1,17	18,5
	46	1	2,73	3	2	2,62	0,1	0,88	18,9
	70	1	2,61	2	0	2,62	0,2	0,87	21,8

X= mittausta ei suoritettu

(jatkuu)

Taulukko 16. (jatkuu)

	47	1	2,61	5	59	2,67	1	1,96	14,6
	69,5	1	2,6	4	55	2,63	1	1,87	16,1
	47,5	1	2,6	5	52	2,69	1,75	2,59	16,6
	46	1	2,73	3	52	2,70	0,7	1,62	15,1
	70	1	2,61	2	50	2,70	1	1,89	15,7
	46,5	1	2,56	5	45	2,69	0,5	1,36	16,4
<b>Keskiarvo</b>	<b>53,9</b>	<b>1,0</b>	<b>2,62</b>	<b>3,9</b>	<b>26,7</b>	<b>2,71</b>	<b>0,61</b>	<b>1,43</b>	<b>17,7</b>
	47,5	1,2	X	6	0	2,95	0,3	0,95	22,1
	47	1,2	2,99	5	14	2,93	0,1	0,92	17,6
	47	1,2	2,99	5	14	2,92	0,1	0,92	17,8
<b>Keskiarvo</b>	<b>47,2</b>	<b>1,2</b>	<b>2,99</b>	<b>5,3</b>	<b>9,3</b>	<b>2,93</b>	<b>0,2</b>	<b>0,93</b>	<b>19,2</b>
	71	2	2,93	4	5	2,87	0,1	0,83	20,3
	75	2	2,78	2	0	2,52	0,1	0,77	22,1
	47	2	2,48	5	9	2,48	0,75	1,45	19,6
<b>Keskiarvo</b>	<b>64,3</b>	<b>2</b>	<b>2,73</b>	<b>3,7</b>	<b>4,7</b>	<b>2,62</b>	<b>0,32</b>	<b>1,02</b>	<b>20,7</b>

X=mittausta ei suoritettu



## Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen ja sitruunamehutiivisteellä maustettujen ja niistä pulloitetujen kefiirien mittaustulokset

Taulukko 21. Intiaani- ja juurikassokerilla fermentoitujen ja sitruunamehutiivisteellä maustettujen kefiirien tulokset

	Käymisaika (h)	Sitruunamehutiivistepitoisuus (%)	pH ennen pulloitusta	Pullokäyminen huoneenlämmössä (vrk)	Pullokäyminen kylmiössä (vrk)	pH pullokäymisen jälkeen	Paine (bar)	CO <sub>2</sub>	Lämpötila painemittauksen yhteydessä
	46,5	0,2	3,16	2	5	3,25	0,2	0,94	19,7
	46,5	0,2	3,16	5	2	3,33	1	1,64	20,4
<b>Keskiarvo</b>	<b>46,5</b>	<b>0,2</b>	<b>3,16</b>	<b>3,5</b>	<b>3,5</b>	<b>3,29</b>	<b>0,6</b>	<b>1,29</b>	<b>20,1</b>
	47	1	X	3	9	3,25	0,55	1,33	18,1
	47	1	X	5	7	3,32	0,7	1,44	18,9
<b>Keskiarvo</b>	<b>47</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>3,29</b>	<b>0,66</b>	<b>1,39</b>	<b>18,5</b>
	47,5	1,2	X	6	0	3,38	1,1	1,64	22,3
	47	1,2	3,15	5	14	3,11	0,9	1,71	17,2
	47	1,2	3,15	5	23	X	1,1	1,67	21,8
<b>Keskiarvo</b>	<b>47,2</b>	<b>1,2</b>	<b>3,15</b>	<b>5,3</b>	<b>12,3</b>	<b>3,25</b>	<b>1,0</b>	<b>1,67</b>	<b>20,4</b>
	71	2	2,95	4	5	2,91	0,8	1,54	18,8
<b>Keskiarvo</b>	<b>71</b>	<b>2</b>	<b>2,95</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>2,91</b>	<b>0,8</b>	<b>1,54</b>	<b>18,8</b>

X=mittausta ei suoritettu

## Aistinvaraiset arvioinnit

Taulukko 22. Aistinvaraiset arvioinnit valmistetuista sekä kaupallisista kefiireistä

	Juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri	Juurikas-sokerilla valmistettu + 1,0 m-% sitruuna	Intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri	Intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri + 1,0 m-% sitruuna	Herukan-lehtiutteella ja juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri	Herukan-lehtiutteella ja juurikas-sokerilla valmistettu + 1,0 m-% sitruuna	Herukan-lehtiutteella sekä intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu	Herukan-lehtiutteella sekä intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu + 1,0 m-% sitruuna	Juurikas-sokerilla valmistettu + 20 m-% herukan-lehtiute	Juurikas-sokerilla valmistettu + 20 m-% herukan-lehtiute + 1,0 m-% sitruuna	Intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri + 20 m-% herukan-lehtiute	Intiaani- ja juurikas-sokerilla valmistettu kefiiri + 20 m-% herukan-lehtiute + 1,0 m-% sitruuna	Kaupallinen kefiiri 1	Kaupallinen kefiiri 2
Ulkonäkö	Vaalea	Hieman samaa	Vaalean kellertävä	Vaalean kellertävä ja hieman samaa	Melkein vaalea, aavistus rusehtavaa vivahdetta	Melkein vaalea, aavistus rusehtavaa vivahdetta, hieman samaa	Hieman vaalean-ruskeaa tummempi	Hieman vaalean-ruskeaa tummempi ja hieman samaa	Vaalean ruskeahko	Vaalean ruskeahko ja hieman samaa	Tummempi vaalean ruskea	Tummempi vaalean ruskea ja sameahko	Vaaleanpu nertava	Tummempi vaalean-punainen
Maku	Sokerilla maustettua vettä	Sitruunan maku sopiva, miellyttävän kirpeä	Simamainen, aavistuksen makea, miellyttävä suutuntuma hiilidioksidipitoisuuden ollessa sopiva, raikas	Simamainen, mukavan sitruksinen	Herukanlehti ei maistu, aavistuksen makea	Raikas, hennon sitruksinen	Herukanlehti ei maistu, aavistuksen makea	Herukanlehti ei maistu, sitruksinen	Herukanlehti maistuu sopivasti, ei liian makea	Herukanlehti tulee hennosti esille, hieman kirpeä	Herukanlehti maistuu hennosti, ei liian makea	Herukanlehti tulee hennosti esille, hieman kirpeä	Etikkainen, nimessä mainittu maku ei tullut esille	Hieman sitruunainen, etikkainen
Haju	Hajuton	Hieman sitruksinen	Simamainen	Hennon sitruunainen	Hajuton	Hieman sitruunainen	Hennon simamainen	Sitruunainen	Herukkainen	Herukkainen ja hieman sitruksinen	Herukkaisa	Herukkaisa ja hennon sitruksinen	Hieman pistävä	Hieman sitruksinen, pistävä