



คีเฟอร์ (บัวหิมะ): ผลิตภัณฑ์นมหมักจากจุลินทรีย์หลากหลายชนิด

Kefir: Fermented Milk from Various Microorganisms

ศิริรัตน์ ตีศรีธรรม¹

บทคัดย่อ

คีเฟอร์ คือ ผลิตภัณฑ์นมหมัก ซึ่งเกิดจากการหมักของเชื้อแบคทีเรียแลคติก (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter* และ *Streptococcus* spp.) และยีสต์ (*Kluyveromyces*, *Candida*, *Torulopsis* and *Saccharomyces* sp.) ที่อยู่ร่วมกันเกาะกันอยู่เป็นก้อนเมื่อใส่ขาวหรือเหลือง ลักษณะยืดหยุ่น ไม่ละลายน้ำ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ในคีเฟอร์เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรคในกลุ่ม *Lactobacillus* sp. และยีสต์ ในระหว่างกระบวนการหมัก จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดผลิตสารต่าง ๆ มากมายทำให้คีเฟอร์อุดมไปด้วยกรดแลคติก วิตามิน กรดอะมิโน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ อะซิโโทอิน (acetoin) แอลกอฮอล์ และสารให้กลิ่นหอม ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายคือช่วยปรับสมดุลในระบบการย่อยอาหารและเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันโรคได้อีกด้วย

ABSTRACT

Kefir is fermented milk drink produced by a mixture of lactic acid bacteria (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter* and *Streptococcus* spp.) and yeasts (*Kluyveromyces*, *Candida*, *Torulopsis* and *Saccharomyces* sp.) that produces slimy white or yellow-white grains. The most microorganisms in this are non-pathogenic bacteria, especially *Lactobacillus* sp. and yeast. During the fermentation, both of microorganisms can provide several of compounds. Thus, kefir is enriched with lactic acid, vitamin, amino acid, carbon dioxide, acetoin, alcohol and essential oil which have shown to be healthful benefits. In addition, kefir can improve digestive balance and enhance of immune system.

คำสำคัญ: คีเฟอร์ ผลิตภัณฑ์นมหมัก

Keywords: Kefir, Fermented milk

¹ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150

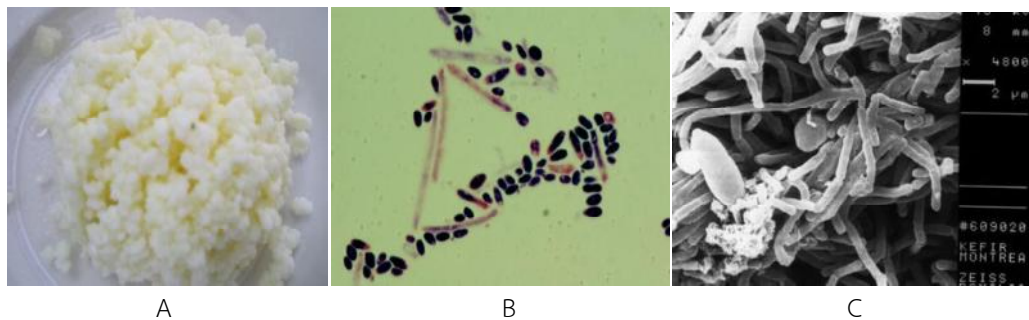
E-mail: sirirat.d@msu.ac.th

คีเฟอร์คืออะไร

คีเฟอร์ หรือคนไทยเรียกว่า บัวหิมะ เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีรสเปรี้ยวเล็กน้อยคล้ายโยเกิร์ต มีต้นกำเนิดมาจากแถบเทือกเขา Caucasus ของประเทศรัสเซีย (Koroleva, 1988a) หลายศตวรรษนานมาแล้ว ชาวคอเคเซียนได้ค้นพบว่า การนำนมสดเก็บไว้ในถุงหนังสัตว์จะเกิดการหมักเป็นเครื่องดื่มที่มีฟอง และเมื่อเวลาผ่านไปจนเกิดการตกตะกอนจากของเหลวและนำก้อนตะกอนที่ได้มาใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักนมใหม่ต่อไป ก้อนตะกอนที่ได้นี้ นักวิจัยเรียกว่า ก้อนคีเฟอร์ (kefir grain) และหลังจากทำการศึกษาก้อนคีเฟอร์พบว่า ประกอบด้วยแบคทีเรียและยีสต์อาศัยอยู่ร่วมกันด้วยความสัมพันธ์แบบซิมไบโอซิส (symbiotic) ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่อยู่ในบัวหิมะนี้เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรค เพราะเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ชนิด *Lactobacillus* sp. และยีสต์ที่หมักน้ำตาลได้ คีเฟอร์สามารถผลิตได้จากนมหลายชนิด เช่น นมวัว นมแพะ และนมอูฐ นอกจากนี้ยังสามารถผลิตคีเฟอร์จากนมถั่วเหลืองและนมข้าวได้อีกด้วย (Kosikowski and Mistry, 1997) จากการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์พบว่า ในคีเฟอร์อุดมสมบูรณ์ไปด้วยโปรตีน วิตามิน และเกลือแร่ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น ทริปโตเฟน (tryptophan) และยังประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น แบคทีริโอซิน (bacteriocin) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ให้โทษ เป็นต้น (Santos et al., 2003)

ก้อนคีเฟอร์

ก้อนคีเฟอร์ (kefir grain) ที่ได้เกิดขึ้นในระหว่างการหมักนมนี้ มีขนาดประมาณ 0.3 -3.5 เซนติเมตร มีรูปร่างไม่แน่นอน ผิวนอกจะมีลักษณะไม่เรียบ เกาะกันคล้ายดอกกะหล่ำหรือข้าวโพดคั่ว ก้อนคีเฟอร์เมื่อเติมลงในนมใหม่ เมล็ดจะพองออกและเปลี่ยนเป็นก้อนเมือกสีขาวหรือเหลือง ลักษณะยืดหยุ่นไม่ละลายน้ำ ก้อนคีเฟอร์ประกอบด้วยแบคทีเรียแลคติก (lactobacilli, lactococci, leuconostocs) อะซิติกแอซิกแบคทีเรีย (acetic acid bacteria) และยีสต์เกาะกันกับโปรตีนเคซีนในนมและพอลิแซ็กคาไรด์ที่แบคทีเรียแลคติกสร้างขึ้น โดยทั่วไปพบแลคโตบาซิลลัสในก้อนคีเฟอร์ ร้อยละ 65-80 โดยเฉพาะ *Lactobacillus kefirianofaciens* และ *L. kefir* เป็นจุลินทรีย์สำคัญที่ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ (Ottles and Ozlem, 2003; Yokoi et al., 1991) ซึ่งนักวิจัยพบว่า *L. kefirianofaciens* จะพบอยู่ข้างในและรอบ ๆ ก้อนคีเฟอร์ ในขณะที่ *L. kefir* จะพบที่บริเวณผิวของก้อนคีเฟอร์ (Arihara et al., 1990) ร้อยละ 20 เป็นแลคโตคอคไคที่ทำให้เกิดกลิ่น รส ส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 5 คือ ยีสต์ซึ่งมีทั้งชนิดที่หมักน้ำตาลและไม่หมักน้ำตาลแลคโตส ยีสต์ที่ไม่หมักน้ำตาลแลคโตสอยู่บริเวณชั้นใน และยีสต์ที่หมักน้ำตาลแลคโตสอยู่บริเวณผิวของก้อนคีเฟอร์ สำหรับแบคทีเรียที่หมักน้ำตาลแล้วให้กรดน้ำส้มคือ *Acetbacter aceti* และ *A. rancecs* ซึ่งแบคทีเรียนี้มีบทบาทรักษาสภาวะที่เหมาะสมของการอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ และมีหน้าที่ในการปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสและเพิ่มความหนืด (Koroleva, 1988b) ลักษณะการเกาะกันของจุลินทรีย์ในคีเฟอร์แสดงดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 ลักษณะของคีเฟอร์และการอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์หลายชนิดในก้อนคีเฟอร์ A) ลักษณะก้อนคีเฟอร์ (kefir grain) B) การย้อมติดสีแกรมของจุลินทรีย์ในก้อนคีเฟอร์ C) รูปร่างของแบคทีเรียแลคติกและยีสต์ที่รวมกันอยู่ในก้อนคีเฟอร์ถ่ายด้วยกล้องอิเล็กตรอนไมโครสโคป (ที่มา: A, B: ศิริรัตน์, 2551; C: Farnworth, 2005)

ชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในก้อนคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์

1. แบคทีเรียแลคติก

ลักษณะพื้นฐานของแบคทีเรียนี้ เป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์อะซิเตส ขาดไฮโดโครม ทนต่อสภาวะมีอากาศ (aerotolerant) ทนต่อความเป็นกรด ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ และผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักน้ำตาล แบคทีเรียแลคติกที่พบในคีเฟอร์ แบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ได้ 5 กลุ่ม (Farnworth, 2005) ดังนี้

กลุ่ม Lactobacilli

แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่มใหญ่ที่สุด เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนหรือทรงรี (coccobacilli) ไม่สร้างสปอร์ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียกลุ่มนี้แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ (Stiles and Holzapfel, 1997 อ้างถึงใน มีชัย, 2554)

Obligately homofermentative lactobacilli กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่หมักน้ำตาลกลูโคสได้ กรดแลคติกมากกว่าร้อยละ 85 โดยวิธี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) ผลิตเอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) ซึ่งย่อยสลายน้ำตาลเฮกโซสคือน้ำตาลที่มีจำนวนคาร์บอน 6 อะตอม เช่น น้ำตาลกลูโคส น้ำตาล

กาแลคโตส ได้ แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้น้ำตาลเพนโทส คือน้ำตาลที่มีจำนวนคาร์บอน 5 อะตอม เช่น น้ำตาลไซโลส ทำแบคทีเรียกลุ่มนี้หมักน้ำตาลเพนโทสและกลูโคเนตไม่ได้ แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถเจริญในอาหารที่มีพีเอช ระหว่าง 4 - 7.2 จุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้แก่ *L. delbrueckii*, *L. kefirianofaciens*, *L. kefirgranum*, *L. acidophilus* และ *L. helveticus* (Stiles and Holzapfel, 1997 อ้างถึงใน มีชัย, 2554) ดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 2 (1) แสดงลักษณะของ *L. delbrueckii*

Facultatively heterofermentative lactobacilli กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่สามารถผลิตเอนไซม์อัลโดเลส และ ฟอสโฟคีโตเลสได้ จึงหมักน้ำตาลเฮกโซสเป็นกรดแลคติกโดยผ่านวิถี EMP และสามารถหมักน้ำตาลเพนโทสเป็นกรดแลคติกและเอทานอลได้ จุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้แก่ *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. paracasei* และ *L. plantarum* (Stiles and Holzapfel, 1997 อ้างถึงใน มีชัย, 2554) ดังแสดงในตารางที่ 1

Obligately heterofermentative lactobacilli เป็นกลุ่มที่สามารถหมักน้ำตาลเฮกโซสและเพนโทส โดยผ่านวิถีฟอสโฟกลูโคเนต (phos-

phogluconate) ให้ได้กรดแลคติก เอทานอล (C_2H_5OH) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) อะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) และไดอะเซทิล (diacetyl) แบคทีเรียแลคติกกลุ่มนี้ ได้แก่ *L. kefir*, *L. parakefir*, *L. brevis*, *L. fructivorans*, *L. hilgardii* และ *L. fermentum* (Paucean and Carmen, 2008) ดังแสดงในตารางที่ 1

กลุ่ม Lactococci

เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 - 1 ไมโครเมตร จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักน้ำตาลกลูโคส สามารถเจริญได้ที่ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส (Hardie and Whaley, 1995 อ้างถึงใน มีชัย, 2554) แบคทีเรียในกลุ่มนี้แสดงดังตารางที่ 1

กลุ่ม Streptococci

เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 - 1.2 ไมโครเมตร จัดเรียงตัวเป็นสายโซ่หรือคู่ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักน้ำตาลกลูโคส สามารถเจริญได้ที่ อุณหภูมิ 20 - 41 องศาเซลเซียส แบคทีเรียแลคติกกลุ่มนี้ ได้แก่ *Streptococcus thermophilus* ดังแสดงในรูปที่ 2 (3) (Hardie and Whaley, 1995 อ้างถึงใน มีชัย, 2554)

กลุ่ม Enterococci

เซลล์มีรูปไข่ จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว หรือสายโซ่สั้น ๆ ผลิตกรดแลคติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักน้ำตาลกลูโคส สามารถเจริญได้ที่ อุณหภูมิ 10 หรือ 45 องศาเซลเซียส พีเอช 9.5 และเจริญได้ในสภาพที่มีโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 6.5 สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที บางสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์

อะมัยเลสเทียมได้ (Devriese and Pot, 1995 อ้างถึงใน มีชัย, 2554)

กลุ่ม Leuconostocs

รูปร่างของเซลล์ขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงในอาหารซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสเซลล์จะมีลักษณะยืดยาว ออกคล้ายกลุ่ม lactobacilli แต่ในน้ำนมเซลล์จะมีรูปร่างกลม นอกจากนี้การจัดเรียงตัวอาจเป็นเซลล์เดี่ยว อยู่เป็นคู่หรือเป็นสายโซ่สั้นถึงปานกลาง ผลิตกรดแลคติกชนิด D(-) และสามารถผลิตเอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์และสารหอมระเหยจากการหมักน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสารหอมระเหยนี้เป็นสารสร้างกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ (Stiles and Holzapfel, 1997 อ้างถึงใน มีชัย, 2554)

2. แบคทีเรียผลิตกรดอะซิติก

Acetobacter spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (gram negative aerobic bacteria) มีลักษณะเป็นรูปแท่ง (rod) ดังรูปที่ 2 (3) อาศัยแฟลกเจลลาชนิด peritrichous flagella ในการเคลื่อนที่ไม่สร้างสปอร์ เซลล์มีขนาด 0.6 - 0.8 x 1.0 - 3.0 ไมโครเมตร เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจน (aerobic bacteria) ทนทานต่อสภาพความเป็นกรดได้ดีในสภาพที่มีค่าพีเอชของสารละลายต่ำกว่า 5.0 และเจริญอยู่ในที่ที่มีค่าพีเอชต่ำกว่า 3.0-3.5 แบคทีเรียชนิดนี้จะเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นกรดอะซิติก (acetic acid) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) ในสภาพที่มีออกซิเจน (DeLey et al., 1984) แบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *A. pasteurianus*, *A. aceti* (Farnworth, 2005) ดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 2 (3) แสดงลักษณะของ *A. aceti*

3. ยีสต์

ยีสต์จัดเป็นราจำพวกหนึ่ง มีทั้งอยู่ในคลาสแอสโคไมซีตัส (Ascomycetes class) และคลาสเบสิดิโอไมซีตัส (Basidiomycetes class) ยีสต์ส่วนใหญ่จะ

เป็นเซลล์เดี่ยวที่มีรูปร่างแตกต่างกันออกไปตามสายพันธุ์ เช่น ทรงกลม รี ทรงกระบอก และสามเหลี่ยม บางสายพันธุ์จะมีลักษณะของเซลล์ยืดยาวออกและต่อกันเป็นสายคล้ายเส้นใย (pseudomycelium) (สันทัด, 2554) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของยีสต์ใน

กระบวนการหมักเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์คือ 20-25 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชประมาณ 3-3.5 (เจริญ, 2554) สายพันธุ์ยีสต์ที่พบในคีเฟอร์แสดงดังตารางที่ 2 และรูปที่ 2 (4) แสดงลักษณะของ *Candida kefyr* ซึ่งเป็นยีสต์สายพันธุ์หนึ่งที่พบในผลิตภัณฑ์คีเฟอร์

ตารางที่ 1 ชนิดของแบคทีเรียที่อยู่ในหัวเชื้อคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์

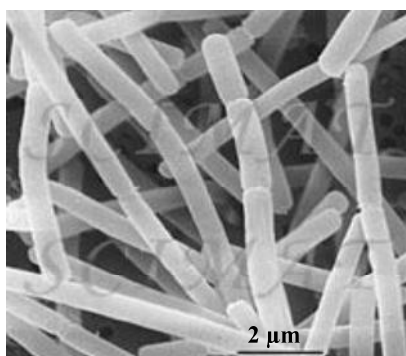
ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
1. แบคทีเรียแลคติก	
กลุ่ม <i>Lactobacilli</i>	
Obligately homofermentative	
<i>lactobacilli</i>	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	(Koreleva, 1991; Simova et al., 2002)
<i>Lactobacillus kefirianofaciens</i>	(Fujisawa et al., 1988; Takizawa et al., 1994)
<i>Lactobacillus kefirgranum</i>	(Takizawa et al., 1994)
<i>Lactobacillus helveticus</i>	(Koreleva, 1991; Lin et al., 1999; Simova et al., 2002)
Facultative heterofermentative	
<i>lactobacilli</i>	
<i>Lactobacillus casei</i>	(Simova et al., 2002)
<i>Lactobacilli paracasei</i>	(Santos et al., 2003; Angulo et al., 1993)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	(Garrote et al., 2001)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	(Koreleva, 1991)

ตารางที่ 1 ชนิดของแบคทีเรียที่อยู่ในหัวเชื้อคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ (ต่อ)

ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
Obligately heterofermentative	
lactobacilli	
<i>Lactobacillus brevis</i>	(Farnworth, 2005; Simova et al., 2002)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	(Angulo et al., 1993)
<i>Lactobacillus fructivorans</i>	(Yoshida and Toyoshima, 1994)
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	(Yoshida and Toyoshima, 1994)
<i>Lactobacillus kefir</i>	(Koreleva, 1991; Pintado et al., 1996; Kandler and Kunath, 1983; Takizawa et al., 1994; Garrote et al., 2001)
<i>Lactobacillus parakefir</i>	(Takizawa et al., 1994; Garrote et al., 2001)
<i>Lactobacillus viridescens</i>	(Angulo et al., 1993)
กลุ่ม Lactococci	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	(Koreleva, 1991; Pintado et al., 1996; Simova et al., 2002; Yoshida and Toyoshima, 1994; Garrote et al., 2001)
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	(Koreleva, 1991)
กลุ่ม Streptococci	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	(Simova et al., 2002)
กลุ่ม Enterococci	
<i>Enterococcus durans</i>	(Farnworth, 2005)
กลุ่ม Leuconostocs	
<i>Leuconostoc</i> sp.	(Koreleva, 1991; Lin et al., 1999)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	(Garrote et al., 2001)
2. แบคทีเรียผลิตกรดอะซิติก	
<i>Acetobacter</i> sp.	(Garrote et al., 2001)
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Acetobacter aceti</i>	(Koreleva, 1991)
3. แบคทีเรียชนิดอื่น ๆ	
<i>Bacillus</i> sp.	(Angulo et al., 1993)
<i>Micrococcus</i> sp.	(Angulo et al., 1993)
<i>Bacillus subtilis</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Escherichia coli</i>	(Angulo et al., 1993)

ตารางที่ 2 ยีสต์ที่พบในผลิตภัณฑ์ชีเฟอร์และหัวเชื้อชีเฟอร์

ยีสต์	เอกสารอ้างอิง
<i>Brettanomyces anomalus</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Candida friedrichii</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Candida pseudotropicalis</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Candida tenuis</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Candida holmii</i>	(Garrote et al., 2001)
<i>Candida maris</i>	(Simova et al., 2002)
<i>Candida lambica</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Candida tannotelerans</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Candida valida</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Candida kefyr</i>	(Koreleva, 1991)
<i>Candida holmii</i>	(Angulo et al., 1993)
<i>Issatchenkia occidentalis</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	(Koreleva, 1991; Lin et al., 1999; Simova et al., 2002; Yoshida and Toyoshima, 1994; Garrote et al., 2001; Angulo et al., 1993)
<i>Saccharomyces</i> sp.	(Garrote et al., 2001)
<i>Saccharomyces exiguus</i>	(Iwasawa et al., 1982)
<i>Saccharomyces turicensis</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Saccharomyces delbrueckii</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Saccharomyces dairensis</i>	(Farnworth, 2005)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(Koreleva, 1991; Simova et al., 2002; Angulo et al., 1993; Pintado et al., 1996; Angulo et al., 1993)
<i>Torulasporea delbrueckii</i>	(Koreleva, 1991; Angulo et al., 1993)

*Lactobacillus delbrueckii* (1)*Streptococcus thermophilus* (2)*Acetobacter aceti* (3)*Candida kefyr* (4)

รูปที่ 2 ตัวอย่างลักษณะของจุลินทรีย์ที่อยู่ในก้อนคีเฟอร์

- ที่มา: 1. www.magma.ca/~pavel/science/L_bulgaricus.htm
2. <http://jpkc.njau.edu.cn/spwswx/cankao/ShowArticle.asp?ArticleID=314>
3. www.vinegarman.com/zoo_vinegar_eel.shtml
4. www.diark.org/diark/species_list?query=Kluyveromyces%20marxianus%20CBS712

กิจกรรมการหมักของจุลินทรีย์ผสมในผลิตภัณฑ์คีเฟอร์

จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ในปัจจุบันประกอบด้วยแบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria, LAB) ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophilic LAB) ประมาณ 35-37 องศาเซลเซียส และแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic LAB) ประมาณ 42-45 องศาเซลเซียส อยู่ร่วมกับยีสต์ที่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสได้ (lactose fermenting yeast) และยีสต์ที่ไม่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสได้ (non-lactose fermenting yeast) (Farnworth, 2005) จากการที่

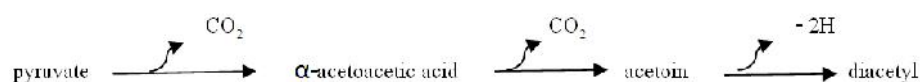
ผลิตภัณฑ์คีเฟอร์เกิดจากการหมักด้วยจุลินทรีย์หลายชนิดทำให้ผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ที่ได้มีสารอาหารที่มีประโยชน์มากมาย เช่น กรดอะมิโนและวิตามินชนิดต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย Kwack et al. (1996) รายงานว่ายีสต์มีส่วนทำให้สภาวะแวดล้อมในน้ำนมหมักนั้นเหมาะสมต่อแบคทีเรียแลคติกเพื่อให้แบคทีเรียเหล่านี้สามารถเกิดกิจกรรมการหมักได้สมบูรณ์ โดยสร้างสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก นอกจากนี้ยีสต์ยังเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้รสชาติกลั่น และลักษณะสัมผัสของคีเฟอร์ดีขึ้นด้วย โดยการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ และ Farnworth

(2005) รายงานว่าแบคทีเรียแลคติกจะผลิตเอนไซม์เบต้ากาแลคโตซิเดส (β - galactosidase) ที่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ กลูโคสกับกาแลคโตสที่ยีสต์สามารถใช้ในการเจริญได้ นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกโดยเฉพาะ *Streptococcus lactis* และ *Leuconostoc* sp. เป็นจุลินทรีย์ที่สร้างกลิ่นคาราเมลและรสเปรี้ยวซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์นมหมักนี้ (Farnworth, 2005)

1. กระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียแลคติกในคีเฟอร์

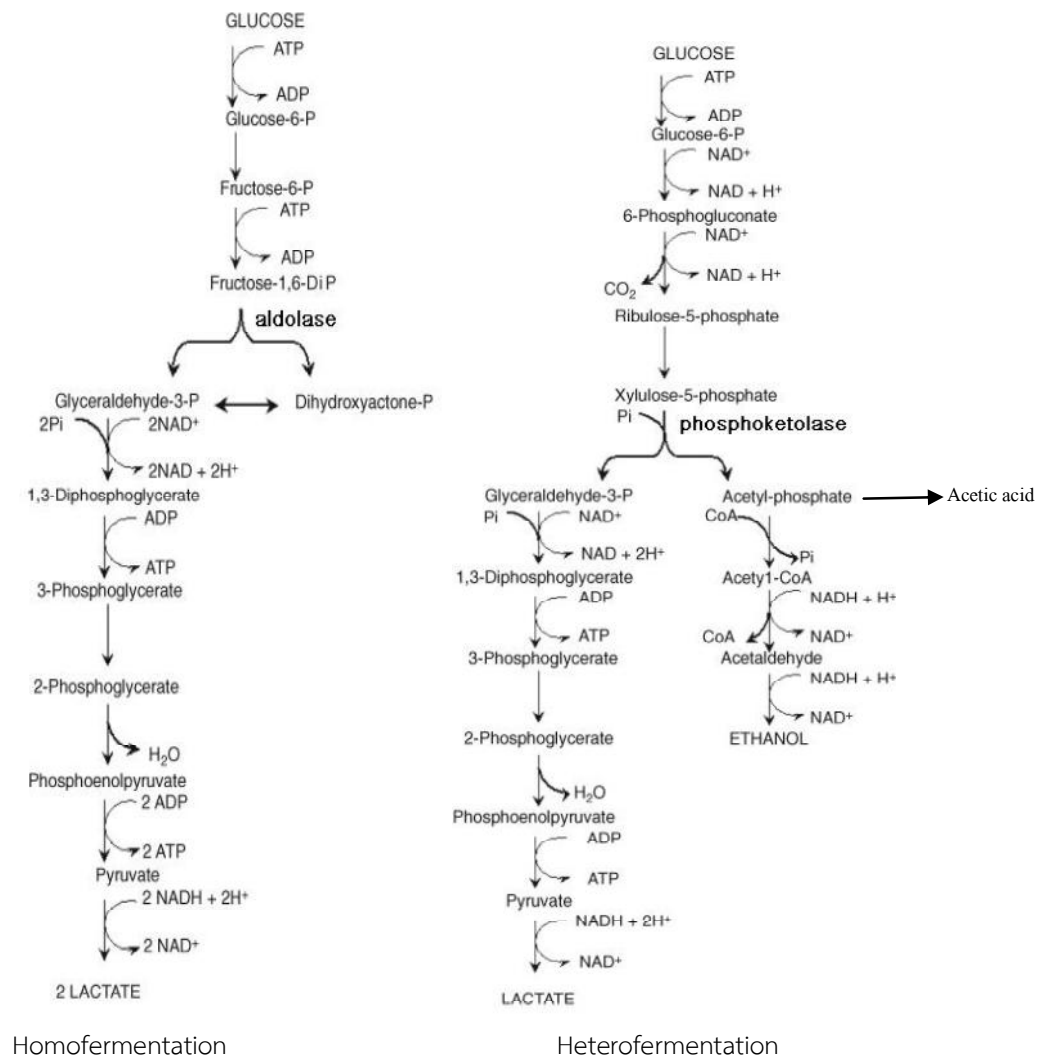
กระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกโดยแบคทีเรียแลคติกสามารถแบ่งออกเป็น 2 กระบวนการหลัก (Todar, 2011) คือ

1.1 การหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเทชัน (homofermentation) คือการหมักที่ได้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก (มากกว่าร้อยละ 85) โดยผ่านวิถีไกลโคไลซิส (EMP หรือ glycolysis pathways) แบคทีเรียแลคติกที่มีลักษณะการหมักแบบนี้ได้แก่เชื้อ *Lactococcus* sp., *Streptococcus* sp. และ *Pediococcus* sp. เป็นต้น การหมักแบบนี้ได้ ATP เกิดขึ้น 2 โมเลกุล และกรดแลคติก 2 โมเลกุล จากการหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล โดยปฏิกิริยาเริ่มจากน้ำตาลกลูโคสซึ่งมีคาร์บอน 6 อะตอมที่ถูกเติมฟอสฟอรัส ทำให้โมเลกุลแตกออกเป็นกลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต ซึ่งมีคาร์บอน 3 อะตอม 2 โมเลกุลโดยเอนไซม์อัลโดเลสและจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไพรูเวท (pyruvate) จากนั้นไพรูเวทเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก ดังรูปที่ 3



1.2 การหมักแบบเฮเทโรเฟอร์เมนเทชัน (heterofermentation) คือการหมักที่ได้ผลิตภัณฑ์นอกจากกรดแลคติก ปริมาณน้อยกว่าร้อยละ 50 แล้ว ยังอาจได้สารอื่น ๆ เช่น เอทานอล ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) กรดอะซิติก (CH_3COOH) ไดอะซีทิล (diacetyl) และอะซีโตอิน (acetoin) โดยผ่านวิถีฟอสโฟคีโทเลส (phosphoketolase pathways) แบคทีเรียแลคติกที่มีลักษณะการหมักแบบนี้ได้แก่ *Leuconostoc* sp. เป็นต้น เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกเหล่านี้ขาดเอนไซม์อัลโดเลส จึงเปลี่ยนรูปน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลเฮกโซสที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ไปเป็นน้ำตาลเพนโตสซึ่งมีคาร์บอน 5 อะตอม และเปลี่ยนน้ำตาลเพนโตสนี้ให้เป็นกลีเซอรอลดีไฮด์ฟอสเฟต (glyceraldehydes phosphate) และอะซีทิลฟอสเฟต (acetyl-phosphate) โดยเอนไซม์ฟอสโฟคีโทเลส กลีเซอรอลดีไฮด์ฟอสเฟตจะเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติก เช่นเดียวกับการเกิดไกลโคไลซิสในการหมักแบบแรก ส่วนอะซีทิลฟอสเฟตจะเปลี่ยนเป็นเอทานอล แต่ในกรณีที่มีออกซิเจน อะซีทิลฟอสเฟตจะถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดอะซิติกได้ ดังนั้นการหมักแบบนี้ได้ ATP เกิดขึ้น 1 โมเลกุล กรดแลคติก 1 โมเลกุล และเอทานอล 1 โมเลกุล จากการหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล (Todar, 2011) ดังรูปที่ 3

นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกยังสามารถเปลี่ยนไพรูเวทไปเป็นไดอะซีทิล ซึ่งเป็นสารหอมระเหยแต่มีปริมาณน้อย พร้อมทั้งได้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดความซ่าและเป็นลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ แสดงดังสมการต่อไปนี้ (Paucean and Carmen, 2008)



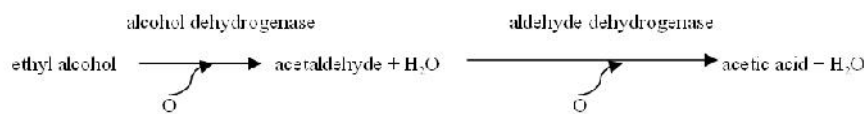
รูปที่ 3 การย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสของแบคทีเรียแลคติก

(ที่มา: ดัดแปลงจาก http://textbookofbacteriology.net/lactics_2.html)

2. กระบวนการเมแทบอลิซึมของอะซิติกแอซิด แบคทีเรียในคีเฟอร์

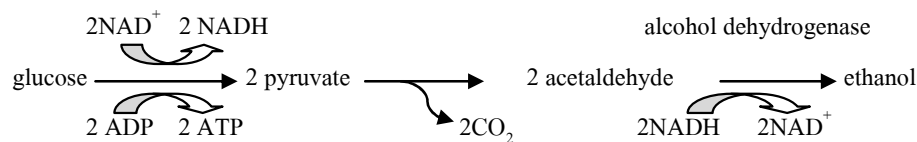
แบคทีเรีย *Acetobacter* spp. จะเปลี่ยนแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักของยีสต์ไปเป็นกรดอะซิติก ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเกิดขึ้น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเปลี่ยนเอทานอลไปเป็นอัลดีไฮด์ (aldehyde) โดยใช้เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส

(alcohol dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และขั้นตอนที่สองการเปลี่ยนอัลดีไฮด์ ไปเป็นกรดอะซิติก ด้วยเอนไซม์อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (aldehyde dehydrogenase) ซึ่งการเกิดกรดอะซิติกนี้จะเกิดในภาวะที่มีออกซิเจนเท่านั้น ปฏิกิริยาแสดงดังสมการต่อไปนี้ (วรารุณ และรุ่งนภา, 2532)



3. กระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์ในคีเฟอร์

ในผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ กิจกรรมในระหว่างกระบวนการหมักของยีสต์นั้นแบ่งได้เป็นสองขั้นตอนคือ ขั้นตอนแรก เชื้อยีสต์ที่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสได้จะย่อยน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกลูโคสและกาแลคโตส ขั้นตอนที่สอง ยีสต์ที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสได้จะใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ย่อยได้จากขั้นตอนแรกมา



สรุป

คีเฟอร์คือผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดหนึ่ง ซึ่งเกิดจากการใช้ก้อนคีเฟอร์ที่มีจุลินทรีย์หลายชนิดอยู่ร่วมกันหมักในนม คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์นี้มีรสเปรี้ยว มีปริมาณแอลกอฮอล์เล็กน้อย มีฟอง และมีกลิ่นที่หอมเฉพาะ คุณสมบัติเหล่านี้เกิดจากการที่มีจุลินทรีย์หลายชนิดซึ่งส่วนใหญ่เป็นกลุ่มแบคทีเรียแลคติกและยีสต์ที่สามารถหมักน้ำตาลได้ เกิดกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสผ่านวิถีไกลโคไลซิสได้สารให้รสและกลิ่นที่มีลักษณะเฉพาะ ได้แก่ เอทานอล เกิดในขั้นตอนของการหมักน้ำตาลของยีสต์ ทำให้ได้กลิ่นและรสของแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์กรดอะซิติก เป็นสารให้รสเปรี้ยวและกลิ่นกรดที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกในขณะที่มีออกซิเจน ไดอะซิติก เป็นสารให้กลิ่นหอมระเหยง่ายเกิดระหว่างกระบวนการสลายน้ำตาลของแบคทีเรียแลคติก มีปริมาณเล็กน้อย ไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร อะซิตัลดีไฮด์ เป็นสารให้กลิ่นในผลิตภัณฑ์นมหมักเป็นกลิ่นแอปเปิลหรือผลไม้รวม แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้จากกระบวนการหมัก

ใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยเปลี่ยนอะซิตัลดีไฮด์เป็นเอทานอลและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจิเนส ซึ่งให้ลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์คีเฟอร์คือมีความซ่าจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และมีกลิ่นหอมจากแอลกอฮอล์ ปฏิบัติการดังสมควรต่อไป (Păucean and Carmen, 2008)

แอลกอฮอล์ และการสลายโปรตีนเป็นไดอะซิติก ทำให้เกิดความซ่าของผลิตภัณฑ์และเป็นลักษณะพิเศษที่ทำให้คีเฟอร์แตกต่างจากผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดอื่น ๆ

เอกสารอ้างอิง

- เจริญ เจริญชัย. 2554. ยีสต์นั้นสำคัญไฉนต่อสุราภรณ์. [ออนไลน์] [อ้างเมื่อ 25 มกราคม 2554]. จาก <http://www.ebooklibs.com/view.php?file=http://www.freewebs.com/drcharoen/pdf/yeast.pdf>
- มีชัย ลัดดี. 2554. บทปฏิบัติการการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก. [ออนไลน์] [อ้างเมื่อ 25 มกราคม 2554]. จาก [http://www.agro.kmutnb.ac.th/e-learning/5 2 1 3 0 2 / 2 .php2554](http://www.agro.kmutnb.ac.th/e-learning/5%201%30%202/2.php2554)
- วราวุฒิ ครูสง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 110-111.

- ศิริรัตน์ ดีศีลธรรม. 2551. การผลิตคีเฟอร์จากน้ำนมข้าวหอมมะลิ สำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเครื่องสำอาง รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 36-37.
- สันทัต ศิริอนันต์ไพบุลย์. 2554. ยีสต์. [ออนไลน์] [อ้างเมื่อ 25 มกราคม 2554]. จาก http://www.tistr.or.th/t/publication/page_are_a_show_bc.asp?i1=81&i2=8
- Angulo, L., Lopez, E. and Lema, C. (1993). Microflora present in kefir grains of the Galician region (North-West of Spain). *Journal of Dairy Research* 60: 263-267.
- Arihara, K., Toba, T. and Adachi, S. (1990). Immunofluorescence microscopic studies on distribution of *L. kefir* in kefir grains. *International Journal of Food Microbiology* 11: 127 - 34.
- De Ley, J., Gillis, M. and Swing, J. (1984). *Acetobacter*, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, 9th ed., Baltimore: The Williams and Wilkins Co. 268-274.
- Devriese, L. A. and Pot, B. (1995). The genus *Enterococcus*. In : B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel (editors), *The Lactic Acid Bacteria, The Genera of Lactic Acid Bacteria*, Vol. 2. London : Blackie Academic: 327-367.
- Farnworth, E. R. (2005). Kefir-a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods* 2: 1-17.
- Fujisawa, T., Adachi, S., Toba, T., Arihara, K. and Mitsuoka, T. (1988). *Lactobacillus kefiranofaciens* sp. nov. isolated from kefir grains. *International Journal of Systematic Bacteriology* 38: 12-14.
- Garrote, G. L., Abraham, A. G. and De Antoni, G. L. (2001). Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *Journal of Dairy Research* 68: 639-652.
- Hardie, J. M. and Witley, R. A. (1995). The genus *Streptococcus*. In B.J.B. Wood and W. H. Holzapfel (eds.). *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Glasgow: Chapman and Hall 75-124.
- Kandler, O. and Kunath, P. (1983). *Lactobacillus kefir* sp. nov., a component of the microflora of kefir. *Systematic and Applied Microbiology* 4: 286-294.
- Koroleva, N. S. (1988a). Technology of kefir and kumys. *Bulletin of the International Dairy Federation* 227: 96-100.
- Koroleva, N. S. (1988b). Starters for fermented milks, section 4: kefir and kumys starters. *Bulletin of the International Dairy Federation* 227: 3540.
- Koroleva, N. S. (1991). Products prepared with lactic acid bacteria and yeasts. In: Robinson, R.K.(ed.). *Therapeutic properties of fermented milks*. London :

- Elsevier Applied Sciences Publishers 159-179.
- Kosikowski, F. V. and Mistry, V. V. (1997). Cheese and fermented milk foods. Wesport: F.V. Kosikowski LLC. 18-57.
- Kwack, H. S., Park, S. K and Kim, D. S. (1996). Biostabilization of kefir with a non-lactose fermenting yeast. *Journal of dairy Science* 79: 937-942.
- Lin, C. W., Chen, H. L. and Liu, J. R. (1999). Identification and characterization of lactic acid bacteria and yeasts isolated from kefir grains in Taiwan. *Australian Journal of Dairy Technology* 54: 14-18.
- Ot1es, S. and Oz1em, C. (2003). Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. *Pakistan Journal of Nutrition* 2 (2): 54-59.
- Păucean, A. and Carmen, S. (2008). Probiotic activity of mixed cultures of kefir's lactobacilli and non-lactose fermenting yeasts. *Bulletin UASVM Agriculture* 65(2): 329-334.
- Pintado, M. E., Lopes Da Silva, J. A., Fernandes, P. B., Malcata, F.X. and Hogg, T.A. (1996). Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. *International Journal of Food Science and Technology* 31: 15-26.
- Santos, A., San Mauro, M., Sanchez, A., Torres, J. M. and Marquina, D. (2003). The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir. *Systematic and Applied Microbiology* 26: 434-437.
- Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, Ts., Frengova, G. and Spasov, Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 28: 1-6.
- Stiles, M. E. and Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology* 36: 1-29.
- Takizawa, S., Kojima, S., Tamura, S., Fujinaga, S., Benno, Y. and Nakase, T. (1994). *Lactobacillus kefirgranum* sp. nov. and *Lactobacillus parakefir* sp. nov., two new species from kefir grains. *International Journal of Systematic Bacteriology* 44: 435-439.
- Todar, K. (2011). Lactic Acid Bacteria. [online textbook of Bacteriology] [cited 2011 Feb 16]. Available from: http://textbookofbacteriology.net/lactics_2.html
- Yokoi, H., Watanabe, T., Fujii, Y., Mukai, T., Toba, T. and Adachi, S. (1991). Some taxonomical characteristics of encapsulated *Lactobacillus* sp. KPB-

167B isolated from kefir grains and characterization of its extracellular polysaccharide. International Journal of Food Microbiology 13: 257-264.

Yoshida, T. and Toyoshima, K. (1994). Lactic acid bacteria and yeast from kefir. Journal of the Japanese Society of Nutrition and Food Science 47: 55-59.

