

การสกัดและสมบัติทางโภชนาการและการใช้งานของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ

นางสาว นิสานารถ กระแสร์ชด

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-639-082-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**EXTRACTION AND NUTRITIONAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES
OF TOBACCO LEAF PROTEIN CONCENTRATE**

Miss Nisanarth Krasaechol

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology**

Department of Food Technology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1997

นิสานารถ กระแสร์ชล : การสกัดและสมบัติทางโภชนาการและการใช้งานของโปรตีนเข้มข้นจาก
ใบยาสูบ (Extraction and Nutritional and Functional Properties of Tobacco Leaf Protein
Concentrate) อ.ที่ปรึกษา : อ. ดร. รมณี สงวนดีกุล, 141 หน้า. ISBN 974-639-082-1.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการปลูกใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) เพื่อผลิต
โปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ รวมทั้งศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากใบยาสูบ การตกตะกอนสารละลายโปรตีน
จากใบยาสูบและศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการและสมบัติการใช้งานของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ

ในขั้นต้นศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการปลูกใบยาสูบเพื่อใช้ผลิตโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ ปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ พันธุ์ 2 พันธุ์ คือ เวอร์รี่เนีย (สายพันธุ์ K326) และ เบอร์เลย์ (Ky14) อายุการเก็บเกี่ยว 5 ระดับ คือ 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 3 ระดับคือ 0 10 และ 20 กิโลกรัม/ไร่ และระยะปลูก 2 ระยะคือ 10x25 และ 10x50 ตารางเซนติเมตร พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการปลูกใบยาสูบเพื่อใช้ผลิตโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบคือ พันธุ์เบอร์เลย์ อายุ การเก็บเกี่ยว 4 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 20 กิโลกรัม/ไร่ และระยะปลูก 10x25 ตารางเซนติเมตร ซึ่งใบยาสูบที่ปลูกที่ ภาวะนี้จะมียอดประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน 37.30% ไขมัน 3.63% เส้นใยอาหาร 8.88% เถ้า 23.41% คาร์โบไฮเดรต 26.78% และมีปริมาณนิโคติน 1.20% โดยน้ำหนักแห้ง ต่อมาศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากใบยาสูบ โดย ปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ชนิดของสารสกัด 2 ชนิด คือ น้ำกลั่นและสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.2 M อัตราส่วน ของใบยาสูบต่อสารสกัด คือ 1:6 1:8 และ 1:10 และ pH ที่ใช้สกัด คือ pH 7 9 และ 11 พิจารณาร้อยละปริมาณโปรตีนใน สารละลายโปรตีนที่สกัดได้ต่อปริมาณโปรตีนในใบยาสูบเป็นเกณฑ์ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าภาวะที่เหมาะสมในการสกัด โปรตีนจากใบยาสูบคือ ใช้น้ำกลั่น อัตราส่วน 1:8 pH 9 หลังจากนั้นศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอนสารละลาย โปรตีนจากใบยาสูบโดยปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ pH 5 ระดับ คือ 3.6 3.8 4.0 4.2 และไม่ปรับ pH (pH 9) และ อุณหภูมิ คือ ไม่ ปรับอุณหภูมิ (อุณหภูมิ 30 °C) 75 80 85 และ 90 °C จากผลการทดลองพบว่าภาวะที่เหมาะสมในการตกตะกอนสารละลาย โปรตีนจากใบยาสูบ คือ pH 4.0 อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นผลิตโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบโดยนำตะกอน โปรตีนมาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะได้โปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบที่มีปริมาณโปรตีน 51.81 % โดยน้ำหนักแห้งและไม่มี นิโคตินเหลืออยู่เลย เมื่อวิเคราะห์กรดอะมิโนในโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบพบว่ามีกรดอะมิโนชนิดจำเป็น คือ threonine leucine tyrosine และ phenylalanine สูงกว่าค่าที่ FAO กำหนด และยังมีกรดอะมิโนชนิดไม่จำเป็นอยู่ในปริมาณสูง นอก จากนี้เมื่อศึกษาสมบัติการใช้งานของโปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบ พบว่ามีความหนาแน่น 0.47 g/ml การดูดซับน้ำ 2.28 ml. water/g. การดูดซับน้ำมัน 4.48 ml.oil/g. โปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบละลายได้ดีเมื่อ pH ตั้งแต่ 7 ขึ้นไปและละลายในสาร ละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.1 M ได้ดีกว่าน้ำกลั่นและสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1 M สามารถเกิดอิมัลชันได้ดีในสาร ละลายขายน้ำตาลแต่ความเสถียรของอิมัลชันต่ำ และมีความสามารถในการเกิดโฟมได้ดีใน pH ตั้งแต่ 7 ขึ้นไปแต่มีความ เสถียรของโฟมต่ำ

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
ปีการศึกษา 2540

ลายมือชื่อนิสิต *วิภาวดี*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *Dr. R. R. R.*
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C727237 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD: *Nicotiana tabacum* / TOBACCO LEAF / LEAF PROTEIN CONCENTRATE / EXTRACTION / NUTRITIONAL / FUNCTIONAL PROPERTY

NISANATRH KRASAECHOL : EXTRACTION AND NUTRITIONAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF TOBACCO LEAF PROTEIN CONCENTRATE. THESIS ADVISOR : ROMANEE SANGUANDEEKUL, Ph.D. 141 pp. ISBN 974-639-082-1.

The objectives of this research were to study suitable conditions to grow tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) in order to produce tobacco leaf protein concentrate; suitable condition to extract protein from tobacco leaf, suitable condition to precipitate protein from the extracted solution, chemical compositions, nutritional and functional properties of tobacco leaf protein concentrate.

Factors concerning growing of tobacco were varieties (Verginia, K326 and Burley, Ky14), harvest time (2, 4, 6, 8, and 10 weeks old), the amount of nitrogen fertilizer (0, 10 and 20 kg./Rai) and plantation space (10x25 and 10x50 cm²). Four weeks old Burley planted in 20 kg./Rai nitrogen fertilizer and 10x25 cm² plantation space were the best condition for growing tobacco to produce protein concentrate. The chemical composition of the tobacco leaf consists of 37.30% protein, 3.63% fat, 8.88% fiber, 23.41% ash, 26.78% carbohydrate and 1.20% nicotine by dry weight. The optimum condition to extract protein from tobacco leaf was also studied. The factors concerned were type of extractant (distilled water and 0.2 M NaCl solution), ratio of tobacco leaf to extractant (1:6, 1:8 and 1:10) and pH of the extraction system (7, 9 and 11). The result showed that the suitable condition was using distilled water with the ratio of tobacco leaf to extractant of 1:8 and extracted at pH 9. Condition for protein precipitation from the extracted fluid was investigated. Levels of pH (3.6, 3.8, 4.0, 4.2 and unmodified pH which was pH 9) and temperature (room temperature (30 °C), 75, 80, 85 and 90 °C) were used. The result demonstrated that the best condition for protein precipitation of tobacco leaf protein was precipitation by the combination of adjusting pH to 4.0 and heat at the temperature of 80 °C for 30 minute. Precipitation of tobacco leaf protein without nicotine was freeze dried.

The analysis of amino acid in tobacco leaf protein concentrate showed that the amount of threonine, leucine, tyrosine and phenylalanine which were essential amino acid was higher than FAO recommended value and non-essential amino acids were also presented at high level. Beside that, the functional properties of tobacco leaf protein concentrate were 0.47 g/ml. density, 2.28 ml.water/g. water absorption and 4.48 ml.oil/g. absorption. At alkali pH (pH > 7), the solubility of concentrated protein in 0.1 M NaCl was better than in distilled water and 1 M NaCl. Emulsion activity of concentrated protein solution was positively affected when use sugar solution, however, it was unstable. It also showed that concentrated protein solution had good foaming activity but unstable at alkali pH.

ภาควิชา..... เทคโนโลยีทางอาหาร.....

สาขาวิชา..... เทคโนโลยีทางอาหาร.....

ปีการศึกษา..... 2540.....

ลายมือชื่อนิสิต..... *นิสิต*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *ร.ร. อรรถ*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร. รมณี สงวนศักดิ์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ในความเมตตาและกรุณาในการให้คำปรึกษาแนะนำข้อคิดเห็นต่างๆ ของงานวิจัยอย่างยิ่ง ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วรณา ตูลยธัญ ในฐานะประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุวิมล กิรติพิบูล และคุณวิมลมาศ พวงนาค รองหัวหน้าฝ่ายวิจัยและพัฒนา โรงงานยาสูบ ที่ได้กรุณาสละเวลาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ คุณมุกดา จันทราพรชัย หัวหน้าฝ่ายวิจัยและพัฒนา คุณพูนศรี จันทนู คุณเสาวณีย์ สิริตนรักษ์ คุณวิฑูรย์ ศิริวิวัฒน์ไพฑูรย์ คุณวไลภรณ์ ธนาเพิ่มสุข คุณสมมุง ปัสสาโก คุณอังคณา ลีเชวงวงศ์ คุณอมฤตสันต์ สุระพิพิธ คุณสมยศ ทัดเทียม คุณน้ำอ้อย จงอุคมศีล คุณนิมิตพิสุทธิ์ ณรงค์ชวนะ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของฝ่ายวิจัยและพัฒนา รวมทั้งเจ้าหน้าที่โรงงานยาสูบทุกท่านที่ให้ความเมตตาให้ข้อมูล คำแนะนำและอนุเคราะห์วัตถุคิบบและเครื่องมือวิจัยต่างๆ

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ เป็นอย่างดี

ท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ พี่สาว พี่ชายและพี่ๆ ทุกคนซึ่งให้การสนับสนุนทั้งกำลังทรัพย์และกำลังใจ ขอขอบคุณน้องชายและหลานๆ ที่เป็นขวัญและกำลังใจ และเหนือสิ่งอื่นใด ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ ผู้เป็นทุกสิ่งทุกอย่างและมีความหมายต่อผู้วิจัยมากที่สุดในชีวิต

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ญ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	3
3 การทดลอง	39
4. ผลการทดลอง	56
5 วิเคราะห์ผลการทดลอง	87
6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	102
รายการอ้างอิง	104
ภาคผนวก	109
ภาคผนวก ก	110
ภาคผนวก ข	120
ภาคผนวก ค	126
ภาคผนวก ง	135
ประวัติผู้เขียน	141

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณกรดอะมิโนชนิดจำเป็นที่พบในโปรตีนเข้มข้นจากใบพืชและ ในแหล่งโปรตีนต่างๆ	32
2.2 สมบัติการใช้งานของโปรตีน	33
4.1 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบที่ปลูกด้วยภาวะต่างๆ ที่ศึกษา ของการปลูกครั้งที่ 1 (พ.ย. 39 - ม.ค. 40)	58
4.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ เมื่อปลูกที่สภาวะ การปลูก พันธุ์ยาสูบ 2 พันธุ์ คือ เวอร์ยีนีเยและเบอร์เลย์ 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 1 (พ.ย. 39 - ม.ค. 40)	59
4.3 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบที่ปลูกด้วยภาวะต่างๆ ที่ศึกษา ของการปลูกครั้งที่ 2 (ส.ค. 40 - ต.ค. 40)	62
4.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ เมื่อปลูกที่สภาวะ การปลูก พันธุ์ยาสูบ 2 พันธุ์ คือ เวอร์ยีนีเยและเบอร์เลย์ อายุการเก็บเกี่ยว 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 0 10 และ 20 กิโลกรัม/ไร่ และ ระยะปลูก 10 x 25 และ 10 x 50 ตารางเซนติเมตร ครั้งที่ 2 (ส.ค. 40 - ต.ค. 40)	63
4.5 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบที่ปลูกด้วยภาวะต่างๆ ที่ศึกษา ของการปลูกครั้งที่ 3 (พ.ย. 40 - ม.ค. 41)	65
4.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ เมื่อปลูกที่สภาวะ การปลูก พันธุ์ยาสูบ 2 พันธุ์ คือ เวอร์ยีนีเยและเบอร์เลย์ 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)	66
4.7 องค์ประกอบทางเคมีของใบยาสูบที่ปลูกตามภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิต โปรตีนเข้มข้นจากใบยาสูบและภาวะที่ใช้ปลูกทั่วไป	68
ตารางที่	หน้า

4.8	% protein recovery ของไบยาสูบที่สกัดที่ภาวะการสกัดต่างๆ	71
4.9	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของ % protien recovery ของโปรตีนจากไบยาสูบที่สกัดได้ที่ภาวะ ชนิดของสารสกัด คือ น้ำกลั่น และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.2 M อัตราส่วนไบยาสูบต่อสารสกัด 1:6 1:8 และ 1:10 pH 7 9 และ 11	73
4.10	% protien recovery ของโปรตีนจากไบยาสูบที่ตกตะกอนด้วย pH ร่วมกับ ความร้อนที่ภาวะต่างๆ	77
4.11	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของ % protien recovery ของโปรตีนจาก ไบยาสูบที่ตกตะกอนด้วย pH ร่วมกับความร้อนที่ภาวะต่างๆ	78
4.12	ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเข้มข้นจากไบยาสูบที่ผลิตได้	80
4.13	ปริมาณโปรตีนในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตโปรตีนเข้มข้น จากไบยาสูบ (% โดยน้ำหนักแห้ง)	81
4.14	กรดอะมิโนของ โปรตีนเข้มข้นจากไบยาสูบเปรียบเทียบกับ ค่ามาตรฐานที่ FAO กำหนด (g. amino acid/100 g. protein)	82
4.15	ความหนาแน่น การดูดซับน้ำและน้ำมันของโปรตีนเข้มข้นจากไบยาสูบ	83
4.16	การเกิดอิมัลชันของ โปรตีนเข้มข้นจาก ไบยาสูบ emulsification activity (%)	84
4.17	การเกิดอิมัลชันของ โปรตีนเข้มข้นจากไบยาสูบ emulsification stability (%)	84
4.18	ความสามารถในการเกิด โฟมของ โปรตีน โปรตีนเข้มข้นจากไบยาสูบ	85

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 สูตรโครงสร้างของนิโคติน	13
2.2 ลักษณะโครงสร้างและองค์ประกอบต่างๆ ในใบพืช	17
2.3 ในโตรเจนที่อยู่ในรูปต่างๆ ในใบพืช	19
3.1 แผนภาพแสดงแปลงปลูกต้นใบยาสูบที่ภาวะการปลูกต่างๆ	44
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	60
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	61
4.3 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ(% โดยน้ำหนักแห้ง)ของการปลูกครั้งที่ 2 (ส.ค. 40-ค.ค. 41) เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างอายุการเก็บเกี่ยว 2 4 6 8 และ 10 สัปดาห์ ร่วมกับ ปริมาณปุ๋ยไนโตรเจน 0 10 และ 20 กิโลกรัม/ไร่	64
4.4 ปริมาณโปรตีนในใบยาสูบ(% โดยน้ำหนักแห้ง)ของการปลูกครั้งที่ 3 (พ.ย. 40-ม.ค. 41) อิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์ คือ พันธุ์เวอร์ซิเนีย และพันธุ์เบอร์เลย์ และปริมาณปุ๋ย ไนโตรเจน 0 10 และ 20 กิโลกรัม/ไร่ กับระยะปลูก 10 x 25 และ 10 x 50 ตารางเซนติเมตร	67
4.5 % protein recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบ ที่ pH 1 ถึง pH 13	69
4.6 % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่าง ชนิดของสารสกัด คือ น้ำกลั่น และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.2 M และอัตราส่วน ระหว่างใบยาสูบต่อสารสกัดที่ 1:6 1:8 และ 1:10 กับ pH 7 9 และ 11	72
4.7 % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบ ที่ pH ที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน คือ 3.4 ถึง 5.0	74
4.8 % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบเมื่อให้ความร้อนในการตกตะกอน ที่อุณหภูมิ 50 ถึง 95 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที	75
4.9 % protien recovery ของโปรตีนจากใบยาสูบที่เวลา 10 ถึง 40 นาที เมื่อให้	

รูปที่	หน้า
4.10 % protein recovery ของภาวะที่ใช้ในการตกตะกอนด้วย pH 3.6 3.8 4.2 และ 9 (ไม่ปรับ) ร่วมกับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 30 (ไม่ปรับ) 75 80 85 และ 90 °C	79
4.11 ความสามารถในการละลายของโปรตีนเข้มข้นจากไบยาซูบที่ pH ของสารละลายต่างๆ	84