

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์เพื่อผลิตคีเฟอร์น

Optimization of Kefir Fermentation for Kefiran Production

เบญจมาส เชียร์ศิลป์^{1*}, จริญญา สทนัสต์¹ และรัตนพรณ ภูมิไชยา¹
Benjamas Cheirsilp^{1*}, Jariya Stansat¹ and Rattanapan Phomchaiya¹
Received date: 4 เม.ย. 66 Revised date: 27 ส.ค. 66 Accepted date: 29 ก.ย. 66
DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2025.03.24.003>

บทคัดย่อ

คีเฟอร์เป็นนมหมักพื้นเมืองที่มีต้นกำเนิดจากชาวคอเคซัส (Caucasian) มีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ มีรสเปรี้ยว และมีแอลกอฮอล์ผสมอยู่ด้วย ซึ่งเกิดจากการหมักโดยแบคทีเรียและยีสต์ที่ฝังตัวอยู่ในก้อนเชื้อที่เรียกว่าคีเฟอร์เกรน โดยการหมักคีเฟอร์จะทำให้เชื้อแบคทีเรียแลคติกในก้อนเชื้อผลิตสารเมือกเหนียวที่เรียกว่าคีเฟอร์น จากการศึกษากการผลิตคีเฟอร์นโดยการหมักคีเฟอร์เกรนสองแบบ คือ คีเฟอร์เกรนน้ำที่เลี้ยงด้วยน้ำมะพร้าวและคีเฟอร์เกรนนมที่เลี้ยงด้วยนมสด พบว่าคีเฟอร์เกรนนมมีความสามารถในการผลิตคีเฟอร์นและกรดแลคติกได้มากกว่าคีเฟอร์เกรนน้ำมะพร้าว ในขณะที่คีเฟอร์น้ำมะพร้าวให้การผลิตเอทานอลสูงกว่า และพบว่าการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำให้คีเฟอร์เกรนน้ำมะพร้าวผลิตคีเฟอร์น กรดแลคติก และเอทานอลสูงกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในขณะที่คีเฟอร์เกรนนมให้การผลิตคีเฟอร์นและกรดแลคติกใกล้เคียงกันทั้งที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้การผลิตเอทานอลสูงกว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และพบว่าปริมาณหัวเชื้อคีเฟอร์เกรนนมเริ่มต้นที่ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักคีเฟอร์เกรนเปียกต่อปริมาตรนม และการหมักแบบไม่เขย่า ให้การผลิตคีเฟอร์นได้สูงสุดเท่ากับ 73.63 มิลลิกรัมต่อปริมาตรนม 120 มิลลิลิตร ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการผลิตคีเฟอร์นโดยการหมักคีเฟอร์ได้

คำสำคัญ: คีเฟอร์ คีเฟอร์น คีเฟอร์เกรน นมสด น้ำมะพร้าว

Abstract

Kefir is native fermented milk derived from the Caucasian. It has sour taste and alcoholic qualities caused by the fermentation of yeast and bacteria embedded in kefir grain. By fermenting the kefir, lactic acid bacteria in the grain produce the viscous polymer called kefiran. Kefiran was produced from kefir grains via fermentation with coconut juice or fresh milk. It was found that kefir grains in milk produced higher amounts of kefiran and lactic acid than kefir grains in coconut juice while kefir grains in coconut juice produced higher amount of ethanol. It was also found that at 30°C, kefir grains in coconut juice produced higher amount of kefiran, lactic acid and ethanol than at 37 °C. Additionally, the initial seed inoculum of kefir grains in milk at 1% of kefir grain wet weight by milk volume in static condition yielded the highest amount of kefiran at 73.63 mg per 120 mL of milk. The optimal conditions obtained in this study may contribute to the production of kefiran through kefir fermentation.

Keywords: kefir, kefiran, kefir grains, fresh milk, coconut juice

คำนำ

คีเฟอร์เป็นนมหมักพื้นเมืองที่มีต้นกำเนิดจากชาวคอเคซัส (Caucasian) มีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ มีรสเปรี้ยว และมีแอลกอฮอล์ผสมอยู่ด้วย ซึ่งเกิดจากการหมักโดยยีสต์และแบคทีเรียที่ฝังตัวอยู่ในสารเมือกเหนียวที่เรียกว่าคีเฟอร์น มีลักษณะเป็นก้อนตะปุ่มตะป่ำคล้ายดอกกะหล่ำสีขาวเรียกหัวเชื้อในการหมักนี้ว่า คีเฟอร์เกรน มีขนาดตั้งแต่ 5-20 มิลลิเมตร ขณะที่ก้อนเชื้ออยู่ในน้ำนมเชื้อจุลินทรีย์จะมีการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่องพร้อมกับมีการสร้างสารคีเฟอร์นควบคู่กันไป ดังนั้นคีเฟอร์เกรนจึงเป็นเสมือนก้อนเชื้อผสมที่ตรึงตัวเองอยู่บนก้อนสารเมือก ทำให้สามารถใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตได้อย่างต่อเนื่องไม่สิ้นสุด (Zajšek and Goršek, 2010; Arslan, 2015) ซึ่งคีเฟอร์นี้สามารถใช้ทำไบโอบีนาเพื่อช่วยกระชับรูขุมขน ทำให้ไบโอบีนาดูอ่อนเยาว์ แต่ง

¹ ศูนย์วิจัยความเป็นเลิศนวัตกรรมเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการใช้ประโยชน์ทรัพยากรชีวภาพอย่างยั่งยืน คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

¹ Center of Excellence in Innovative Biotechnology for Sustainable Utilization of Bioresources, Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkla University, Songkhla 90110

* Corresponding author, Email: benjamas.che@psu.ac.th

ตั้ง และยังช่วยขจัดสิว สำหรับคิเฟอร์สามารถประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง ไม่ว่าจะเป็นในอุตสาหกรรมอาหารที่สามารถใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวในอาหาร สารทดแทนไขมัน และเป็นสารทำให้เกิดเจล สำหรับอุตสาหกรรมผลิตเครื่องสำอางหรือเภสัชกรรม คิเฟอร์สามารถนำมาทำเครื่องสำอาง เนื่องจากคิเฟอร์มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถต่อต้านริ้วรอย อีกทั้งสามารถประยุกต์ใช้ในการแพทย์เนื่องจากมีคุณสมบัติในการต้านแบคทีเรีย เชื้อรา และมีกิจกรรมการต้านเนื้องอก (Dailin et al., 2015; Dimitreli et al., 2016; Fels et al., 2018) จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงมีความจำเป็นในการพัฒนาการผลิตคิเฟอร์ระดับอุตสาหกรรม การผลิตคิเฟอร์จากเชื้อผสมที่อยู่ในคิเฟอร์เกรนสามารถใช้นมสดเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเรียกว่าคิเฟอร์นม สำหรับคิเฟอร์ที่ใช้น้ำหวานหรือน้ำผลไม้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเรียกว่าคิเฟอร์น้ำ โดยปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณการผลิตและคุณภาพคิเฟอร์ ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น และสภาวะในการหมัก (Zajšek et al., 2013; Laureys and De Vuyst, 2017; Apar et al., 2017) โดยในงานวิจัยนี้จะศึกษาการผลิตคิเฟอร์โดยเปรียบเทียบการใช้หัวเชื้อที่เป็นคิเฟอร์เกรนนมและคิเฟอร์เกรนน้ำ และศึกษาผลของสภาวะในการหมัก เพื่อให้ได้ข้อมูลที่น่าไปต่อยอดสู่การขยายขนาดการผลิตต่อไป

วิธีการศึกษา

การศึกษาลักษณะทางกายภาพของก้อนเชื้อคิเฟอร์เกรนน้ำและคิเฟอร์เกรนนม

ก้อนเชื้อคิเฟอร์น้ำและก้อนเชื้อคิเฟอร์เกรนนมซื้อจากร้านค้าขายคิเฟอร์ในพื้นที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร กระตุ้นก้อนเชื้อโดยนำก้อนเชื้อคิเฟอร์เกรนน้ำมาเลี้ยงในน้ำมะพร้าวอ่อนในอัตราส่วนร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำก้อนเชื้อคิเฟอร์เกรนนม 2 สายพันธุ์ที่มาจากต่างแหล่งกัน (G1 และ G2) มาเลี้ยงในนมสดยูเอชทีที่อัตราส่วนร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการศึกษาลักษณะปรากฏภายนอกของก้อนเชื้อคิเฟอร์เกรนน้ำและคิเฟอร์เกรนนม และส่องกล้องจุลทรรศน์เพื่อดูเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในภายในก้อนเชื้อ และใช้ก้อนเชื้อในการศึกษาขั้นต่อไป

การศึกษามวลของอุณหภูมิต่อการหมักคิเฟอร์เพื่อผลิตคิเฟอร์

ทำการศึกษามวลของอุณหภูมิต่อการหมักคิเฟอร์น้ำโดยใช้น้ำมะพร้าวและผลของอุณหภูมิต่อการหมักคิเฟอร์นมโดยใช้นมสด ทำการเติมหัวเชื้อคิเฟอร์เกรนลงในอาหารหมักคิเฟอร์ที่กำหนดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 2 ที่อัตราส่วนหัวเชื้อคิเฟอร์เกรนร้อยละ 0.5 ในอาหารหมักคิเฟอร์ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักและเปลี่ยนอาหารหมักคิเฟอร์ทุกวัน เป็นเวลา 6 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทั้งหมดเพื่อนำมาวัดปริมาณกรดแลคติกและปริมาณเอทานอล และวัดปริมาณหัวเชื้อคิเฟอร์เกรนที่เพิ่มขึ้น และทำการสกัดคิเฟอร์จากทั้งหัวเชื้อและในน้ำหมัก

การศึกษามวลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นต่อการหมักคิเฟอร์เพื่อผลิตคิเฟอร์

การศึกษามวลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นต่อการหมักคิเฟอร์ ทำการเติมหัวเชื้อคิเฟอร์เกรนลงในอาหารหมักคิเฟอร์ที่กำหนดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 2 ที่อัตราส่วนหัวเชื้อคิเฟอร์เกรนร้อยละ 0.5 และ 1.0 ในอาหารหมักคิเฟอร์ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองข้างต้น ทำการหมักและเปลี่ยนอาหารหมักคิเฟอร์ทุกวัน ทำการหมักซ้ำเป็นเวลา 6 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทั้งหมดเพื่อวิเคราะห์ค่าต่างๆ ตามการทดลองข้างต้น

การศึกษามวลของการเขย่าต่อการหมักคิเฟอร์เพื่อผลิตคิเฟอร์

การศึกษามวลของการเขย่าต่อการหมักคิเฟอร์ ทำการเติมหัวเชื้อคิเฟอร์เกรนลงในอาหารหมักคิเฟอร์ที่กำหนดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิและอัตราส่วนหัวเชื้อคิเฟอร์เกรนที่เหมาะสมจากการทดลองข้างต้น ทำการหมักแบบไม่เขย่า และเขย่าที่ความเร็วรอบ 60 และ 120 รอบต่อนาที และเปลี่ยนอาหารหมักคิเฟอร์ทุกวัน เป็นเวลา 6 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทั้งหมดเพื่อวิเคราะห์ค่าต่างๆ ตามการทดลองข้างต้น

การศึกษามวลของระยะเวลาในการหมักคิเฟอร์เพื่อผลิตคิเฟอร์

การศึกษามวลของระยะเวลาในการหมักคิเฟอร์ ทำการเติมหัวเชื้อคิเฟอร์เกรนลงในอาหารหมักคิเฟอร์ที่กำหนดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 2 ที่สภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองข้างต้น เก็บตัวอย่างที่วันที่ 1, 2 และ 3 ทำการเก็บตัวอย่างทั้งหมดเพื่อวิเคราะห์ค่าต่างๆ ตามการทดลองข้างต้น

วิธีการวิเคราะห์

การวัดน้ำหนักแห้งของก้อนเชื้อคิเฟอร์เกรน

เก็บเกี่ยวก้อนเชื้อคิเฟอร์เกรนโดยการกรองและล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วนำตะกอนไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ คือประมาณ 48-72 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งน้ำหนักแห้ง

การวิเคราะห์ปริมาณคีเฟอร์

วัดปริมาณค่าคีเฟอร์ในรูปของคีเฟอร์ในคีเฟอร์เกรนและในส่วนใสของอาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธีของ Cheirsilp and Radchabut (2011) การวัดปริมาณคีเฟอร์ในส่วนใส นำส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ตกตะกอนคีเฟอร์ด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 (-20 องศาเซลเซียส) ในอัตราส่วน 1:1 ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนใสออกจากตะกอน ละลายตะกอนที่ได้ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายดังกล่าวปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบเท่าเดิมนาน 10 นาที แยกส่วนใสออกจากตะกอนที่ไม่ละลายน้ำซึ่งเป็นตะกอนโปรตีน ตกตะกอนส่วนใสซ้ำอีกครั้งด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้นเท่าเดิม ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบเท่าเดิมนาน 10 นาที แยกส่วนใสออกจากตะกอนละลายตะกอนที่ได้ด้วยน้ำกลั่น เจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงที่เหมาะสมเพื่อวิเคราะห์ปริมาณคีเฟอร์โดยการวัดน้ำตาลทั้งหมด

สำหรับตัวอย่างที่เป็นนม ทำการตกตะกอนโปรตีนนมตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Zajšek et al. (2013) ด้วย Trichloroacetic acid (TCA) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 ในอัตราส่วน 1:1 ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการแยกตะกอนโปรตีนโดยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกส่วนใสออกจากตะกอนแล้วนำส่วนใสที่ได้มาตกตะกอนคีเฟอร์ดังที่กล่าวในข้างต้น

สำหรับการวัดปริมาณคีเฟอร์ในคีเฟอร์เกรน ทำการสกัดคีเฟอร์จากคีเฟอร์เกรนโดยนำก้อนเชื้อคีเฟอร์เกรนแห้งใส่น้ำกลั่นแล้วนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที ปั่นเหวี่ยงสารผสมที่ได้ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แยกสารละลายคีเฟอร์ที่สกัดได้ออกจากตะกอน วิเคราะห์ปริมาณคีเฟอร์เช่นเดียวกับการวัดปริมาณคีเฟอร์ในส่วนใส

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีแอนโทรน (Cheirsilp et al., 2003) เตรียมสารละลายที่ใช้วัดโดยชั่งแอนโทรน 0.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมค่อยๆ เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 300 มิลลิลิตร เจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงที่เหมาะสมแล้วดูดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดเล็ก เติมสารละลายแอนโทรนปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทำให้เย็นทันที วัดค่าการดูดกลืนแสงในความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยเปรียบเทียบกับค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ลบกับปริมาณคีเฟอร์ที่วัดได้เพื่อคำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกและเอทานอล

วิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกและเอทานอลโดยเทคนิค HPLC โดยดัดแปลงตามวิธีของ Suksawang et al. (2016)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลองอย่างน้อยสองซ้ำ และทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบของตัวอย่างไวน์เมลอนโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS version 16

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ลักษณะทางกายภาพของก้อนเชื้อคีเฟอร์นํ้าและก้อนเชื้อคีเฟอร์นมนม

ลักษณะทางกายภาพของก้อนเชื้อคีเฟอร์นมจะขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่ใช้ในการหมัก แสดงดัง Figure 1 ซึ่งก้อนเชื้อคีเฟอร์นํ้า (Figure 1A) เป็นก้อนวุ้นหลายเหลี่ยมมีสีขาวเหลืองใสกว่าก้อนเชื้อคีเฟอร์นมนม (Figure 1B) ก้อนเชื้อคีเฟอร์นํ้าโดยปกติจะถูกเลี้ยงในอาหารประเภทน้ำผลไม้หรือสารละลายที่มีน้ำตาลซูโครส ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ก้อนเชื้อคีเฟอร์นํ้าที่เลี้ยงในน้ำมะพร้าว เมื่อถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า แสดงดัง Figure 2A จะเห็นลักษณะรูปร่างของเซลล์แตกต่างกัน มีทั้งลักษณะเป็นแท่งและรูปทรงกลมรี ทั้งนี้เนื่องจากก้อนเชื้อคีเฟอร์นํ้าประกอบไปด้วยกลุ่มเชื้อของยีสต์แบคทีเรียแลคติก และแบคทีเรียอื่นๆ ซึ่งแบคทีเรียแลคติกจะใช้น้ำตาลซูโครสในการผลิตแอลฟาไกลูแคนและฟรุคแทน (Fels et al., 2018) แต่จะเห็นกลุ่มของแบคทีเรียสายสั้นมากกว่ายีสต์และแบคทีเรียสายยาว

ส่วนลักษณะก้อนเชื้อคีเฟอร์นมนมเป็นเม็ดค่อนข้างกลม มีสีขาวขุ่นจากการเลี้ยงในอาหารประเภทนม เมื่อถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า แสดงดัง Figure 2B จะเห็นลักษณะของรูปร่างของเซลล์เป็นแท่งสั้น แท่งยาวและทรงกลมรีเช่นกัน ซึ่งเป็นผลมาจากการอยู่ร่วมกันของกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแลคติกและยีสต์ที่เชื่อมกันเป็นก้อนด้วยเคซีนและโพลีแซคคา

ไรต์ที่มีส่วนประกอบของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตส (Arslan, 2015) โดยจะเห็นได้ว่าจะมีเชื้อยีสต์อยู่กระจัดกระจายพร้อมกับแบคทีเรียสายยาวที่มีรายงานว่าเป็นแบคทีเรียแลคติกที่มีผลิตคีเฟอร์รินและกรดแลคติก (Cheirsilp and Radchabut, 2011)

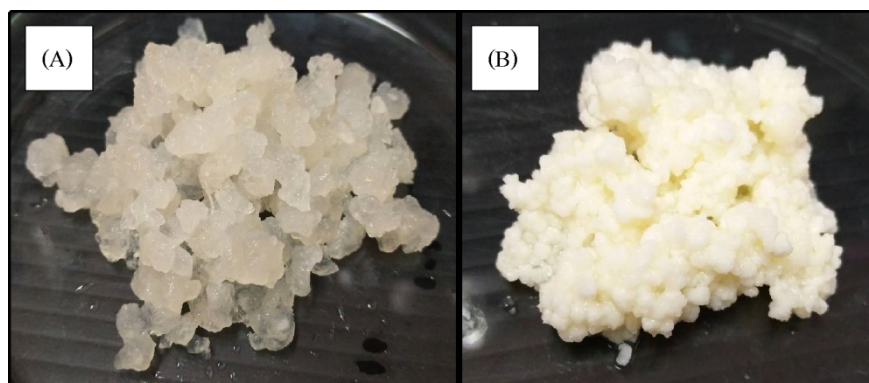


Figure 1 Physical appearance of water kefir grain (A) and milk kefir grain (B).

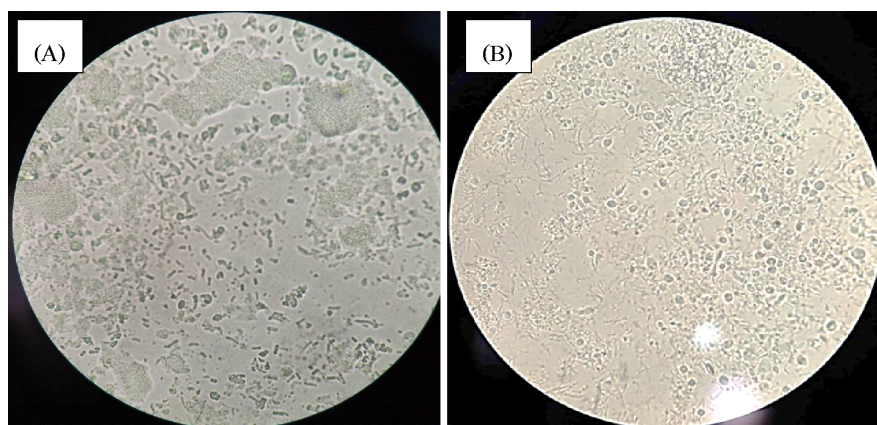


Figure 2 Physical appearances of water kefir grain (A) and milk kefir grain (B) under microscope 100.

ผลของอุณหภูมิต่อการหมักคีเฟอร์น้ำด้วยน้ำมะพร้าว

จากการศึกษาการหมักคีเฟอร์น้ำโดยใช้หัวเชื้อคีเฟอร์กรรน้ำเริ่มต้นร้อยละ 0.5 ในน้ำมะพร้าว 20 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักและเปลี่ยนน้ำมะพร้าวทุกวันเป็นเวลา 6 วัน (รวมใช้น้ำมะพร้าว 120 มิลลิลิตร) จากการสกัดและวัดปริมาณคีเฟอร์รินในก้อนเชื้อคีเฟอร์กรรน้ำ พบว่าก้อนเชื้อคีเฟอร์กรรน้ำที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณคีเฟอร์รินเท่ากับร้อยละ 0.18 ± 0.04 ของน้ำหนักแห้งคีเฟอร์กรรน้ำ ซึ่งมากกว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ให้ปริมาณคีเฟอร์รินร้อยละ 0.05 ± 0.00 สำหรับปริมาณคีเฟอร์รินในส่วนใสจากการหมักคีเฟอร์น้ำ ทำการวัดจากน้ำหมักที่ถ่ายเปลี่ยนทุกวัน โดยแสดงเป็นปริมาณคีเฟอร์รินที่ละลายน้ำในแต่ละวัน และปริมาณคีเฟอร์รินรวมทั้งจากในก้อนเชื้อและน้ำหมัก (Table 1) ผลการทดลองพบว่า อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้การผลิตคีเฟอร์รินรวมสูงกว่าอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณคีเฟอร์รินในส่วนใสรวม 6 วัน เท่ากับ 30.99 และ 19.81 มิลลิกรัมต่อ 120 มิลลิลิตรของน้ำมะพร้าวหมัก ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ากลุ่มเชื้อที่ผลิตคีเฟอร์รินมีกิจกรรมสูงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เมื่อทำการศึกษากิจกรรมกรดแลคติกและปริมาณเอทานอลในอาหารเลี้ยงคีเฟอร์กรรน้ำ พบว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณกรดแลคติกไม่แตกต่างกันมากนัก ซึ่งเท่ากับ 2.23 ± 0.06 และ 2.12 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่การหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณเอทานอลที่สูงกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เล็กน้อย คือเท่ากับ 15.50 ± 0.97 และ 12.49 ± 0.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งอาจมาจากการทำงานของยีสต์ที่ดีกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส Laureys and De Vuyst (2017) ได้รายงานการผลิตกรดแลคติกและเอทานอลของคีเฟอร์กรรน้ำใน

อาหาร water kefir simulation medium (WKSM) เป็นเวลา 192 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส พบว่ามีปริมาณกรดแลคติกอยู่ในช่วง 1.93-2.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณเอทานอลอยู่ในช่วง 27.04-34.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะเห็นได้ว่าการเลี้ยงคีเฟอร์กรานน้ำด้วยน้ำมะพร้าวที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้น้ำหนักแห้งและปริมาณคีเฟอร์รวมมากกว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จึงเลือกสภาวะการเลี้ยงคีเฟอร์กรานน้ำที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไปใช้ในการทดลองต่อไป

ผลของอุณหภูมิต่อการหมักคีเฟอร์นมด้วยนมสด

จากการศึกษาการเลี้ยงคีเฟอร์กรานนม 2 สายพันธุ์ G1 และ G2 ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 0.5 ในนมสด 20 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักและเปลี่ยนนมสดทุกวันเป็นเวลา 6 วัน (รวมใช้นมสด 120 มิลลิลิตร) ผลการทดลองแสดงดัง Table 2 พบว่าการเลี้ยงคีเฟอร์กรานนมสายพันธุ์ G1 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณคีเฟอร์ในส่วนใสทั้งหมดเท่ากับ 46.50 มิลลิกรัมต่อนม 120 มิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่าปริมาณคีเฟอร์ของการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ 51.73 มิลลิกรัมต่อนม 120 มิลลิลิตร แต่ในคีเฟอร์กรานนมสายพันธุ์ G2 พบว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณคีเฟอร์ไม่แตกต่างกันมากนัก คือ เท่ากับ 50.1 และ 48.48 มิลลิกรัมต่อนม 120 มิลลิลิตร ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตคีเฟอร์ที่ต่างกันของคีเฟอร์กรานสองสายพันธุ์อาจมาจากปริมาณและกลุ่มเชื้อในคีเฟอร์กรานที่ต่างกัน จากงานวิจัยของ Apar *et al.* (2017) ที่ทำการศึกษาสภาวะในการเจริญของคีเฟอร์กรานในทางนมที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงสูงขึ้นจาก 17 องศาเซลเซียส เป็น 27 และ 37 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณของก้อนเชื้อเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้นในช่วง 6-7 ชั่วโมงแรก จากนั้นจะเริ่มคงที่ไปจนถึงชั่วโมงที่ 24 โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมคือที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

เมื่อทำการศึกษากิจกรรมกรดแลคติกและปริมาณเอทานอลในอาหารเลี้ยงคีเฟอร์กรานนม พบว่าการเลี้ยงคีเฟอร์กรานนม G1 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณกรดแลคติกเท่ากับ 4.16 ± 1.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงคีเฟอร์กรานนมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เล็กน้อย แต่มีปริมาณเอทานอลไม่แตกต่างกันอยู่ในช่วง 1.3-1.61 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งต่างกับคีเฟอร์กรานนมสายพันธุ์ G2 ที่ให้ปริมาณกรดแลคติกไม่แตกต่างกันอยู่ที่ 4.1-4.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่อุณหภูมิที่ต่างกันให้ปริมาณเอทานอลต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 2.47 ± 1.53 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณเอทานอลเพียง 0.46 ± 0.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากปริมาณและความหลากหลายของสายพันธุ์ของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ในคีเฟอร์กราน โดยปริมาณเอทานอลจะเกิดจากกิจกรรมของยีสต์ หากมีปริมาณยีสต์มากและทำการหมักภายใต้สภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของยีสต์ก็จะทำให้เกิดการผลิตเอทานอลได้สูงกว่า (Zajsek and Gorsek, 2010)

Table 1 Effect of temperature on water kefir grain fermentation in coconut juice

Temperature	Kefiran in broth (mg/20 mL)						Total kefiran (mg/120 mL)	Lactic acid (mg/mL)	Ethanol (mg/mL)
	B1	B2	B3	B4	B5	B6			
30°C	3.77	5.31	4.55	3.01	4.67	9.59	30.90	2.23 ± 0.06^a	15.50 ± 0.97^a
37°C	4.28	4.44	1.63	3.28	3.17	3.01	19.81	2.12 ± 0.03^a	12.49 ± 0.11^b

B1-B6 represents each batch of cultivation. Different superscript letters indicate significant differences between treatments.

Table 2 Effect of temperature on milk kefir grain fermentation in milk

Kefir grain /Temperature	Kefiran in broth (mg/20 mL)						Total kefiran (mg/120 mL)	Lactic acid (mg/mL)	Ethanol (mg/mL)
	B1	B2	B3	B4	B5	B6			
G1/30°C	9.61	6.59	6.48	8.25	8.60	6.97	46.5	3.84 ± 0.25^a	1.61 ± 0.00^a
G1/37°C	8.70	9.83	11.15	7.59	7.28	7.18	51.73	4.16 ± 1.03^a	1.30 ± 0.10^a
G2/30°C	12.17	10.44	8.62	6.45	6.80	5.62	50.10	4.51 ± 0.64^a	2.47 ± 1.53^a
G2/37°C	11.34	7.80	6.76	7.59	6.68	8.31	48.48	4.13 ± 1.28^a	0.46 ± 0.33^b

B1-B6 represents each batch of cultivation. Different superscript letters indicate significant differences between treatments.

จะเห็นได้ว่าการเลี้ยงคีเฟอร์กรานนมให้ปริมาณคีเฟอร์และกรดแลคติกที่สูงกว่าการเลี้ยงคีเฟอร์กรานน้ำ ในขณะที่การเลี้ยงคีเฟอร์กรานน้ำให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าคีเฟอร์นมมาก ซึ่งแสดงให้เห็นถึงกลุ่มเชื้อและการทำงานของกลุ่มเชื้อต่อสารอาหาร

ที่แตกต่างกัน โดยปกติในคีเฟอร์เกรนจะมีทั้งเชื้อแบคทีเรียแลคติกและยีสต์ หากแบคทีเรียแลคติกมีปริมาณมากหรือทำงานได้ดีก็จะทำให้เกิดการผลิตคีเฟอร์และกรดแลคติกมากขึ้น ในขณะที่หากยีสต์มีปริมาณมากหรือทำงานได้ดีก็จะทำให้เกิดการผลิตเอทานอลได้สูงกว่า (Setiawati et al., 2021) เนื่องจากการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นการหมักที่อุณหภูมิห้อง ทำให้สามารถลดต้นทุนการใช้ตู้บ่ม และสายพันธุ์ G2 ให้ปริมาณคีเฟอร์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สูงกว่าสายพันธุ์ G1 จึงเลือกคีเฟอร์เกรนนมสายพันธุ์ G2 ภายใต้การเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไปทำการศึกษาก่อนเชื้อเริ่มต้นในการทดลองต่อไป

ผลของปริมาณก้อนเชื้อเริ่มต้นต่อการหมักคีเฟอร์เพื่อผลิตคีเฟอร์

จากการศึกษาปริมาณก้อนเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ต่อการเลี้ยงคีเฟอร์เกรนน้ำในน้ำมะพร้าวอ่อน 20 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการหมักและเปลี่ยนน้ำมะพร้าวทุกวันเป็นเวลา 6 วัน ผลแสดงดัง Table 3 พบว่าปริมาณก้อนเชื้อและการผลิตคีเฟอร์หลังการเลี้ยงเพิ่มขึ้น โดยที่การใช้ก้อนเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 ทำให้ก้อนเชื้อมีปริมาณคีเฟอร์ร้อยละ 0.18 ± 0.04 และ 0.37 ± 0.04 ของน้ำหนักแห้งคีเฟอร์เกรน ตามลำดับ ในส่วนใสของคีเฟอร์น้ำที่ใช้ปริมาณก้อนเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 เป็นระยะเวลา 6 วัน พบว่าปริมาณก้อนเชื้อที่เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณคีเฟอร์รวมเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่ากับ 30.99 และ 32.96 มิลลิกรัมต่อ 120 มิลลิลิตรของน้ำมะพร้าวหมัก ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษากิจกรรมกรดแลคติกและเอทานอลในอาหารเลี้ยงคีเฟอร์เกรนน้ำ พบว่าการเพิ่มปริมาณก้อนเชื้อเริ่มต้นทำให้มีการผลิตปริมาณกรดแลคติกและเอทานอลลดลง โดยที่การใช้ก้อนเชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 0.5 ให้ปริมาณกรดแลคติกและเอทานอลเท่ากับ 2.23 ± 0.06 และ 15.50 ± 0.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับการเพิ่มปริมาณก้อนเชื้อเริ่มต้นเป็นร้อยละ 1.0 ให้ปริมาณกรดแลคติกและเอทานอลเท่ากับ 0.96 ± 0.37 และ 4.77 ± 0.76 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งอาจเกิดจากเมื่อปริมาณหัวเชื้อที่เป็นของแข็งเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดข้อจำกัดของการถ่ายโอนมวล และการเข้าถึงสารอาหารของสายพันธุ์ที่ผลิตกรดแลคติกและเอทานอล (Zajšek and Goršek, 2010)

ผลของปริมาณก้อนเชื้อเริ่มต้นต่อการหมักคีเฟอร์นมโดยใช้นมสด จากการศึกษาก่อนเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ของการหมักคีเฟอร์นมในนมสด 20 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการหมักและเปลี่ยนนมทุกวันเป็นเวลา 6 วัน ผลการทดลองแสดงดัง Table 4 พบว่าการเพิ่มปริมาณก้อนเชื้อเริ่มต้นจากร้อยละ 0.5 เป็นร้อยละ 1.0 ทำให้การผลิตคีเฟอร์ในก้อนเชื้อลดลงเล็กน้อย แต่ในส่วนใสของคีเฟอร์นมหลังการเลี้ยงด้วยปริมาณก้อนเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 เป็นระยะเวลา 6 วัน พบว่ามีปริมาณคีเฟอร์รวมเพิ่มขึ้นจาก 33.04 เป็น 73.63 มิลลิกรัมต่อ 120 มิลลิลิตรของนมหมัก เมื่อทำการศึกษากิจกรรมกรดแลคติกและปริมาณเอทานอลในคีเฟอร์นม พบว่าการเพิ่มก้อนเชื้อคีเฟอร์เกรนนมให้การผลิตกรดแลคติกและเอทานอลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

Table 3 Effect of inoculum size on water kefir cultivation in coconut juice

Inoculum size	Kefiran in grain		Kefiran in broth (mg/20 mL)								Total kefiran (mg/120 mL)	Lactic acid (mg/mL)	Ethanol (mg/mL)
	%(w/w)	(mg/20 mL)	B1	B2	B3	B4	B5	B6					
0.5%	0.18 ± 0.04^b	0.11 ± 0.01^a	3.77	5.31	4.55	3.01	4.67	9.59	30.99		2.23 ± 0.06^a	15.50 ± 0.97^a	
1.0%	0.37 ± 0.04^a	0.08 ± 0.02^a	4.22	6.41	2.91	7.32	6.89	5.10	32.96		0.96 ± 0.37^b	4.77 ± 0.76^b	

B1-B6 represents each batch of cultivation. Different superscript letters indicate significant differences between treatments.

Table 4 Effect of inoculum size of grain G2 on milk kefir cultivation in milk

Inoculum size	Kefiran in grain		Kefiran in broth (mg/20 mL)								Total kefiran (mg/120 mL)	Lactic acid (mg/mL)	Ethanol (mg/mL)
	%(w/w)	(mg/20 mL)	B1	B2	B3	B4	B5	B6					
0.5%	0.84 ± 0.38^a	0.25 ± 0.06^a	6.21	5.62	5.27	5.75	5.51	4.43	33.04		3.73 ± 1.03^a	0.66 ± 0.21^a	
1.0%	0.70 ± 0.10^a	0.28 ± 0.06^a	11.47	14.82	14.14	11.86	10.05	11.01	73.63		4.15 ± 0.56^a	0.59 ± 0.06^a	

B1-B6 represents each batch of cultivation. Different superscript letters indicate significant differences between treatments.

ผลของการให้อากาศต่อการหมักคีเฟอร์เพื่อผลิตคีเฟอร์

จากการศึกษาการให้อากาศต่อการหมักคีเฟอร์น้ำด้วยการเขย่าที่ความเร็วรอบ 0, 60 และ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน โดยใช้ก้อนเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 1.0 ผลการทดลองแสดงดัง Table 5 พบว่าการเขย่าด้วยความเร็วรอบ 60 และ 120 รอบต่อนาที ให้ปริมาณคีเฟอร์ในก้อนเชื้อไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และสูงกว่าการไม่เขย่าเล็กน้อย ในส่วนของน้ำหมักคีเฟอร์น้ำ พบว่าการเพิ่มความเร็วย่อมมีผลทำให้ปริมาณคีเฟอร์รวมในอาหารลดลง โดยมีปริมาณคีเฟอร์เท่ากับ 32.86, 23.88 และ 18.05 มิลลิกรัมต่อ 120 มิลลิลิตร ตามลำดับ และพบว่าปริมาณกรดแลคติกและเอทานอลสูงสุดเมื่อมีการเขย่าที่ความเร็วรอบ 60 รอบต่อนาที ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการถ่ายโอนออกซิเจนที่เหมาะสมทำให้ส่งเสริมกิจกรรมของกลุ่มเชื้อผลิตกรดแลคติกและเอทานอล (Setiawati et al., 2021)

จากการศึกษาการให้อากาศคีเฟอร์นมด้วยการเขย่าที่ความเร็วรอบ 0, 60 และ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน โดยใช้ก้อนเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 1.0 ต่อปริมาตรอาหาร ผลการทดลองแสดงดัง Table 6 พบว่าการเขย่าให้ปริมาณคีเฟอร์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบว่าการเพิ่มความเร็วย่อมมีผลทำให้ปริมาณคีเฟอร์ในอาหารลดลง โดยที่การเลี้ยงแบบไม่เขย่าให้ปริมาณคีเฟอร์เท่ากับ 73.63 มิลลิกรัมต่อ 120 มิลลิลิตร รองลงมาเป็นการเขย่าที่ความเร็วรอบ 60 และ 120 รอบต่อนาที ที่ให้ปริมาณคีเฟอร์เท่ากับ 68.38 และ 53.41 มิลลิกรัมต่อ 120 มิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการให้อากาศมีผลทำให้การผลิตคีเฟอร์ในอาหารลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแบคทีเรียกรดแลคติกมีการเจริญและผลิตคีเฟอร์ได้ดีภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ เมื่อทำการศึกษาปริมาณของกรดแลคติกและเอทานอลพบว่าการใช้ความเร็วในการเขย่าที่ 120 รอบต่อนาที ให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดเท่ากับ 8.55 ± 0.43 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่การเขย่าที่ 60 รอบต่อนาที ให้การผลิตเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 1.74 ± 0.41 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่งานวิจัยของ Zajšek et al. (2013) ที่ทำการศึกษาสภาวะในการผลิตคีเฟอร์ของคีเฟอร์นม พบว่าการเลี้ยงคีเฟอร์นมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และเขย่าด้วยความเร็วรอบ 80 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ได้ปริมาณคีเฟอร์สูงสุดเท่ากับ 7.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าการเลี้ยงแบบไม่เขย่าที่มีปริมาณคีเฟอร์เพียง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกลุ่มเชื้อที่แตกต่างกันในก้อนเชื้อคีเฟอร์นม

Table 5 Effect of agitation on water kefir fermentation in coconut juice

Agitation	Kefiran in grain		Kefiran in broth (mg/20 mL)						Total kefiran (mg/120 mL)	Lactic acid (mg/mL)	Ethanol (mg/mL)
	% (w/w)	(mg/20 mL)	B1	B2	B3	B4	B5	B6			
0 rpm	0.11 ± 0.12^b	0.01 ± 0.01^c	4.22	6.41	2.90	7.32	6.89	5.10	32.85	0.96 ± 0.37^b	4.77 ± 0.76^b
60 rpm	0.30 ± 0.04^a	0.10 ± 0.01^a	3.01	3.41	3.14	3.66	7.20	3.37	23.88	1.60 ± 0.33^a	13.79 ± 4.47^a
120 rpm	0.40 ± 0.05^a	0.07 ± 0.01^b	2.31	2.30	1.81	3.17	4.45	3.92	18.05	0.66 ± 0.11^b	8.28 ± 0.69^a

B1-B6 represents each batch of cultivation. Different superscript letters indicate significant differences between treatments.

Table 6 Effect of agitation on milk kefir fermentation in milk

Agitation	Kefiran in grain		Kefiran in broth (mg/20 mL)						Total kefiran (mg/120 mL)	Lactic acid (mg/mL)	Ethanol (mg/mL)
	% (w/w)	(mg/20mL)	B1	B2	B3	B4	B5	B6			
0 rpm	0.70 ± 0.10^a	0.25 ± 0.06^b	11.4	14.8	14.1	11.8	10.0	11.0	73.35	4.15 ± 0.56^b	0.59 ± 0.06^b
60 rpm	0.54 ± 0.16^a	0.27 ± 0.07^b	11.51	11.22	12.50	11.01	10.79	11.08	68.38	3.18 ± 0.88^b	1.74 ± 0.41^a
120 rpm	0.76 ± 0.22^a	0.51 ± 0.10^a	10.47	10.76	4.24	9.08	8.69	9.65	53.41	8.55 ± 0.43^a	0.66 ± 0.03^b

B1-B6 represents each batch of cultivation. Different superscript letters indicate significant differences between treatments.

การศึกษาผลของระยะเวลาในการหมักคีเฟอร์เพื่อผลิตคีเฟอร์

เนื่องจากการศึกษาในข้างต้นพบว่า ปริมาณคีเฟอร์ในหัวเชื้อคีเฟอร์เกรนจะมีปริมาณน้อยกว่าปริมาณคีเฟอร์ในน้ำหมักมาก ซึ่งการผลิตคีเฟอร์จะเกิดขึ้นจากเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในคีเฟอร์เกรน มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ ซึ่งส่วนใหญ่จะละลายออกมาในอาหารที่ใช้หมัก และมีเพียงส่วนน้อยที่เกาะอยู่ที่ผนังเซลล์ (Cheirsilp et al., 2003) ในการทดลองนี้จึงศึกษาผลของระยะเวลาในการหมักต่อการผลิตคีเฟอร์ในน้ำหมัก โดยจากการศึกษาผลของระยะเวลาในการหมักคีเฟอร์น้ำทำให้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน ผลการทดลองพบว่าการเพิ่มระยะเวลาในการหมักคีเฟอร์น้ำทำให้ได้ปริมาณคีเฟอร์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยอยู่ในช่วง 6-7 มิลลิกรัม และให้กรดแลคติกในช่วง 2.18-2.52 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้ปริมาณเอทานอลในช่วง 10-12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการหมักคีเฟอร์นม พบว่าการเพิ่มระยะเวลาการหมัก ทำให้ปริมาณคีเฟอร์ลดลง ทั้งนี้อาจเกิดจากข้อจำกัดในการถ่ายโอนมวล เนื่องจากหัวเชื้อคีเฟอร์มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยการหมักเป็นเวลา 1 วัน ให้การผลิตคีเฟอร์สูงสุดอยู่ในช่วง 11-14 มิลลิกรัมต่อ 20 มิลลิลิตรต่อวัน สำหรับปริมาณกรดแลคติกและเอทานอลพบว่าการเพิ่มระยะเวลาในการหมักไม่มีผลต่อปริมาณกรดแลคติกและเอทานอล โดยเชื่อมีการผลิตกรดแลคติกและเอทานอลเท่ากับ 3.5-4.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.5-0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

สรุปผลการศึกษา

จากการหมักคีเฟอร์น้ำโดยใช้นมมะพร้าวและการหมักคีเฟอร์นมโดยใช้นมสด พบว่าคีเฟอร์เกรนนมโดยเฉพาะสายพันธุ์ G2 มีความสามารถในการผลิตคีเฟอร์ได้มากกว่าคีเฟอร์เกรนนมมะพร้าว และจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์คีเฟอร์เกรนที่นำมาเลี้ยง ในงานวิจัยนี้เลือกคีเฟอร์เกรนที่สามารถผลิตคีเฟอร์ได้สูงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และพบว่าปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักคีเฟอร์เกรนเปียกต่อปริมาตรนม และการเลี้ยงแบบไม่เขย่าให้การผลิตคีเฟอร์ได้มากที่สุด ผลจากงานวิจัยนี้ทำให้ได้ข้อมูลกระบวนการผลิตคีเฟอร์และคีเฟอร์ที่มีประสิทธิภาพ ที่สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีทำให้ผู้ประกอบการเพื่อนำไปสู่การขยายขนาดการผลิตและนำไปสู่การผลิตระดับอุตสาหกรรมต่อไปได้

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการวิจัยถ่ายทอดเทคโนโลยี/องค์ความรู้ และนวัตกรรมจากผลการวิจัยภายใต้ทุนสนับสนุนการวิจัยจากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ภายใต้รหัสโครงการวิจัย AGR062-STP60

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ริเริ่มงานวิจัย กำหนดสมมุติฐานงานวิจัย ออกแบบการทดลอง วิเคราะห์ข้อมูล แปรผล วิพากษ์วิจารณ์ผล และเขียน Manuscript: เบญจมาศ เชียรศิลป์. ส่วนร่วมในการออกแบบการทดลอง ปฏิบัติการวิจัย วิเคราะห์ข้อมูล แปรผล วิพากษ์วิจารณ์ผล และเขียน Manuscript: จริญญา สาทนัสต์. ส่วนร่วมในการเขียน Manuscript: รัตนพรณ ภูมิไชยา.

เอกสารอ้างอิง

- Apar, D. K., Demirhan, E., Özel, B., & Özbek, B. (2017). Kefir grain biomass production: Influence of different culturing conditions and examination of growth kinetic models. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), e12332.
- Arslan, S. (2015). A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. *CyTA-Journal of Food*, 13(3), 340-345.
- Cheirsilp, B., & Radchabut, S. (2011). Use of whey lactose from dairy industry for economical kefir production by *Lactobacillus kefirifaciens* in mixed cultures with yeasts. *New Biotechnology*, 28(6), 574-580.
- Cheirsilp, B., Shoji, H., Shimizu, H., & Shioya, S. (2003). Interactions between *Lactobacillus kefirifaciens* and *Saccharomyces cerevisiae* in mixed culture for kefir production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 96(3), 279-284.
- Dailin, D. J., Elsayed, E. A., Othman, N. Z., Malek, R. A., Ramli, S., Sarmidi, M.R., Aziz, R., Wadaan, M. A., & El Enshasy, H. A. (2015). Development of cultivation medium for high yield kefir production by *Lactobacillus kefirifaciens*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 159-163.
- Dimitreli, G., Exarhopoulos, S., Goulas, A., Antoniou, K. D., & Raphaelides, S. N. (2016). Effect of kefir and milk proteins addition on the rheological behavior of glucono-delta-lactone induced milk gels. *Journal of Food Research*, 5(1), 121-128.

- Fels, L., Jakob, F., Vogel, R. F., & Wefers, D. (2018). Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. **Carbohydrate Polymers**, 189(1), 296-303.
- Laureys, D., & De Vuyst, L. (2017). The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. **Journal of Applied Microbiology**, 122(3), 719-732.
- Setiawati, A. E., Sari, I. N. I., & Hasyati, N. (2021). Effect of temperature and time storage towards alcohol level in cow milk kefir. In **International Conference on Green Agro-industry and Bioeconomy**, pp. 012108. Faculty of Agricultural Technology, Universitas Brawijaya.
- Suksawang, S., Cheirsilp, B., & Yeesang, J. (2016). Production of kefir from molasses and spent yeast cells by *Lactobacillus kefiranofaciens* JCM 6985. **Asia-Pacific Journal of Science and Technology**, 21(2), 59-67.
- Zajšek, K., & Goršek, A. (2010). Mathematical modelling of ethanol production by mixed kefir grains yeast population as a function of temperature variations. **Biochemical Engineering Journal**, 49(1), 7-12.
- Zajšek, K., Goršek, A., & Kolar, M. (2013). Cultivating conditions effects on kefir production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains. **Food Chemistry**, 139(1-4), 970-977.