



## ศึกษาวิธีการสกัดและสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนพืชในการประยุกต์ใช้ ในผลิตภัณฑ์เลียนแบบเนื้อสัตว์

### Study on Extraction Methods and Physicochemical Properties of Plant-Based Proteins in Application of Meat Imitation Products

ธัญญาภรณ์ ศิริเลิศ, มัทวัน ศรีอินทร์คำ และ ณัฐริกา ศิลาฉาย

Tunyaporn Sirilert, Mattawan Sri-inkum and Nattiga Silalai

ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม ประเทศไทย

Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University, Thailand

Received : 27 January 2023

Revised : 12 March 2023

Accepted : 29 March 2023

#### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย คือ เพื่อตกตะกอนโปรตีนและนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โปรตีนพืชเลียนแบบเนื้อสัตว์ เบื้องต้นมีการศึกษารวมวิธีในการกำจัดกลิ่นถั่วเหลืองที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหาร พบว่า ถั่วที่แช่ด้วย 0.5%  $\text{CaCO}_3$  มีการกำจัดกลิ่นถั่วได้ดีที่สุด และประสิทธิภาพในการตกตะกอนโปรตีนจากถั่วเหลืองด้วย 1% Glucono delta lactone (GDL) ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด 50.04% แต่ให้รสขมตกค้าง รองลงมาคือ 3%  $\text{MgSO}_4 : \text{NaCl}$  (2 : 1) ให้ปริมาณโปรตีน 44.51% ( $p \leq 0.05$ ) โดย  $\text{MgSO}_4 : \text{NaCl}$  (2 : 1) เข้มข้น 3% ถูกคัดเลือกใช้ในการผลิตเนื้อสัตว์จากพืชแบบปริมาณโปรตีนสูง พบว่าสูตร A ที่ใช้โปรตีนพืชของซอเทคแรงต่อเห็ดเข็มทองในอัตราส่วน 70 : 30 ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด 20.61% ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อพัฒนาเนื้อสัมผัสด้วยการใช้กระบวนการร่วม 2 วิธี คือ การแช่เยือกแข็ง (Freezing; AF) และการใช้แรงเฉือน (Shearing; AS) เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมคือเนื้อหมู พบว่า ค่าการเกาะติดของโครงสร้าง (Cohesiveness) ของเนื้อหมูมีค่าน้อยที่สุด ขณะที่เส้นใยโปรตีนพืชจะให้ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) และความสามารถของการเคี้ยว (Chewiness) สูงกว่าเนื้อหมู นอกจากนี้สูตร AS-70:30 ให้ค่าเนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏหลังการดูดกลืนน้ำที่มีลักษณะใกล้เคียงกับเนื้อหมูสุด โดยอัตราการดูดซับน้ำของทุกสิ่งทดลองมีค่ามากขึ้นตามระยะเวลาในการอบแห้งที่นานขึ้น

**คำสำคัญ :** ถั่วเหลือง ; การตกตะกอนโปรตีน ; เนื้อจากพืช ; การคั้นตัว



### Abstract

The objectives of the present study were to precipitate protein from soybeans and apply it to in plant-based meat products. Preliminary studies have been conducted to eliminate the smell of soybeans in order to use them as a protein source in food. It was found that soybean odor elimination with 0.5%  $\text{CaCO}_3$  was the best method of odor removal. The efficiency of soybean protein precipitation with 1% GDL provided the highest protein content (50.04%), but it gave a residual bitter taste, followed by 3%  $\text{MgSO}_4$  : NaCl (2 : 1) providing 44.51% protein content ( $p \leq 0.05$ ). The ratio of  $\text{MgSO}_4$  : NaCl (2 : 1) at a 3% concentration was selected for the production of high protein plant-based meat. It indicated that formula A using a ratio of plant protein of cockle mushroom to Golden needle mushroom of 70:30 had the highest protein content of 20.61% ( $p \leq 0.05$ ). The texture of plant-based meat was developed by two processes, such as freezing (AF) and shearing (AS), and compared with the control sample (pork meat). It was found that the adhesion value (Cohesiveness) of pork meat was the least, while plant-based protein providing flexibility (Springiness) and the ability to chew (Chewiness) was higher than those of pork. In addition, the texture and appearance of the AS-70:30 after rehydration were similar to the fresh pork. The water absorption rate of all experimental data increased with the increasing in drying time.

**Keywords** : soybeans ; protein precipitation ; plant-based meat ; rehydration

## บทนำ

ปัจจุบันอาหารจากพืช (Plant-based food) เช่น ผักและผลไม้ ถั่ว น้ำมันพืชธรรมชาติ และเมล็ดธัญพืช เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารแบบดั้งเดิมในภูมิภาคเมดิเตอร์เรเนียนและเอเชีย ซึ่งอาหารดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับอัตราการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (Cardio vascular disease; CVD) ทำให้เกิดความสนใจในการป้องกันโรค CVD มากขึ้นโดยใช้อาหารจากพืช ซึ่งพบว่าสามารถลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบตันได้มากกว่า 30% (Hu, 2003) ดังนั้นเนื้อจากพืช (Plant-based meat) จึงได้รับความนิยมมากขึ้นจากผู้บริโภคทั้งในเรื่องของสุขภาพและสิ่งแวดล้อม (Soret *et al.*, 2014; Godfray *et al.*, 2018; Marinova and Bogueva, 2019) เนื้อจากพืชจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติบางประการ เช่น รสชาติและเนื้อสัมผัส ที่ใกล้เคียงกับเนื้อสัตว์ ซึ่งถูกผลิตขึ้นเพื่อเลียนแบบผลิตภัณฑ์จากสัตว์ แต่ก็มีความแตกต่างในองค์ประกอบทางเคมีกายภาพระหว่างพืชกับเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะในเรื่องของโปรตีน เช่น ความสามารถในการอุ้มน้ำ การตกตะกอนของโปรตีน การเกิดอิมัลชัน การเกิดเจล การเกิดฟอง เป็นต้น (Chen *et al.*, 2006)

เทคนิคในการผลิตเนื้อจากพืชที่มีคุณลักษณะเหมือนหรือใกล้เคียงเนื้อสัตว์มากที่สุดจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่งเพื่อให้เนื้อจากพืชสามารถทดแทนเนื้อสัตว์จริงได้โดยที่ผู้บริโภคไม่รู้สึกรถึงความแตกต่างและยังเป็นทางเลือกที่ดีต่อสุขภาพมากกว่าเนื้อสัตว์ด้วย โดยทางเทคโนโลยีการอาหารมีกลยุทธ์มุ่งเน้นไปที่การพัฒนาโครงสร้างทางชีวภาพสำหรับการใช้งานที่หลากหลาย เช่น การห่อหุ้มสารสำคัญทางชีวภาพ รวมถึงการป้องกันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Okuro *et al.*, 2015; Aditya *et al.*, 2017) ซึ่งตามหลักการแล้ววัสดุชีวภาพสำหรับการใช้งานด้านอาหารโดยทั่วไป ควรได้รับการยอมรับว่าปลอดภัย (Generally Recognized as Safe; GRAS) ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และไม่ก่อให้เกิดอันตรายหรือมีความเป็นพิษ นอกจากนี้ในการผลิตโครงสร้างชีวภาพสามารถใช้ความหลากหลายในการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของวัตถุดิบร่วมด้วย เช่น การลดขนาด การเกิดเจล และการรวมตัว (Martins *et al.*, 2015) โครงสร้างชีวภาพในระดับต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นระดับมาโคร ระดับไมโคร และระดับนาโน สามารถผลิตได้จากโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ โดยการออกแบบโครงสร้างเหล่านี้ต้องคำนึงถึงสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญในผลิตภัณฑ์อาหารขั้นสุดท้ายด้วย เช่น ความคงตัวทางเคมีกายภาพ สมบัติในการห่อหุ้ม คุณลักษณะในการปลดปล่อย และคุณสมบัติการไหล เป็นต้น (Jones and McClements, 2010)

โปรตีนเป็นโมเลกุลทางชีวภาพขนาดใหญ่ที่ประกอบด้วยหนึ่งหรือมากกว่าด้วยสายโซ่ของกรดอะมิโน โดยโปรตีนมักมีอยู่ในเส้นใย และมีรูปทรงกลมที่ไม่ละลายน้ำและละลายน้ำได้ และยังสามารถสลายในกรดหรือด่างได้ (McKee and McKee, 2015) คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนขึ้นอยู่กับปริมาณและลำดับของกรดอะมิโนที่ตกค้างบนโพลีเมอร์ (Saglam *et al.*, 2014) โดยทั่วไปปัจจัยต่างๆ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความร้อน ปริมาณกรดหรือด่าง และตัวทำละลายสามารถทำให้เกิดการสูญเสียสภาพโปรตีนได้ เมื่อโปรตีนสูญเสียสภาพก็ยังสามารถเกิดปฏิกิริยาผ่านพันธะไฮโดรเจน พันธะไอออนิก พันธะไม่ชอบน้ำ และพันธะโควาเลนต์ (Gupta and Nayak, 2015) ดังนั้นคุณสมบัติของโปรตีนจึงถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ การเคลือบและฟิล์ม (Ramos *et al.*, 2012) การทำไฮโดรเจล (de Castro *et al.*, 2017), การผลิตเส้นใย (Livney, 2015) และการทำอนุภาคต่างๆ (Tahini *et al.*, 2017) โดยส่วนใหญ่โปรตีนที่ได้จากสัตว์ ได้แก่ เจลาติน คอลลาเจน อัลบูมิน เคซีน เวย์โปรตีน และอีลาสติน มักนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตบรรจุภัณฑ์ เช่น ไบโอฟิล์ม



รวมถึง Encapsulation และ Nanotechnology ในขณะที่โปรตีนที่ได้จากพืชส่วนมากมาจากกลุ่มธัญพืช เช่น ข้าวสาลี ถั่วเหลือง ข้าวโพด ข้าว และถั่วพี เป็นต้น โดยโปรตีนกลุ่มนี้สามารถเกิดเจลได้จึงมักนำไปประยุกต์ใช้ในเรื่องของสารให้กลิ่นรส และสารอาหาร รวมทั้งใช้เป็นโปรตีนทางเลือก (Alternative proteins) ในอุตสาหกรรมอาหาร (Martin et al., 2018) พืชตระกูลถั่วนอกจากจะมีปริมาณโปรตีนสูงแล้ว ยังถือเป็นแหล่งที่ดีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและไฟโตเคมิคอล เช่น แอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และโปรแอนโทไซยานินดิน (Moreno-Valdespino et al., 2020) แต่สารเหล่านี้อาจถูกทำลาย หรือลดความเข้มข้นลงได้ระหว่างการแปรรูป เช่น การแช่ การอบด้วยความร้อน เป็นต้น (Mohan et al., 2016) โดยโปรตีนจาก ถั่วเหลืองได้รับการยอมรับว่าเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการใช้ในการผลิตโปรตีนจากพืชทดแทนเนื้อสัตว์ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการ ทำให้เกิดเจลที่ดี คุณค่าทางโภชนาการที่เหนือกว่า และต้นทุนที่ต่ำ เนื้อสัตว์ทางเลือกที่มีโปรตีนจากถั่วเหลืองจึงเป็นที่ แพร่หลายจนถึงทุกวันนี้ การนำถั่วมาใช้ในการผลิตเนื้อจากพืชนั้นจำเป็นต้องผ่านกระบวนการแปรรูปเพื่อทำลายสภาพ ธรรมชาติของโปรตีน (Protein denaturation) ก่อนนำไปใช้ (Clark et al., 2001; de Souza Simões et al., 2017) ซึ่งการทำลายสภาพธรรมชาติของโปรตีนและการรวมของตัวโปรตีนสามารถทำได้โดยใช้เอนไซม์ ความร้อน สารเคมี หรือแรงกล (Aguilera and Rademacher, 2004) โดยสามารถใช้เพียงวิธีเดียวหรือใช้หลายวิธีร่วมกันก็ได้ การเปลี่ยนแปลงนี้จะทำให้ โครงสร้างของโปรตีนเปลี่ยนไปและเพื่อให้เหมาะสมแก่การนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเนื้อจากพืช ในปัจจุบันเทคโนโลยีต่างๆ เช่น การอัดรีด การตัด การปั่น และการแช่เยือกแข็งจะส่งผลให้เนื้อสัมผัสของโปรตีนพืชมีโครงสร้างที่หลากหลาย ขณะเดียวกันกระบวนการหมักก็ถูกนำมาใช้เพื่อให้เกิดการเจริญเติบโตของไมโคโปรตีน (Mycoprotein) ซึ่งจะทำให้เนื้อจากพืช มีลักษณะคล้ายเส้นใยคล้ายเนื้อสัตว์มากขึ้น (Kyriakopoulou et al., 2021) อย่างไรก็ตามปัญหาของการนำถั่วเหลืองมาใช้ในการ ผลิตเนื้อจากพืชที่มักพบนั้น คือ กลิ่นถั่วที่ยังเหลือค้างติดอยู่ในวัตถุดิบ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษา วิธีการกำจัดกลิ่นถั่วและสกัดโปรตีน รวมถึงลักษณะทางเคมีกายภาพของโปรตีนพืช เทคโนโลยีการแปรรูปที่เหมาะสมต่อการ เตรียมโปรตีนพืชเพื่อใช้ในการผลิตเนื้อจากพืชให้มีลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวมคล้ายเนื้อสัตว์มากที่สุด

## วิธีดำเนินการวิจัย

### วัตถุดิบ

ถั่วเหลืองซีก ตราไรท์พิช บริษัท ไร่ธัญญา จำกัด, เห็ดแครงสด ตราบ้านเห็ดแครง องค์การตลาดเพื่อเกษตรกร, เห็ด เข็มทอง ตราโปรเห็ด บริษัท โปรเห็ด จำกัด, น้ำมันพืชถั่วเหลือง ตรามรกต บริษัท ไชม์ ดาร์บี้ ออยล์ มรกต จำกัด (มหาชน), โปรตีนพืชปรับปรุงเนื้อสัมผัสทางการค้า (Texturized Vegetable Proteins) บริษัท Abbra Corporation Limited, โปรตีนสกัด จากถั่วเหลือง (Soy Protein Isolate), ยีสต์ (Yeast powder), คาราจีแนน (Kappa-Carrageenan), เมทิลเซลลูโลส (Methylcellulose), สารกำจัดกลิ่นถั่วทางการค้า (Masking tools) และผงบีทรูท (Beetroot powder) จากบริษัท TJ Favor Group Co., Ltd.



การเตรียมวัตถุดิบ

1) เติล้ดซ้ล้ดทองถูกดัดส่วนคอทนท้ล้ด ล้ดงท้ล้ดทอวสละซอด น้ล้ดไปอบห้ล้ดในตู้อบลมร้ล้ดอน ถน อุณหภูมิล้ด 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลอนาน 2 ซ่วล้ดง จอคนน้ล้ดน้ล้ดซ้ล้ดทองท้ล้ดอบห้ล้ดแล้วไปบ้ล้ดน้ล้ดให้ล้ดะเยียล้ดเป็นผงดว้ล้ดด้วยเครื่ล้ดงบ้ล้ดน้ล้ด (ยี้ล้ดชื่อ Philllips) เก็ล้ดใส่ ถูงพลอสติกปิดสนิท เพื่อรอการช้ล้ดงานส่วต่อไป

2) เติล้ดคแรงสดถูกลน้ล้ดมาด้ล้ดในน้ล้ดเดือดและล้ดงด้วยน้ล้ดสละซอด 2 รอบ เพื่อล้ดการเก็ล้ดสีน้ล้ดตาล ก้ล้ดจ้ดกล้ดน้ล้ด ควมขม และควมเหนียวของเท็ล้ดคแรง น้ล้ดไปบ้ล้ดน้ล้ดให้ล้ดะเยียล้ดด้วยเครื่ล้ดงบ้ล้ดน้ล้ด (ยี้ล้ดชื่อ Philllips) น้ล้ดไปอบห้ล้ดในตู้อบลมร้ล้ดอน ถน อุณหภูมิล้ด 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลอนาน 2 ซ่วล้ดง เก็ล้ดใส่ถูงพลอสติกปิดสนิท เพื่อรอการช้ล้ดงานส่วต่อไป

ศึล้ดษการร่วล้ดวิธีในการก้ล้ดจ้ดกล้ดน้ล้ดงั่ว และการสก้ดปอโรตึนงั่วต่อสมบตีทางทวงเคมึล้ดและกายภอพล

1) การก้ล้ดจ้ดกล้ดน้ล้ดงั่วล้ดล้ดอง (ตราไร้ล้ดทึล้ดยัล้ด บรึล้ดษไร้ล้ดจ้ดญูญะ จ้ล้ดก้ด) โดยเบรียล้ดเทียบวิธีการก้ล้ดจ้ดกล้ดน้ล้ดงั่ว 4 วิธี ด้ล้ดงแสดง ใน Table 1 โดยทูล้ดล้ดงทลล้ดงช้ล้ดอ้ล้ดตราส่วนงั่วต่อสอวล้ดละล้ดย เทอท้ล้ดกับ 1:5 ระยะเวลาในการช้ล้ดเทอท้ล้ดกับ 30 นอทึ ด้ล้ดที่อุณหภูมิ น้ล้ดเดือด 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นอทึ แล้วบ้ล้ดน้ล้ดให้เป็นน้ล้ดเดือดงั่วกันด้วยเครื่ล้ดงบ้ล้ดน้ล้ดผสมเป็นเวลา 2-3 นอทึ น้ล้ดน้ล้ดน้ล้ดงั่วมา ประเม็นทวงประสอทล้ดส้ล้ดส่ล้ดด้านควมข้ล้ดของกล้ดน้ล้ดงั่ว เพื่อค้ดเลือล้ดงั่วไปศึล้ดษอวล้ดวิธีท้ล้ดห้ล้ดเหมาะสมในการสก้ดปอโรตึน ดว้ล้ดวิธี Rating scale 4-point โดยผู้ทล้ดสอทที่ผ่ล้ดน้ล้ดการฝึล้ดฝนจ้ล้ดจนวน 10 คน ท้ล้ดการดมกล้ดน้ล้ดงั่ว (beany odor) แล้วให้คะนเนนควมข้ล้ดของกล้ดน้ล้ดงั่วในทูล้ดดว้ล้ดอยง โดยเรย้ล้ดงล้ดดับควมข้ล้ดของกล้ดน้ล้ดงั่วในดว้ล้ดอยงจอคะนเนนมากไปน้ล้ดอย ด้ล้ดงั้ล้ดง คะนเนน 4 ห้ล้ดมอยถึง ดว้ล้ดอยงท้ล้ดให้กล้ดน้ล้ดงั่วข้ล้ดซ้ล้ดเจน คะนเนน 3 ห้ล้ดมอยถึง ให้กล้ดน้ล้ดงั่วปานกล้ดง คะนเนน 2 ห้ล้ดมอยถึง ให้กล้ดน้ล้ดงั่วเล็ล้ดน้ล้ดอย และคะนเนน 1 ห้ล้ดมอยถึง ไม่พบกล้ดน้ล้ดงั่ว

**Table 1** Elimination method of beany odor by soaking with different solutions

Method	Solution
1	0.5% CaCO <sub>3</sub>
2	0.1% Citric acid
3	0.1% Masking tools (Commercial masking tools)
4	Water

2) การสก้ดปอโรตึนงั่ว ช้ล้ดวิธีการตคตะกอนดว้ล้ดการใช้สอวล้ดละล้ดยเกลือท้ล้ดควมข้ล้ดซ้ล้ดสูง (Salting out) ค้ดเลือล้ดงั่ววิธีท้ล้ดได้สก้ดปอโรตึนโดยการเบรียล้ดงเทียบวิธีการและชนิตสอวล้ดตคตะกอนปอโรตึน 3 วิธี คึล้ด วิธีท้ล้ด 1 ตคตะกอนดว้ล้ดเกลือผสมของสอวล้ดแมงนึล้ดซ้ล้ดซ้ล้ดเพดกับโซเดียมคลอไร้ดในอ้ล้ดตราส่วน 2 : 1 ท้ล้ดควมข้ล้ดซ้ล้ด 3% (Panyathitipong & Puechkamut, 2002) วิธีท้ล้ด 2



ตกตะกอนด้วยสารแคลเซียมซัลเฟต ที่ความเข้มข้น 1.5% และ วิธีที่ 3 ตกตะกอนด้วยสารกลูโคโน เดลต้า แลคโตน (Glucono Delta Lactone) ที่ความเข้มข้น 1% (Vongpratheep, 1997)

ตัวอย่างตะกอนโปรตีนที่ได้ทุกสิ่งทดลองนำมาวัดค่าความเป็นกรด ต่าง (pH) และหาร้อยละผลผลิต (% yield) และโปรตีนผงที่ได้จะนำมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ ดังนี้

- ค่าวอเตอร์แอกติวิตี  $a_w$  (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2007)
- ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)
- ปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000)
- ปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)
- ค่าสี (Color analysis) ด้วยเครื่องวัดค่าสี CIE ระบบ  $L^* a^*$  และ  $b^*$  (HunterLab รุ่น Color flex) ในการวิเคราะห์

จะทำการวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  องศาเซลเซียส

การศึกษาลักษณะการผลิตเนื้อจากพืชเสริมโปรตีนถั่วเหลืองและเห็ดที่เหมาะสมโดยการวางแผนการทดลองส่วนผสมแบบ Mixture Design

การพัฒนาสูตรเนื้อจากพืชอ้างอิงจากสูตรพื้นฐานทางการค้าของบริษัท มอร์ฟูดส์ อินโนเทค จำกัด (เนื้อจากพืช ตรา More meat) เป็นต้นแบบ ในการทดลองจะทำการทดสอบเบื้องต้น (Pre-test) ของสูตรเนื้อจากพืชเสริมโปรตีนถั่วเหลืองและเห็ดด้วยการแปรปัจจัยหลักของวัตถุดิบที่ใช้ คือ  $X_1$  = โปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น (Soy protein concentrate; CP) มีค่าอยู่ในช่วง 45 – 50%,  $X_2$  = โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (Soy protein isolated; ISP) มีค่าอยู่ในช่วง 20 – 25% และ  $X_3$  = เห็ดครงออบแห้ง (Cockle mushroom; CM) มีค่าอยู่ในช่วง 20 – 30% โดยปัจจัยทั้ง 3 รวมกันได้เท่ากับ 100%

การพัฒนาสูตรเนื้อจากพืชเสริมโปรตีนพืชและกระบวนการที่เหมาะสมในการขึ้นรูปเนื้อจากพืช

สูตรเนื้อจากพืชที่ได้ข้างต้น จะถูกทำการแปรปริมาณด้วยเห็ด 2 ชนิด (ตัวแปร  $X_3$ ) คือ เห็ดครงออบแห้งและเห็ดเข็มทองออบแห้งในอัตราส่วน 60:40, 70:30 และ 80:20 โดยปริมาณของส่วนผสมอื่นๆคงที่ จากนั้นนำสิ่งทดลองทั้งหมดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน เพื่อคัดเลือกสูตรที่ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างเนื้อจากพืชทางการค้า จากนั้นนำสูตรเนื้อจากพืชที่คัดเลือกได้แล้วมาผ่านกระบวนการปรับเนื้อสัมผัสของโปรตีนพืชเพื่อให้มีโครงสร้างที่ใกล้เคียงเนื้อสัตว์จริงมากขึ้น โดยแบ่งออกเป็น 3 สิ่งทดลอง คือ สิ่งทดลองที่ 1 ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการปรับโครงสร้าง, สิ่งทดลองที่ 2 กระบวนการทำแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ด้วยเครื่อง Air blast freezing (PRIMAX, รุ่น BE-P101) และ สิ่งทดลองที่ 3 กระบวนการใช้แรงเฉือนด้วยเครื่องบดเนื้อแบบเกลียวเดียว 4 รอบต่อครั้ง ความเร็วรอบ 18,000 รอบ/นาที โดยใช้หัวบดขนาด 7 มิลลิเมตร (Smarthome, รุ่น SM-MG2021) และนำทุกสิ่งทดลองมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ คือ

- ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)
- ค่า  $a_w$  (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2007)
- ค่าสี (Color analysis) ด้วยเครื่องวัดค่าสี CIE ระบบ  $L^* a^*$  และ  $b^*$  (HunterLab รุ่น Color flex) ในการ

วิเคราะห์จะทำการวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  องศาเซลเซียส



- การวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture profile) ตัวอย่างจะขึ้นรูปขนาด 2x2x2 เซนติเมตร วิเคราะห์ค่า Cohesiveness ค่า Springiness และค่า Chewiness โดยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer, TA.XT plus) หัววัด P35 (35 mm DIA CYLINDER ALUMINIUM) วัดค่าแรงกดโดยใช้อัตราเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิเมตรวินาที ทำการกดเป็นระยะทาง 60% ของความสูงตัวอย่าง

ศึกษาความสัมพันธ์ของประสิทธิภาพในการดูดซับน้ำของผลิตภัณฑ์โปรตีนพืชเลียนแบบ

สิ่งทดลองที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการดูดซับน้ำเปรียบเทียบกับเนื้อหมู โดยสิ่งทดลองจะถูกขึ้นรูปเป็นรูปลูกเต๋าในแม่พิมพ์ที่มีขนาด 2x2x2 เซนติเมตร นำตัวอย่างเข้าอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2, 4 และ 6 ชั่วโมง ซึ่งน้ำหนักสุดท้ายของสิ่งทดลองที่ได้ของแต่ละที่กำหนดชั่วโมง จากนั้นแต่ละสิ่งทดลองจะถูกนำมาวิเคราะห์การคืนตัว (% Rehydration) การทดสอบคุณภาพด้านการคืนตัว (Chasempai, 2019) โดยใช้วิธีการคืนตัวในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที โดยการชั่งน้ำหนักทุกๆ 0, 5, 10, 15, 20 และ 30 นาที และคำนวณหา %Rehydration จากสมการ (1) ดังนี้

$$\text{ร้อยละการการคืนตัว (\%Rehydration)} = [(W_t - W_d) / W_d] \times 100 \tag{1}$$

โดย  $W_t$  คือ น้ำหนักตัวอย่างที่คืนตัว ณ เวลาใดๆ (กรัม)  
 $W_d$  คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้งเริ่มต้น (กรัม)

การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อจากพืชใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) และการประเมินความชอบทางประสาทสัมผัสใช้แผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design) โดยทุกขั้นตอนทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำผลการทดลองไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p \leq 0.05$ ) และวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

**ผลการวิจัย**

กรรมวิธีในการกำจัดกลิ่นถั่ว และการสกัดโปรตีนต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ

จากการวิเคราะห์กรรมวิธีในการกำจัดกลิ่นถั่ว พบความแตกต่างทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ของกลิ่นถั่ว โดยถั่วที่แช่ด้วย  $CaCO_3$  เข้มข้น 0.5% ให้กลิ่นถั่วอ่อนที่สุด รองลงมาคือถั่วที่แช่ด้วย Masking tools เข้มข้น 0.1% และถั่วที่แช่ด้วย Citric acid เข้มข้น 0.1% แต่ถั่วที่แช่น้ำ (Control) พบว่ามีกลิ่นถั่วสูงสุด (Table 2) ทั้งนี้ถั่วที่แช่ด้วย  $CaCO_3$  เข้มข้น 0.5% สาเหตุที่ทำให้เกิดกลิ่นถั่ว คือ เอนไซม์ Lipoxygenase ซึ่งเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็น Conjugated





diene และเมื่อสารนี้ระเหยก็จะได้สารประกอบที่เกิดกลิ่นถั่วในผลิตภัณฑ์ (Wilken *et al.*, 1967) ซึ่งจากการศึกษาของ Pukrushpan (1986) ซึ่งให้เห็นว่าการแช่เมล็ดถั่วใน Alkaline carbonate buffer สามารถทำลาย Lipoxygenase ได้ และยังช่วยเพิ่ม Protein extractability อีกด้วย อีกทั้งการแช่ถั่วในสารละลายแคลเซียมคาร์บอเนตนาขึ้น มีแนวโน้มทำให้กลิ่นถั่วในน้ำมันถั่วเหลืองดิบลดลงซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhu *et al.* (1996) และ Jooyandeh (2011) ที่รายงานว่า การแช่ถั่วเหลืองในสารละลายแคลเซียมคาร์บอเนตเข้มข้น 0.25% อย่างน้อย 10 นาที ช่วยให้น้ำมันถั่วเหลืองมีกลิ่นรสที่ดีขึ้น อีกทั้งแคลเซียมคาร์บอเนตมีผลช่วยในการลดกลิ่นถั่วในน้ำมันถั่วเหลืองได้ เมื่อเติมแคลเซียมคาร์บอเนตเข้มข้น 0.02% ของน้ำหนักถั่วเมล็ดแห้งในขั้นตอนการสกัด และนำไปให้ความร้อน 98-100 องศาเซลเซียส 10-15 นาที จะได้น้ำมันถั่วเหลืองที่ปราศจากกลิ่นถั่วมากที่สุด (Ediriweera, 1996) นอกจากนี้จากการทดลอง พบว่า ถั่วที่แช่ด้วย Masking tools เข้มข้น 0.1% มีการกำจัดกลิ่นได้ดีรองลงมา แต่เนื่องจากเป็นสารกำจัดกลิ่นทางการค้า มีราคาที่สูง และให้ประสิทธิภาพที่น้อยกว่า  $\text{CaCO}_3$  เข้มข้น 0.5% ดังนั้นในการทดลองจึงคัดเลือกถั่วที่แช่ด้วย  $\text{CaCO}_3$  เข้มข้น 0.5% มาใช้ในการศึกษาต่อไป

Table 2 Sensory evaluation of beany odor by using rating scale method

Sample	scale of beany odor
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	3.64±0.50 <sup>a</sup>
0.5% $\text{CaCO}_3$	1.27±0.46 <sup>c</sup>
0.1% Masking tool (EV003)	1.90±0.70 <sup>b</sup>
0.1% Citric acid	3.18±0.75 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> Different letters in the same column are significantly different ( $p \leq 0.05$ )







นำโปรตีนจากถั่วเหลืองที่ผ่านการกำจัดกลิ่นด้วย  $\text{CaCO}_3$  เข้มข้น 0.5% มาตกตะกอนโปรตีน โดยทั่วไปแล้วจะมีสาร 3 ประเภท ที่นำมาใช้ในการตกตะกอนโปรตีน ได้แก่ เกลือ กรด และเอนไซม์ ซึ่งสารตกตะกอนเหล่านี้ส่วนใหญ่ทำให้โปรตีนในน้ำมันถั่วเหลืองตกตะกอนได้ โดยเริ่มต้นที่น้ำมันถั่วเหลืองที่มี pH 6.40 เมื่อเติมสารตกตะกอนลงไป pH จะค่อยๆ ลดลง เมื่อ pI (Isoelectric point) ลดลงถึง 6.0 โปรตีนในน้ำมันถั่วเหลืองจะเริ่มตกตะกอน (Panyathitipong & Puechkamut, 2002) โดยในงานวิจัยนี้สารที่ใช้ตกตะกอนโปรตีนถั่วเหลือง ได้แก่  $\text{MgSO}_4$  : NaCl เข้มข้น 3%,  $\text{CaSO}_4$  เข้มข้น 1.5% และ GDL เข้มข้น 1% พบว่า ตะกอนโปรตีนที่สกัดได้ทั้ง 3 วิธี ให้ค่า pH อยู่ในช่วง 5.7-6.0 ซึ่งเป็นค่าที่ทำให้โปรตีนถั่วเหลืองตกตะกอน โดยประสิทธิภาพในการตกตะกอนโปรตีนด้วย  $\text{MgSO}_4$  : NaCl เข้มข้น 3% ให้ค่าร้อยละผลผลิต (%Yield) มากที่สุดเท่ากับ 92.20 (Table 3) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Panyathitipong & Puechkamut (2002) และ Prabhakaran *et al.* (2005) โดยทั่วไปสารตกตะกอนโปรตีนที่เป็นเกลือแต่ละชนิดจะมีข้อดีและข้อด้อยแตกต่างกัน จึงนิยมใช้แบบผสมกัน เพื่อให้ได้ปริมาณและลักษณะที่ดีที่สุด ซึ่งสารประกอบคลอไรด์ ได้แก่ แมกนีเซียมคลอไรด์ ( $\text{MgCl}_2$ ) และแคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2$ ) นิยมใช้ในการผลิตเต้าหู้



จะทำให้ผลิตภัณฑ์เต้าหู้มีลักษณะเนื้อสัมผัสแข็งคงรูปและมีปริมาณแคลเซียมสูง มีกลิ่นรสที่ดี สามารถตกตะกอนโปรตีนได้อย่างรวดเร็วเหมาะกับการผลิตเต้าหู้แข็ง อีกทั้งสารประกอบซัลเฟตเป็นสารตกตะกอนที่เหมาะสมสำหรับผลิตเต้าหู้ที่มีน้ำหนักสดมาก (Chaipan, 2018)

ขณะกลูโคโนแลคตาสแลคโตน (GDL) เป็นสารที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคส การตกตะกอนด้วย GDL เข้มข้น 1% จะนิยมใช้ในการผลิตเต้าหู้อ่อนโดยนำไปผสมกับน้ำนมถั่วเหลือง แล้วนำไปให้ความร้อนจะเกิดตะกอนโปรตีนอย่างช้าๆ เนื่องจากความร้อนจะไปกระตุ้นการเกิดการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) เปลี่ยนเป็นกรดกลูโคนิกให้เป็นโปรตรอนทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอน ส่งผลให้ลักษณะตะกอนที่ได้มีลักษณะนิ่มและจับรวมตัวเป็นก้อนได้น้อย มีสีขาว เนื้อละเอียดเหลว (Table 3) เต้าหู้ที่ได้มีลักษณะเปราะบางแตกหักง่าย อีกทั้งผลของรสขมที่เกิดขึ้นเมื่อใช้ในความเข้มข้นที่สูง ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยต่างๆที่ผ่านมา (Aoujampa, 1988; Panyathitipong & Puechkamut, 2002; Prabhakaran *et al.*, 2005)

**Table 3** Appearance of soy protein sediment from precipitating with different chemical substances

Treatment	protein sediment	Protein powder	Appearance
3% MgSO <sub>4</sub> : NaCl (2:1)			The sediment is large, agglomerated, white, fine-grained. After drying, the powder is white-yellow.
1.5% CaSO <sub>4</sub>			The sediment is very small and more liquid, white, fine-grained. After drying, the powder is white.
1% GDL			The sediment is small, fine and non-agglomerated, semi-solid, semi-liquid. After drying, the powder is slightly yellowish white.

เมื่อวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกทีวิตี้ ( $a_w$ ) ดังแสดงใน Table 4 ยังพบความแตกต่างทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) คือ การตกตะกอนถั่วเหลืองด้วย  $MgSO_4 : NaCl$  มีค่า  $a_w$  ต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองอื่นๆ ขณะที่ถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย  $CaSO_4$  เข้มข้น 1.5% และ GDL เข้มข้น 1% จะมีค่า  $a_w$  เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณความชื้นของถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 : NaCl$  เข้มข้น 3% มีปริมาณต่ำที่สุด ส่วนปริมาณไขมันไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่ถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 : NaCl$  เข้มข้น 3% จะมีปริมาณไขมันสูงสุดถึง 15.49% รองลงมาคือถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย  $CaSO_4$  เข้มข้น 1.5% และ GDL เข้มข้น 1% จะมีปริมาณไขมันลดลงเล็กน้อย และจากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนพบความแตกต่างทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ของถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย GDL เข้มข้น 1% มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดถึง 50.04% รองลงมาคือถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 : NaCl$  เข้มข้น 3% ให้ปริมาณโปรตีน 44.51% ทั้งนี้เนื่องจากการทำให้ประจุบนผิวโปรตีนเป็นกลางด้วยไอออนของเกลือและมีผลของการลดความเข้มข้น (Effective concentration) ของน้ำต่อการละลายของโปรตีนไอออนของเกลือจึงเกิดการแย่งโมเลกุลของน้ำออกจากโปรตีน เมื่ออันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับน้ำเหลือน้อยกว่าอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับโปรตีน จึงส่งผลให้มีปริมาณโปรตีนที่ได้ดังกล่าว (Kohyama *et al.*, 1995; Prabhakaran *et al.*, 2005) ซึ่งในงานวิจัยมีวัตถุประสงค์ต้องการโปรตีนที่สกัดที่มีปริมาณโปรตีนสูง โดยพบว่าโปรตีนที่ตกตะกอนด้วย 1% GDL ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด แต่มีรสขม (After taste) เกิดขึ้น จึงคัดเลือกโปรตีนที่ตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 : NaCl$  เข้มข้น 3% ที่มีปริมาณโปรตีนรองลงมาในการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์

**Table 4** Chemical composition of protein precipitated by different chemical substances

Treatment	Yield (%)	pH <sup>ns</sup>	$a_w$	MC (%)	Fat (%)	Protein (%)
3% $MgSO_4 : NaCl$	92.20 <sup>a</sup>	5.78±0.01	0.30±0.01 <sup>c</sup>	7.5±0.17 <sup>b</sup>	15.49±13.43 <sup>a</sup>	44.51±0.07 <sup>b</sup>
1.5% $CaSO_4$	48.63 <sup>c</sup>	5.85±0.01	0.32±0.01 <sup>b</sup>	8.58±0.26 <sup>ab</sup>	14.38±10.14 <sup>a</sup>	41.57±0.24 <sup>c</sup>
1% GDL	56.83 <sup>b</sup>	6.00±0.01	0.34±0.00 <sup>a</sup>	8.74±0.41 <sup>a</sup>	14.38±3.93 <sup>a</sup>	50.04±0.74 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> Different letters in the same column are significantly different ( $p \leq 0.05$ )

การวิเคราะห์ค่าสีของโปรตีนถั่วเหลืองผงที่ผ่านการตกตะกอนด้วยสารต่างๆ (Table 5) พบความแตกต่างทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย GDL เข้มข้น 1% มีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) มากสุด ขณะที่ถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย  $MgSO_4 : NaCl$  เข้มข้น 3% มีค่าความสว่างน้อยที่สุด ซึ่งค่าความสว่างของผงโปรตีนที่สกัดได้อยู่ในช่วง 73.45 - 75.93 ส่วนค่าความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) อยู่ในช่วง 6.28 - 7.65 โดยถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย  $CaSO_4$  เข้มข้น 1.5% มีค่าความเป็นสีแดงมากที่สุด ขณะที่ถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย GDL เข้มข้น 1% มีค่าความเป็นสีแดงน้อยที่สุด และค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) ถั่วเหลือง

ที่ตกตะกอนด้วย GDL เข้มข้น 1% มีค่าความเป็นสีเหลืองมากที่สุด ในขณะที่ถั่วเหลืองที่ตกตะกอนด้วย  $\text{CaSO}_4$  เข้มข้น 1.5% มีค่าความเป็นสีเหลืองน้อยที่สุด ซึ่งค่าความเป็นสีเหลืองของตะกอนโปรตีนอยู่ในช่วง 25.78 - 27.16

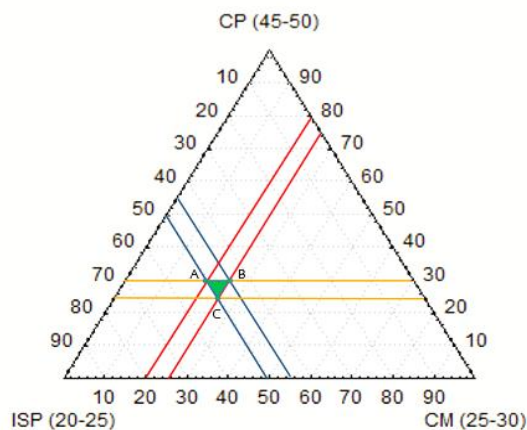
**Table 5** Color of soy protein powder precipitated with different chemical substances

Treatment	$L^*$	$a^*$	$b^*$
3% $\text{MgSO}_4$ : NaCl	73.45±0.12 <sup>c</sup>	7.31±0.09 <sup>b</sup>	26.22±0.17 <sup>b</sup>
1.5% $\text{CaSO}_4$	74.46±0.09 <sup>b</sup>	7.65±0.09 <sup>a</sup>	25.78±0.14 <sup>c</sup>
1% GDL	75.93±0.06 <sup>a</sup>	6.28±0.07 <sup>c</sup>	27.16±0.13 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> Different letters in the same column are significantly different ( $p \leq 0.05$ )

พัฒนาสูตรที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์เลียนแบบต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ และเนื้อสัมผัส

จากการพัฒนาสูตรเนื้อจากพืชดัดแปลงจากงานวิจัยของ Singh & Sit (2022) โดยกำหนดวัตถุดิบหลักที่ให้ลักษณะเนื้อสัมผัสและปริมาณโปรตีนสูงในส่วนผสม คือ X1 = โปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น (Soy protein concentrate; CP) มีค่าอยู่ในช่วง 45 – 50%, X2 = โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (Soy protein isolated; ISP) มีค่าอยู่ในช่วง 20 – 25% และ X3 = เห็ดครงผองอบแห้ง (Cockle mushroom; CM) ด้วยการวางแผนการทดลองออกแบบส่วนผสมแบบ Mixture Design เพื่อใช้ในการเสริมปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ (Figure 1) และทำการกำหนดจุดที่เลือกสำหรับการทดลอง A, B และ C ดังแสดงใน Table 6 ในการศึกษาครั้งนี้ ส่วนผสมที่เหลืออื่นๆที่ใช้ในกระบวนการผลิตเนื้อจากพืช ได้แก่ kappa-carageenan, ผงบีทรูท ผงยีสต์ น้ำมัน และน้ำ จะใส่ในปริมาณคงที่ทุกสูตร รวมถึงสูตรทางการค้าด้วย เพื่อลดความแปรปรวนจากปัจจัยอื่นๆ



**Figure 1** Mixture design experimental of plant-based protein production



**Table 6** Treatments of the main 3 ingredients of protein in plant-based meat

Ingredient of Protein	A	B	C
X1 = (Concentrate soy protein: CP)	50	45	50
X2 = (Isolated soy protein: ISP)	20	25	25
X3 = (Cockle mushroom: CM)	30	30	25

จากการวางแผนการทดลองออกแบบส่วนผสมแบบ Mixture Design ได้สูตรที่เหมาะสมทั้งหมด 3 สูตร คือ A, B และ C โดยในแต่ละสูตรมีปริมาณของโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น (X1) โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (X2) และปริมาณเห็ดแครงมง (X3) แตกต่างกันดังแสดงใน Table 6 ซึ่งจากผลการทดลองเบื้องต้น (Pre-test) ในการลองผสมขึ้นรูปเนื้อจากพืช พบว่า สูตรที่ B และ C ให้เนื้อจากพืชมีลักษณะเนื้อสัมผัสแห้งร่วนไม่เกาะตัวกัน เนื่องจากใช้ปริมาณ ISP สูงกว่าสูตร A ปัจจัยที่มีผลต่อการขึ้นรูปเนื้อเทียม คือ ปริมาณถั่วเหลืองโดยโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้นมีโปรตีนปริมาณ 70% ขึ้นไป ซึ่งนิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมขนมอบ และอุตสาหกรรมเนื้อต่างๆ โดยใช้เป็นตัวอุ้มน้ำหรือดูดความชื้น (moisture absorption) และอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ช่วยในการยึดหยุ่นและทำให้เกิดโครงสร้างในเนื้อเทียม (Rareunrom, 2005) ในขณะที่โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate; ISP) มีปริมาณโปรตีนมากกว่า 90% ขึ้นไป ช่วยในการเพิ่มปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ ซึ่งหากใช้ในปริมาณที่มากเกินไปจะส่งผลต่อสีและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ เนื่องจาก ISP อาจดูดน้ำเข้าไปในโครงสร้างมากจึงอาจส่งผลให้เกิดความแห้งในผลิตภัณฑ์เนื้อเทียมได้ (Kitcharoenhawornchai & Harnsilawat, 2015) การผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อเทียมนิยมผลิตจากแป้งถั่วเหลือง และ ISP และมักใช้ร่วมกับโปรตีนพืชอื่นๆ เช่น กลูเตนจากข้าวสาลี โดยที่ใช้ ISP ประมาณ 20% (Kazemzadeh *et al.*, 1986; Singh & Sit, 2022)

ดังนั้นจึงคัดเลือกสูตร A มาแปรชนิดและปริมาณของเห็ดที่ใช้โดยใช้อัตราส่วนเห็ดแครงมง (CM) ต่อเห็ดเข็มทอง (GM) เท่ากับ 60:40, 70:30 และ 80:20 ในส่วนของตัวแปร X3 (30%) ดังแสดงใน Table 7 เนื่องจากโครงสร้างของเห็ดมีความเป็นเส้นใยและให้ความเหนียวคล้ายเนื้อสัตว์ค่อนข้างมาก เพิ่มความสามารถในการเคี้ยว (Chewability) อีกทั้งยังให้กลิ่นรสที่ดี ซึ่งนิยมนำมาใช้ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ทดแทน (Singh & Sit, 2022) จากการทดลอง พบว่า เนื้อจากพืชทั้ง 3 สูตร มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจากสูตรทางการค้า (Commercial) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเพียง 14% ในขณะที่เนื้อจากพืชทั้ง 3 สูตร มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 16-20% (Table 8) ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อจากพืชทั้ง 3 สูตร มีการเติม Soy protein concentrate 50% และ soy protein isolate 20% การวางแผนการทดลองออกแบบส่วนผสมแบบ Mixture Design เพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีน (Table 6) โดยที่สูตร A (70:30) มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดและขึ้นรูปได้ใกล้เคียงสูตรทางการค้า อีกทั้งเป็นสูตรที่สามารถลดปริมาณเห็ดแครงมงลงทำให้ช่วยลดต้นทุนการผลิต เนื่องจากเห็ดแครงมงมีราคาสูง และเนื้อสัมผัสเห็ดเข็มทองมีลักษณะที่ใกล้เคียงกับเห็ดแครงมง จึงทำให้เห็ดเข็มทองสามารถทดแทนโปรตีนของเห็ดแครงมงได้บางส่วน โดยให้โครงสร้างเนื้อสัมผัสจากเส้นใยของเห็ดเข็มทองไปเสริมโครงร่างให้เหนียวยืดเกาะไม่ขาดร่วน ดังนั้นจึงคัดเลือกสูตร A (70:30) เป็นสูตรต้นแบบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อจากพืชต่อไป



**Table 7** Formula for the development of imitation plant protein products

Formulas	TVP-4300 (g)	TVP-4400 (g)	ISP (g)	CP (g)	CM (g)	GM (g)
Control (Commercial)	22	22	2.5	-	17	-
A (60:40)	22	22	3.90	9.75	3.51	2.34
A (70:30)	22	22	3.90	9.75	4.10	1.75
A (80:20)	22	22	3.90	9.75	4.68	1.17

Note : SPI = Soy Protein Isolate, SPC = Soy Protein Concentrate, CM = Cockle Mushroom,  
 GM = Golden Needle Mushroom




**Table 8** Protein content of plant-based meat products

Treatment	Protein content (%)
Control (Commercial plant-based meat)	14.06±2.64 <sup>b</sup>
A (60:40)	16.53±0.74 <sup>ab</sup>
A (70:30)	20.61±0.41 <sup>a</sup>
A (80:20)	18.40±1.07 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Different letters in the same column are significantly different ( $p \leq 0.05$ )

กระบวนการแปรรูปสำหรับการผลิตเนื้อจากพืช (Plant-based meat) สามารถพัฒนาได้หลายรูปแบบขึ้นอยู่กับโครงสร้างหรือลักษณะเนื้อที่ต้องการสำหรับผู้บริโภค (Dekkers *et al.*, 2018) โดยกระบวนการที่ใช้ในการปรับปรุงเนื้อสัมผัสของเนื้อสัตว์เลียนแบบจากพืชในการวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ วิธีการใช้แรงเฉือน (Shearing method) และวิธีการแช่แข็ง (Freezing method) โดยเนื้อจากพืชที่ผ่านกระบวนการปรับปรุงที่แตกต่างกันนั้น ถูกนำมาเปรียบเทียบเนื้อสัมผัสกับสูตรพื้นฐานทางการค้า (Table 9) และเมื่อนำสิ่งทดลองไปวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยตัวอย่างทางการค้ามีปริมาณความชื้นน้อยที่สุด ดังแสดงใน Table 10

**Table 9** Appearance of imitated meat from plant-based protein by each process method

Sample	Product	Appearance
Commercial Product		Color of plant-based meat is light pink and fairly firm. The pieces of meat are small, and they can clump together.
AS-70:30 (Shearing method)		The products are firm, coagulated and not crumbly.
AF-70:30 (Freezing method)		The texture of the product is slightly hard and clump together.

สูตร AS-70:30 มีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกับสูตร AF-70:30 และเมื่อวิเคราะห์ค่าวอร์เตอร์แอกติวิตี ( $a_w$ ) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.88-0.89 ขณะที่พบความแตกต่างทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ของค่าสี โดยที่สูตร AS-70:30 มีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) มากที่สุดเมื่อเทียบกับทุกสิ่งทดลอง และสูตร AF-70:30 มีค่าความสว่างใกล้เคียงกับสูตรพื้นฐานทางการค้าซึ่งอยู่ในช่วง 52.56-56.48 เนื่องจากกระบวนการปรับปรุงเนื้อสัมผัสที่สูตร AF-70:30 และสูตรพื้นฐานทางการค้า ได้ใช้วิธีการแช่เยือกแข็ง ค่าสีแดง ( $a^*$ ) สูตร AS-70:30 และสูตร AF-70:30 มีค่าความเป็นสีแดงมากกว่าสูตรพื้นฐานทางการค้า (4.85-11.93) และค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) ของสูตร AS-70:30 และสูตร AF-70:30 มีค่าความเป็นสีเหลืองมากกว่าสูตรพื้นฐานทางการค้า (13.80-19.57) เนื่องจากสูตรที่ใช้เห็ดแครงส่งผลให้สีของเนื้อสัมผัสมีสีเข้มขึ้นจากสีเส้นใยธรรมชาติของเห็ดแครง นอกจากนั้นการเติมเห็ดเข็มทองลงไปเนื่องจากพืชสูตร A (70:30) สามารถส่งผลให้ค่า  $L^*$   $a^*$  และ  $b^*$  ของสูตรมีค่าสูงกว่าสูตรพื้นฐานทางการค้า (Table 10) ในการวิจัยนี้ส่วนประกอบอื่นๆที่ผสมในการผลิตเนื่องจากพืชจะถูกใส่เท่ากันทุกสูตร รวมถึงสูตรทางการค้าด้วยตามทีกล่าวมาแล้วข้างต้น



**Table 10** Physicochemical analysis of imitated meat from plant-based protein

Sample	%MC (dry) <sup>ns</sup>	a <sub>w</sub> <sup>ns</sup>	L*	a*	b*
Commercial Product	67.00±6.79	0.88±0.00	52.56±0.01 <sup>c</sup>	4.85±0.07 <sup>c</sup>	13.80±0.06 <sup>c</sup>
AS-70:30 (Shear method)	68.00±3.65	0.89±0.00	56.48±0.01 <sup>a</sup>	9.59±0.03 <sup>b</sup>	19.57±0.09 <sup>a</sup>
AF-70:30 (Freezing method)	67.00±5.56	0.88±0.00	53.88±0.03 <sup>b</sup>	11.93±0.05 <sup>a</sup>	19.02±0.12 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup> different letters in the same column are significantly different ( $p \leq 0.05$ ) and different letters in the same column are not significantly different ( $p > 0.05$ )

จาก Table 10 พบว่า ค่าเนื้อสัมผัสในทุกด้านของเนื้อสัตว์เลียนแบบจากพืชมีความแตกต่างกับเนื้อหมูสด ( $p \leq 0.05$ ) โดยค่า Cohesiveness ของเนื้อหมู (สูตรควบคุม) จะมีค่าน้อยที่สุด เนื่องจากโปรตีนพืชที่มีมากกว่าหนึ่งชนิดรวมกันในโครงสร้าง เกิดการยึดเกาะของโครงสร้างได้แน่นมากขึ้น โดยสูตร AS-70:30 และ AF-70:30 จะให้ค่าการยึดเกาะของเนื้ออาหารใกล้เคียงกัน ส่วนค่าความคืนตัว (Springiness) ของสูตร AF-70:30 และสูตร AS-70:30 จะให้ค่าน้อยกว่าสูตรควบคุม เนื่องจากโครงสร้างไฟเบอร์ในส่วนของ Plant-based protein ที่ให้โครงสร้างแข็งแตกต่างจากเส้นใยกล้ามเนื้อของสัตว์ เนื่องจากโปรตีนคลอลาเจนที่เป็นโครงสร้างของเนื้อสัตว์ส่งผลให้เกิดความยืดหยุ่น จึงเกิดการคืนตัวของเนื้อสัมผัสในผลิตภัณฑ์กลุ่มเนื้อสัตว์เลียนแบบจากพืชได้น้อยกว่ากลุ่มเนื้อสัตว์ นอกจากนั้นในธรรมชาติเมื่อเนื้อสัตว์ผ่านการให้ความร้อนอุณหภูมิที่สูงขึ้น ( $>50^{\circ}\text{C}$ ) จะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายพอลิเพปไทด์ถูกทำลาย ที่เรียกว่าการเสียสภาพของโปรตีน (Protein denature) โดยโครงสร้างของโปรตีนจะถูกทำลายโดยเฉพาะพันธะระหว่างสายของโปรตีนกับโปรตีน หรือโปรตีนกับน้ำ หากอุณหภูมินั้นต่ำกว่า  $70^{\circ}\text{C}$  การเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติของโปรตีนอาจผันกลับคืนได้ (Reversible) แต่หากอุณหภูมิสูงขึ้นไปถึงระดับหนึ่ง ( $>100^{\circ}\text{C}$ ) จะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพตามธรรมชาติของโปรตีนแบบผันกลับไม่ได้ (Irreversible) คือ เกิดลักษณะความแข็งกระด้างขึ้น (Martins *et al.*, 2018) แต่การที่ผลิตภัณฑ์เลียนแบบเนื้อหมูมีค่า Cohesiveness มากกว่า ขณะที่ค่า Springiness และค่า Chewiness มีค่าน้อยกว่า เนื่องจากโปรตีนพืชในถั่วเหลืองประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นโปรตีนประเภทกลอบูลิน (Globulin) สามารถแบ่งโปรตีนในถั่วเหลืองตามคุณสมบัติในการตกตะกอน (Sedimentation) เมื่อโดนความร้อนจะทำให้เกิดการเสียสภาพกลายเป็นเจล (Kohyama *et al.*, 1995) ทำให้เกิดความยืดหยุ่นได้ดีกว่า ประกอบกับมีปริมาณเส้นใยที่สูงกว่า ความสามารถในการดูดซับน้ำได้มากกว่า แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์เนื้อจากพืชมีส่วนผสมอย่างอื่นนอกเหนือจากโปรตีนถั่วเหลือง เช่น เติบต่าง ๆ จึงทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสด้าน Springiness ลดน้อยลงเช่นกัน อีกทั้งกระบวนการแช่แข็งจะช่วยการจัดโครงสร้างของสารละลายของโปรตีนด้วยการถูกแช่แข็งทำให้มีโครงสร้างที่



แข็งแรงขึ้น เนื่องจากในกระบวนการแช่แข็งจะทำให้ให้น้ำในโครงสร้างโปรตีนจะถูกทำให้แข็งตัว แต่ทำให้ของเหลวที่ไม่ผ่านการแช่แข็งมีค่า Ionic strength สูง ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มของของพันธะไดซัลไฟด์ การเชื่อมต่อกันของหมู่อะมิโนและหมู่อะมิโนอิสระ ทำให้ปริมาณหมู่ไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic group) มากขึ้น ปฏิกริยาภายในหรือระหว่างโมเลกุลของโปรตีนอยู่ใกล้ชิดกันมากขึ้นและเกิดการรวมตัวของโปรตีน มีผลทำให้เนื้อสัมผัสแน่นและเหนียวมากขึ้นด้วย (Bhatnagar *et al.*, 2007) ขณะเดียวกันการใช้แรงเฉือน (Shear Cell Technology) จะทำให้เกิดหมู่ไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic group) ที่ผิวของอนุภาคมากขึ้น ซึ่งหมู่ไฮโดรโฟบิกสามารถไปเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนที่อยู่ชิดกันมากขึ้น ดังนั้นการอัดแรงเฉือนในผลิตภัณฑ์จะทำให้เส้นใยในโครงสร้างให้แข็งแรงและโมเลกุลของโปรตีนแน่นขึ้นด้วย ซึ่งช่วยให้ผลิตภัณฑ์เนื้อจากพืชนั้นมีความแน่นแข็งมากขึ้น (Tay *et al.*, 2001; Kitcharoenthawornchai & Harnsilawat, 2015; Singh & Sit, 2022)

**Table 11** Texture characteristics of imitated meat from plant-based protein

Treatment	Cohesiveness	Springiness	Chewiness
Pork meat	2.35±0.12 <sup>c</sup>	0.79±0.04 <sup>a</sup>	71.86±11.07 <sup>a</sup>
AS-70:30 (Shear method)	4.70±0.23 <sup>b</sup>	0.39±0.06 <sup>b</sup>	49.48±15.24 <sup>b</sup>
AF-70:30 (Freezing method)	5.68±0.52 <sup>a</sup>	0.23±0.07 <sup>c</sup>	16.04±2.84 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup> different letters in the same column are significantly different ( $p \leq 0.05$ )

ประสิทธิภาพในการดูดน้ำกลับของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เลียนแบบจากโปรตีนพืช

จากการคัดเลือกสูตรที่เหมาะสมเพื่อการผลิตจากค่าการดูดน้ำกลับ (Rehydration) ถูกนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณา เนื่องจากค่าการดูดน้ำกลับต่อระยะเวลาในการอบแห้งที่สมบูรณ์ จะช่วยให้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการขยายผลของการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เลียนแบบจากโปรตีนพืชแบบอบแห้งต่อไป โดยพบว่า เมื่อระยะเวลาในการอบแห้งนานขึ้นการดูดซับน้ำมีค่ามากขึ้นดังแสดงใน Figure 2 ซึ่งพิจารณาได้จากค่าอัตราการคืนตัวดังที่แสดงใน Table 12 โดยเนื้อหมูที่ผ่านการอบแห้งจะให้ค่าการดูดกลับของน้ำต่ำที่สุด ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ AF-70:30 ที่ผ่านการอบแห้งนั้นให้ค่าการดูดกลับของน้ำสูงที่สุด รองลงมาคือ AS-70:30 โดยอัตราการดูดน้ำกลับของเนื้อโปรตีนพืชอบแห้งทั้ง 2 สูตร พบว่าการอบแห้งที่ 2 และ 4 ชั่วโมง สูตร AS-70:30 มีค่าใกล้เคียงกับเนื้อหมูสด ยกเว้นการอบแห้งที่ 6 ชั่วโมง ที่สูตร AS-70:30 และ AF-70:30 มีอัตราการดูดน้ำกลับใกล้เคียงกัน เนื่องจากโปรตีนของเนื้อสัตว์และพืชเป็นมีความแตกต่างกัน โดยผลิตภัณฑ์เนื้อจากพืชมีส่วนประกอบของเมล็ดธัญพืช ผัก/ผลไม้บางชนิด และเห็ด ซึ่งเป็นเส้นใยธรรมชาติหรือไฟเบอร์ที่สามารถดูดซับน้ำได้ดี เป็นผลมาจาก



องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยอาหารที่อุดมไปด้วยเซลลูโลส มีกลุ่มไฮดรอกซิลอิสระในเส้นใยซึ่งเป็นหมู่ที่ชอบน้ำ (Hydrophilic group) อีกทั้งความเป็นโพรงหรือรูพรุน (Porous) ในโครงสร้างของเส้นใยในธรรมชาติ ทำให้โมเลกุลของน้ำจึงสามารถแทรกผ่านเข้าไปในรูพรุนของโครงสร้างพืชได้มากและอย่างรวดเร็ว (Begum *et al.*, 2021) ดังนั้นเนื่องจากพืชที่มีรูพรุนมากจึงมีความสามารถในการดูดซับน้ำไว้ในโครงสร้างได้ดี

ขณะที่โปรตีนในเนื้อหมูเป็นพอลิเพปไทด์ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของกรดอะมิโน (Amino acid) ในโมเลกุลของกรดอะมิโน มีหมู่ R ที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ดังนั้นสมบัติในการจับกับน้ำ (Water binding หรือ Water holding capacity) ของโปรตีนจึงขึ้นอยู่กับชนิด ปริมาณ และลำดับการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนที่เป็นสารแขวนลอยในน้ำ นอกจากนั้นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเสียสภาพของโปรตีน (Protein denature) ในสัตว์ ได้แก่ อุณหภูมิ pH ความดัน กลิ่น เป็นต้น ซึ่งการอบแห้งหรือความร้อนส่งผลให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพ ลดความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน (Martins *et al.*, 2018) จึงทำให้เนื้อจากพืชที่ผ่านการอบแห้งแล้วสามารถดูดน้ำกลับได้มากกว่าเนื้อหมูสดที่ผ่านการอบแห้ง

ทั้งนี้ผลที่ได้ยังสัมพันธ์กับค่าเนื้อสัมผัส โดยสามารถประเมินจากค่าความแน่นเนื้อ (Cohesiveness) ที่ให้ค่ามากกว่าเนื้อหมู อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบทางเคมีกายภาพ เนื้อสัมผัส และลักษณะปรากฏ พบว่า สูตร AS-70:30 เป็นสูตรที่ให้ลักษณะที่ใกล้เคียงกับเนื้อหมูสดมากกว่าสูตร AF-70:30 ดังนั้น AS-70:30 จึงเหมาะสมในการคัดเลือกมาใช้เป็นต้นแบบในการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อจากพืชโปรตีนสูง

Table 12 Rehydration rate of dried products at different drying times

Treatment	Rehydration rate of dried products		
	2-hour	4-hour	6-hour
Pork meat	0.1618	0.2425	0.4712
AS-70:30	0.3467	0.9618	1.6948
AF-70:30	0.7846	1.2377	1.9389

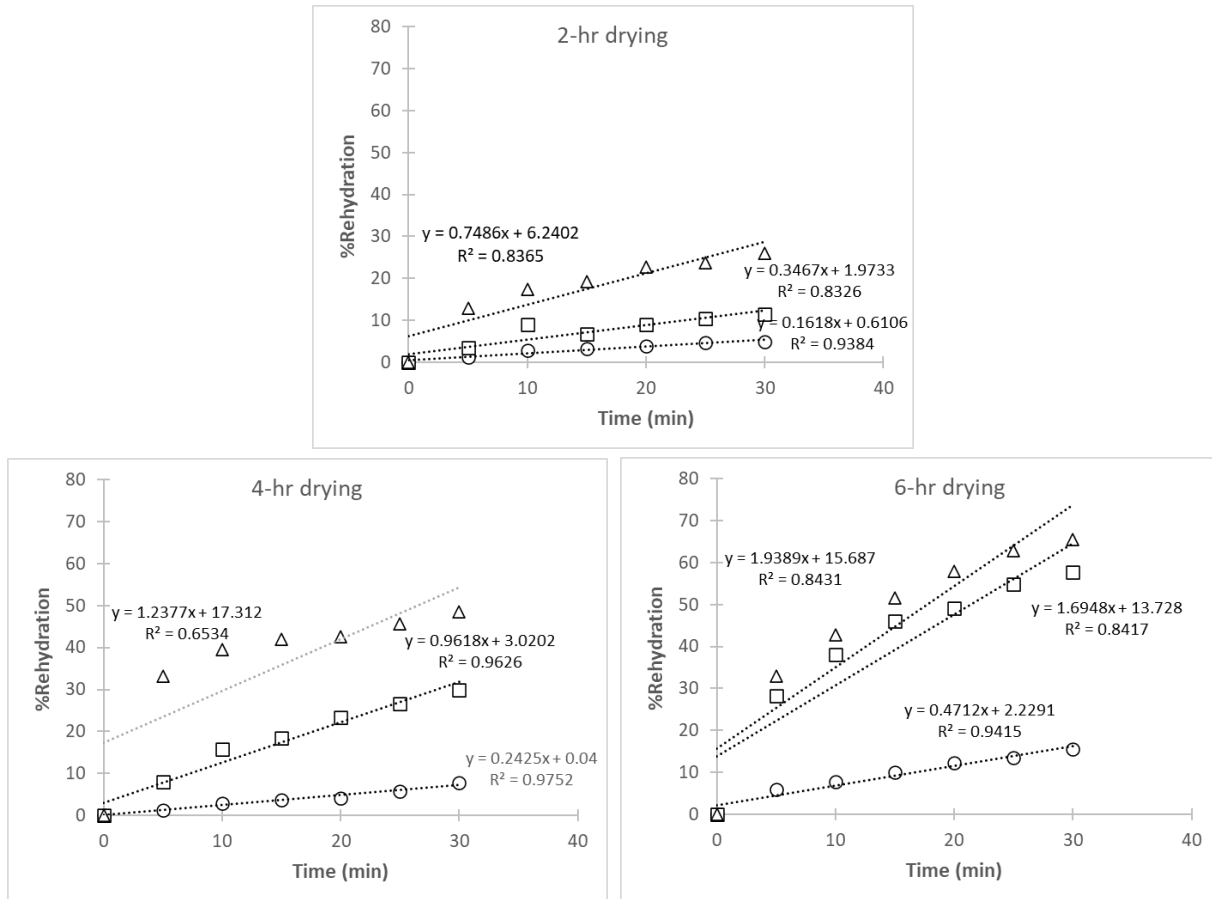


Figure 2 Rehydration rate of plant-based meat at different drying time. Pork meat (○), AS-70:30 (□), และ AF-70:30 (△)

### สรุปผลการวิจัย

การกำจัดกลิ่นคาวที่แช่ด้วย  $\text{CaCO}_3$  เข้มข้น 0.5% สามารถกำจัดกลิ่นคาวได้ดีที่สุด และประสิทธิภาพในการตกตะกอนโปรตีนด้วย  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{NaCl}$  (2 : 1) เข้มข้น 0.5% ให้ค่าร้อยละผลผลิต (%Yield) มากที่สุดเท่ากับร้อยละ 92.20 มีค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ( $a_w$ ) ต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองอื่นๆ โดยมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 44.51 และความสว่างของโปรตีนมากที่สุดจากผลของการฟอกสีด้วยสารซัลเฟตของสารละลาย เมื่อนำมาพัฒนาสูตรและกระบวนการต่อเนื่องสัมผัสพบว่า สูตร AS-70:30 ให้ค่าเนื้อสัมผัสรวมทั้งลักษณะปรากฏหลังการดูดกลับน้ำที่มีลักษณะใกล้เคียงกับเนื้อหมูสด นอกจากนี้อัตราการดูดซับน้ำของทุกสิ่งทดลองมีมากค่ามากขึ้นตามระยะเวลาในการอบแห้ง



### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบริษัทมอร์ฟูดส์ อินโนเทค จำกัด ที่สนับสนุนวัตถุดิบและค่าสารเคมีต่างๆ รวมทั้งมหาวิทยาลัยสยามที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ต่างๆในการทำวิจัยในครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

AOAC International. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. In Horwitz, W. (Ed.), 17<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC International.

Aoujampa, M. (1988). Making tofu tubes using various coagulants. Bachelor Thesis. Khon Kaen: Khon Kaen University. (in Thai)

Barbosa-Canovas, G.V., Fontana, A., Schmidt, S.J. & Labuza, T.P. (2007). Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications. New York: John Wiley & Sons.

Begum, H.A., Tanni, T.R. & Shahid, A. (2021). Analysis of water absorption of different natural fibers. *Journal of Textile Science and Technology*, 7(4), 152-160.

Bhatnagar, B.S., Bogner, R.H. & Pikal, M.J. (2007). Protein stability during freezing: separation of stresses and mechanisms of protein stabilization. *Pharmaceutical Development and Technology*, 12(5), 505-523.

Chasermpai, P. (2019). Development of plant-based protein and its application for meat replacement in food products, Bachelor Thesis. Bangkok: Siam University. (in Thai)

Chaipan, P. (2018). Reduction of beany flavor for Sacha inchi flour quality improvement and utilization as ingredient in functional food product. Master Degree Thesis. Chonburi: Burapa University. (in Thai)

Dekkers, B.L., Boom, R.M., & van der Goot, A.J. (2018). Structuring processes for meat analogues, *Trends in Food Science & Technology*, 81, 25-36.



- Ediriweera, N. D. (1996). Effect of calcium salt in minimising beany flavor in soymilk. In *Proceedings of the second international soybean processing and utilization conference*. (pp. 166-170). Thailand: Funny Publishing Limited Partnership.
- Godfray, H.C.J., Aveyard, P., Garnett, T., Hall, J. W., Key, T.J., Lorimer, J., Pierrehumbert, R.T., Scarborough, P., Springman, M., & Jebb, S.A. (2018). Meat consumption, health, and the environment. *Science*, 361(6399): eaam5324.
- Jooyandeh, H. (2011). Soy products as healthy and functional foods. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 7(1), 71-80.
- Kazemzadeh, M., Diehl, K.C. JR., Rhee, K. C., & Dahm, P.F. (1986). Mechanical and structural evaluation of texturized soy proteins of varying protein content. *Cereal Chemistry*, 63(4), 304-310.
- Kitcharoenthawornchai, N., & Harnsilawat, T. (2015). Characterization of meat analogue nugget: effect of textured vegetable protein. *Food and Applied Bioscience Journal*, 3(2), 121–129.
- Kohyama, K., Sano, Y., & Doi, E. (1995). Rheological characteristics and gelation mechanism of tofu (soybean crud). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 1808-1812.
- Marinova, D., & Bogueva, D.J.S.E. (2019). Planetary health and reduction in meat consumption. *Sustainable Earth*, 2(3), 1-12.
- Martins, J.T., Bourbon, A.I., Pineiro, A.C., Fasolin, L.H. & Vicente, A.A. (2018). Protein-Based Structures for Food Applications: From Macro to Nanoscale. *Frontiers in Sustainable Food System*, 2, 1-18.
- Panyathitipong, W., & Puechkamut, Y. (2002). Quality of tofu powder as affected by soybean variety, coagulant and drying method. Master Thesis. Bangkok: King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. (in Thai)



- Prabhakaran, M.P., Perera, C.O., & Valiyaveetil, S. (2005). Quantification of isoflavones in soymilk and tofu from South East Asia. *International Journal of Food Properties*, 8(1), 113–123.
- Pukrushpan, L. (1986). Combination effect of alkaline carbonate buffers and blanching time on lipoxygenase inactivation and protein extractability. *Agriculture and Natural Resources*, 20(2), 179-185.
- Rareunrom, K. (2005). Effect of ingredients on physical structure and chemical linkages of soy protein meat analog. Master Thesis. Nakhon Ratchasima: Suranaree University of Technology. (in Thai)
- Singh, A. & Sit, N. (2022). Meat analogues: types, methods of production and their effect on attributes of developed meat analogues. *Food and Bioprocess Technology*, 15(5), 1-19.
- Soret, S., Mejia, A., Batech, M., Jaceldo-Siegl, K., Harwatt, H., & Sabate, J. (2014). Climate change mitigation and health effects of varied dietary patterns in real-life settings throughout North America. *American Journal of Clinical Nutrition*, 100, 490S–495S.
- Tay, J.H., Liu, Q.S., & Liu, Y. (2001). The effects of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57, 227–233.
- Vongpratheep, N. (1997). Study on factor effecting the yield and quality of soy curd. Master Thesis. Bangkok: King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. (in Thai)
- Wilken, W.F., Mattick, L.R., & Hand, D.B. (1967). Effect of processing method on oxidative off-flavors of soybean milk. *Food Technology*, 21(12), 86-89.
- Zhu, S., Riaz, M.N., & Lusas, E.W. (1996). Effect of different extrusion temperatures and moisture content on lipoxygenase inactivation and protein solubility in soybeans. *Journal Agricultural of Food Chemistry*, 44(10), 3315–3318.