บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาพันธุ์และภาวะการปลูกต้นยาสูบที่เหมาะสมเพื่อใช้ผลิตโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ

4.1.1 ศึกษาพันธุ์และภาวะการปลูกต้นยาสูบที่มีผลต่อปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ ได้แก่ พันธุ์ยาสูบ อายุการเก็บเกี่ยว ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนและระยะปลูก ปลูกที่ไร่ของสถานีทดลองยาสูบ อ. แม่โจ้ จ. เชียงใหม่ โดยปลูกทั้งหมด 3 ครั้ง

ปลูกยาสูบตามภาวะที่ศึกษา ได้แก่ พันธุ์ คือ พันธุ์เวอร์ยิเนียและพันธุ์เบอร์เลย์ ระยะปลูก 10 x 25 และ 10 x 50 ตารางเซนติเมตร ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 0 10 และ 20 ก.ก./ไร่ และ เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ วิเคราะห์โปรตีนของส่วนใบที่ได้กำจัดเส้นกลางใบออกแล้ว ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนครั้งที่ 1 (ตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1) ผลของอายุการเก็บเกี่ยวและปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนที่มีต่อปริมาณโปรตีน(รูปที่ 4.2) ผลของปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนและระยะปลูกที่มีต่อปริมาณโปรตีน ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของครั้งที่ 2 (ตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3) ผลของอายุการเก็บเกี่ยวและปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนที่มีต่อปริมาณโปรตีน และผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของครั้งที่ 3 (ตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.4) ผลของพันธุ์ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน และระยะปลูกที่มีผลต่อปริมาณโปรตีน

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า

ครั้งที่ 1 ในฤดูกาลเพาะปลูก (พ.ย.39 - ม.ค. 40) อิทธิพลร่วมของอายุการเก็บเกี่ยวและปริมาณปุ๋ยโดยภาวะที่เหมาะสมคือ อายุการเก็บเกี่ยว 4 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ย 20 ก.ก./ไร่ และอิทธิพลของปริมาณปุ๋ยและระยะปลูกโดยภาวะที่เหมาะสมคือ ปริมาณปุ๋ย 20 ก.ก./ไร่ ระยะปลูก 10 x 25 ตารางเซนติเมตร มีผลต่อปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ครั้งที่ 2 นอกฤดูกาลเพาะปลูก (ส.ค. 40 - ต.ค. 40) อิทธิพลร่วมของอายุการเก็บเกี่ยวและปริมาณปุ๋ยมีผลต่อปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ภาวะที่เหมาะสมคือ อายุการเก็บเกี่ยว 2 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ย 10 ก.ก./ไร่

ครั้งที่ 3 ในฤดูกาลเพาะปลูก (พ.ย. 40 - ม.ค. 41) อิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์ ปริมาณปุ๋ย และระยะปลูกมีผลต่อปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ภาวะที่เหมาะสมคือพันธุ์เบอร์เลย์ ปริมาณปุ๋ย 20 ก.ก./ไร่ ระยะปลูก 10 x 25 ตารางเซนติเมตร

จากผลการทดลองที่ได้จึงสรุปว่า ภาวะที่เหมาะสมในการปลูกยาสูบเพื่อผลิตโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ (ในฤดูกาลเพาะปลูก) คือ พันธุ์เบอร์เลย์ อายุการเก็บเกี่ยว 4 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 20 ก.ก./ไร่ ระยะปลูก 10 x 25 ตารางเซนติเมตร

ตารางที่ 4.1 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบที่ปลูกด้วยภาวะต่างๆ ที่ศึกษา ของการปลูกครั้งที่ 1 (พ.ย. 39 - ม.ค. 40)

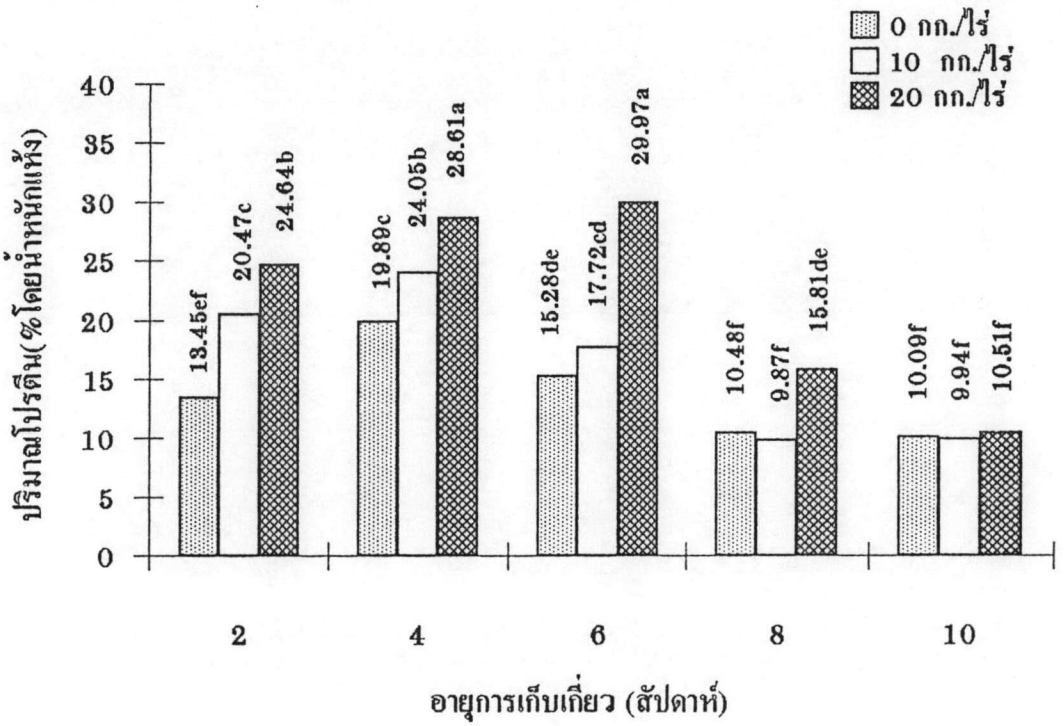
พันธุ์	ระยะปลูก (ซม.^{2})	ปุ๋ย N (กก./ไร่)	block	โปรตีนในใบยาสูบ (% โดยน้ำหนักแห้ง)				
				2 wks.	4 wks.	6 wks.	8 wks.	10 wks.
Virginia K 326	10 x 25	0	B1	12.34 ± 0.52	12.77 ± 0.81	11.93 ± 0.05	7.59 ± 0.28	6.12 ± 0.65
			B2	12.91 ± 0.44	16.89 ± 0.61	11.34 ± 0.33	7.28 ± 0.14	7.49 ± 0.39
			B3	12.56 ± 0.23	14.26 ± 0.08	10.44 ± 0.12	7.83 ± 0.09	7.37 ± 0.85
		10	B1	15.34 ± 0.65	18.13 ± 1.01	17.81 ± 0.35	7.53 ± 0.30	8.7 ± 0.80
			B2	22.83 ± 0.52	21.79 ± 0.46	19.17 ± 0.68	11.18 ± 0.15	8.42 ± 0.20
			B3	15.68 ± 0.18	26.51 ± 0.62	14.26 ± 0.55	9.65 ± 0.82	9.9 ± 0.08
		20	B1	22.24 ± 0.54	26.28 ± 0.55	31.1 ± 0.23	13.61 ± 0.33	9.42 ± 0.41
			B2	20.74 ± 0.11	37.63 ± 0.15	21.9 ± 0.24	26.27 ± 0.25	9.94 ± 0.09
			B3	22.75 ± 0.52	34.31 ± 0.84	40.92 ± 1.03	18.89 ± 0.21	8.37 ± 0.55
	10 x 50	0	B1	9.83 ± 0.12	13.3 ± 0.33	12.71 ± 0.11	9.39 ± 0.85	7.49 ± 0.28
			B2	15.68 ± 0.24	25.06 ± 0.67	18.91 ± 0.22	8.15 ± 0.20	12.03 ± 0.66
			B3	13.96 ± 0.24	18.27 ± 0.55	17.68 ± 0.91	7.23 ± 0.39	6.86 ± 0.42
		10	B1	20.21 ± 0.63	19.85 ± 0.12	15.34 ± 0.95	6.72 ± 0.99	4.8 ± 0.25
			B2	20.26 ± 0.35	21.65 ± 0.23	23.76 ± 0.15	8.03 ± 0.42	8.28 ± 0.17
			B3	19.83 ± 0.77	21.24 ± 0.44	20.98 ± 0.23	8.77 ± 0.88	8.38 ± 0.52
		20	B1	23.67 ± 1.10	22.38 ± 0.95	22.79 ± 0.14	15.43 ± 0.80	6.82 ± 0.33
			B2	27.08 ± 0.81	29.09 ± 0.23	16.08 ± 0.78	22.83 ± 0.14	9.16 ± 0.44
			B3	18.04 ± 0.44	25.22 ± 0.11	29.35 ± 0.25	17.94 ± 0.70	8.28 ± 0.25
Burley Ky 14	10 x 25	0	B1	11.05 ± 0.36	23.77 ± 0.89	17.44 ± 0.03	11.43 ± 0.81	13.7 ± 0.76
			B2	12.56 ± 0.14	23.55 ± 0.77	17.90 ± 0.36	12.87 ± 0.90	12.97 ± 0.45
			B3	14.77 ± 0.28	16.19 ± 0.28	16.32 ± 0.66	12.82 ± 0.69	12.88 ± 0.67
		10	B1	21.95 ± 0.77	17.97 ± 0.35	14.12 ± 0.14	9.23 ± 0.68	12.45 ± 0.05
			B2	15.68 ± 0.95	25.00 ± 0.45	22.71 ± 0.78	9.35 ± 0.15	10.58 ± 0.43
			B3	22.39 ± 1.06	31.65 ± 0.23	18.92 ± 0.09	10.08 ± 0.08	12.97 ± 0.46
		20	B1	31.36 ± 0.82	30.19 ± 0.11	29.54 ± 0.81	18.87 ± 0.24	7.36 ± 0.13
			B2	34.57 ± 0.44	28.36 ± 0.73	18.79 ± 0.13	10.91 ± 0.33	12.01 ± 0.32
			B3	32.96 ± 0.09	37.47 ± 0.68	26.29 ± 0.77	15.75 ± 0.13	16.22 ± 0.90
	10 x 50	0	B1	17.49 ± 0.48	26.38 ± 0.35	17.85 ± 0.12	13.2 ± 0.15	10.42 ± 0.04
			B2	15.64 ± 0.19	29.91 ± 0.14	16.09 ± 0.03	15.59 ± 0.41	15.73 ± 0.15
			B3	14.35 ± 0.56	27.77 ± 0.87	16.87 ± 0.28	12.79 ± 0.49	13.36 ± 0.50
		10	B1	19.89 ± 0.11	24.68 ± 0.77	20.7 ± 0.55	14.25 ± 0.50	11.69 ± 0.36
			B2	26.95 ± 1.17	24.44 ± 1.06	13.52 ± 0.89	11.01 ± 0.62	10.26 ± 0.81
			B3	25.1 ± 0.34	31.39 ± 0.35	19.08 ± 0.41	13.48 ± 0.97	11.26 ± 0.06
		20	B1	22.31 ± 0.85	22.41 ± 0.86	25.09 ± 0.74	14.01 ± 0.33	12.44 ± 0.74
			B2	19.31 ± 0.33	30.42 ± 0.23	32.29 ± 0.29	14.64 ± 0.86	12.68 ± 0.65
			B3	27.67 ± 0.97	26.75 ± 0.78	33.24 ± 0.81	12.86 ± 0.71	15.86 ± 0.42

ตารางที่ 4.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ เมื่อปลูกที่ภาวะการปลูก พันธุ์ยาสูบ 2 พันธุ์ คือ เวอร์ยิเนียและเบอร์เลย์ อายุการเก็บเกี่ยว 2 4 6 8 และ10 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 0 10 และ 20 กิโลกรัม/ไร่ และระยะปลูก 10 x 25 และ 10 x 50 ตารางเซนติเมตร ครั้งที่ 1 (พ.ย. 39 - ม.ค. 40)

SOV	df	MS
Block	2	63.696*
พันธุ์ (A)	1	120.557*
อายุการเก็บเกี่ยว (B)	4	1296.837*
AB	4	1.869
ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน (C)	2	1019.300*
AC	2	0.306
BC	8	116.369*
ABC	8	1.720
ระยะปลูก (D)	1	1.063
AD	1	0.069
BD	4	2.783
ABD	4	2.853
CD	2	103.352*
ACD	2	11.134
BCD	8	23.417
ABCD	8	7.752
error	118	16.052

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

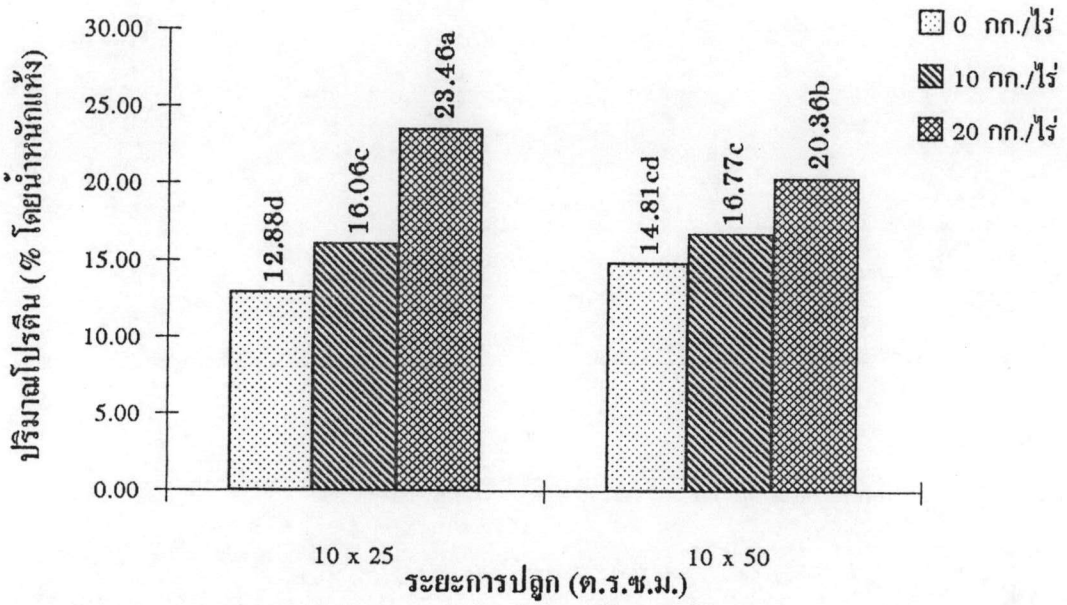
จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า การปลูกครั้งที่ 1 อิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์ อายุการเก็บเกี่ยว ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน และระยะปลูกไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ ($p > 0.05$) ดังนั้นในการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในใบยาสูบจึงแยกวิเคราะห์ผลของอายุการเก็บเกี่ยว และปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน ดังแสดงในรูปที่ 4.1 และปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน และระยะปลูก ดังแสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.1 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ(% โดยน้ำหนักแห้ง)ของการปลูกครั้งที่ 1 (พ.ย. 39-ม.ค. 40) เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างอายุการเก็บเกี่ยว 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ กับปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 0 10 และ 20 กิโลกรัม/ไร่

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติการปลูกครั้งที่ 1 พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่าง ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน กับอายุการเก็บเกี่ยว มีผลต่อปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ ($p \leq 0.05$) โดยภาวะการปลูกที่ใช้ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนมากขึ้น ปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มมากขึ้นเมื่ออายุการเก็บเกี่ยว 2 และ 4 สัปดาห์ และจะมีค่าสูงสุดเมื่ออายุ 6 สัปดาห์ แต่ไม่แตกต่างอย่างนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับอายุการเก็บเกี่ยว 4 สัปดาห์ และมีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บเกี่ยว 8 และ 10 สัปดาห์



รูปที่ 4.2 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ(% โดยน้ำหนักแห้ง)ของการปลูกครั้งที่ 1 (พ.ย. 39-ม.ค. 41) เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 0 10 และ 20 กิโลกรัม/ไร่ กับระยะปลูก 10 x 25 และ 10 x 50 ตารางเซนติเมตร

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

และจากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติการปลูกครั้งที่ 1 ยังพบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนกับระยะปลูก มีผลต่อปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ ($p \leq 0.05$) โดยภาวะการปลูกที่ใช้ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนมากขึ้นปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มมากขึ้นและเมื่อปลูกที่ระยะปลูก 10 x 25 ตารางเซนติเมตรจะมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าที่ระยะปลูก 10 x 50 ตารางเซนติเมตร

ตารางที่ 4.3 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบที่ปลูกด้วยภาวะต่างๆ ที่ศึกษา ของการปลูกครั้งที่ 2 (ส.ค. 40 - ต.ค. 40)

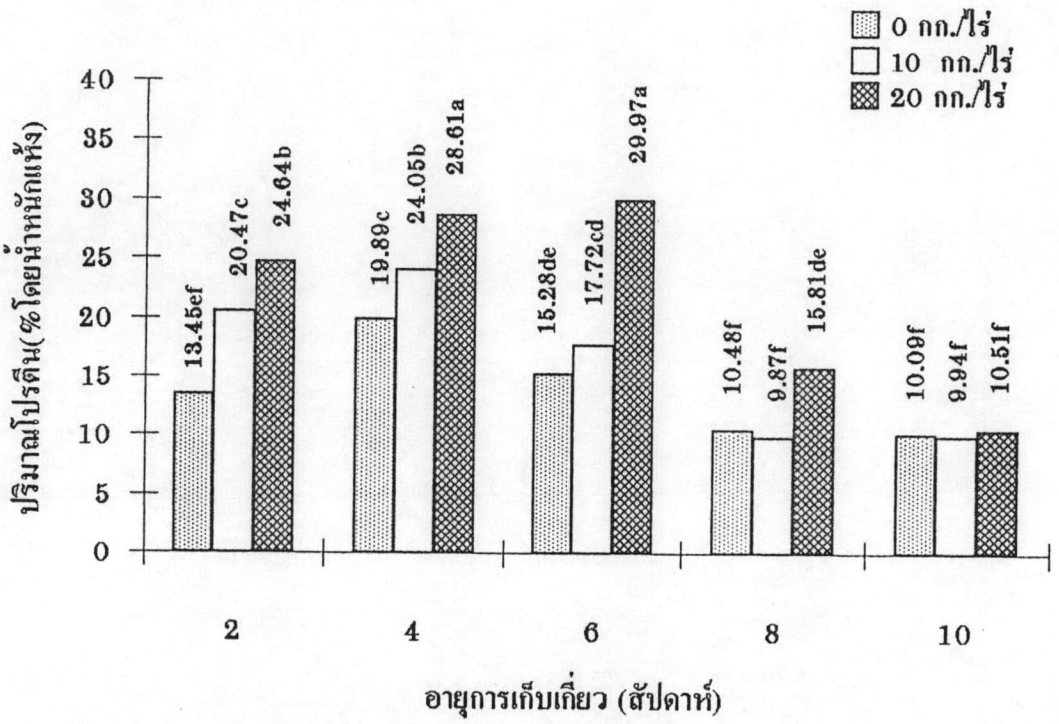
พันธุ์	ระยะปลูก (ซม.)	ปุ๋ย N (กก./ไร่)	block	โปรตีนในใบยาสูบ (% โดยน้ำหนักแห้ง)				
				2 wks.	4 wks.	6 wks.	8 wks.	10 wks.
Virginia K 326	10 x 25	0	B1	11.19 ± 0.22	11.19 ± 0.53	25.96 ± 0.64	21.71 ± 0.12	20.48 ± 0.12
			B2	24.99 ± 0.02	9.97 ± 0.06	14.42 ± 0.39	12.80 ± 0.06	14.53 ± 0.25
			B3	21.48 ± 0.63	9.48 ± 0.12	10.05 ± 0.20	14.90 ± 0.54	16.01 ± 0.39
		10	B1	34.43 ± 0.81	14.44 ± 0.29	19.50 ± 0.32	19.05 ± 0.59	19.25 ± 0.14
			B2	35.70 ± 0.88	15.42 ± 0.56	15.11 ± 0.44	20.03 ± 0.11	25.32 ± 0.51
			B3	42.88 ± 0.48	21.63 ± 0.77	12.81 ± 0.75	16.57 ± 0.44	18.69 ± 0.11
		20	B1	39.86 ± 0.24	28.29 ± 0.18	23.10 ± 0.56	19.61 ± 0.32	18.80 ± 0.27
			B2	31.48 ± 0.65	26.49 ± 0.15	27.23± 0.19	16.25 ± 0.09	12.93 ± 0.29
			B3	35.76 ± 0.52	21.39 ± 0.04	23.09 ± 0.09	26.36 ± 0.87	22.44 ± 0.50
	10 x 50	0	B1	19.33 ± 0.44	8.16 ± 0.38	10.21 ± 0.67	15.93 ± 1.03	14.28 ± 0.44
			B2	20.39 ± 0.24	8.91 ± 0.17	12.79 ± 0.87	14.65 ± 0.29	14.50 ± 0.52
			B3	24.66 ± 0.06	9.67 ± 0.43	10.75 ± 0.44	13.00 ± 0.48	15.09 ± 0.12
		10	B1	36.84 ± 0.55	22.57 ± 0.46	18.99 ± 0.25	18.40 ± 0.12	22.23 ± 0.08
			B2	36.91 ± 0.95	28.37 ± 0.63	14.84 ± 0.07	18.97 ± 0.41	18.96 ± 0.53
			B3	34.46 ± 0.72	16.19 ± 0.52	12.63 ± 0.59	15.13 ± 0.25	17.57 ± 0.52
		20	B1	27.24 ± 0.47	18.69 ± 0.14	21.00 ± 0.18	23.03 ± 0.66	15.56 ± 0.17
			B2	45.84 ± 0.21	32.28 ± 0.22	23.42 ± 0.17	21.87 ± 0.36	19.63 ± 0.20
			B3	39.84 ± 1.25	35.12 ± 0.88	18.53 ± 0.77	21.08 ± 0.73	24.13 ± 0.22
Burley Ky 14	10 x 25	0	B1	16.39 ± 0.16	22.83 ± 0.63	20.38 ± 0.65	25.98 ± 0.52	23.37 ± 0.07
			B2	28.80 ± 0.78	20.70 ± 0.17	22.88 ± 0.62	29.08 ± 1.40	26.12 ± 0.41
			B3	27.30 ± 0.20	21.68 ± 0.64	21.01 ± 0.16	27.64 ± 0.29	27.94 ± 0.11
		10	B1	28.38 ± 0.75	19.99 ± 0.23	22.58 ± 0.99	21.19 ± 0.41	23.34 ± 0.06
			B2	38.35 ± 0.65	24.07 ± 0.09	30.05 ± 0.71	23.12 ± 0.10	24.78 ± 0.88
			B3	40.31 ± 1.36	35.21 ± 0.45	21.91 ± 1.09	27.02 ± 0.73	27.23 ± 1.02
		20	B1	34.00 ± 0.82	21.80 ± 0.18	22.82 ± 0.54	27.02 ± 0.73	28.22 ± 0.95
			B2	45.75 ± 1.24	37.46 ± 0.13	33.13 ± 0.69	27.52 ± 0.35	28.04 ± 0.91
			B3	41.15 ± 0.65	36.90 ± 0.04	31.20 ± 0.03	32.49 ± 0.96	30.77 ± 0.45
	10 x 50	0	B1	29.01 ± 0.98	18.33 ± 0.19	24.67 ± 0.88	8.95 ± 0.44	28.37 ± 0.14
			B2	31.51 ± 0.32	21.36 ± 0.14	26.75 ± 1.19	26.16 ± 0.52	27.79 ± 0.56
			B3	25.48 ± 0.52	14.90 ± 0.59	21.37 ± 0.27	22.81 ± 0.27	25.29 ± 0.15
		10	B1	36.88 ± 0.41	16.45 ± 0.72	34.78 ± 0.43	23.54 ± 0.97	23.52 ± 0.49
			B2	37.72 ± 1.20	40.27 ± 1.55	35.30 ± 0.66	30.25 ± 0.11	28.23 ± 0.52
			B3	43.64 ± 0.34	26.32 ± 0.45	28.40 ± 0.73	26.15 ± 0.84	27.78 ± 0.26
		20	B1	41.08 ± 0.44	34.67 ± 0.77	23.17 ± 0.74	28.88 ± 0.71	30.20 ± 0.78
			B2	31.70 ± 0.36	24.90 ± 0.22	25.11 ± 0.95	27.44 ± 0.16	24.62 ± 0.65
			B3	39.39 ± 0.55	30.68 ± 0.11	29.57 ± 0.65	19.48 ± 0.05	23.22 ± 0.24

ตารางที่ 4.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ เมื่อปลูกที่สภาวะการปลูก พันธุ์ยาสูบ 2 พันธุ์ คือ เวอร์ยิเนีย และเบอร์เลย์ อายุการเก็บเกี่ยว 2 4 6 8 และ10 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 0 10 และ20 กิโลกรัม/ไร่ และระยะปลูก 10 x 25 และ 10 x 50 ตารางเซนติเมตร ครั้งที่ 2 (ส.ค. 40 - ต.ค. 40)

SOV	df	MS
Block	2	33.695
พันธุ์ (A)	1	1874.502*
อายุการเก็บเกี่ยว (B)	4	821.846*
AB	4	60.189
ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน (C)	2	1134.519*
AC	2	48.737
BC	8	110.827*
ABC	8	22.823
ระยะปลูก (D)	1	0.358
AD	1	0.745
BD	4	2.690
ABD	4	46.555
CD	2	81.340
ACD	2	36.963
BCD	8	19.734
ABCD	8	5.643
error	118	28.672

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า การปลูกครั้งที่ 2 มีเพียงอิทธิพลร่วมระหว่างอายุการเก็บเกี่ยวกับปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนเท่านั้นที่มีผลต่อปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ ดังนั้นในการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในใบยาสูบจึงแยกวิเคราะห์อายุการเก็บเกี่ยวและปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน ผลแสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ(% โดยน้ำหนักแห้ง)ของการปลูกครั้งที่ 2 (ส.ค. 40-ต.ค. 41) เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างอายุการเก็บเกี่ยว 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ร่วมกับปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 0 10 และ 20 กิโลกรัม/ไร่

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการปลูกครั้งที่ 2 พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างอายุการเก็บเกี่ยวกับปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน มีผลต่อปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ ($p \leq 0.05$) โดยภาวะการปลูกที่มีปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มขึ้น ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งเมื่ออายุการเก็บเกี่ยว 2 สัปดาห์จะมีปริมาณโปรตีนในใบยาสูบสูงสุด และมีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บเกี่ยวมากขึ้น

ตารางที่ 4.5 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบที่ปลูกด้วยภาวะต่างๆ ที่ศึกษา ของการปลูกครั้งที่ 3 (พ.ย. 40 - ม.ค. 41)

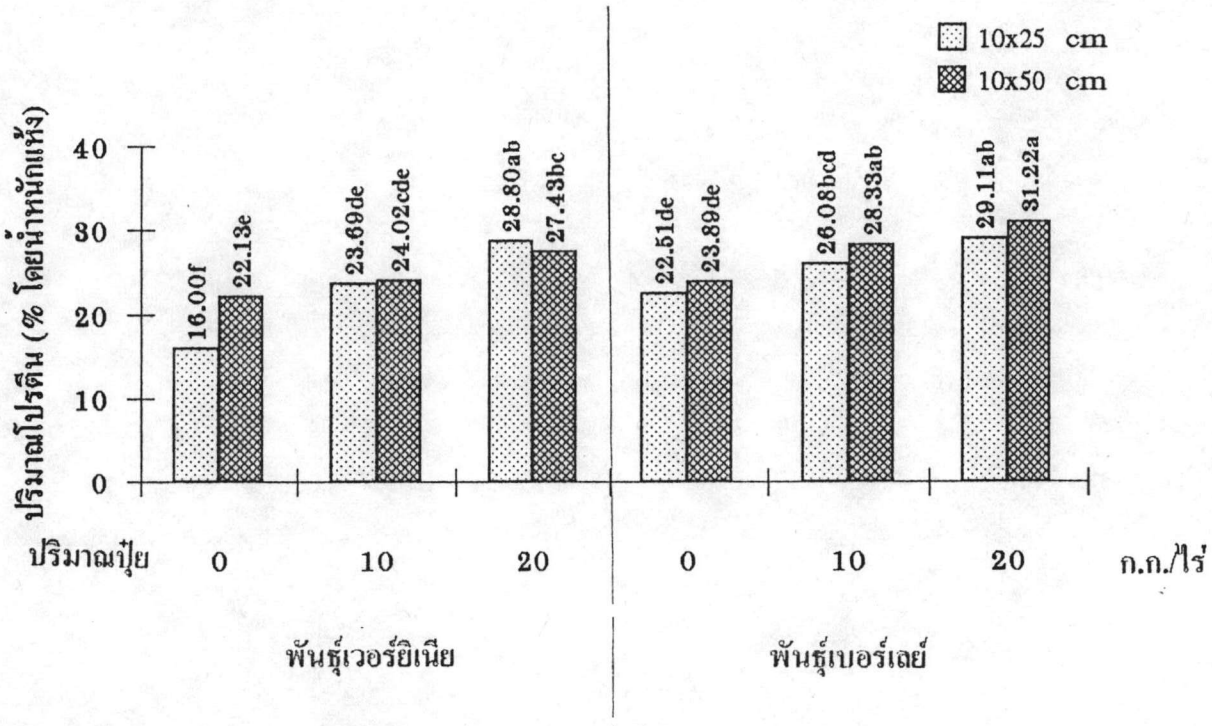
พันธุ์	ระยะปลูก (ซม.)	ปุ๋ย N (กก./ไร่)	block	โปรตีนในใบยาสูบ (% โดยน้ำหนักแห้ง)				
				2 wks.	4 wks.	6 wks.	8 wks.	10 wks.
Virginia K 326	10 x 25	0	B1	22.64 ± 0.16	10.71 ± 0.24	14.31 ± 0.45	12.08 ± 0.48	10.23± 0.12
			B2	30.00 ± 0.15	23.86 ± 0.41	14.38 ± 0.20	12.08 ± 0.48	13.16 ± 0.29
			B3	18.50 ± 0.09	17.92 ± 0.62	14.11 ± 0.66	13.89 ± 0.19	12.14 ± 0.11
		10	B1	26.58 ± 0.98	29.62 ± 0.06	30.07 ± 1.20	19.39 ± 0.11	14.74 ± 0.20
			B2	24.83 ± 0.45	32.02 ± 0.91	27.14 ± 0.43	25.69 ± 0.41	17.90 ± 0.25
			B3	20.72 ± 0.33	31.82 ± 0.23	18.22 ± 0.74	21.43 ± 0.09	15.20 ± 0.65
		20	B1	24.59 ± 0.14	31.58 ± 0.11	28.56 ± 0.21	25.03 ± 0.73	19.55 ± 0.77
			B2	30.02 ± 0.60	40.63 ± 0.25	38.65 ± 0.12	27.39 ± 0.44	28.56 ± 0.32
			B3	31.89 ± 0.02	36.77 ± 0.54	24.35 ± 0.29	25.77 ± 0.11	18.58 ± 0.44
	10 x 50	0	B1	27.34 ± 0.26	26.55 ± 0.39	19.96 ± 0.11	17.72 ± 0.25	13.20 ± 0.39
			B2	28.11 ± 0.97	23.26 ± 0.17	18.74 ± 0.46	30.61 ± 0.21	11.43 ± 0.86
			B3	29.28 ± 0.77	26.47 ± 0.02	26.05 ± 0.70	20.42 ± 0.87	12.84 ± 0.12
		10	B1	23.52 ± 1.04	30.03 ± 0.12	23.32 ± 0.17	21.66 ± 0.32	18.59 ± 0.25
			B2	27.42 ± 0.35	24.40 ± 1.05	23.40 ± 0.72	24.20 ± 0.51	13.20 ± 0.55
			B3	26.27 ± 0.47	18.92 ± 0.14	37.06 ± 1.22	26.55 ± 0.18	21.68 ± 0.22
		20	B1	26.12 ± 0.63	34.29 ± 0.90	32.39 ± 0.82	27.45 ± 0.27	11.80 ± 0.35
			B2	28.41 ± 0.22	47.09 ± 0.62	36.10 ± 0.42	27.84 ± 0.14	24.25 ± 0.06
			B3	20.04 ± 0.11	29.59 ± 0.11	28.86 ± 0.20	25.84 ± 0.11	11.32 ± 0.25
Burley Ky 14	10 x 25	0	B1	29.39 ± 0.29	31.07 ± 0.80	29.07 ± 0.63	19.61 ± 0.58	16.92 ± 0.16
			B2	26.01 ± 0.43	24.83 ± 0.64	25.73 ± 0.16	17.58 ± 0.21	20.45 ± 0.45
			B3	20.09 ± 0.62	20.15 ± 0.18	16.86 ± 0.19	20.99 ± 0.60	18.86 ± 0.11
		10	B1	32.47 ± 0.08	29.21 ± 0.46	29.25 ± 0.14	24.06 ± 0.16	14.29 ± 0.32
			B2	29.42 + 0.61	30.99 ± 0.33	27.55 ± 0.42	24.76 ± 0.10	17.85 ± 0.43
			B3	24.12 ± 0.49	23.61 ± 0.88	25.15 ± 0.63	35.22 ± 0.96	23.21 ± 0.22
		20	B1	31.47 ± 0.71	35.23 ± 0.17	32.64 ± 0.28	31.01 ± 0.74	16.39 ± 0.03
			B2	33.27 ± 0.83	30.23 ± 0.46	35.38 ± 0.43	27.50 ± 0.13	24.48 ± 0.79
			B3	25.62 ± 0.16	31.32 ± 0.19	35.17 ± 0.92	26.90 ± 0.04	19.98 ± 0.16
	10 x 50	0	B1	21.87 ± 0.48	29.04 ± 0.35	19.82 ± 0.86	20.27 ± 0.34	20.99 ± 0.44
			B2	30.21 ± 0.72	27.34 ± 0.65	26.78 ± 0.40	24.24 ± 0.71	21.32 ± 0.15
			B3	31.26 ± 0.28	27.23 ± 1.14	20.06 ± 0.64	12.77 ± 0.45	25.17 ± 0.25
		10	B1	28.65 ± 0.11	31.94 ± 0.02	36.66 ± 0.15	28.54 ± 0.50	17.07 ± 0.38
			B2	31.36 ± 1.21	27.67 ± 0.33	37.88 ± 1.31	11.23 ± 0.23	23.12 ± 0.07
			B3	33.36 ± 1.09	30.76 ± 0.22	35.00 ± 0.49	23.23 ± 0.37	28.44 ± 0.63
		20	B1	30.31 ± 0.82	38.02 ± 0.75	19.55 ± 0.14	33.79 ± 0.65	21.61 ± 0.24
			B2	30.85 ± 0.14	30.47 ± 0.52	38.23 ± 0.69	41.01 ± 0.30	20.85 ± 0.45
			B3	30.89 ± 0.12	30.89 ± 0.96	41.40 ± 1.12	32.76 ± 0.61	28.29 ± 0.99

ตารางที่ 4.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ เมื่อปลูกที่สภาวะการปลูก พันธุ์ยาสูบ 2 พันธุ์ คือ เวอร์ยิเนีย และเบอร์เลย์ อายุการเก็บเกี่ยว 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 0 10 และ 20 กิโลกรัม/ไร่ และระยะปลูก 10 x 25 และ 10 x 50 ตารางเซนติเมตร ครั้งที่ 3 (พ.ย. 40 - ม.ค. 41)

SOV	df	MS
Block	2	74.747*
พันธุ์ (A)	1	456.554*
อายุการเก็บเกี่ยว (B)	4	635.556*
AB	4	23.540
ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน (C)	2	966.410*
AC	2	16.211
BC	8	66.466*
ABC	8	28.955
ระยะปลูก (D)	1	147.841*
AD	1	0.618
BD	4	5.702
ABD	4	29.091
CD	2	45.557
ACD	2	72.193*
BCD	8	28.280
ABCD	8	24.450
error	118	20.127

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการปลูกครั้งที่ 3 พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน และระยะปลูก มีผลต่อปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นในการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในใบยาสูบจึงวิเคราะห์พันธุ์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน และระยะปลูก ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ(% โดยน้ำหนักแห้ง)ของการปลูกครั้งที่ 3 (พ.ย. 40-ม.ค.41) เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์ คือ พันธุ์เวอร์ยิเนียและพันธุ์เบอร์เลย์ และปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 0 10 และ 20 กิโลกรัม/ไร่ กับระยะปลูก 10 x 25 และ 10 x 50 ตารางเซนติเมตร

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติการปลูกครั้งที่ 3 พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน และระยะปลูก มีผลต่อปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ ($p \leq 0.05$) โดยภาวะการปลูกพันธุ์เบอร์เลย์มีปริมาณสูงกว่าพันธุ์เวอร์ยิเนีย ปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อปริมาณปุ๋ยมากขึ้นและระยะปลูก 10 x 50 ตารางเซนติเมตร ใบยาสูบจะมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าที่ระยะปลูก 10 x 25 ตารางเซนติเมตร

4.1.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบยาสูบ

วิเคราะห์องค์ประกอบของใบยาสูบที่ปลูกที่ภาวะที่เหมาะสมในการปลูกเพื่อใช้ผลิตโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ และใบยาสูบปลูกที่ภาวะที่ใช้ปลูกทั่วไปเพื่อผลิตเป็นบุหรี่ โดยวิเคราะห์ โปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า และนิโคติน ดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบทางเคมีของใบยาสูบที่ปลูกตามภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิตโปรตีนเข้มข้นและภาวะที่ใช้ปลูกทั่วไป

องค์ประกอบทางเคมี	ภาวะปลูก	
	ภาวะที่เหมาะสม**	ภาวะที่ใช้ปลูกทั่วไป***
ความชื้น	90.00[a] ± 0.03	84.46[b] ± 0.05
โปรตีน*	37.30[a] ± 0.44	31.25[b] ± 0.37
ไขมัน*	3.63[b] ± 0.02	6.13[a] ± 0.08
เส้นใย*	8.88[a] ± 0.14	8.17[b] ± 0.02
เถ้า*	23.41[a] ± 0.70	11.46[b] ± 0.03
คาร์โบไฮเดรต*	26.78[b] ± 0.23	45.99[a] ± 0.35
นิโคติน*	1.20[a] ± 0.05	0.74[b] ± 0.03

a,b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวนอนเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

* เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

** ปลูกที่ภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิตโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ พันธุ์เบอร์เลย์ อายุการเก็บเกี่ยว 4 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 20 ก.ก./ไร่ ระยะปลูก 10 x 25 ตารางเซนติเมตร
สถานที่ปลูก สถานีทดลองยาสูบแม่โจ้ อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่

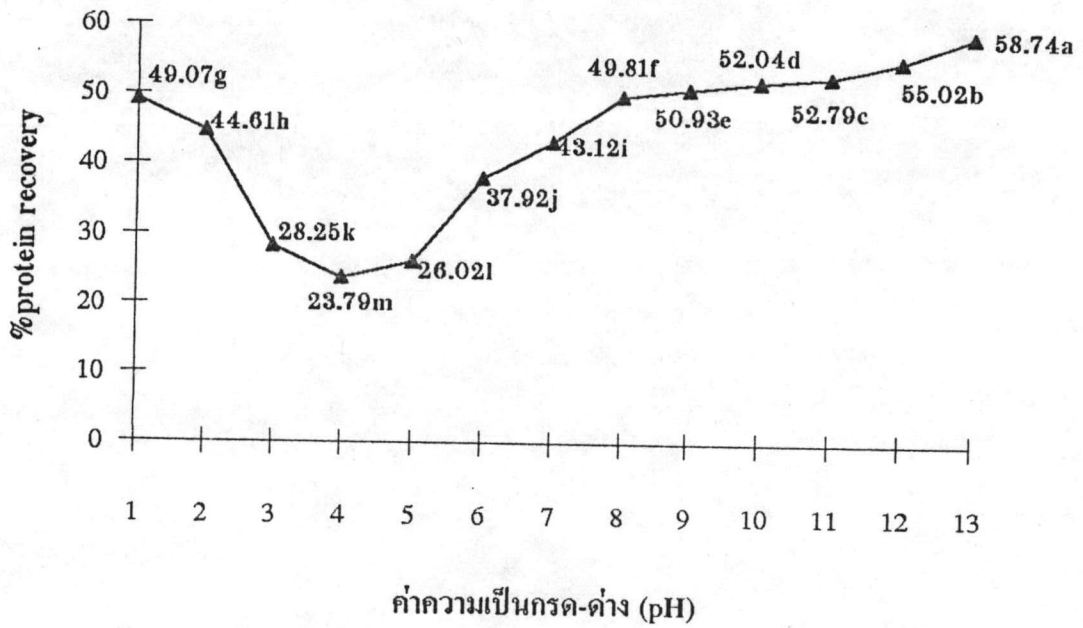
*** ปลูกที่ภาวะที่ใช้ปลูกทั่วไป พันธุ์เบอร์เลย์ อายุการเก็บเกี่ยว 4 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 6 ก.ก./ไร่ ระยะปลูก 60 x 90 ตารางเซนติเมตร
สถานที่ปลูก ต. ดงมะดะ กิ่งอำเภอ แม่ลาว จ. เชียงราย

4.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนจากใบยาสูบ

ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากใบยาสูบ โดยใช้ใบยาสูบปลูกที่ภาวะที่ใช้ปลูกทั่วไปเพื่อผลิตเป็นบุหรี่ คือ พันธุ์เบอร์เลย์ อายุการเก็บเกี่ยว 4 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 6 ก.ก./ไร่ ระยะปลูก 60 x 90 ตารางเซนติเมตร ศึกษาผลของ pH ที่มีต่อปริมาณโปรตีนในสารละลายที่สกัดได้ ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ ชนิดของสารสกัด อัตราส่วนใบยาสูบต่อสารสกัด และ pH ดัดแปลงมาจากวิธีของ Wang และ Kinsella (1975)

4.2.1 ศึกษาผลของค่า pH ที่มีต่อการสกัดโปรตีนจากใบยาสูบ

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า pH มีผลต่อความสามารถในการละลายของโปรตีนจากใบยาสูบ (รูปที่ 4.5) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้ภาวะการสกัดเป็น น้ำกลั่น อัตราส่วนใบยาสูบต่อสารสกัดเป็น 1:8 และ แปร pH ตั้งแต่ 1 ถึง 13 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่ง pH ที่โปรตีนมีความสามารถละลายได้มาก คือ ตั้งแต่ pH 7 ขึ้นไป จึงเลือกที่ pH 7 9 และ 11 ในการทดลองการสกัดในขั้นต่อไป และ pH ที่โปรตีนมีความสามารถในการละลายต่ำ คือ pH ในช่วง 3 ถึง 5 จึงเลือก pH ในช่วงนี้ทดลองการตกตะกอนโปรตีนในขั้นต่อไป



รูปที่ 4.5 % protein recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบ ที่ pH 1 ถึง pH 13

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า การแปร pH ตั้งแต่ pH 1 ถึง pH 13 มีผลต่อค่า % protein recovery ของการละลายโปรตีนจากใบยาสูบ ($p \leq 0.05$) โดยตัวอย่างที่มี pH 4 จะมี % protein recovery ต่ำสุด และ pH ตั้งแต่ pH 7 ขึ้นไปจะมีผลต่อค่า % protein recovery โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น นั่นคือ โปรตีนละลายอยู่ในสารสกัดมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะใช้ทั้ง 2 ช่วงนี้ สำหรับศึกษาในขั้นต่อไป

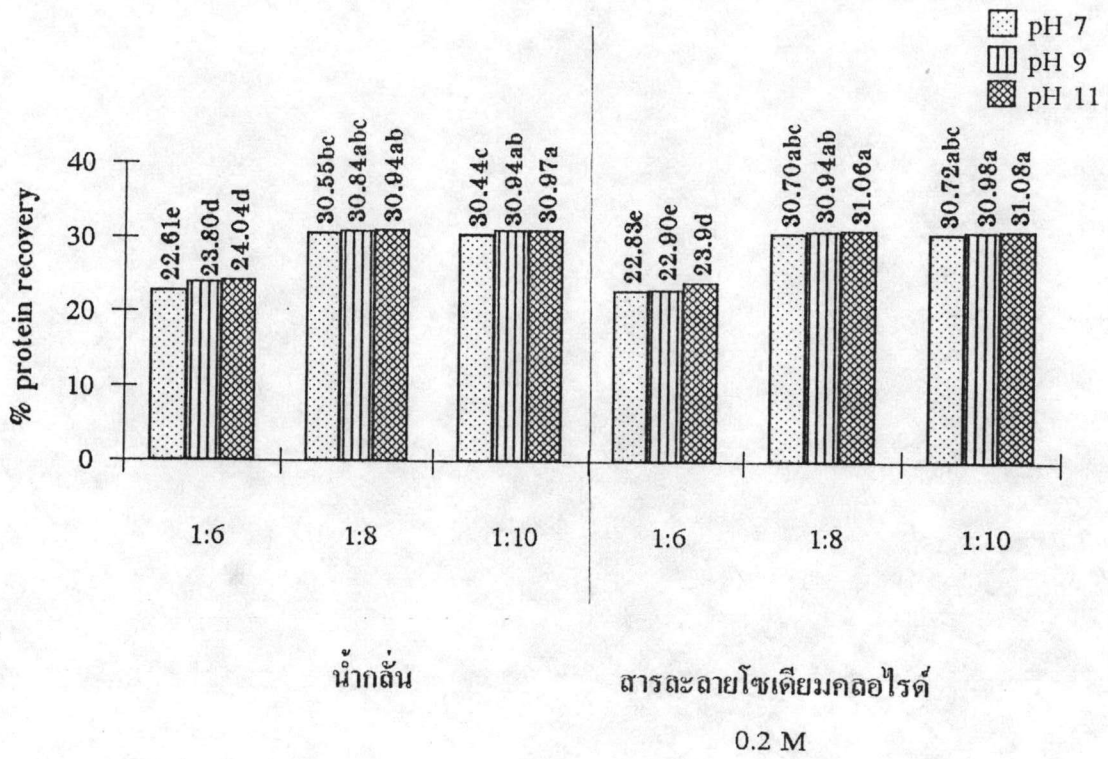
4.2.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโปรตีนจากใบยาสูบ

ภาวะที่ศึกษาได้แก่การใช้ชนิดของสารสกัด คือ น้ำกลั่นและสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.2 M อัตราส่วนระหว่างใบยาสูบต่อสารสกัด ได้แก่ 1:6 1:8 และ 1:10 และค่า pH ที่ใช้ในการสกัด คือ 7 9 และ 11 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ผลดังตารางที่ 4.8 และ รูปที่ 4.6

ตารางที่ 4.8 % protein recovery ของใบยาสูบที่สกัดที่ภาวะการสกัดต่างๆ

ชนิดสารสกัด	อัตราส่วนใบยาสูบ:สารสกัด	pH	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน % protein recovery
น้ำกลั่น	1:6	7	$22.61^{e} \pm 0.34$
		9	$23.80^{d} \pm 0.00$
		11	$24.04^{d} \pm 0.34$
	1:8	7	$30.55^{bc} \pm 0.04$
		9	$30.84^{ab} \pm 0.00$
		11	$30.94^{ab} \pm 0.00$
	1:10	7	$30.44^{c} \pm 0.03$
		9	$30.94^{ab} \pm 0.00$
		11	$30.97^{a} \pm 0.03$
สารละลายโซเดียม	1:6	7	$22.83^{e} \pm 0.17$
คลอไรด์ 0.2 M		9	$22.90^{e} \pm 0.27$
		11	$23.90^{d} \pm 0.00$
	1:8	7	$30.70^{abc} \pm 0.34$
		9	$30.94^{ab} \pm 0.00$
		11	$31.06^{a} \pm 0.17$
	1:10	7	$30.72^{abc} \pm 0.17$
		9	$30.98^{a} \pm 0.00$
		11	$31.08^{a} \pm 0.07$

a,b,...ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.6 % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารสกัด คือ น้ำกลั่น และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.2 M และอัตราส่วนระหว่างใบยาสูบต่อสารสกัด 1:6 1:8 และ 1:10 ร่วมกับ pH 7 9 และ 11

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ชนิดของสารสกัด อัตราส่วนระหว่างสารสกัดต่อใบยาสูบและค่า pH ที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากใบยาสูบที่ระดับต่างๆ มีผลต่อปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ พบว่าอิทธิพลร่วมของทั้งชนิดของสารสกัดอัตราส่วนและค่า pH มีผลต่อปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งภาวะที่เหมาะสมได้แก่ ใช้น้ำกลั่นเป็นสารสกัด อัตราส่วน 1:8 และ pH ที่ใช้คือ 9 ซึ่งจะใช้เตรียมตัวอย่างสำหรับทดลองในขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของ % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบที่สกัดได้ที่ภาวะ ชนิดของสารสกัด คือ น้ำกลั่น และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.2 M อัตราส่วนใบยาสูบต่อสารสกัด 1:6 1:8 และ 1:10 pH 7 9 และ 11

SOV	df	MS
ชนิดของสารสกัด (A)	1	0.131
อัตราส่วนต่อสารสกัด (B)	2	226.402*
AB	2	0.058
pH (C)	2	1.558*
AC	2	0.020
BC	4	0.244*
ABC	4	0.186*
error	18	0.030

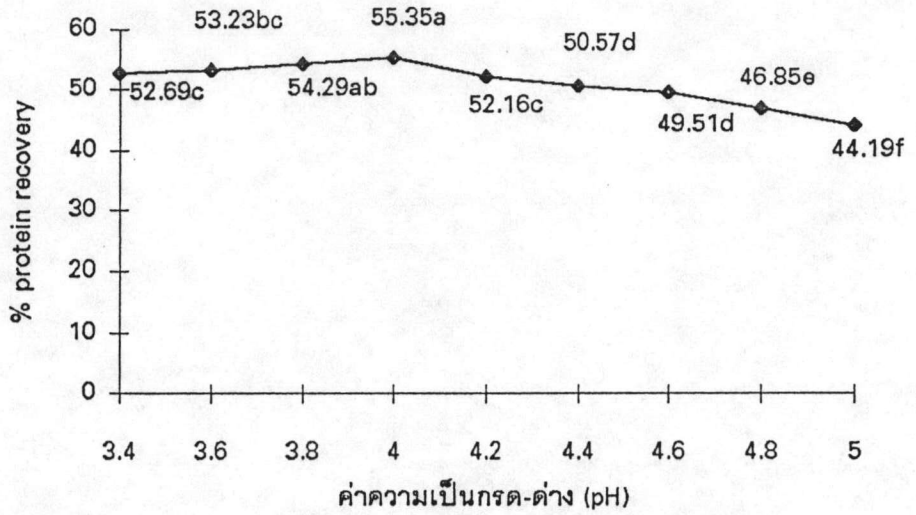
* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

4.3 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการตกตะกอนโปรตีนจากใบยาสูบ

การตกตะกอนโปรตีน สามารถตกตะกอนได้โดยใช้ pH หรือความร้อน หรือใช้ pH ร่วมกับความร้อน ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ บุญธิดา โฆษิตทรัพย์ (2534)

4.3.1 ศึกษาภาวะการตกตะกอนโปรตีนจากใบยาสูบด้วยการปรับ pH

หลังจากสกัดโปรตีนจากใบยาสูบตามสภาวะที่คัดเลือกจากข้อ 4.2.2 โดยใช้น้ำกลั่น อัตราส่วนใบยาสูบต่อสารสกัดเป็น 1 : 8 ที่ pH 9 แล้วได้ศึกษาการตกตะกอนโปรตีนที่ pH 3.4 3.6 3.8 4.0 4.2 4.4 4.6 4.8 และ 5 โดยปรับ pH สารละลายด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 M พบว่าการตกตะกอนที่ pH ต่างกันจะได้ % protein recovery แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบที่ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน คือ 3.4 ถึง 5.0

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

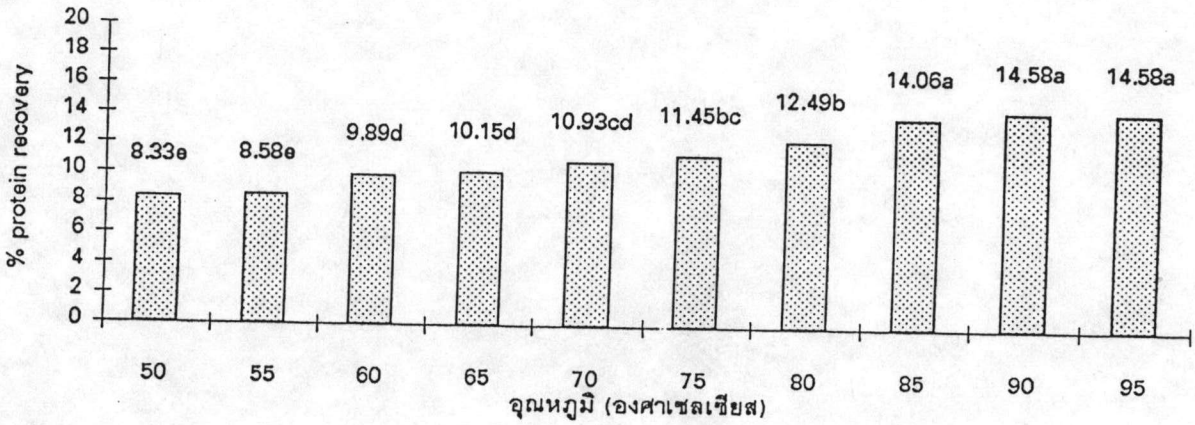
จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ค่า pH ในช่วงเป็นกรด คือ 3.4 3.6 3.8 4.0 4.2 4.4 4.6 4.8 และ 5.0 มีผลต่อปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งภาวะเหมาะสมในการตกตะกอนด้วยการปรับ pH คือ การปรับเป็น pH 4.0 กล่าวคือการตกตะกอนที่ pH 4 จะได้ % protein recovery สูงที่สุด 55.35 % โปรตีนตกตะกอนได้มากที่สุด รองลงมาคือ 3.8 3.6 3.4 4.2 4.4 4.6 4.8 และ 5 ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือก pH 3.6 3.8 4.0 และ 4.2 เพื่อใช้ศึกษาในขั้นต่อไป .

4.3.2 ศึกษาภาวะการตกตะกอนโปรตีนจากใบยาสูบด้วยความร้อน

การตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนมีปัจจัยที่สำคัญ คือ อุณหภูมิที่ใช้ตกตะกอน และเวลาที่ใช้ตกตะกอนด้วยความร้อน ซึ่งดัดแปลงตามวิธีของ บุญธิดา โมษิตทรัพย์ (2534)

4.3.2.1 <u>ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนจากใบยาสูบด้วยความร้อน</u>

หลังจากสกัดโปรตีนจากใบยาสูบตามภาวะที่คัดเลือกจากข้อ 4.2.2 โดยใช้น้ำกลั่นอัตราส่วนใบยาสูบต่อสารสกัดเป็น 1 : 8 ที่ pH 9 แล้วได้ศึกษาการตกตะกอนโปรตีนโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 55 60 65 70 75 80 85 90 และ 95 °C นาน 30 นาที ผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณโปรตีนแสดงดังรูปที่ 4.8



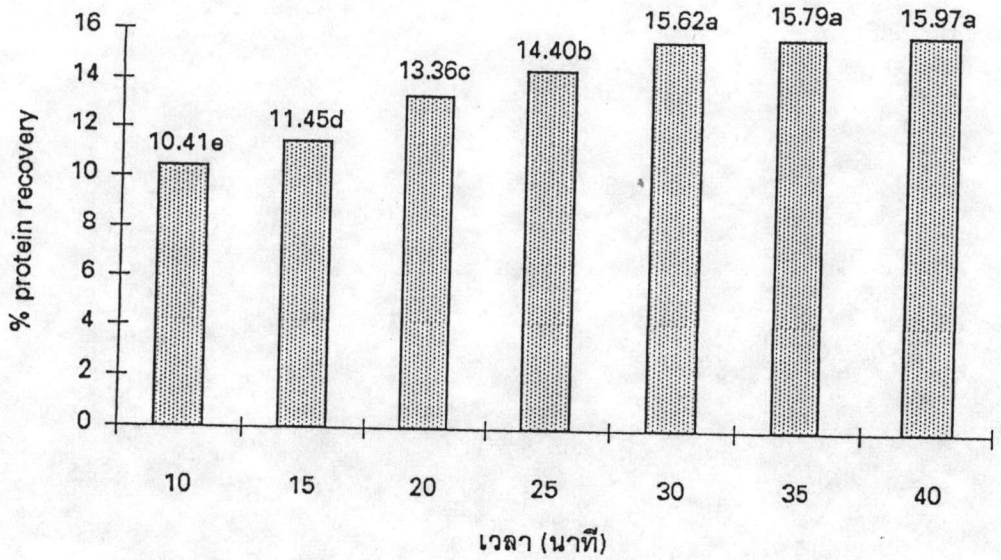
รูปที่ 4.8 % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบเมื่อให้ความร้อนในการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 50 ถึง 95 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า อุณหภูมิมีผลต่อ % protien recovery อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือการตกตะกอนด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 90 และ 95 °C มี % protien recovery สูงที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับ 85 °C และมีค่าใกล้เคียงกับอุณหภูมิ 75 และ 80 °C ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิ 75 80 85 และ 90 °C เพื่อใช้ศึกษาในขั้นต่อไป

4.3.2.2 <u>ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนจากใบยาสูบด้วยความร้อน</u>

เวลาที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีนมีผลต่อปริมาณโปรตีน ดังนั้นจึงศึกษาเวลาที่เหมาะสมโดยดัดแปลงวิธีการตกตะกอนตามวิธีของ บุญธิดา โฆษิตทรัพย์ (2534) เช่นเดียวกับข้อ 4.3.2.2 โดยศึกษาเวลาตั้งแต่ 10 15 20 30 35 40 นาที โดยใช้อุณหภูมิ 85 °C ผลของเวลาที่มีผลต่อปริมาณโปรตีน ดังแสดงในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบที่เวลา 10 ถึง 40 นาที เมื่อให้ความร้อนในการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส

a,b,c,... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าเวลาที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีนมีผลต่อปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งเวลาที่มีโปรตีนละลายอยู่น้อยที่สุดคือที่เวลา 40 นาที แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับเวลา 30 และ 35 นาที ดังนั้นจึงเลือกเวลา 30 นาที เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

4.3.3 ศึกษาภาวะการตกตะกอนโปรตีนจากใบยาสูบด้วยการปรับ pH ร่วมกับความร้อน

จากการศึกษาในข้อ 4.3.1 และ 4.3.2 ที่ผ่านมาพบว่าทั้ง pH และอุณหภูมิ ต่างมีผลต่อปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ ดังนั้นภาวะการตกตะกอนจึงควรศึกษา pH ร่วมกับความร้อน โดยดัดแปลงวิธีการตกตะกอนโปรตีนจาก บุญธิดา โฆษิตทรัพย์ (2534) pH ที่ศึกษาคือ ตั้งแต่ 3.6 3.8 4.0 4.2 และ ไม่ปรับ (9) ร่วมกับการใช้อุณหภูมิ 30 70 75 80 85 90 °C เป็นเวลา 30 นาที และเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของ % protein recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบที่ตกตะกอนด้วยการปรับ pH ร่วมกับความร้อนดังตารางที่ 4.11 พบว่าการปรับ pH และความร้อนมีอิทธิพลร่วมกันส่งผลต่อปริมาณโปรตีนที่ตกตะกอนได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบที่ตกตะกอนด้วย pH ร่วมกับความร้อนที่ภาวะต่างๆ

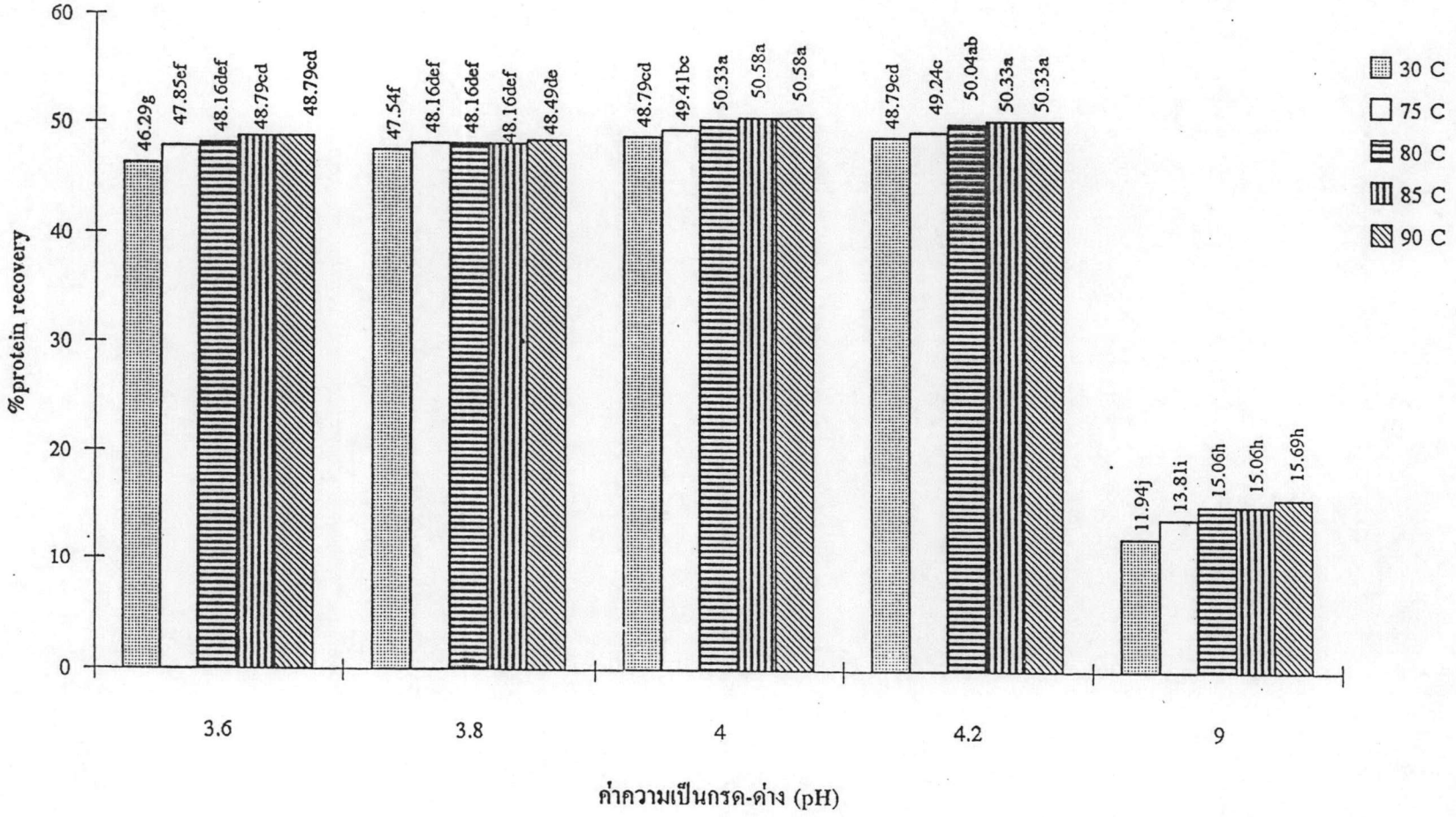
pH	อุณหภูมิ °C	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน % protien recovery
3.6	30	$46.29^{g} \pm 0.07$
	75	$47.85^{ef} \pm 0.54$
	80	$48.16^{def} \pm 0.21$
	85	$48.79^{cd} \pm 0.00$
	90	$48.79^{cd} \pm 0.00$
3.8	30	$47.54^{f} \pm 0.00$
	75	$48.16^{def} \pm 0.33$
	80	$48.16^{def} \pm 0.33$
	85	$48.16^{def} \pm 0.33$
	90	$48.49^{de} \pm 0.14$
4.0	30	$48.79^{cd} \pm 0.00$
	75	$49.41^{bc} \pm 0.24$
	80	$50.33^{a} \pm 0.33$
	85	$50.58^{a} \pm 0.35$
	90	$50.58^{a} \pm 0.35$
4.2	30	$48.79^{cd} \pm 0.00$
	75	$49.24^{c} \pm 0.00$
	80	$50.04^{ab} \pm 0.10$
	85	$50.33^{a} \pm 0.33$
	90	$50.33^{a} \pm 0.33$
9	30	$11.94^{j} \pm 0.18$
	75	$13.81^{i} \pm 0.88$
	80	$15.06^{h} \pm 0.00$
	85	$15.06^{h} \pm 0.00$
	90	$15.69^{h} \pm 0.61$

a,b,...ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของ % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบที่ตกตะกอนด้วย pH ร่วมกับความร้อนที่ภาวะต่างๆ

SOV	df	MS
pH (A)	4	2406.420*
อุณหภูมิ (B)	4	7.320*
AB	16	0.434*
error	25	0.100

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.10 % protein recovery ของภาวะที่ใช้ในการตกตะกอนด้วย pH 3.6 3.8 4 4.2 และ 9 (ไม่ปรับ) ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 30 (ไม่ปรับ) 75 80 85 และ 90 °C

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า อิทธิพลร่วมระหว่าง pH กับความร้อนมีผลต่อ % protien recovery ของการตกตะกอนโปรตีนจากใบยาสูบ ($p \leq 0.05$) ที่ pH 4.0 และร่วมกับอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส หรือ 90 องศาเซลเซียส ให้ % protien recovery สูงที่สุด (ตกตะกอนได้มากที่สุด) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับการใช้ pH 4.0 ร่วมกับอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า ภาวะที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีนจากสารละลายโปรตีนจากใบยาสูบ คือใช้ pH 4.0 ร่วมกับความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

4.4 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบที่ผลิตตามภาวะดีที่สุดที่สรุปได้ สมบัติที่วิเคราะห์ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า และนิโคติน ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบที่ผลิตได้

องค์ประกอบทางเคมี	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (% โดยน้ำหนัก)
ความชื้น	5.26 ± 0.02
โปรตีน*	51.81 ± 0.18
ไขมัน*	11.47 ± 0.05
เส้นใย*	0.14 ± 0.02
เถ้า*	5.02 ± 0.03
คาร์โบไฮเดรต*	31.56 ± 0.03
นิโคติน*	ND**
เกลือ (โซเดียมคลอไรด์) *	0.22 ± 0.00

* เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

** ND = not detected, ตรวจไม่พบ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบจะเห็นได้ว่ามีปริมาณสูงถึง 51.81 % ไม่มีสารนิโคตินอยู่เลย

ในการศึกษาวิธีการสกัด การตกตะกอนเพื่อผลิตเป็นโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบตามขั้นตอนต่างๆ นั้นมีปริมาณโปรตีนและเปอร์เซนต์ผลผลิตของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบในแต่ละขั้นตอนดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ปริมาณโปรตีนในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ (% โดยน้ำหนักแห้ง)

ผลิตภัณฑ์	ปริมาณโปรตีน (%)
ใบยาสูบ	31.25
สารละลายโปรตีน (green juice)	42.13
กาก	30.11
โปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ	51.81
สารละลายส่วนใส(หลังตกตะกอน)	10.12

นอกจากนี้จากการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบในงานวิจัยนี้ใช้วัตถุดิบทั้งหมดดังนี้

ใบยาสูบทั้งหมด	31,300	กรัม
เป็นส่วนก้าน	19,700	กรัม
เป็นส่วนใบสด	11,600	กรัม
ได้โปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ	590	กรัม

สรุป ใบยาสูบแห้ง 100 กรัม จะได้ปริมาณโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ 5.35 กรัม

4.5 ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ

คุณค่าทางโภชนาการจะกล่าวถึงปริมาณกรดอะมิโนชนิดจำเป็นเป็นสำคัญ ซึ่งโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบมีปริมาณกรดอะมิโนชนิดจำเป็นและไม่จำเป็น และค่า amino acid score (AA score) ดังตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.14 กรดอะมิโนของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานที่ FAO กำหนด (g. amino acid/100 g. protein)

Amino acid composition	FAO recomendation	Tobacco leaf protein concentrate	AA score
-Essential amino acid			
Threonine	2.8	3.36	120
Valine	4.2	0.35	8
Methionine	2.2	0.93	42
Isoleucine	4.2	2.76	66
Leucine	4.8	6.29	131
Tyrosine	1.4	3.17	226
Phenylalanine	2.8	4.13	148
Lysine	4.2	4.03	96
Tryptophan	1.4	ND*	
-Non-essential amino acid			
Aspartic acid		6.85	
Serine		3.36	
Glutamic acid		8.78	
Proline		6.14	
Glycine		3.80	
Alanine		4.27	
Cystine		0.33	
Histidine		1.47	
Arginine		10.00	

* ND = not detected, ตรวจไม่พบ

4.6 ศึกษาสมบัติการใช้งานของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ

วิเคราะห์สมบัติการใช้งานของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ สมบัติที่ศึกษาได้แก่ ความหนาแน่น ความสามารถในการดูดซับน้ำและน้ำมัน ความสามารถในการละลาย การเกิดอิมัลชัน ความสามารถในการเกิดโฟม ผลการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

4.6.1 ความหนาแน่น การดูดซับน้ำและน้ำมัน

ความหนาแน่น การดูดซับน้ำและน้ำมันของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ แสดงในตารางที่ 4.15 และมีวิธีการดังต่อไปนี้

ความหนาแน่น นำผงโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบมาหาความหนาแน่นโดยใช้ผงโปรตีนลงในกระบอกตวงแล้วเคาะกระบอกตวงกับพื้นโต๊ะเบาๆ เพื่อให้ผงโปรตีนอัดตัวกันแน่นวัดปริมาตรแล้วคำนวณเป็นกรัมต่อมิลลิลิตร

การดูดซับน้ำ นำผงโปรตีนที่ทราบน้ำหนักแน่นอนมาละลายในน้ำกลั่นที่ทราบปริมาตรแน่นอนแล้วนำไปเหวี่ยงแยก วัดปริมาตรน้ำที่ไม่ถูกดูดซับ แล้วคำนวณเป็นปริมาตรน้ำที่ถูกดูดซับมีหน่วยเป็นมิลลิลิตรของน้ำต่อกรัมโปรตีน

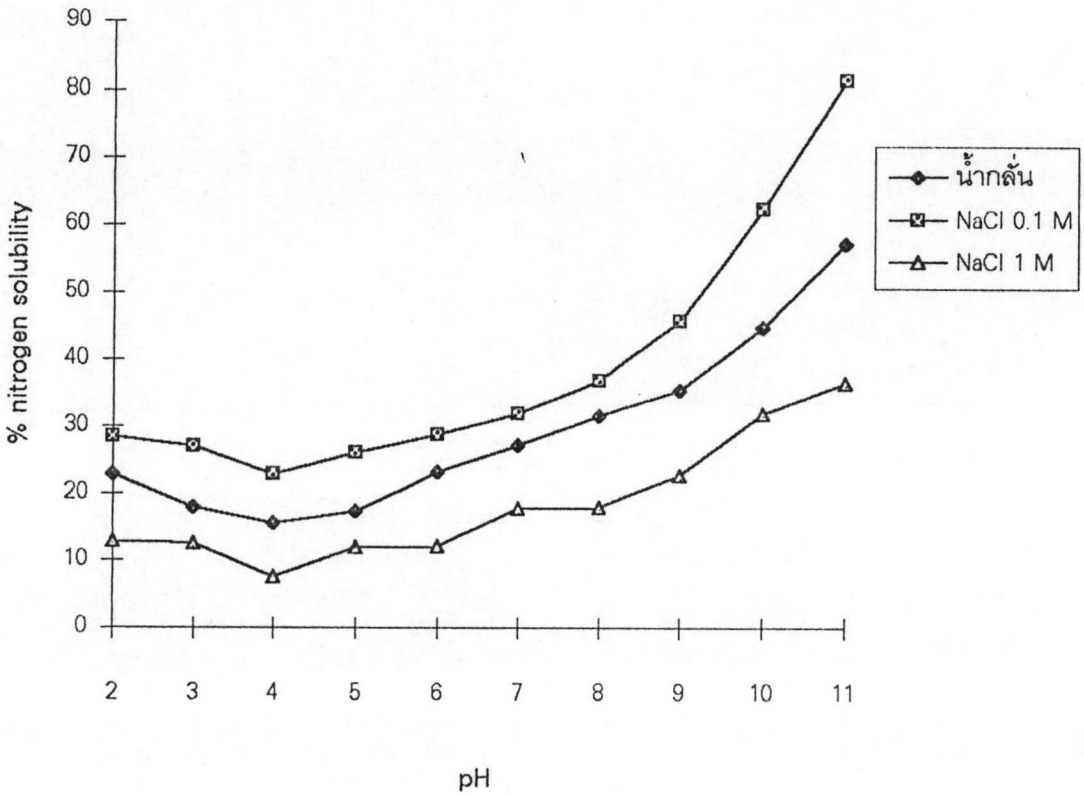
การดูดซับน้ำมัน นำผงโปรตีนที่ทราบน้ำหนักแน่นอนเติมน้ำมันเพื่อให้โปรตีนดูดซับน้ำมันแล้วจึงนำไปเหวี่ยงแยก วัดปริมาตรของน้ำมันที่ไม่ถูกดูดซับ แล้วนำมาคำนวณเป็นน้ำมันที่ถูกดูดซับ มีหน่วยเป็นมิลลิลิตรของน้ำมันต่อกรัมโปรตีน

ตารางที่ 4.15 ความหนาแน่น การดูดซับน้ำและน้ำมันของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ

สมบัติการใช้งาน	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ความหนาแน่น (กรัมต่อมิลลิลิตร)	0.47 ± 0.01
การดูดซับน้ำ (มิลลิลิตรน้ำต่อกรัมโปรตีน)	2.29 ± 0.07
การดูดซับน้ำมัน (มิลลิลิตรน้ำมันต่อกรัมโปรตีน)	4.48 ± 0.10

4.6.2 การละลาย

ความสามารถในการละลายของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ นำผงโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบมาละลายในน้ำกลั่นหรือสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1และ1.0 N ปรับ pH ที่ศึกษาตั้งแต่ 2 ถึง 11 นำไปเหวี่ยงแยกแล้วนำส่วนใสไปหาปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธี micro-Kjeldahl คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ละลายได้ ผลแสดงรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 ความสามารถในการละลายของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบที่ pH ของสารละลายต่างๆ

จากผลการทดลองจะพบว่าโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบจะละลายได้ดีที่ pH 7 ขึ้นไปและจะละลายได้ดีที่สุดในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 และ 1.0 N ตามลำดับแต่จะละลายได้น้อยที่สุดในน้ำกลั่น

4.6.3 การเกิดอิมัลชั่น

การเกิดอิมัลชันของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบสามารถวัดได้โดย ชั่งผงโปรตีนที่ทราบน้ำหนักแน่นอนนำมาละลายในสารละลายคือ น้ำกลั่น สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 M และสารละลายน้ำตาลความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ปั่นในเครื่องปั่นละเอียดขนาดเล็กด้วยความเร็วต่ำ เพื่อให้โปรตีนละลายหลังจากนั้นเติมน้ำมันแล้วปั่นด้วยความเร็วสูง เทส่วนผสมที่ได้ลงในหลอดเหวี่ยงแยกแล้วนำไปเหวี่ยงแยก วัดความสูงของชั้นอิมัลชันและความสูงของของเหลวทั้งหมด คำนวณเป็นค่า EA (emulsification activity) ส่วน ES (emulsification stability) วิธีการทดลองเช่นเดียวกับ EA แต่ก่อนที่จะนำไปเหวี่ยงแยกจะต้องนำไปให้ความร้อน 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วจึงนำมาคำนวณ ผลดังแสดงในตารางที่ 4.16 และ 4.17

ตารางที่ 4.16 การเกิดอิมัลชั่นของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ emulsification activity (%)

สารละลาย	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
น้ำกลั่น	$12.79^{b} \pm 0.05$
สารละลาย NaCl 1 M	$12.54^{b} \pm 0.77$
สารละลายน้ำตาล 50 %	$19.37^{a} \pm 0.45$

a,b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.17 การเกิดอิมัลชั่นของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ emulsification stability (%)

สารละลาย	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน^{ns}
น้ำกลั่น	15.01 ± 0.53
สารละลาย NaCl 1 M	14.40 ± 0.58
สารละลายน้ำตาล 50 %	14.73 ± 0.27

ns ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากผลการทดลองจะพบว่า สำหรับค่า EA ในสารละลายน้ำตาล 50 เปอร์เซ็นต์จะมีค่า EA มากกว่าการน้ำกลั่นและสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 M แต่สำหรับค่า ES จะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ระหว่างสารละลายที่ใช้ตรวจวัดการเกิดอิมัลชัน

4.6.4 การเกิดโฟม

การเกิดโฟมของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ ศึกษา foaming activity และ foam stability โดยนำผงโปรตีนมาละลายในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ ปรับ pH ตั้งแต่ 3-9 แล้วตีด้วยเครื่องตีผสมเทใส่กระบอกตวงแล้ววัดปริมาตร คำนวณเป็นค่า foaming activity และวัดปริมาตรที่เหลือที่เวลาต่าง ๆ คำนวณเป็นค่า foam stability ดังแสดงในตารางที่ 4.18

ตารางที่ 4.18 ความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ

pH	foaming activity	foam stability (%)			
	(%)	15	30	60	90 (นาที)
3	35	5	-	-	-
4	40	-	-	-	-
5	30	2	-	-	-
6	75	50	20	5	-
7	100	70	65	45	25
8	125	85	70	55	40
9	140	90	80	65	45
10	135	95	80	60	40

จากผลการทดลองจะพบว่าค่ากำลังการเกิดโฟม (foaming activity) ของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบจะมีค่ามากยิ่งขึ้นเมื่อ pH สูงแต่ความเสถียรของโฟม (foam stability) ต่ำ