บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ปัญหาการเสียมูลค่าวัตถุดิบที่เหลือจากอุตสาหกรรมอาหาร

ในกระบวนการผลิตอาหารในโรงงานอุตสาหกรรม สิ่งที่เกิดขึ้นนอกเหนือจากผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งจัดเป็นสินค้าที่มีมูลค่าในอุตสาหกรรมนั้นๆ มี 2 ประเภท ประเภทแรกคือผลพลอยได้จากการผลิตซึ่งยังมีประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมอื่น เช่น กากน้ำตาลจากอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาล, น้ำเวย์จากการผลิตเนยแข็ง และน้ำมะพร้าวที่เหลือจากอุตสาหกรรมผลิตกะทิ เป็นต้น ประเภทที่สองคือของเสียจากกระบวนการต่างๆ เช่น เศษวัตถุดิบทางการเกษตรที่ถูกคัดแยกออกจากกระบวนการผลิต ซึ่งต้องทำการกำจัดโดยการทิ้งเป็นขยะ ขายเป็นอาหารสัตว์หรือปุ๋ยซึ่งมีมูลค่าต่ำ นอกจากนี้การบำบัดน้ำเสียก่อนระบายทิ้งทำให้มีค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น ดังตัวอย่างของน้ำเสียจากโรงงานนมมีโปรตีนละลายอยู่ในรูปสารคอลลอยด์ทำให้ค่าซีโอดีสูง การระบายทิ้งต้องทำการบำบัด 2 ขั้นตอน ขั้นแรกคือการตกตะกอนธรรมชาติ และขั้นที่ 2 คือการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพก่อนที่จะทำการระบายทิ้ง (พิสิฐ, 2540)

การใช้ประโยชน์หรือเพิ่มมูลค่าเศษวัตถุดิบหรือผลพลอยได้ที่ได้จากอุตสาหกรรมอาหาร

การจัดการกับผลพลอยได้จากการผลิตอาหารต่างๆ ทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับความพร้อมและการประเมินด้านความคุ้มค่าในการจัดการ เช่น ในการผลิตน้ำตาล ผลพลอยได้จากการผลิตคือกากน้ำตาลซึ่งไม่มีประโยชน์ต่อกระบวนการผลิตในโรงงานน้ำตาล วิธีการจัดการที่นิยมกระทำคือการจำหน่ายต่อไปยังอุตสาหกรรมอื่นๆ ที่สามารถใช้ประโยชน์จากกากน้ำตาลหรือใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตในอุตสาหกรรมนั้นๆ ได้แก่ โรงงานผลิต และกลั่นแอลกอฮอล์หรือเอธานอล ซึ่งมีรายงานว่าได้มีการนำผลิตผลทางการเกษตร เช่น อ้อย มันสำปะหลัง และกากน้ำตาลมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อใช้ผสมในน้ำมันเบนซินเพื่อทดแทนการนำเข้าจากต่างประเทศรวมทั้งลดงบประมาณในการแทรกแซงราคาสินค้าเกษตร (สุรพงษ์, 2547) หรือทำการจำหน่ายอีกทอดไปยังโรงงานสุราซึ่งใช้กากน้ำตาลในการหมักให้เป็นเอธานอล (ผู้จัดการรายวัน, 2548) เป็นต้น นอกจากนั้นกากน้ำตาลยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในโรงงานผลิตอาหารสัตว์ซึ่งมีรายงานว่าการเติมกากน้ำตาล, ยูเรีย และแร่ธาตุอัดก้อนผสมอาหารที่ให้โคกินตามปกติมีผลทำให้โคมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น และมีประสิทธิภาพดีกว่าอาหารเดิมอย่างมีนัยสำคัญ (บัญชา และคณะ, 2543)

สำหรับผลพลอยได้สำหรับอุตสาหกรรมอื่นๆ ที่สำคัญ ได้แก่ น้ำเวย์จากอุตสาหกรรมผลิตเนยแข็ง มีการประมาณการณ์ว่าทั่วโลกมีเวย์ที่ผลิตได้กว่า 118 ล้านตัน เป็นเวย์จากยุโรป 66 %, อเมริกา 25 % และภูมิภาคอื่นๆ รวมกันประมาณ 9 % ซึ่งเวย์ดังกล่าวที่ผลิตได้จากยุโรป และอเมริกามีธุกิจที่นำไปสร้างประโยชน์ได้หลายอย่าง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์อาหาร, ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และผลิตเป็นสารชำระล้าง (cleaning agent) (Spreer, 1998) แต่จากการสำรวจพบว่าในประเทศไทยยังไม่มีการนำน้ำเวย์ไปใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง อาจเนื่องมาจากปริมาณการผลิต และจำนวนของโรงงานที่ผลิตเนยแข็งยังมีจำนวนน้อย อย่างไรก็ตามได้มีการวิจัยเพื่อหาลู่ทางการนำน้ำเวย์ไปใช้ประโยชน์ เช่น ภัทรียา (2541) ได้รายงานการนำน้ำเวย์ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเนยแข็งจากโรงงานผลิตเนยแข็งไปใช้ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในการผลิตโยเกิร์ต ได้แก่ *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* และ *Lb. bulgaricus* ผลจากการศึกษาพบว่าสามารถใช้น้ำเวย์มาใช้เป็นอาหารผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกได้ นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้ประโยชน์ในแนวทางอื่น ได้แก่ การทำปุ๋ยหมัก และก๊าซชีวภาพ เป็นต้น (ศูนย์วิศวกรรมพลังงาน, 2546)

แนวทางการใช้สารอาหารจากเศษวัตถุดิบในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในกระบวนการหมัก

วิธีการหนึ่งที่ควรได้รับการพิจารณาในการจัดการกับเศษวัตถุดิบหรือผลพลอยได้จากการผลิตจากอุตสาหกรรมอาหารคือการนำเศษวัตถุดิบหรือผลพลอยได้จากการผลิตเหล่านี้ซึ่งยังคงมีสารอาหารสมบูรณ์ไปเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เชิงการค้า สมใจ (2534) ได้รายงานการนำเอาเศษวัตถุดิบทางการเกษตรมาใช้ในการผลิตเซลจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นอาหารของมนุษย์ และสัตว์ ได้แก่ โปรตีนเซลเดี่ยว (single cell protein; SCP) จากเซลยีสต์ และสาหร่ายเกลียวทอง เป็นต้น โดยวัตถุประสงค์ของการวิจัยเพื่อใช้โปรตีนเซลเดี่ยวเป็นอาหารสำหรับมนุษย์ในประเทศเยอรมันสมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 หลังจากสิ้นสุดสงครามจึงมีการศึกษากว้างขวางขึ้นเกี่ยวกับการผลิตโปรตีนเซลเดี่ยวจากแหล่งวัตถุดิบชนิดต่างๆ เช่น เซลลูโลส, ข้าวสาลี, เวย์ (whey), ข้าวโพด, แป้งมันฝรั่ง เป็นต้น

การผลิตจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ผลผลิตเป็นมวลเซลในปัจจุบันเป็นธุรกิจที่มีความสำคัญเป็นอย่างมาก เนื่องจากในปัจจุบันมีอุตสาหกรรมอาหารหลายชนิดที่นิยมใช้เชื้อตั้งต้นที่เป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์ในการผลิต ได้แก่ Sauerkraut, มะกอกดอง, แตงกวาดอง, กิมจิ, ผลิตภัณฑ์นมหมัก และเนยแข็ง และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หมัก เป็นต้น

สมใจ (2534) กล่าวว่าการผลิตจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เกิดจากระบวนการหมัก (fermentation) ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้

1. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นตัวเซล (microbial cells biomass) การผลิตเซลจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางการค้า ได้แก่ การผลิตเซลยีสต์สำหรับใช้ในอุตสาหกรรมขนมอบ และการผลิตเซลจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นอาหารของมนุษย์ และสัตว์

2. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นเอนไซม์ (microbial enzyme) เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งที่ได้จากพืช และสัตว์แล้ว จุลินทรีย์นับว่าเป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญมากที่สุด เนื่องจากสามารถผลิตได้คราวละมากๆ ในเวลาอันสั้นโดยใช้เทคโนโลยีในการควบคุมการหมัก นอกจากนั้นยังสามารถปรับปรุงให้ได้ผลผลิตสูงขึ้นง่ายกว่าการผลิตเอนไซม์จากพืช และสัตว์ การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ส่วนใหญ่จะใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับอาหารเป็นหลัก

3. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นสารเมตาบอไลต์ (microbial metabolite) แบ่งได้ 2 ประเภทคือ

3.1 สารเมตาบอไลต์ปฐมภูมิ (primary metabolite) คือสารต่างๆ ที่มีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ สารอาหารจำเป็นต่างๆ ที่มีบทบาทต่อการเจริญของเซลจุลินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน, นิวคลีโอไทด์, โปรตีน, กรดนิวคลีอิก, ไลปิด และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจุลินทรีย์จะผลิตสารเหล่านี้ขึ้นในช่วง log phase ของการเจริญ เช่น เอธานอล, กรดซิตริก, โพลีซัคคาไรด์ และวิตามิน เป็นต้น

3.2 สารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) เป็นผลผลิตจากกระบวนการเมตาบอลิซึมปฐมภูมิ พบในจุลินทรีย์บางชนิดในช่วง stationary phase ของการเจริญ และอาจจะพบในการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (continuous culture) ที่มีอัตราการเจริญต่ำ ได้แก่ สารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ สารกันเสียจากธรรมชาติ (natural preservative) เช่น ไนซิน (nisin) จัดเป็นสารกันเสียที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหรือที่เรียกว่าแบคเทริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งผลิตโดย *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ซึ่งได้รับการยอมรับโดยทั่วไปว่ามีความปลอดภัย (GRAS: Generally Recognized as Safe) และผลิตออกมาเชิงการค้าสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหารทั่วไป เช่น Komitopoulou *et al.* (1999) ทดลองใช้แบคเทริโอซินเติมลงในน้ำผลไม้เพื่อควบคุมการเจริญของ *Alicyclobacillus acidoterrestris* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงและที่ค่า pH ต่ำ โดยจุลินทรีย์ชนิดนี้มีรายงานการตรวจพบ และการก่อปัญหาในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำผลไม้พาสเจอไรซ์ในประเทศอังกฤษ

4. การหมักที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของสารประกอบ (transformation process) เป็นกระบวนการในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบให้อยู่ในสภาพที่คล้ายกับสารตั้งต้นแต่มีราคาสูงขึ้น โดยการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์หรือสารเคมีเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยา ได้แก่ กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูจากการเปลี่ยนเอธานอลให้เป็นกรดอะซิติกโดยเชื้อ *Acetobacter* sp. (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2534)

อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จำเป็นต้องมีสารอาหารที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์เป้าหมายซึ่งมักเป็นอาหารสำเร็จรูปหรือเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากส่วนประกอบจากธรรมชาติที่ได้มาจากการสกัดวัตถุดิบให้อยู่ในรูปแบบที่จุลินทรีย์นำไปใช้งานได้ง่าย ได้แก่ กลูโคส, เปปโตน, beef extract และ yeast extract เป็นต้น อาหารเลี้ยงเชื้อ และส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อเหล่านี้ส่วนใหญ่มีราคาแพง และมีส่วนประกอบที่สลับซับซ้อน เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับแบคทีเรียกรดแลคติกชนิดต่างๆ (**ตาราง 1**) ซึ่งหากใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปเหล่านี้เลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเซลจะมีผลให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตได้มีราคาสูงตามต้นทุนการผลิต จึงได้มีการศึกษาวิธีการลดต้นทุนการผลิตโดยการใช้เศษหรือกากวัตถุดิบที่เหลือจากการเกษตรมาเสริมหรือทดแทนอาหารเลี้ยงเชื้อ การผลิตเชื้อตั้งต้น เช่น Daba *et al.* (1993) ใช้น้ำเวย์ที่เหลือจากอุตสาหกรรมนม และเนยแข็งในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกที่ผลิตแบคเทริโอซิน พบว่าปริมาณการผลิตใกล้เคียงกับการผลิตโดยใช้อาหารสังเคราะห์ ภัทรียา (2541) ทดลองใช้เวย์ที่ทำให้เข้มข้นขึ้นโดยใช้เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก เพื่อผลิตกล้าเชื้อที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต 3 สายพันธุ์ คือ *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Lb. acidophilus* จากการทดลองพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ใช้เวย์ผสมกับสารสกัดจากยีสต์เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษา นอกจากเวย์แล้วยังมีการทดลองใช้วัตถุดิบอื่นด้วย ดังที่ นฤมล (2544) ศึกษาการใช้เปลือกกุ้ง และกากน้ำตาลเป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดแลคติกจาก *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่ทนความร้อนสูง ผลการทดลองพบว่า ที่ pH 5.5 เป็น pH ที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตกรดแลคติก แต่ pH เริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดก่อนการถ่ายเชื้อคือ 6.5 นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือ 10% และยังพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้นั้นแปรผันโดยตรงกับปริมาณของ yeast extract

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการใช้เศษวัตถุดิบในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เพื่อลดต้นทุนในการผลิตเชื้อตั้งต้นมีความสำคัญ และความเป็นไปได้เป็นอย่างมาก นภา (2534) และสมใจ (2534) กล่าวว่าในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้วัตถุดิบธรรมชาติต้องมีสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกอย่างครบถ้วน โดยพื้นฐานสารอาหารเหล่านี้ ได้แก่ แหล่งคาร์บอน, แหล่งไนโตรเจน, วิตามิน และเกลือแร่ เป็นต้น นอกจากนี้ ภัทรพล (2543) กล่าวเสริมว่าภายในสารอาหารที่ได้จากวัตถุดิบต่างๆ นั้นต้องไม่เป็นพิษหรือเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ที่ผลิต และจะต้องมีปริมาณที่มากพอสามารถจัดหาได้ง่าย

ตาราง 1 ส่วนประกอบต่างๆ ของอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิด

ส่วนประกอบ \ อาหารเลี้ยงเชื้อ	GYP[1]	MRS[2]	M 17[3]	APT[4]	LBS[5]	Tomato juice broth
glucose (กรัม)	5.0	20.0	-	10.0	20.0	10.0
tryptone (กรัม)	-	-	5.0	-	-	-
peptone (กรัม)	5.0	10.0	5.0	12.5	10.0	-
beef extract (กรัม)	-	-	5.0	-	-	-
meat extract (กรัม)	5.0	8.0	-	-	-	-
yeast extract (กรัม)	5.0	4.0	2.5	7.5	6.0	10.0
K_2HPO_4 (กรัม)	-	2.0	-	5.0	-	0.5
KH_2PO_4 (กรัม)	-	-	-	-	6.0	0.5
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (กรัม)	-	0.2	1.0	0.8	0.575	0.2
$MnSO_4 \cdot 7H_2O$ (กรัม)	-	0.05	-	-	0.12	0.01
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (กรัม)	-	-	-	0.14	-	-
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (กรัม)	-	-	-	0.04	0.034	0.01
ammonium citrate (กรัม)	-	2.0	-	-	2.0	-
sodium acetate·$3H_2O$ (กรัม)	-	5.0	-	5.0	25.0	-
Tween 80 (มิลลิลิตร)	-	1.0	-	0.2	1.0	-
acetic acid, glacial (กรัม)	-	-	-	-	1.32	-
ascorbic acid (กรัม)	-	-	0.5	-	-	-
NaCl (กรัม)	-	-	-	5.0	-	0.01
Na_2CO_3 (กรัม)	-	-	-	1.25	-	-
disodium β-glycerophosphate (กรัม)	-	-	19.0	-	-	-
thiamine·HCl (มิลลิกรัม)	-	-	-	1.0	-	-
lactose solution (มิลลิลิตร)	-	-	50		-	-
tomato juice (มิลลิลิตร)	-	-	-	-	-	20.0
pH (ที่ 25°C)	6.5±0.2	6.2±0.2	6.9±0.02	7.7±0.2	5.4±0.2	6.7±0.2
จุลินทรีย์เป้าหมาย	*Leuconostoc* *Pediococcus* แบคทีเรียกรดแลคติกทั่วไป		streptococci	lactobacilli จากเนื้อสัตว์และจากอาหารอื่นๆ	คัดแยกและเลี้ยง lactobacilli	จุลินทรีย์ที่เจริญดีในสภาวะเป็นกรด

ที่มา : Atlas (1993) และ Lonvaud-Funel (2000)

หมายเหตุ * ส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ฆ่าเชื้อที่ 121°C 15 นาที ในหม้อนึ่งความดันไอ

** 1 Glucose Yeast Peptone medium 2 De Man, Rogosa and Sharpe 3 Media for streptococci

ความสำคัญของแบคทีเรียกรดแลคติกในด้านการใช้เป็นเชื้อตั้งต้น

1. การเป็นเชื้อตั้งต้นในผลิตภัณฑ์นม

เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่นำมาใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในอุตสาหกรรมนมประกอบด้วย 5 สกุล คือ *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* และ *Lactococcus* (นภา, 2534; Cogan and Accolas, 1996)

1.1 เชื้อตั้งต้นสกุล *Streptococcus*

เชื้อตั้งต้นสกุล *Streptococcus* ได้แก่ *Streptococcus lactis* subsp. *lactis*, *S. lactis* subsp. *diacetylactis* และ *S. lactis* subsp. *cremoris* โดยเฉพาะ *S. lactis* subsp. *diacetylactis* นอกจากจะเฟอร์เมนต์แลคโตสได้กรดแลคติกแล้วยังสามารถเมตาบอไลท์ซิเตรทเป็นไดอะซิธิล จึงมักใช้ในรูปเชื้อตั้งต้นแบบผสมเพื่อสร้างสารดังกล่าวอันเป็นกลิ่นเฉพาะของผลิตภัณฑ์ที่เฟอร์เมนต์โดยใช้จุลินทรีย์เหล่านี้ นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถใช้ *S. thermophilus* ในผลิตภัณฑ์นมหมักอีกหลายชนิด

1.2 เชื้อตั้งต้นสกุล *Leuconostoc*

Leuconostoc เป็นจุลินทรีย์ที่มีรูปร่างกลม มักพบเชื้อในลักษณะการเรียงตัวของเซลเป็นคู่และเป็นสายโซ่ยาว บ่อยครั้งพบเซลที่มีรูปร่างเป็นรูปไข่ซึ่งการจัดเรียงตัว และรูปร่างลักษณะของเซลจะมีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่ม lactococci แบคทีเรียสกุลนี้ส่วนใหญ่เจริญในน้ำนมได้ช้ามากจึงไม่เหมาะสำหรับเป็นเชื้อตั้งต้นเพื่อการผลิตกรด แต่จากคุณสมบัติของเชื้อสกุลนี้ที่สามารถเมตาบอไลท์ซิเตรทเป็นสารไดอะซิธิล และอะซิโทอิน จึงมีการใช้เชื้อสกุลนี้ร่วมกับเชื้อตั้งต้นชนิดอื่น เช่น *Lactobacillus cremoris* subsp. *citrovolum* เพื่อผลิตสารที่ให้กลิ่นหอม และใช้ร่วมกับเชื้อที่ผลิตกรดได้ดี เช่น *Streptococcus* spp. หรือ *Lactobacillus* spp.

1.3 เชื้อตั้งต้นสกุล *Lactobacillus*

จุลินทรีย์กลุ่มนี้ปรากฏพบทั้งพวก homofermentative และพวก heterofermentative แต่ที่นิยมผลิตเป็นเชื้อตั้งต้นทางการค้าสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมักเป็นกลุ่ม homofermentative ได้แก่ *Lactobacillus bulgaricus*, *Lb. lactis*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus*, และ *Lb. casei* เชื้อที่ใช้เป็นเชื้อตั้งต้นของผลิตภัณฑ์นมหมักส่วนใหญ่ได้แก่ *Lb. bulgaricus* โดยมักใช้ร่วมกับเชื้อ *S. thermophilus* ซึ่งจัดเป็น thermophilic starter อีกชนิดหนึ่ง เชื้อทั้งสองสปีชีส์ดำเนินกิจกรรมการหมักโดยการทำงานร่วม และส่งเสริมซึ่งกันและกัน (synergistic effect) เช่น ในเชื้อตั้งต้นแบบ

ผสมของโยเกิร์ตประกอบด้วยแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ ซึ่งพบว่าสามารถผลิตกรดได้เร็วกว่าการใช้เชื้อตั้งต้นเพียงชนิดเดียวเท่านั้น เนื่องจาก *Lb. bulgaricus* เมื่อเจริญในน้ำนมพบว่าสามารถสร้างเอนไซม์โปรตีเอสย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้กรดอะมิโนหลายชนิด โดยเฉพาะฮีสทีดีนที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของ *S. thermophilus* ในทำนองเดียวกันพบว่า *S. thermophilus* มีการผลิตกรดฟอร์มิกซึ่งจัดเป็นสารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของ *Lb. bulgaricus* เช่นกัน นอกจากนั้นพบว่า *Lb. bulgaricus* มีบทบาทในการผลิตอะเซธัลดีไฮด์ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ให้กลิ่นเฉพาะของโยเกิร์ต (Spreer, 1998) นอกจากเชื้อในสกุล *Lb. bulgaricus* แล้วยังพบว่า *Lb. acidophilus* และ *Lb. casei* ยังมีบทบาทในนมหมักในชื่อ และลักษณะอื่นๆ ที่มีความแตกต่างกันไป เชื้อสกุล *Lb. acidophilus* พบว่าเป็นเชื้อที่มีบทบาทในการหมักนมเปรี้ยวที่เรียกว่า acidophilus milk เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ *Lb. acidophilus* เป็นเชื้อตั้งต้นเพียงชนิดเดียวนิยมบริโภคมากในสหภาพโซเวียต ยุโรปตะวันออก และประเทศในแถบสแกนดิเนเวีย (Howells, 1992) ส่วนเชื้อสกุล *Lb. casei* พบได้ในน้ำนมสด, เนยแข็ง, ผลิตภัณฑ์นมต่างๆ ในโรงงานนม, โดเปรี้ยว (sour dough) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ที่ใช้เชื้อ *Lb. casei* เป็นเชื้อตั้งต้น เช่น Yakult® ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มนมหมักชนิดเหลวของประเทศญี่ปุ่น และ Gefilus® เป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มนมหมักชนิดเซ็ตที่มีการย่อยน้ำตาลแลคโตสผลิตจากเวย์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากประเทศฟินแลนด์ (Saloff-Coste, 1995)

1.4 เชื้อตั้งต้นสกุล *Enterococcus*

จุลินทรีย์กลุ่มนี้ปรากฏพบในรูปแบบที่เป็นเชื้อตั้งต้นธรรมชาติ (artisanal starter) และพบเพียงสองสายพันธุ์เท่านั้นที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์นมหมัก ได้แก่ *Ent. faecalis* และ *Ent. faecium* คุณสมบัติสำคัญที่สามารถใช้เป็นเชื้อตั้งต้น ได้แก่ สามารถสร้างกรดได้อย่างรวดเร็ว, ต้านทานกระบวนการแปรรูปเนยแข็งพวกฮาร์ดชีส (hard cheese) และสามารถทนต่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 6.5 % ได้ จุลินทรีย์ทั้งสองสปีชีส์สามารถเจริญได้ที่ 10°C และ 45° ที่ pH 9.6 (Cogan and Accolas, 1996)

1.5 เชื้อตั้งต้นสกุล *Lactococcus*

Lactococcus เป็นจุลินทรีย์ที่มีรูปร่างกลม มีทั้งที่พบเป็นเซลเดี่ยว อยู่เป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสายโซ่ยาว แต่ที่พบทั่วไปคือการเรียงตัวของเซลเป็นรูปสายโซ่ยาว ในบางครั้งรูปร่างของเซลอาจคล้ายกับรูปแท่งจนมีลักษณะคล้าย lactobacilli ตัวอย่างจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ ได้แก่ *Lc. lactis* subsp. *lactis* และ *Lc. lactis* subsp. *hordniae* ซึ่งจัดเป็นพวก homofermentative สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแล้วสร้าง L-lactate ออกมาเป็นผลิตภัณฑ์ เจริญได้ที่ 10°C แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่ 45°C โดย

สายพันธุ์ที่มีความสำคัญในการผลิตเซลเพื่อผลิตเป็นเชื้อตั้งต้น ได้แก่ *Lactococcus lactis* แบ่งย่อยได้ 2 ชนิด คือ *Lc. lactis* subsp. *cremoris* และ *Lc. lactis* subsp. *lactis* ซึ่ง Macura and Townsley (1984) กล่าวว่าในประเทศในแถบสแกนดิเนเวียนิยมใช้แบคทีเรียกรดแลคติกสกุล lactococci ในผลิตภัณฑ์นมหมักเพราะสามารถสร้าง exopolysaccharide ได้ดี ซึ่งมีชื่อเรียกผลิตภัณฑ์นมในภูมิภาคนี้ในชื่อต่างๆ กัน เช่น Tatemilk, Langmjolk, Viili, Latte, Filmjolk เป็นต้น

2. การเป็นเชื้อตั้งต้นในอุตสาหกรรมอาหารอื่นๆ นอกจากอุตสาหกรรมนม

มีรายงานว่า ในอุตสาหกรรมอาหารหมักนอกจากผลิตภัณฑ์นมหมักแล้วยังมีผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่นที่นิยมใช้เชื้อตั้งต้นแบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิต ได้แก่ ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากผักผลไม้

Flemming *et al.* (1985) กล่าวว่ามีการใช้เชื้อตั้งต้น *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus* subsp. *cerevisiae* ซึ่งเชื้อสามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดเพียงอย่างเดียว (homofermentative) ในการดองแตงกวา และมะกอกในระดับอุตสาหกรรมทั้งในรูปเชื้อตั้งต้นแบบไลโอฟิไลซ์ และเชื้อตั้งต้นแบบแช่แข็ง การใช้เชื้อตั้งต้นดังกล่าวสามารถควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ดีขึ้น เช่น แก้ปัญหาแตงไส้แตกซึ่งเป็นผลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่สร้างโดย *Lb. brevis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียพวก heterofermentative ที่พบในการหมักแตงกวาดองโดยวิธีการหมักตามธรรมชาติ

Choi *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษาการหมักกิมจิ (Kim-Chi) โดยใช้ *Leuconostoc citreum* เป็นเชื้อตั้งต้น พบว่า *Leu. citreum* ที่คัดแยกได้จากกิมจิสามารถใช้เป็นเชื้อตั้งต้นบริสุทธิ์ในการหมักกิมจิได้ ที่ระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 15°C ผลการทดลองที่ได้นี้นำมาใช้ในการพัฒนาการหมักกิมจิโดยใช้ *Leu. citreum* เป็นเชื้อตั้งต้นในอุตสาหกรรมการผลิตกิมจิ

Ammor *et al.* (2005) ศึกษา *Lb. sakei* จำนวน 36 สายพันธุ์ที่แยกได้จากไส้กรอกหมักเพื่อศึกษาคุณสมบัติของการเป็นเชื้อตั้งต้น ได้แก่ การเจริญ, การสร้างกรด, ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิแตกต่างกัน, ความสามารถในการเจริญที่ค่า pH ระดับต่างๆ และความเข้มข้นของเกลือในปริมาณสูง เป็นต้น จากการทดสอบคุณสมบัติต่างๆ เหล่านี้พบเชื้อสองสายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้เป็นเชื้อตั้งต้นเนื่องจากมีคุณสมบัติอันเหมาะสมหลายประการที่สามารถนำไปใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมักที่มีคุณภาพดีได้

การผลิตแบคทีเรียกรดแลคติกในรูปเชื้อตั้งต้นบริสุทธิ์

1. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของจุลินทรีย์

1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกทั่วไปมีหลายชนิด ซึ่งอาหารแต่ละชนิดมีความเหมาะสมต่อแบคทีเรียกรดแลคติกต่างชนิดกัน ซึ่งส่วนประกอบของอาหารเหล่านี้มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกชนิดต่างๆ

De Man *et al.* (1960) เสนอ De Man, Rogasa and Sharpe (MRS) medium สำหรับเลี้ยงเชื้อและศึกษากิจกรรมต่างๆ ทางกายภาพของเชื้อ lactobacilli ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดนี้เจริญได้ไม่ดีเท่ากับเชื้อชนิดอื่น และต้องการอาหารที่ค่อนข้างซับซ้อน MRS จึงมีความเหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อสกุลนี้ นอกจากนั้นการเติมน้ำมะเขือเทศลงในสูตรอาหารไม่มีความจำเป็นสำหรับเชื้อ lactobacilli

Car (1975) กล่าวว่าอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีลักษณะธรรมชาติ และนิยมใช้กันคือ tomato juice agar เนื่องจากน้ำมะเขือเทศมีสารบางชนิดที่สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกได้ดี ซึ่ง Yoshizumi (1975) ได้รายงานว่าเชื้อกลุ่มนี้ต้องการสารบางอย่างในน้ำมะเขือเทศเพื่อกระตุ้นการเจริญ ในระยะแรกเรียกสารชนิดนี้ว่า Tomato juice factor (TF) ซึ่งต่อมา Amachi (1975) พบว่าโครงสร้างทางเคมี และลักษณะทางกายภาพของสารชนิดนี้เป็น D-pantothenic acid

1.2 ปริมาณน้ำอิสระสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์

ปริมาณน้ำอิสระ หรือค่าวอร์เตอร์แอคติวิตี้ (a_w) เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกซึ่งต้องการน้ำอิสระสำหรับก่อเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ภายในเซล ตัวอย่างงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณน้ำอิสระ ได้แก่ Troller and Stinson (1981) ศึกษาความต้องการปริมาณน้ำอิสระ (a_w) สำหรับการเจริญ และการสร้างผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของ *Streptococcus cremoris*, *S. diacetilactis* และ *S. lactis* โดยใช้กลีเซอรอล และน้ำตาลซูโครสเป็นสารปรับค่า a_w (humectant) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ผลที่ได้การทดลองพบว่าค่า a_w ที่ต่ำที่สุดที่ช่วยในการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งสามสายพันธุ์คือ 0.93 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกลีเซอรอล ในขณะที่อาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นส่วนผสมพบว่ามีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งสามสายพันธุ์มากกว่าการใช้กลีเซอรอล

1.3 อุณหภูมิ

แบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้สำหรับอุตสาหกรรมนมหมักมีทั้งกลุ่มที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง (ระหว่าง 40-45°C, thermophilic starter) และกลุ่มที่เจริญได้ดีที่ระดับกลาง (ระหว่าง 25-30°C, mesophilic starter) จุลินทรีย์ที่มีบทบาทหลักในนมหมัก ได้แก่ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* จุลินทรีย์ดังกล่าวเป็นพวกที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูง (thermophile) อุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญคือระหว่าง 40-45°C Spreer (1998) อธิบายว่าในการผลิตโยเกิร์ตนั้นมีการใช้จุลินทรีย์ 2 ชนิดนี้เป็นเชื้อตั้งต้น สภาวะที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของ *S. thermophilus* อยู่ในช่วง 38-42°C และ *Lb. bulgaricus* ที่ช่วง 42-45°C

นอกจากอุณหภูมิมีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แล้ว Hutkins and Morris (1987) ได้รายงานว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการสังเคราะห์โพลีซัคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของเซลในสายพันธุ์ของ *S. thermophilus* ซึ่งสามารถสร้างโพลีซัคคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำได้เมื่อเจริญที่ 30°C มากกว่าการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 40°C ประมาณ 2 ถึง 5 เท่า ซึ่งจะมีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของเชื้อเมื่อผ่านการแช่เข็ง

1.4 สภาวะความเป็นกรด-ด่างในการเลี้ยงเชื้อ (pH)

แบคทีเรียกรดแลคติกเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างช่วงกว้างระหว่าง 4-7.5 แต่ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 6-6.5 นอกจากนี้จุลินทรีย์กลุ่มนี้ยังผลิตกรดแลคติกออกมาทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารต่ำลง ซึ่งการเลี้ยงเชื้อที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกรดนอกจากจะทำให้การเจริญช้าลงยังมีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อ เมื่อถึงสภาวะหนึ่งที่มีกรดความเข้มข้นสูงเซลบางส่วนจะเกิดการบาดเจ็บจนไม่สามารถดำเนินกิจกรรมได้ตามปกติ สุดท้ายเซลจะตาย และลดจำนวนลงในที่สุด (นภา, 2534) จากการศึกษาของ Bozoglu *et al.* (1987) พบว่า *S. thermophilus* หากเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 จะมีปริมาณเซลที่มีชีวิตเหลือรอดน้อยกว่าการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 โดยใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นสารเคมีที่ใช้ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ Amoroso and Manca de Nadra (1992) ทดลองเลี้ยง *S. thermophilus* และ *Lb. bulgaricus* ในลักษณะเชื้อเดี่ยว และเชื้อผสม ซึ่งพบว่าการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6.5-6.8 สำหรับเชื้อ *Lb. bulgaricus* และ *S. thermophilus* จะมีปริมาณเซลที่มีชีวิต 3.8×10^{8} cfu/ml และ 1.8×10^{8} cfu/ml ตามลำดับ การศึกษาทำนองเดียวกันของ ภัทรียา (2541) ซึ่งศึกษาหาค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยง *Lb. acidophilus* พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมคือ 6.5 และ 7.0 โดยได้ค่าเซลที่มีชีวิต 3.4×10^{11} cfu/ml และ 6.6×10^{11} cfu/ml ตามลำดับ

นอกจากนี้ Gilliland (1976) กล่าวว่าสำหรับการเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อให้ได้ปริมาณเซลที่มีชีวิตที่ยังคงมีกิจกรรมสูงจำเป็นต้องรักษาระดับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร เลี้ยงเชื้อด้วย

1.5 ความเข้มข้นของก๊าซในสภาวะที่เลี้ยงเชื้อ

แบคทีเรียกรดแลคติกบางกลุ่มมีการเมตาบอไลต์สารอาหารด้วยกระบวนการหมักในสภาวะที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงไม่ต้องการออกซิเจนในการเพาะเลี้ยง แต่เพื่อให้อาหารเป็นเนื้อเดียวกันตลอดระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อจึงต้องมีการกวนจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้มีออกซิเจนเพิ่มขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นจะทำให้เกิดการสะสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สภาวะเช่นนี้มีผลให้เชื้อเจริญได้ช้าลง อาจแก้ไขการเกิดปัญหานี้โดยการเติมเอนไซม์คะตะเลสหรือสารรีดิวส์อื่นๆ ลงไปถังหมัก (Gilliland, 1985) นอกจากนี้ Arsene-Ploetze and Bringle (2004) ยังพบว่าการเติมสารประกอบคาร์บอนในรูปแบบต่างๆ ได้แก่ inorganic carbon, CO_2 และ HCO_3^- สำหรับการเลี้ยงเชื้อพบว่าสามารถกระตุ้นการเจริญของ *Lactobacillus plantarum* และ *Enterococcus faecalis* ซึ่งมีบทบาทสำคัญในปฏิกิริยา carboxylation สำหรับการสังเคราะห์กรดอะมิโน และสารประกอบนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งสองชนิด

1.6 สารส่งเสริมการเจริญ

ในการเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิดที่ต้องการสารอาหารซับซ้อนหรือเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาได้ยาก อาจต้องมีการเติมสารบางชนิดที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย บัญญัติ (2534) กล่าวว่าสารส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์คือสารที่ส่งผลทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ดีขึ้น สารส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์มีหลายชนิด ได้แก่ วิตามิน, กรดอะมิโน และกรดนิวคลีอิก ซึ่ง Biswas *et al.* (1995) พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นแหล่งของคาร์บอน และมีการเติม Tween 80 และ Mg^{2+} ลงไปจะให้ปริมาณมวลชีวภาพจุลินทรีย์ และปริมาณการผลิต pediocin ACH สูงสุด นอกจากนี้ Lonvaud-Funel (2000) ได้กล่าวถึงความต้องการสารอาหารสำหรับการเจริญของ *Leuconostoc* spp. ว่าเชื้อนี้มีความต้องการไม่เพียงแต่ส่วนประกอบพื้นฐานของอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ แหล่งของคาร์โบไฮเดรตเป็นสารอาหารที่ให้พลังงาน, กรดอะมิโนเป็นแหล่งของไนโตรเจน, เกลือ และวิตามินเท่านั้น แต่ยังมีส่วนประกอบอื่นๆ ที่ควรเติมลงไปด้วย เช่น Tween 80 ซึ่งมีกรดโอเลอิกเป็นสารส่งเสริมการเจริญ นอกจากนี้ยังมีการเติมน้ำมะเขือเทศลงไปด้วยซึ่งพบว่าเป็นปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก โดยในน้ำมะเขือเทศพบว่ามี glucoside ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ pantothenic acid โดยอาจจะใช้น้ำองุ่นแทนได้เพราะในน้ำองุ่นนอกจากพบว่ามี glucoside แล้วยังมีฟรุคโตสซึ่งเป็นแหล่งพลังงานสำหรับ

เชื้อจุลินทรีย์ที่ดีกว่ากลูโคส นอกจากนี้ Partanen *et al.* (2001) ศึกษาอิทธิพลของ fatty acid และ fats ที่มีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ทำการศึกษาโดยทดสอบกับอาหารเหลว MRS ที่ดัดแปลงโดยไม่ได้เติม Tween 80 แต่ใช้ Tween 20, Tween 40 และ Tween 60 เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งทั้งหมดเป็นกรดไขมันอิ่มตัวสายโซ่ยาวซึ่งจัดเป็นสารส่งเสริมการเจริญของ *Lb. delbrueckii* ทุกสายพันธุ์ ผลการทดลองปรากฏว่าใช้ Tween 20, Tween 40 และ Tween 60 ซึ่งจัดเป็น natural food oil ที่เป็น fatty acid สายโซ่ยาวเหล่านี้เป็นตัวช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus delbrueckii* อย่างได้ผล

Aredes Fernandez *et al.* (2003) ทำการทดสอบเกี่ยวกับผลของกรดอะมิโน และเพปไทด์ที่มีต่อการเจริญของ *Pediococcus pentosaceus* จากไวน์พบว่าสามารถเจริญได้ดีในอาหารสังเคราะห์และอาหารแบบเดียวกันที่มีส่วนผสมของพวกไดเพปไทด์ ได้แก่ leucine-leucine, leucine-proline, methyonine-proline และ glycine-glycine ในอาหารสมบูรณ์ มีชีวมวลสุดท้ายเป็น $1x10^8$ cfu/ml

2. รูปแบบการเลี้ยงเชื้อ และการวัดปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

2.1 รูปแบบการเลี้ยงเชื้อ

ดุษณี (2546) กล่าวว่าการเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อเตรียมเชื้อตั้งต้น โดยทั่วไปนิยมเลี้ยง 2 วิธี คือ การเลี้ยงแบบเฟสคงที่ (static culture) และการเลี้ยงแบบเขย่า (shake flask) การเลี้ยงแบบเฟสคงที่นั้นเมื่อทำการถ่ายเชื้อลงในภาชนะที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วจะบ่มโดยไม่มีการเคลื่อนไหวของภาชนะ ส่วนการเลี้ยงแบบเขย่าเป็นการเลี้ยงเชื้อในฟลาสก์บนเครื่องเหวี่ยงที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (incubator shaker) โดย Calam (1986) กล่าวว่าความเร็วรอบที่นิยมใช้เลี้ยงเชื้อแบบเขย่าใช้ระหว่าง 100-500 รอบต่อนาที และสามารถปรับเปลี่ยนความเร็วรอบของเครื่องเหวี่ยงดังกล่าวได้ตามความต้องการในลักษณะการเลี้ยงเชื้อในแบบต่างๆ

2.2 วิธีการวัดจำนวนเชื้อ

ระหว่างการเลี้ยงเชื้อต้องมีวิธีการทดสอบ และหาปริมาณเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมก่อนการนำไปใช้งาน กำเนิด (2534) กล่าวว่าการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงโดยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นระหว่าง 350-1000 นาโนเมตร ทำควบคู่กับการหาค่าเซลที่มีชีวิตเป็นวิธีการที่ทำไปพร้อมกันเพื่อนำข้อมูลที่ได้มาทำกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับค่าเซลที่มีชีวิตกับเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งกราฟที่ได้มีความจำเพาะต่อจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ในการเลี้ยงที่

สภาวะเดียวกับที่ทำการเลี้ยงเท่านั้น ซึ่งเมื่อได้กราฟการเจริญดังกล่าวแล้วอาจใช้เพียงวิธีการเดียวที่ตรวจวัดได้สะดวก และง่ายที่สุดในการตรวจวัดปริมาณจุลินทรีย์

3. รูปแบบของเชื้อตั้งต้น

3.1 เชื้อตั้งต้นชนิดเหลว (liquid starter)

เป็นเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลวแล้วทำให้เข้มข้นขึ้นในสารละลาย นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากทำการเก็บรักษาง่ายหรือผลิตในปริมาณน้อยเพียงพอต่อการใช้งานในการผลิตแต่ละครั้งเท่านั้น ข้อดีคือสามารถปรับความเข้มข้นของเชื้อตั้งต้น และตรวจสอบคุณลักษณะด้วยตาได้ก่อนการใช้ทุกครั้ง ข้อเสียคือความไม่สม่ำเสมอของสภาวะระหว่างการขนส่งทำให้กิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่จะนำมาใช้แตกต่างกัน จึงต้องมีวิธีในการฟื้นฟูกิจกรรมของเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมก่อนทำการผลิตทุกครั้ง (Nielsen and Ullum, 1989)

3.2 เชื้อตั้งต้นชนิดแช่แข็ง (frozen starter)

Tamime and Robinson (1985) กล่าวว่าการผลิตเชื้อตั้งต้นแบบแช่แข็งเตรียมจากเชื้อตั้งต้นชนิดเหลวก่อนแล้วจึงนำไปแช่แข็งโดยใช้ 2 วิธีการ

วิธีที่ 1 การนำเชื้อตั้งต้นมาแช่แข็งที่อุณหภูมิ -30 ถึง -40°C โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากนมพร่องไขมันเนย 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์, ครีมสด (fresh cream) และโซเดียมคลอไรด์ 0.9 เปอร์เซ็นต์ หรือเจลาติน 1 เปอร์เซ็นต์ อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวพบว่ามีความเหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30 ถึง -40°C

วิธีที่ 2 คือเก็บเชื้อตั้งต้นที่ -196°C ในไนโตรเจนเหลว ซึ่ง Nielsen and Ullum (1989) รายงานว่าการผลิตเชื้อตั้งต้นชนิดนี้โดยเติมเชื้อลงในนม และทำให้มีสภาพเป็นกลางโดยการปรับด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ หลังจากนั้นนำเชื้อตั้งต้นที่ได้ทำให้เข้มข้นขึ้นโดยการปั่นเหวี่ยงผสมรวมกับสารปกป้องเซล เช่น Tween 80 และโซเดียมโอลีเอท (Gilliland and Speck, 1977) จากนั้นนำเชื้อตั้งต้นที่ได้หยดลงในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196°C จนเป็นเม็ดแข็ง จากนั้นบรรจุลงในภาชนะปลอดเชื้อที่บรรจุน้ำแข็งแห้งก่อนการขนส่ง การแช่แข็งวิธีนี้มีผลให้กระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลหยุดการทำงานส่งผลต่อการอายุการเก็บรักษาเซลให้มีชีวิตรอดอยู่ได้นานโดยอาศัยสารปกป้องเซลไม่ให้ถูกทำลายได้เนื่องจากความเย็น

3.3 เชื้อตั้งต้นชนิดแห้ง (dried starter)

ภัทรียา (2541) กล่าวว่าการผลิตเชื้อตั้งต้นแบบแห้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อลดการทำงานที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตเชื้อตั้งต้นชนิดเหลว, ต้องการเพิ่มอายุการเก็บรักษาของเชื้อตั้งต้น และเพื่อเป็นการสะดวกในการขนส่งโดยไม่มีการสูญเสียกิจกรรมของเชื้อตั้งต้น เชื้อตั้งต้นชนิดแห้งเป็นเชื้อตั้งต้นชนิดเข้มข้นที่มีเชื้อที่มีชีวิตรอดอยู่ 1-2 % การนำมาใช้ต้องมีการต่อเชื้อก่อนที่จะนำมาใช้หลายครั้งเพื่อให้เชื้อมีกิจกรรมต่างๆ สูงสุด การผลิตเชื้อตั้งต้นแบบแห้งมี 2 วิธี

วิธีที่ 1 เชื้อตั้งต้นชนิดพ่นแห้ง (spray dried culture) Mamaeva (1956) กล่าวถึงวิธีผลิตแบคทีเรียกรดแลคติกโดยวิธีพ่นแห้งโดยการควบคุมอุณหภูมิของเครื่องทำแห้ง (dryer) ให้มีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 103-107°C ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการปรับให้เป็นกลาง ภายหลังจากการทำแห้งทำให้เชื้อมีกิจกรรมลดลง ดังนั้นอายุของเชื้อที่นำมาผลิตต้องมีอายุที่พอเหมาะ และพบว่าอายุของเชื้อที่เลี้ยงที่ 8 ชั่วโมง มีกิจกรรมต่างๆ น้อยที่สุดเหมาะสำหรับการผลิตเชื้อตั้งต้นชนิดนี้

วิธีที่ 2 เชื้อตั้งต้นชนิดแช่แข็งแห้ง (freeze dried หรือ lyophilized culture) ขั้นตอนการผลิตมีดังนี้ ขั้นแรกเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสภาพเป็นกลางโดยเติมสารปกป้องเซล เช่น อิโนซิทอล, ซอร์บิทอล และน้ำตาลกลูโคส ขั้นที่สองแช่แข็งเชื้อที่อุณหภูมิ -10 ถึง -20°C จากนั้นทำการระเหิดน้ำ (sublimation) ออกจากเชื้อตั้งต้นภายใต้ความดัน และสภาวะที่เป็นสูญญากาศเพื่อเป็นการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเชื้อตั้งต้น การทำแช่แข็งแห้งประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก คือ pre-freezing คือการทำให้ตัวอย่างมีสภาพเป็นของแข็งโดยการใช้ความเย็นระดับต่ำ, primary drying คือการกำจัดน้ำออกจากของแข็งโดยการระเหิดด้วยปั๊มสูญญากาศ และตัวดักจับความชื้น (moisture trap) ที่เรียกว่า condenser และ secondary drying ในขั้นตอนนี้ยังคงมีน้ำหลงเหลืออยู่เป็นน้ำแบบ bound water สามารถกำจัดโดยการระเหิดภายใต้อุณหภูมิของ condenser และความดันต่ำให้เหลือปริมาณความชื้นประมาณ 1 % (ในจุลินทรีย์บางชนิดอาจเหลือความชื้น 2-3 % เพื่อความคงทนของ จุลินทรีย์)

วัตถุดิบที่มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้เลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกในภาคเหนือ

1. เศษวัตถุดิบหรือผลพลอยได้จากการผลิตอาหารในระดับอุตสาหกรรมที่มีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

เศษผักและผลไม้ที่เหลือจากการตัดแต่งหรือแปรรูปอาหารนั้น ซึ่งมีรายงานว่าสามารถนำไปผลิตเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับแบคทีเรียกรดแลคติกได้ ดังนี้

Kim *et al.* (2000) ศึกษาการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก 4 ชนิด ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* 145, *Lb. casei* 911, *Streptococcus thermophilus* th-116, *Bifidobacterium* sp. BB-12 และ *Bifidobacterium* sp. RD-65 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากวัตถุดิบธรรมชาติ เช่น ผัก, สาหร่าย, ธัญชาติต่างๆ และพวกพืชกินหัวชนิดต่างๆ ปรับ pH เป็น 7.2 โดยใช้ L-cysteine·HCl ทำการเลี้ยงที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาพไร้ออกซิเจน ผลการวิจัยพบว่าการเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 4 ชนิด ในน้ำผักชนิดต่างๆ ได้ค่าเซลมากกว่า 10^8 cfu/ml ส่วนการเลี้ยงในน้ำจากพืชหัวชนิดต่างๆ ค่าเซลที่ได้ต่ำกว่า 10^8 cfu/ml เนื่องจากพบสารประกอบที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในพืชเหล่านี้ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้ใช้สำหรับพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารหมักโดยใช้วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาดังกล่าว

Yoon *et al.* (2004) ศึกษาการหมัก *Lactobacillus acidophilus* LA39, *Lb. casei* A4, *Lb. delbrueckii* D7 และ *Lb. plantarum* C3 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำหัวบีท หมักที่ 30°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เชื้อทั้ง 4 สามารถทำให้ค่า pH ลดลงจาก 6.3 เป็น 4.5 ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 48 ช.ม. นอกจากนี้จากการศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อพบเซลที่มีชีวิต 10^6-10^8 cfu/ml ภายหลังจากเก็บเชื้อที่ 4°C เป็นเวลา 4 สัปดาห์

จากข้อมูลดังกล่าววัตถุดิบที่เป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานอาหารดังที่กล่าวไว้ข้างต้นน่าจะนำมาใช้ในการผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกได้

2. เศษวัตถุดิบ และผลพลอยได้ที่ได้จากอุตสาหกรรมอาหารในภาคเหนือ

จากการสำรวจโรงงานอุตสาหกรรมอาหารในภาคเหนือที่มีเศษวัตถุดิบหรือผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตอาหาร พบว่าโรงงานเป้าหมายที่มีเศษวัตถุดิบหรือผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตต่างๆ ที่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อได้ เช่น โรงงานแปรรูปผักและผลไม้ มูลนิธิโครงการหลวง (ดอยคำ) ต.แม่เหียะ จ.เชียงใหม่, บริษัท ซันสวีท ผลิตข้าว่โพดบรรจุกระป๋อง อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่, บริษัท สันติภาพ ฮั่วเพ้ง 1992 แปรรูปผัก และผลไม้บรรจุกระป๋อง เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่ามีหน่วยผลิตภัณฑ์สัตว์ สังกัดกรมปศุสัตว์เชียงใหม่ ซึ่งพบการผลิตสินค้าจากสัตว์หลายชนิด ได้แก่ นม, เนยแข็ง และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก, แฮม โดยอุตสาหกรรมการผลิตอาหารต่างๆ เหล่านี้พบว่าเกิดเศษวัตถุดิบหรือผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตหลายชนิดซึ่งสามารถใช้ผลิตเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกได้ เช่น

2.1 น้ำเวย์

น้ำเวย์เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเนยแข็งมีลักษณะเป็นของเหลวใส มี สีเขียวอมเหลือง พบว่าในน้ำเวย์มีปริมาณแลคโตสสูงกว่าสารอาหารอื่นๆ Alfa-Lavel (1987) แบ่งน้ำเวย์

ออกเป็นสองชนิด ชนิดแรกคือ สวีทเวย์หรือชีสเวย์ (sweet whey or cheese whey) เป็นน้ำเวย์ที่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตเนยแข็งเกาดา (gouda cheese) และเนยแข็งเชดดา (cheddar cheese) อีกชนิดคือแอสิดเวย์หรือเคซีนเวย์ (acid whey or casein whey) เป็นน้ำเวย์ที่ได้จากการผลิตเคซีนได้จากการผลิตเนยแข็งคอตเทจ (cottage) น้ำเวย์มีส่วนประกอบดังตาราง 2

ในประเทศไทยมีโรงงานผลิตเนยแข็งอยู่ไม่มาก ที่สำรวจพบเป็นโรงงานภายใต้การควบคุมของกรมปศุสัตว์ ได้แก่ หน่วยผลิตภัณฑ์สัตว์ ต.ห้วยแก้ว จ.เชียงใหม่ และเป็นโครงการสนองในพระราชดำริ พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว เช่น โรงงานผลิตนม และเนยแข็ง โครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา เป็นต้น จากการสัมภาษณ์เจ้าหน้าที่ฝ่ายผลิต หน่วยผลิตภัณฑ์สัตว์ ต.ห้วยแก้ว จ.เชียงใหม่ พบว่าที่โรงงานแห่งนี้ทำการผลิตเนยแข็ง 2 ครั้งต่อสัปดาห์ ซึ่งการผลิตในแต่ละครั้งมีน้ำเวย์ที่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตกว่า 500 ลิตรต่อครั้ง และน้ำเวย์ที่ได้ไม่พบว่ามีการใช้ประโยชน์อันใดนอกจากทำการบำบัด และระบายทิ้งสู่สิ่งแวดล้อม ดังนั้นการนำน้ำเวย์ที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตเนยแข็งมาใช้ประโยชน์จึงน่าจะเป็นแนวทางที่ช่วยเพิ่มคุณค่าให้กับน้ำเวย์ และลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสียได้

ตาราง 2 ส่วนประกอบของน้ำเวย์

ส่วนประกอบ	Sweet whey (%)	Acid whey (%)
น้ำ	93-94	94-95
Dry matter	6-6.5	5-6
Lactose	4.5-5	3.8-4.3
Lactic acid	น้อยมาก	มากกว่า 0.8
Total protein	0.8-1.0	0.8-1.0
Whey protein	0.6-0.65	0.6-0.65
กรดซิตริก	0.1	0.1
แร่ธาตุต่างๆ	0.5-0.7	0.5-0.7
pH	6.4-6.2	5.0-4.6
SH value	ประมาณ 4	20-25

ที่มา : Spreer (1998)

2.2 น้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าวมีลักษณะเป็นของเหลว ใส อยู่ภายในผลมะพร้าว มีส่วนประกอบสำคัญดัง**ตาราง 3** ซึ่งจากงานวิจัยก่อนหน้านั้น Gonzalez (1941) ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในน้ำมะพร้าวอ่อน และน้ำมะพร้าวแก่ พบว่าในน้ำมะพร้าวอ่อนน้ำตาลส่วนใหญ่เป็น reducing sugar ปริมาณ 2.5 % (w/v) ส่วนน้ำมะพร้าวแก่มีเพียง 1.45 % (w/v) น้ำตาลส่วนใหญ่ที่พบในน้ำมะพร้าวแก่เป็นกลูโคส ในน้ำมะพร้าวอ่อนมีประมาณ 2.5 % (w/v) แต่ในน้ำมะพร้าวแก่มีมากกว่าประมาณ 6 % (w/v) ซึ่ง Gonzalez สรุปว่าเมื่อผลมะพร้าวอ่อนเจริญเป็นมะพร้าวแก่ ทั้งปริมาณ และชนิดของน้ำตาลตลอดจนของแข็งทั้งหมดภายในน้ำมะพร้าวต่างมีการเปลี่ยนแปลงไปด้วย นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับส่วนประกอบต่างๆ ภายในน้ำมะพร้าว โดย Vanderbelt (1945) วิเคราะห์น้ำมะพร้าวแก่ พบว่าในน้ำมะพร้าวแก่ 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วยวิตามินบีรวม (B-complex) ดังนี้ คือ nicotinic acid 0.64 ไมโครกรัม, pantothenic acid 0.52 ไมโครกรัม, biotin 0.02 ไมโครกรัม, riboflavin 0.01 ไมโครกรัม และ folic acid 0.003 ไมโครกรัม นอกจากนี้ Child (1964) พบว่าในน้ำมะพร้าวแก่ 10 มิลลิลิตร มีกรดแอสคอร์บิก (วิตามินซี) ประมาณ 0.7-3.7 มิลลิกรัม และยังประกอบไปด้วย สารเคมีซึ่งเป็นสารจำพวกโพแทสเซี่ยมเป็นส่วนใหญ่ ข้อมูลจากงานวิจัยทั้งสามนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกัน แต่ตัวเลขปริมาณส่วนประกอบต่างๆ มีความแตกต่างกันบ้าง น่าจะเกิดจากความแตกต่างกันในด้านของพันธุ์มะพร้าว และแหล่งที่ปลูก

ตาราง 3 ส่วนประกอบของน้ำมะพร้าว

ส่วนประกอบ	น้ำมะพร้าวแก่ (%)	น้ำมะพร้าวอ่อน (%)
ของแข็งทั้งหมด	5.4	6.5
รีดิ้วซิ่ง ชูการ์	0.2	4.4
แร่ธาตุต่างๆ	0.5	0.6
โปรตีน	0.1	0.01
ไขมัน	0.1	0.01
กรดต่างๆ (mg)	60.0	120.0
pH	5.2	4.5
Potassium (mg)	247.0	290.0
Sodium (mg)	48.0	42.0
Calcium (mg)	40.0	44.0
Magnesium (mg)	15.0	10.0
Phosphorous (mg)	6.3	9.2
Iron (mg)	79.0	106.0
Copper (mg)	26.0	26.0

ที่มา : Krishnankutty (1987)

จากการสำรวจโรงงานผลิตมะพร้าวเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมกะทิ พบว่าโรงงานในจังหวัดเชียงใหม่ มีมากกว่า 50 โรงงาน ซึ่งทั้งหมดเป็นโรงงานขนาดเล็กที่มีทุนประกอบการไม่สูงมากนัก ซึ่งข้อมูลที่ได้รับจากจากโรงงาน ต.หายยา อ.เมือง จ.เชียงใหม่ ผลิตมะพร้าวผ่าซีกเพื่อนำไปผลิตกะทิ และได้น้ำมะพร้าวประมาณ 1,000 ลิตรต่อวัน ซึ่งน้ำมะพร้าวที่ได้ออกมานั้นไม่พบการนำไปใช้ประโยชน์ใดๆ นอกจากการระบายทิ้งสู่สิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจเป็นปัญหามลภาวะในสิ่งแวดล้อม หากสามารถนำของเสียเหล่านั้นให้เกิดประโยชน์ได้จะเป็นการแก้ปัญหาที่อาจจะเกิดขึ้นดังกล่าวได้

3.3 น้ำกากมะเขือเทศ

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) เป็นพืชอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญอย่างหนึ่ง ไฉน (2542) แบ่งมะเขือเทศออกเป็นสองชนิดตามประเภทการใช้ประโยชน์ ได้แก่ มะเขือเทศพันธุ์

บริโภคสด เช่น พันธุ์สีดา, พันธุ์ฟลอราเดล, พันธุ์แอล-22 และพันธุ์คาลิบโซ เป็นต้น และมะเขือเทศพันธุ์สำหรับโรงงานอุตสาหกรรมสำหรับแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น มะเขือเทศเข้มข้น (paste), ซอสมะเขือเทศ และน้ำมะเขือเทศ ซึ่งมีคุณค่าทางอาหารแสดงดังตาราง 4 มะเขือเทศที่นิยมนำมาใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมนั้น ไฉนกล่าวว่าในภาคเหนือนิยมปลูก และใช้มะเขือเทศพันธุ์ต่างๆ ดังนี้ เช่น พีโต 94, วีเอฟ 145, บี 78, บี 79, โรมาวีเอฟ, วีเอฟ 134-1-2, เซทเตอร์ 502, เซตเตอร์ 600, เอสอาร์ ดีซี 201, คาลเจ และ ฟอร์จูน 360 เป็นต้น นอกจากนี้มีรายงานอีกว่าพบการปลูกมะเขือเทศเป็นจำนวนมากในหลายภูมิภาคเพื่อส่งให้แก่โรงงานทำน้ำมะเขือเทศเข้มข้น โดยเฉพาะในจังหวัดหนองคายเป็นแหล่งปลูกที่ใหญ่ที่สุดในประเทศ และมีโรงงานผลิตน้ำมะเขือเทศเข้มข้นถึง 5 แห่ง ซึ่งพบว่าสิ่งที่เหลือจากกระบวนการผลิตคือกากมะเขือเทศ ปริมาณกากมะเขือเทศที่ได้มานั้นมีประมาณ 520 ตันต่อปี (จากน้ำหนักแห้ง) โดยกากมะเขือเทศที่นำมาทดลองเป็นเศษเหลือจากกระบวนการแยกเอาน้ำ และเนื้อมะเขือเทศออก มีส่วนเหลือเป็นเปลือก, เศษเนื้อมะเขือเทศ, เมล็ด และแกนกลาง ทำให้โรงงานเสียค่าใช้จ่ายจำนวนมากในการกำจัดกากมะเขือเทศเหล่านี้โดยนำไปทิ้งหรือทำเป็นปุ๋ย ซึ่งเป็นการสูญเสียมูลค่า ทั้งนี้เนื่องจากมีข้อมูลจาก วัชรินทร์ และคณะ (2536)พบว่ากากมะเขือเทศแห้งมีโปรตีนหยาบสูงถึง 14-20 % นอกจากนี้ GEA Niro Inc. (2005) ซึ่งได้วิเคราะห์ส่วนประกอบของน้ำมะเขือเทศ พบว่ามีน้ำ 93-96 %, น้ำตาล (กลูโคส และฟรุคโตส) 0.2-3.5 %, ปริมาณกรด 0.25-0.5 %, ส่วนประกอบที่ไม่ละลายน้ำ 0.7-1 %, กรดอะมิโนและโปรตีน 0.6-1.2 %, แร่ธาตุ 0.3-0.6 % และเกลือ 0.05-0.15 % กากมะเขือเทศจากอุตสาหกรรมจึงเป็นสิ่งที่สมควรนำมาพิจารณาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกได้

ตาราง 4 คุณค่าทางอาหารของมะเขือเทศ และผลิตภัณฑ์ในน้ำหนัก 100 กรัม

ธาตุอาหาร	มะเขือเทศสด	มะเขือเทศเข้มข้น	น้ำมะเขือเทศ
ความชื้น (%)	94.00	94.00	94.00
พลังงาน (แคลอรี่)	19.00	21.0	19.00
โปรตีน (กรัม)	0.70	0.80	0.80
ไขมัน (กรัม)	น้อยมาก	น้อยมาก	น้อยมาก
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	4.00	4.00	4.00
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	12.00	6.00	7.00
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	24.00	19.00	18.00
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.40	0.50	0.90
โปแตสเซียม (มิลลิกรัม)	222.00	217.00	227.00
วิตามินเอ (ไอยู)	822.00	900.00	798.00
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)	0.05	0.05	0.05
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	0.04	0.03	0.03
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	21.00	17.00	16.00
ไนอาซีน (มิลลิกรัม)	0.70	0.70	0.80

ที่มา: ไฉน (2542)