สารเมตาบอไลต์จากกระบวนการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ร่วมกันและคุณสมบัติเชิงหน้าที่

เนตรดาว พิมพ์ทอง[1], วรรณลักษณ์ เสนะกูล[1], วริยา อนุอัน[1], มาริสา หงส์ชนะกิจ[1] และ วนิดา ปานอุทัย[2*]

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
[2]ฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
[*]ผู้นิพนธ์หลัก อีเมล : ifrwdp@ku.ac.th
รับเมื่อ 30 พฤษภาคม 2567 **แก้ไขเมื่อ** 27 กันยายน 2567 **ตอบรับเมื่อ** 11 ตุลาคม 2567

จุดเด่น

- กระบวนการหมักร่วมส่งเสริมประสิทธิภาพในการสร้างสารเมตาบอไลต์ของจุลินทรีย์
- สารเมตาบอไลต์ที่เพิ่มขึ้นจากกระบวนการหมักร่วมมีประโยชน์ที่หลากหลาย
- กระบวนการหมักร่วมส่งผลให้เกิดคุณสมบัติเชิงหน้าที่อันเป็นเอกลักษณ์

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงร่วม (co-culture) เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ในสภาพแวดล้อมเดียวกัน เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิต วิธีนี้ช่วยส่งเสริมกิจกรรมของจุลินทรีย์ทำให้เกิดการสังเคราะห์สารเมตาบอไลต์ต่าง ๆ ในระหว่างการหมัก สารเมตาบอไลต์เหล่านี้รวมถึงสารเมตาบอไลต์ปฐมภูมิและทุติยภูมิที่เปลี่ยนแปลงขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ เช่น ประเภทของจุลินทรีย์และสภาพแวดล้อมในการหมัก การหมักร่วมส่งผลให้เกิดสารเมตาบอไลต์ที่หลากหลาย รวมถึงสารที่ผลิตจากการหมักร่วมของยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ ประกอบด้วย ยีสต์ร่วมกับแบคทีเรีย และยีสต์ร่วมกับสาหร่าย กระบวนการเหล่านี้เกี่ยวข้องกับวิถีเมตาบอลิซึมที่เสริมซึ่งกันและกัน ส่งผลให้สารเมตาบอไลต์มีคุณสมบัติการทำงานที่แตกต่างกันออกไป สารเหล่านี้ไม่เพียงแต่เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและปรับปรุงรสชาติและกลิ่นเท่านั้น แต่ยังยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตอีกด้วย กระบวนการหมักร่วมของจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการผลิตสารที่มีคุณค่าพร้อมการใช้งานในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อาหารเพื่อสุขภาพและยา กระบวนการเพาะเลี้ยงร่วมของจุลินทรีย์แสดงให้เห็นถึงศักยภาพที่สำคัญในการปรับปรุงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพ ด้วยการใช้ประโยชน์จากปฏิสัมพันธ์ที่เสริมฤทธิ์กันระหว่างจุลินทรีย์ต่าง ๆ การเพาะเลี้ยงร่วมจึงส่งผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่หลากหลาย รวมถึงวิถีทางเมตาบอลิซึมที่เพิ่มขึ้น และการผลิตสารเมตาบอไลต์ที่มีเอกลักษณ์เฉพาะเพื่อประยุกต์ใช้งานทางอุตสาหกรรมที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้น ดังนั้นสารเมตาบอไลต์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ร่วมถือเป็นกลยุทธ์ที่มีแนวโน้มในการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการผลิตทางชีวภาพ และการพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ก้าวหน้า

คำสำคัญ : การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ร่วม เมตาบอไลต์ คุณสมบัติเชิงหน้าที่

Metabolites from microbial co-cultures and their functional properties

Netdaow Pimthong[1], Wannalak Senagul[1], Wariya Anuan[1], Marisa Hongchanakit[1], and Wanida Pan-utai[2*]

[1]Department of Microbiology, Faculty of Science, Kasetsart University

[2]Department of Applied Microbiology, Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University

*Corresponding author, e-mail : ifrwdp@ku.ac.th

Received 30 May 2024; **Revised** 27 September 2024; **Accepted** 11 October 2024

Highlights

- Potential of metabolites derived from microbial co-cultures
- Microbial co-cultures play a crucial role in enhancing the efficiency of bioproducts
- Functional properties derived from microbial co-cultures offer unique and diverse benefits

Abstract

Co-culture involves growing multiple strains of microorganisms together in the same environment to improve production efficiency. This method utilizes the complementary strengths of different microorganisms, producing various metabolites during fermentation. These metabolites, including primary and secondary metabolites, are affected by factors such as the types of microorganisms and the fermentation environment. Co-fermentation results in diverse metabolites, including those produced from the co-fermentation of different yeast strains, yeast and bacteria, and yeast and algae. These processes involve metabolic pathways that complement each other, resulting in metabolites with distinct functional properties. These metabolites not only increase nutritional value and improve taste and smell but also extend the final product's shelf life and enhance production efficiency. The microbial co-fermentation process is powerful for producing valuable metabolites with applications across industries such as health food and pharmaceuticals. The use of microbial co-cultures has shown significant potential in improving bioproduct efficiency. By taking advantage of the synergistic interactions between different microorganisms, co-cultures offer a wide range of functional properties, including enhanced metabolic pathways and the production of unique metabolites with valuable industrial

applications. Therefore, metabolites from microbial co-cultures represent a promising strategy for optimizing bioproduction processes and advancing bioproduct development.

Keywords : microbial co-cultures, metabolites, functional properties

บทนำ

กระบวนการหมักเป็นเทคนิคที่ใช้ในการถนอมอาหารให้สามารถเก็บได้นานยิ่งขึ้น รวมถึงช่วยในการเพิ่มคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส ได้แก่ รสชาติ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของอาหาร โดยการหมักเป็นกระบวนการที่ช่วยย่อยสลายโมเลกุลอินทรีย์ขนาดใหญ่ให้กลายเป็นโมเลกุลขนาดเล็ก โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ แบคทีเรีย รา และสาหร่าย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและได้เมตาบอไลต์ที่หลากหลาย

ยีสต์จัดเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มักถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร โดยบทความนี้มุ่งเน้นถึงสารเมตาบอไลต์ที่พบได้จากกระบวนการหมักยีสต์ร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น เมื่อนำยีสต์มาเพาะเลี้ยงร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น หรือที่เรียกว่า co-culture เป็นการเพาะเลี้ยงร่วมระหว่างจุลินทรีย์มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ร่วมกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของผลผลิตที่ได้จากการหมักหรือสารสำคัญต่าง ๆ ที่ได้จากการหมักในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม โดยนำยีสต์เพาะเลี้ยงร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น แบ่งออกได้เป็น 3 แบบ 1) การเพาะเลี้ยงร่วมระหว่างยีสต์กับยีสต์ โดยส่วนใหญ่แล้ว ยีสต์ที่นำมาใช้นั้นจะเป็นยีสต์ประเภท *Saccharomyces* และ *non-Saccharomyces* ซึ่งการหมักร่วมของยีสต์นี้สามารถช่วยลดปริมาณเอทานอลที่จะเกิดขึ้น และเพิ่มปริมาณกลีเซอรอล ทำให้มีกลิ่นรสที่ดียิ่งขึ้น 2) การเพาะเลี้ยงร่วมระหว่างยีสต์และแบคทีเรีย ส่วนใหญ่มักจะพบได้ในผลิตภัณฑ์ประเภทเครื่องดื่ม ขนมปังซาวโดวจ์ (sourdough) ผลิตภัณฑ์จากนม และอาหารหมักดอง โดยการหมักร่วมของสองชนิดนี้จะช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหาร รสชาติ และยังสามารถช่วยในการยืดอายุอาหารเพื่อใช้ในการเก็บรักษาที่นานขึ้นได้ เนื่องจากมีการผลิตกรดที่เพิ่มขึ้นจากการหมักร่วมนี้ และ 3) การเพาะเลี้ยงร่วมระหว่างยีสต์และสาหร่าย ซึ่งถูกนำมาใช้ในอาหารและเครื่องดื่มหมักหลายชนิดเพื่อเพิ่มคุณภาพที่ได้จากการหมักให้มีรสชาติและกลิ่นที่ดียิ่งขึ้น และยังเพิ่มคุณค่าทางอาหารอีกด้วยเนื่องจากสาหร่าย *Spirulina* เป็นแหล่งโปรตีนที่มีความสำคัญอย่างมากเพื่อใช้สำหรับเป็นสารตั้งต้นของเซลล์ยีสต์ เพื่อช่วยในการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพ โดยกระบวนการหมักจุลินทรีย์ร่วมกันมีบทบาทสำคัญต่อการเพิ่มประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารเมตาบอไลต์ที่พบได้จากกระบวนการหมักจุลินทรีย์จากกระบวนการหมักร่วมมีเอกลักษณ์และประโยชน์ที่หลากหลาย

สารเมตาบอไลต์ (metabolite)

สารเมตาบอไลต์ (metabolite) คือสารเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการเผาผลาญ (metabolism) ของสิ่งมีชีวิต เปรียบเสมือนผลิตภัณฑ์ขั้นกลางหรือขั้นสุดท้ายของปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นภายในเซลล์[1] โดยสามารถแบ่งชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ดังนี้

1) สารเมตาบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolites) คือสารที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก ประกอบด้วยกรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์ และผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการหมัก เช่น เอทานอลและกรดอินทรีย์ โดยสารดังกล่าวมีความจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

2) สารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) คือสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดขึ้นช่วงสุดท้ายของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะการหมักที่เหมาะสม ซึ่งไม่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการเจริญเติบโต และการสืบพันธุ์ของจุลินทรีย์ โดยสารดังกล่าวมีประโยชน์ทางการแพทย์ที่หลากหลาย เช่น ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ยาถ่ายพยาธิ ยารักษาโรคมะเร็ง ยายับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitors) และยาที่ใช้ลดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive)

นอกจากนี้ในกระบวนการหมักสามารถจัดจำแนกชนิดของสารเมตาบอไลต์ตามความสามารถในการระเหยได้เป็น 2 กลุ่มดังนี้[2-3]

1) สารประกอบที่ไม่ระเหย (non-volatile compounds) มีส่วนสำคัญต่อรสชาติและกลิ่นของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เช่น น้ำตาลซึ่งยังเป็นแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ กรดอะมิโนเป็นสารอาหารและสารตั้งต้นของสารระเหยที่ส่งผลต่อกลิ่นของผลิตภัณฑ์

2) สารประกอบที่ระเหยได้ (volatile compounds) เช่น แอลกอฮอล์โมเลกุลใหญ่ (higher alcohols) เอสเทอร์ของกรดอะซิติก (acetate esters) เอสเทอร์ของเอทานอล (ethyl esters) และสารประกอบที่มีกำมะถัน (sulfur-containing compounds) สารระเหยที่สำคัญอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก ได้แก่ 3-เมทิล-1-บิวทานอล (3-methyl-1-butanol), 2-ฟีนิลเอทานอล (2-phenylethanol), และ 3-เมทิลบิวทิลอะซิเทต (3-methylbutyl acetate)

กระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์เพื่อผลิตภัณฑ์หรือสารประกอบสำคัญนั้น สามารถทำได้ด้วยระบบการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เดี่ยว (monoculture) และการเพาะเลี้ยงร่วม (co-culture) โดยใช้จุลินทรีย์มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ ซึ่งการกระบวนหมักหรือเพาะเลี้ยงร่วมกันของจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ส่งผลให้มีรูปแบบของสารเมตาบอไลต์ที่ได้แตกต่างกัน ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันด้วย

สารเมตาบอไลต์ที่พบได้จากกระบวนการหมักจุลินทรีย์ร่วม

กระบวนการหมักร่วม คือ กระบวนการหมักที่ใช้จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ร่วมกันในสภาวะเดียวกัน ซึ่งจุลินทรีย์ในกระบวนหมักร่วมมีปฏิสัมพันธ์หลายรูปแบบ ได้แก่ ปฏิสัมพันธ์เชิงบวก (+, +) ปฏิสัมพันธ์เชิงกลาง (0, 0) ปฏิสัมพันธ์เชิงลบ (+, -) ปฏิสัมพันธ์เชิงปรสิต (-, 0) และปฏิสัมพันธ์เชิงแข่งขัน (-, -) โดยในบทความนี้สนใจเน้นปฏิสัมพันธ์เชิงบวก (+, +) เนื่องจากจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์มีการทำงานร่วมกันส่งผลให้ได้สารที่ประโยชน์หลากหลาย

สารเมตาบอไลต์ที่พบได้จากกระบวนการหมักจุลินทรีย์ร่วมกัน สามารถสรุปได้ตามระบบกระบวนการหมักจุลินทรีย์ร่วมกัน ดังนี้

1. สารเมตาบอไลต์จากกระบวนการหมักร่วมกันระหว่างยีสต์ต่างสายพันธุ์

ในกระบวนหมักร่วมกันของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ทำให้เกิดสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกัน ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ ได้แก่ ซีอิ๊ว ไวน์ เบียร์ เป็นต้น จากการศึกษาของ Duarte และคณะ[4] พบว่า การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ Cachaça โดยใช้กระบวนการหมักร่วมกันของใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* และ *Pichia caribbica* UFLA CAF733 ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงถึง 75.37 กรัม/ลิตร และสารระเหยที่ให้กลิ่นรสเฉพาะตัวที่เป็นเอกลักษณ์ เช่น เอทิลเฮกซาโนเอท (ethyl hexanoate) 2-ฟีนิลเอธานอล (2-phenylethanol) ลินาลูล (linalool) เอทิลบิวทีเรต (ethyl butyrate) ฟีนิลเอทิลอะซีเทต (phenylethyl acetate) ไดเอทิลซักซิเนต (diethylsuccinate) และเจอรานิออล (geraniol) นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเอทิลเอสเทอร์ (ethyl ester) 290.13 ไมโครกรัม/ลิตร อะซีเทต (acetates) 715.21 ไมโครกรัม/ลิตร และสามารถผลิตแอลกอฮอล์โมโนเทอร์พีน (monoterpenic alcohols) 195.56 ไมโครกรัม/ลิตร และการเพาะเลี้ยงร่วมนี้ยังสามารถผลิตกรดระเหยง่ายและแอลดีไฮด์ (aldehyde) เท่ากับ 1774.46 และ 121.10 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ในกระบวนการหมักร่วมกันของยีสต์ *S. cerevisiae*, *P. barkeri* และ *Candida intermedia* เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลโดยใช้แป้งเป็นวัตถุดิบ พบว่า สามารถผลิตเอทานอลได้สูงถึง 150.33 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุดิบ[5] และผลการผลิตเอทานอลจากกระบวนการหมักร่วมกันของยีสต์ *Zymomonas mobilis* แบบตรึงเซลล์ (immobilized) กับ *P. stipitis* แบบเซลล์อิสระ (free cells) โดยใช้น้ำตาลกลูโคสและไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุด 1.277 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีค่าผลได้ของเอทานอลต่อน้ำตาลเท่ากับ 0.49-0.50 กรัมต่อกรัม[6] ซึ่งกระบวนการหมักร่วมดังกล่าว ช่วยให้เกิดการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสและไซโลสได้พร้อมกัน และใช้ประโยชน์จากสารตั้งต้นได้อย่างสมบูรณ์ จึงส่งผลให้สามารถเพิ่มผลผลิตและอัตราการผลิตเอทานอลได้สูงขึ้น ดังนั้นกระบวนการหมักร่วมของยีสต์มักพบในกลุ่มผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ที่มีการใช้สายพันธุ์และวัตถุดิบที่แตกต่างกัน ย่อมส่งผลต่อชนิดและปริมาณของสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นแตกต่างกัน จึงทำให้ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์มีเอกลักษณ์เฉพาะตัวแตกต่างกันด้วย

2. สารเมตาบอไลต์จากกระบวนการหมักร่วมกันระหว่างยีสต์กับแบคทีเรีย

ในกระบวนหมักร่วมกันของยีสต์และแบคทีเรียส่งผลให้เกิดสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกัน เช่น แอลดีไฮด์ (aldehyde) กรด และเอทานอล มักพบในผลิตภัณฑ์หมักประเภทคีเฟอร์ ไวน์ กิมจิ ชีส กาแฟ และขนมปังซาวโดวจ์ จากรายงานการศึกษาความสัมพันธ์ของกระบวนการหมักร่วมระหว่างยีสต์ S. *cerevisiae* KLB3L และแบคทีเรีย *Lactobacillus rhamnosus* KLB38 ในผลิตภัณฑ์หมักคีเฟอร์ (kefir) พบว่า สามารถผลิตกรดไขมันสายสั้นได้ (short-chain fatty acids, SCFAs) ยกเว้นกรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และกรดวาเลอริก (valeric acid) และสามารถผลิตกรดอินทรีย์ 2-เมทิลบิวทีริก (2- methylbutyric) และกรดไอโซวาลิริก (isovaleric acid) ได้ในปริมาณสูง ส่งผลต่อคุณสมบัติและประโยชน์ของผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ที่เพิ่มขึ้น[7] กระบวนการหมักกาแฟโดยใช้การจุลินทรีย์ร่วมกันระหว่างยีสต์ *S. boulardii* CNCM I-745 และแบคทีเรียโพรไบโอติก 4 สายพันธุ์ ประกอบด้วย *Loctipiantibacillus plantarum* 299v, *Lactobacillus acidophilus* NCFM, *Limosilactobacillus fermentum* PCC, *Lactobacillus gasseri* LAC-343 พบว่า มีสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นหลายชนิด กรดโดเดคาโนอิก (dodecanoic acid) เอทานอล อนุพันธ์แอลกอฮอล์เมทิลบิวเทน (methylbutanol) สไตรีน (styrene) และกรดอินทรีย์ อัลฟาไพโรน-6-คาร์บอกซิลิก (α-pyrone-6-carboxylic acid) สารเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการปรับเปลี่ยนกลิ่นรสของกาแฟ[8] และกระบวนการหมักร่วมระหว่างยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* แบคทีเรียกรดแล็กติกสายพันธุ์ *L. delbrueckii subsp. lactis* และ *L. plontonim* และแบคทีเรียกรดอะซิติกสายพันธุ์ *Acetobacter aceti* และ *Gluconobocter oxyland* ในกระบวนการหมักโกโก้พบว่า ยีสต์ช่วยในการย่อยสลายกลูโคสในเนื้อโกโก้ให้กลายเป็นสารเมตาบอไลต์กลุ่มแอลกอฮอล์และสร้างสารประกอบที่ให้กลิ่นรสได้หลายชนิด เช่น สารกลุ่มแอลกอฮอล์ (3-methylbutanol, 2- phenylethanol) แอลดีไฮด์ กรดอินทรีย์ (organic acids) และเอสเทอร์ (esters) ขณะที่แบคทีเรียกรดแล็กติกสร้างสารประกอบที่มีส่วนช่วยในเรื่องรสชาติของโกโก้และช็อกโกแลต เช่น น้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohols) กรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์และแอลดีไฮด์ และแบคทีเรียกรดอะซิติกสามารถเปลี่ยนแอลกอฮอล์ที่ยีสต์สร้างขึ้นให้กลายเป็นกรดอะซิติก (acetic acid) ส่งผลต่อรสชาติและช่วยเพิ่มอายุการจัดผลิตภัณฑ์[6] นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีสต์และแบคทีเรียในกระบวนการหมักร่วมกันเพื่อผลิตขนมปังซาวโดวจ์ (sourdough) โดยสายพันธุ์แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบประกอบด้วย *Fructilactobacillus, Lactiplantibacillus, Levilactobacillus* และ *Latilactobacillus* โดยที่ *F. sanfranciscensis, Levilactobacillus brevis, Limositactobacillus fermentum* และ *Levilactobacillus hommes* เป็นจุลินทรีย์กลุ่ม heterofermentative ขณะที่ *Latilactobacillus sakel, Companilactobacillus kimchi, Latilactobacillus curvotus* และ *Lactiplantibacillus plantarum* เป็นจุลินทรีย์กลุ่ม homofermentative โดยยีสต์ส่วนใหญ่ที่พบประกอบด้วย *S. cerevisiae, Kazachstania*

humilis, Kazachstania exigua, P. kudriavzevil, Wickerhanomyces anomalus และ *Torulaspora delbruecki* ซึ่งยีสต์ในขนมปังซาวโดวจ์นี้จะสามารถย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตเพื่อผลิตสารเมตาบอไลต์ในกลุ่มเอทานอล และเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อทำให้แป้งขนมปังฟู รวมทั้งยังมีการสร้างสารเมตาบอไลต์ชนิดอื่น ๆ ซึ่งเสริมรสชาติและกลิ่นรสให้แก่ขนมปัง เช่น กรดอินทรีย์ เป็นต้น ในระหว่างกระบวนการหมักแบคทีเรียกรดแล็กติกกลุ่ม homofermentation จะเปลี่ยนน้ำตาลเฮกโซส (hexoses) เป็นกรดแล็กติกเท่านั้น ในขณะที่แบคทีเรียกรดแล็กติกกลุ่ม heterofermentation จะเปลี่ยนน้ำตาลเฮกโซสเป็นกรดแล็กติก กรดอะซิติก เอทานอล และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งการผลิตกรดนี้ส่งผลให้ขนมปังมีรสเปรี้ยวและยังช่วยในการยืดอายุของขนมปัง และเมื่อแบคทีเรียทำงานร่วมกับยีสต์จะส่งผลต่อการส่งเสริมการเจริญและกิจกรรมทางเมตาบอลิซึมร่วมกัน[9]

จากรายงานสารเมตาบอไลต์ที่พบในกระบวนการหมักร่วมกันระหว่างจุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. plantarum* MTCC 5690 (LP) และยีสต์ *Kluyveromyces lactis* NCDC 257 (KL) ในการผลิตเครื่องดื่มเวย์ (whey drink)[10] สามารถระบุสารเมตาบอไลต์ได้ถึง 58 ชนิด ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มต่าง ๆ ได้แก่ แอลกอฮอล์ คีโตน แอลดีไฮด์ เอสเทอร์ กรดไขมัน เอไมด์ เอมีน น้ำตาล กรดอะมิโน เป็นต้น ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียและยีสต์ร่วมกัน (Whey fermented with both *L. plantarum* and *K. lactis* WLK) ส่งผลให้เกิดสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างไปจากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย (Whey fermented with *L. plantarum,* WLP) หรือยีสต์ (Whey fermented with *K. lactis,* WKL) สายพันธุ์เดียว โดยที่สารเมตาบอไลต์ที่ได้จากกระบวนการหมักเพื่อผลิตเครื่องดื่มเวย์ดังกล่าวมีความแตกต่างกันดังนี้ แอลกอฮอล์ (alcohols) ส่งผลต่อการให้กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมัก เช่น กลิ่นผลไม้ กลิ่นหวาน เป็นต้น สารเมตาบอไลต์ที่พบ ได้แก่ โพรพาน-2-ออล (propan-2-ol) และ 1-(2,5-ไดเมทอกซีฟีนิล)-1-บิวทานอล (1-(2,5-Dimethoxyphenyl)-1-butanol) พบเฉพาะผลิตภัณฑ์ในกลุ่ม WLK, คีโตน (ketones) น้ำเวย์ที่ไม่ได้ผ่านการหมักมี 2-เพนทานอล (2-pentanol) และ 2-บิวทาโนน (2-butenone) เป็นกลุ่มคีโตนหลัก ซึ่งสารเมตาบอไลต์เหล่านี้จะเพิ่มขึ้นตามระดับความร้อนที่ใช้ในกระบวนการหลังการหมัก กรด (acids) มีบทบาทสำคัญต่อคุณภาพของเครื่องดื่มที่ผ่านการหมักและเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์สารอื่น ๆ ในผลิตภัณฑ์กลุ่ม WLP เช่น เอสเทอร์ แอลกอฮอล์ คีโตน และกรดบิวทาโนอิก (butanoic acid) ขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกลุ่ม WLK พบกรดเฮกซาโนอิก (hexanoic acid) ส่งผลต่อกลิ่นหืนและเกิดรสเปรี้ยวในผลิตภัณฑ์ เอสเทอร์ (esters) เกิดขึ้นจากกรดอินทรีย์กับแอลกอฮอล์ หรือจากสารเมตาบอไลต์กลุ่มกรดอะมิโน โดยโพรพิโอเนต (propionate) เป็นสารเมตาบอไลต์กลุ่มเอสเทอร์หลักที่พบหลังการหมักน้ำเวย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเวย์ทุกกลุ่ม (WLP, WKL และ WLK) ส่งผลให้มีกลิ่นรสหอมหวานและกลิ่นดอกไม้ ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbons) พบสารเมตาบอไลต์เตตระดีเคน (tetradecane) เฉพาะในผลิตภัณฑ์กลุ่ม WP ซึ่งอาจเกิดจากการที่นมสัมผัสกับแสงเป็นเวลานาน

โมโนแซ็กคาไรด์ (monosaccharides) หลังกระบวนการหมักพบว่า มีปริมาณของโมโนแซ็กคาไรด์ เช่น ไรโบส (ribose) แมนโนส (mannose) กาแล็กโตส (galactose) เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับวิถีเมตาบอลิซึมที่แตกต่างกันของผลิตภัณฑ์เวย์แต่ละกลุ่ม และโพลิออลส์ (polyols) ส่วนใหญ่พบสารอีริทริทอล (erythritol) เป็นหลักในผลิตภัณฑ์กลุ่ม WLK ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสหวานเล็กน้อยและให้พลังงานต่ำ นอกจากนี้ยังมีสารประกอบอื่นที่จากกระบวนการหมักดังกล่าว เช่น สารอัลคาลอยด์และฟลาโวนอยด์พบได้ในปริมาณน้อย ซึ่งมีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มที่ผ่านการหมัก

นอกจากผลิตภัณฑ์อาหารแล้วการเพาะเลี้ยงยีสต์ร่วมกับแบคทีเรียยังมีประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรม จากรายงานกระบวนการหมักร่วมกันของยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรีย *L. amylovarus* โดยใช้อ้อยเป็นวัตถุดิบพบว่า มีการผลิตเอทานอลได้สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ยีสต์ในการหมักสายพันธุ์เดียว อีกทั้งยังได้สารเมตาบอไลต์กลุ่มอะซิทัลดีไฮด์ (acetaldehyde) ที่ผลิตโดย *L. amylovorus* ส่งผลให้ได้ชีวมวลเซลล์และเอทานอลเพิ่มขึ้น[11]

3. สารเมตาบอไลต์จากกระบวนการหมักร่วมกันระหว่างยีสต์กับสาหร่าย

กระบวนการหมักร่วมของยีสต์และสาหร่ายส่งผลให้เกิดสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกัน ดังรายงานการศึกษาการเพาะเลี้ยงยีสต์ *S. cerevisiae* DY1457 ร่วมกับสาหร่าย *Chlorella vulgaris* CCAP 211/118 และ *C. sorokiniana* CCAP 211/8 K พบว่า ปริมาณโปรตีนทั้งหมดภายในเซลล์ของสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ เพิ่มขึ้นและมีปริมาณไขมันทั้งหมดในเซลล์มีสูงกว่าการเพาะเลี้ยงสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ[12]

ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้สาหร่ายเป็นสารตั้งต้นหรือวัตถุดิบในกระบวนการหมักเพื่อผลิตชีวผลิตภัณฑ์และสารสำคัญ รวมทั้งพัฒนาไปถึงการประยุกต์ใช้ในกระบวนการหมักร่วมระหว่างจุลินทรีย์มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ จากรายงานการประยุกต์ใช้สาหร่ายขนาดใหญ่เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลโดยใช้ยีสต์ที่มีการตรึงเซลล์ (immobilized) พบว่า สาหร่ายไก *Rhizoclonium* sp. ประกอบไปด้วยองค์ประกอบทางเคมี คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ซึ่งภายหลังกระบวนการหมักด้วยยีสต์ที่ผ่านการตรึงเซลล์ส่งผลให้ได้เอทานอลสูงกว่าการใช้เซลล์อิสระ (free cells)[13] นอกจากนี้ยังมีการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงร่วมกันของยีสต์และสาหร่ายเพื่อผลิตชีวมวลเซลล์ที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบ พบว่า ยีสต์ *Cryptococcus curvatus* และสาหร่ายขนาดเล็ก *Phaeodactylum tricornutum* สามารถสะสมไขมันภายในเซลล์ได้[14]

กระบวนการการเพาะเลี้ยงร่วมระหว่างยีสต์ต่างสายพันธุ์ ยีสต์กับแบคทีเรีย และยีสต์กับสาหร่ายนั้น ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์สารเมตาบอไลต์ โดยจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีเอนไซม์หรือสารที่กระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์สารเมตาบอไลต์เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเมื่อได้สารเมตาบอไลต์ในปริมาณที่ส่งผลช่วยในเพิ่มคุณค่าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ โดยคุณค่าของ

ผลิตภัณฑ์ที่ได้ จะกล่าวถึงรายละเอียดในส่วนถัดไปของบทความ

คุณสมบัติเชิงหน้าที่จากกระบวนการเพาะเลี้ยงร่วม

กระบวนการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ร่วมกันสามารถช่วยให้ผลิตภัณฑ์หรือสารสำคัญที่ได้มีคุณสมบัติเชิงชีวภาพ โดยการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตสารเมตาบอไลต์ ช่วยเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ และช่วยในการปรับปรุงผลิตภัณฑ์ ซึ่งสามารถใช้งานได้หลากหลายในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อสุขภาพ ในกรณีผลิตภัณฑ์อาหารหมักยีสต์เป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ช่วยเพิ่มคุณสมบัติเชิงชีวภาพ และส่งเสริมจุลินทรีย์หลักที่จำเป็นต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารหมักด้วย อีกทั้งยีสต์ยังมีหน้าที่ในการลดหรือยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยที่ยีสต์สามารถผลิตสารประกอบชีวภาพหลายชนิด สามารถประยุกต์ใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของอุตสาหกรรมอาหารฟังก์ชัน รวมถึงกรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก (γ-aminobutyric acid) โฟเลต (folate) และแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยยีสต์มีหลายรูปแบบ ซึ่งมีคุณสมบัติเชิงสุขภาพที่หลายหลาก ดังรายละเอียดใน Table 1

Table 1 Functional properties from yeast co-cultures

Products	*Saccharomyces*	Non-*Saccharomyces*	Functional properties	Ref
Fermented pear beverages	*S. cerevisiae*	*Torulaspora delbrueckii*	Reducing the levels of hydroxybenzoic acids, procyanidins, and flavonol	(15)
Craft beer	*S. cerevisiae*	*Torulaspora delbrueckii, Lachancea thermotolerans, Kazachstania unispora* and *Saprochaete suaveolen*	β-glucosidase activity	(16)
Wine	*S. cerevisiae*	*Pichia fermentans* Z9Y-3	Regulate the content of aroma substances, reduce ethanol and increase acidity, thus improving wine quality	(17)
Loquat beer	*S.cerevisiae* MN113	*Hanseniaspora uvarum* YGA34	Intensify the aromatic characteristics of the beers	(18)
Maize based porridge	*S. cerevisiae* TY08	*C. glabrata* TY26	Enhancement of folate level	(19)
Fermented Garcinia beverage	*S. cerevisiae*	*Hanseniaspora sp*	Increase in antioxidant properties	(19)

Table 1 (continued)

Products	*Saccharomyces*	Non-*Saccharomyces*	Functional properties	Ref
Rye dough fermentation	*S. cerevisiae* ALKO 743, *S. cerevisiae* TS 14	*Candida milleri* CBS 8195, *Torulaspora delbrueckii* TS 20	Enhancement of folate level (15–23 μg/100 g)	(19)

ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักส่วนใหญ่ที่ใช้ยีสต์ร่วมกับแบคทีเรียกรดแล็กติก ยีสต์มีบทบาทหลักในการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง เนื้อสัมผัส รสชาติ สี อายุการเก็บรักษา คุณค่าทางโภชนาการ และยีสต์มีความสำคัญต่อการเสริมสร้างสารชีวภาพที่ส่งผลต่อสุขภาพ จากการศึกษาการหมักแป้งข้าวด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติก *L. plantarum* CCMA 0743 ร่วมกับยีสต์ *Torulaspora delbrueckii* CCMA 0235 พบว่า ผลิตภัณฑ์แป้งข้าวที่ได้มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่เพิ่มขึ้นเกิดจากสารเบต้า-กลูแคน (β-glucan) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) กลูตาไธโอน (glutathione) ไบโอแอคทีฟ เปปไทด์ (bioactive peptides) กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก (γ-aminobutyric acid) ซีลีเนียมอินทรีย์ (organic selenium) พรีไบโอติก โอลิโกแซ็กคาร์ไรด์ (prebiotic oligosaccharides) และโพลีฟีนอลอิสระ (free polyphenols) ยีสต์ช่วยในการย่อยแป้งในผลิตภัณฑ์ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียกรดแล็กติกระหว่างการหมัก[19] ผลิตภัณฑ์นมหมักที่ได้จากการหมักร่วมของยีสต์ *Pichia kudriavzevii* KL84A ร่วมกับแบคทีเรีย *L. plantarum* LAT3 และ *Enterococcus faecslis* KL06 พบว่า มีเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ angiotensin-converting enzyme (ACE) ในผลิตภัณฑ์นมหมักและไม่มีรสขม[20] ผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองหมักโดยใช้ยีสต์ *S. boulardii* ร่วมกับแล็กติกแอซิดแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ สามารถเปลี่ยนสารสำคัญไอโซฟลาโวนกลูโคไซด์ (isoflavone glucosides) ที่ประกอบด้วย เดดซีน (daidzin) และเจนิสติน (genistin) เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive aglycones) ที่ประกอบด้วย daidzein และ genistein ในระหว่างกระบวนการหมัก รวมทั้งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นในผลิตภัณฑ์[21] ผลิตภัณฑ์อาหารหมัก idli ที่ได้จากกระบวนการหมักแป้งด้วยแบคทีเรีย *L. lactis* N8 และยีสต์ *S. boulardii* SAA655 สามารถผลิตวิตามินบีที่ประกอบด้วยไรโบฟลาวิน (riboflavin) และโฟเลต (folate) ได้จากกระบวนการหมัก สามารถช่วยเพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่และเสริมสร้างสุขภาพของผู้บริโภค[22]

ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวที่ได้จากกกระบวนการหมักร่วมของยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรีย *L. helviticus* พบว่า ได้ไตรเปปไทด์สองชนิด คือ Val-Pro-Pro (ประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ วาลีน valine (val) โพรลีน proline (pro) และโพรลีน proline (pro)) และ Ile-Pro-Pro (ประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ชนิด คือไอโซลิวซีน isoleucine (ile) โพรลีน proline (pro) และโพรลีน proline (pro) ที่มีฤทธิ์ในการลดความดันโลหิตและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ACE[23] ในผลิตภัณฑ์ข้าวบาร์เลย์หมักที่ได้จากกระบวนการหมักร่วมของยีสต์ *S. cerevisiae*

และแบคทีเรีย *L. plantarum* ทำให้โครงสร้างและคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น[24] ขนมปังซาวโดวจ์ที่ผ่านกระบวนการหมักร่วมของยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรียกรดแล็กติกส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดเฟอรูลิก (ferulic acid, FA) โดยกรดเฟอรูลิกจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดไดไฮโดรเฟอรูลิก (dihydroferulic acid, DHFA) ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง และสามารถเกิดขึ้นได้จากกระบวนการหมักร่วมเท่านั้น[9] นอกจากนี้ยังพบว่า ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มหมักคอมบูชาที่เกิดจากกระบวนการหมักร่วมของยีสต์ *Zygosaccharomyces* sp. กับแบคทีเรีย *Acetobacter* sp. พบว่า ในระหว่างกระบวนการหมักสามารถผลิตสารประกอบที่มีประโยชน์ ได้แก่ กรดแกมมาอะมิโนบิวทีริก (γ-aminobutyric acid) ซีลีเนียม (selenium) โอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharide) และโพลีฟีนอล (polyphenols) ซึ่งทำให้เครื่องดื่มคอมบูชามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง[25] รายละเอียดดังแสดงใน Table 2

Table 2 Functional properties from yeast-bacteria co-cultures

Products	Yeast species	Bacteria species	Functional properties	Ref
Cassava and rice-based beverage	*Torulaspora delbrueckiid* CCMA 0235	*L. plantarum* CCMA 0743	Antioxidant activity	(19)
Fermented milk	*P. kudriavzevii* KL84A	*L. plantarum* LAT3, *Enterococcus faecslis* KL06	ACE-inhibitory properties	(20)
Fermented soya milk	*S. boulardii*	LAB	Increase in isoflavones aglycones and antioxidant properties	(21)
Idli batter	*S. boulardii* SAA655	*L. lactis* N8	Increased riboflavin and folate levels	(19)
Sour milk	*S. cerevisiae*	*L. helviticus*	ACE-inhibitory properties	(19)
Fermented sourdough	*S. cerevisiae* *K. humilisy* Kh17	*LAB* *F. sanfranciscensis* bFs17	Transformation of FA to DHFA	(26)
Fermented barley	*S. cerevisiae*	*Lactiplantibacillus plantaru*	Multi-scale structure and physicochemical properties	(24)
Kombucha beverage	*Zygosaccharomyces* sp.	*Acetobacter* sp.	Antioxidant properties	(19)

บทสรุป

สารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักทั้งสารเมตาบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolites) สารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่แตกต่างกันกัน ชนิดของจุลินทรีย์และสภาวะแวดล้อมในการหมัก โดยสารเมตาบอไลต์ที่พบได้จากกระบวนการหมักจุลินทรีย์ร่วม ได้แก่ การหมักร่วมกันของยีสต์ต่างสายพันธุ์ การหมักร่วมกันของ

ยีสต์และแบคทีเรีย และการหมักร่วมกันยีสต์และสาหร่าย จะมีวิถีเมตาบอลิซึมที่ส่งเสริมซึ่งกันและกัน ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างสารเมตาบอไลต์ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่เป็นประโยชน์ อีกทั้งสามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ ปรับปรุงรสชาติและกลิ่น ยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สุดท้าย เพิ่มประสิทธิภาพการผลิต พัฒนาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ กระบวนการหมักจุลินทรีย์ร่วมกันนี้ยังเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารเมตาบอไลต์ที่มีคุณค่าหลากหลายประเภท โดยสารเมตาบอไลต์เหล่านี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อสุขภาพ อุตสาหกรรมยา และอุตสาหกรรมอื่น ๆ ได้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Singh R, Kumar M, Mittal A, Mehta PK. Microbial metabolites in nutrition, healthcare and agriculture. 3 Biotech. 2017;7(1):15.
2. Son EY, Lee SM, Kim M, Seo J-A, Kim Y-S. Comparison of volatile and non-volatile metabolites in rice wine fermented by Koji inoculated with *Saccharomycopsis fibuligera* and *Aspergillus oryzae*. Food Res Int. 2018;109:596-605.
3. Schulz-Bohm K, Martín-Sánchez L, Garbeva P. Microbial volatiles: small molecules with an important role in intra- and inter-kingdom interactions. Front Microbiol. 2017;8:2484.
4. Duarte WF, Amorim JC, Schwan RF. The effects of co-culturing non-*Saccharomyces* yeasts with *S. cerevisiae* on the sugar cane spirit (cachaça) fermentation process. Antonie van Leeuwenhoek. 2013;103(1):175-94.
5. Hashem M, Alamri SA, Asseri TAY, Mostafa YS, Lyberatos G, Ntaikou I. On the optimization of fermentation conditions for enhanced bioethanol yields from starchy biowaste via yeast co-cultures. Sustainability. 2021;13(4):1890.
6. Chen Y. Development and application of co-culture for ethanol production by co-fermentation of glucose and xylose: a systematic review. J Ind Microbiol Biotechnol. 2011;38(5):581-97.
7. Nenciarini S, Reis-Costa A, Pallecchi M, Renzi S, D'Alessandro A, Gori A, et al. Investigating yeast–Lactobacilli interactions through co-culture growth and metabolite analysis. Fermentation. 2023;9(11):933.
8. Chan MZA, Tan LT, Heng SWQ, Liu SQ. Effect of co-fermentation of *Saccharomyces boulardii* CNCM-I7 4 5 with four different probiotic *Lactobacilli* in coffee brews on cell viabilities and metabolic activities. Fermentation. 2023;9(3):219.
9. Boudaoud S, Aouf C, Devillers H, Sicard D, Segond D. Sourdough yeast-bacteria interactions can change ferulic acid metabolism during fermentation. Food Microbiol. 2021;98:103790.
10. Kadyan S, Rashmi HM, Pradhan D, Kumari A, Chaudhari A, Deshwal GK. Effect of lactic acid bacteria and yeast fermentation on antimicrobial, antioxidative and metabolomic profile of naturally carbonated probiotic whey drink. LWT. 2021;142:111059.
11. Senne de Oliveira Lino F, Bajic D, Vila JCC, Sánchez A, Sommer MOA. Complex yeast–bacteria interactions affect the yield of industrial ethanol fermentation. Nature Communications. 2021;12(1):1498.
12. Xu Z, Theodoropoulos C, Pittman JK. Optimization of a *Chlorella–Saccharomyces* co–culture system for enhanced metabolite productivity. Algal Res. 2024;79:103455.
13. Khammee P, Ramaraj R, Whangchai N, Bhuyar P, Unpaprom Y. The immobilization of yeast for fermentation of macroalgae *Rhizoclonium* sp. for efficient conversion into bioethanol. Biomass Conversion and Biorefinery. 2021;11(3):827-35.

14. Dillschneider R, Schulze I, Neumann A, Posten C, Syldatk C. Combination of algae and yeast fermentation for an integrated process to produce single cell oils. Appl Microbiol Biotechnol. 2014;98(18):7793-802.
15. He W, Tian Y, Liu S, Vaateri L, Ma X, Haikonen T, et al. Comparison of phenolic composition and sensory quality among pear beverages made using *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii*. Food Chem. 2023;422:136184.
16. Han X, Qin Q, Li C, Zhao X, Song F, An M, et al. Application of non-*Saccharomyces* yeasts with high β-glucosidase activity to enhance terpene-related floral flavor in craft beer. Food Chem. 2023;404:134726.
17. Fan T, Qu J, Wang L, Zhang J, Yang X, Zhang H, et al. Genome sequencing, assembly, and characterization of *Pichia fermentans* Z9Y-3 as a non-*Saccharomyces* yeast with aroma enhancing potential. Food Biosci. 2023;53:102701.
18. Pirrone A, Prestianni R, Naselli V, Todaro A, Farina V, Tinebra I, et al. Influence of indigenous *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* from sugar-rich substrates on the aromatic composition of loquat beer. Int J Food Microbiol. 2022;379:109868.
19. Rai AK, Pandey A, Sahoo D. Biotechnological potential of yeasts in functional food industry. Trends Food Sci Technol. 2019;83:129-37.
20. Chaves-López C, Serio A, Paparella A, Martuscelli M, Corsetti A, Tofalo R, et al. Impact of microbial cultures on proteolysis and release of bioactive peptides in fermented milk. Food Microbiol. 2014;42:117-21.
21. Rekha CR, Vijayalakshmi G. Biomolecules and nutritional quality of soymilk fermented with probiotic yeast and bacteria. Appl Microbiol Biotechnol. 2008;151(2):452-63.
22. Chandrasekar Rajendran SC, Chamlagain B, Kariluoto S, Piironen V, Saris PEJ. Biofortification of riboflavin and folate in idli batter, based on fermented cereal and pulse, by *Lactococcus lactis* N8 and *Saccharomyces boulardii* SAA655. J Appl Microbiol. 2017;122(6):1663-71.
23. Nakamura Y, Yamamoto N, Sakai K, Takano T. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to Angiotensin I-Converting Enzyme. J Dairy Sci. 1995;78(6):1253-7.
24. Xie X, zheng M, Bai Y, Zhang Z, Zhang M, Chen Z, et al. Effect of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* fermentation on the multi-scale structure and physicochemical properties of highland barley starch. Food Biosci. 2023;52:102419.
25. Malbaša RV, Lončar ES, Vitas JS, Čanadanović-Brunet JM. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. Food Chem. 2011;127(4):1727-31.
26. Carbonetto B, Nidelet T, Guezenec S, Perez M, Segond D, Sicard D. Interactions between *Kazachstania humilis* yeast species and lactic acid bacteria in Sourdough. Microorganisms. 2020;8(2).