บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 หอยเม่นหรือเม่นทะเล (sea urchin)

หอยเม่น จัดอยู่ในชั้น (class) Echinoidea เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง รูปร่างครึ่งทรงกลมคล้ายถ้วยคว่ำ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7–12 ซม เปลือกหรือกระดองเป็นหินปูน ด้านหลังคือส่วนที่โค้งนูน มีหนามยาวปลายแหลมเรียงเป็นแถวขนานกันตามส่วนโค้งนูน ซึ่งหนามอาจจะแหลมหรือทู่ขึ้นกับชนิดของหอยเม่น (สุภาวดี จุลละศร, 2525) ระหว่างหนามมีหนวดสั้นๆ เรียงขนานไปกับหนาม ตรงกลางเป็นช่องเปิดของทวาร ทำหน้าที่ขับถ่ายของเสีย ปากอยู่ทางด้านล่างมีลักษณะกลม มีเขี้ยวที่แหลมคม 3 อัน ใช้ขบเคี้ยวอาหารก่อนที่จะส่งเข้าสู่กระเพาะอาหาร มีระบบท่อน้ำ (water vascular system) ที่มีลักษณะเป็นท่อน้ำแตกแขนงไปตามแฉกรัศมีภายในร่างกาย ช่วยในการเคลื่อนที่ การไหลเวียน และการกินอาหาร (สุเมตต์ ปุจฉากร, 2538) เมื่อหอยเม่นมีอายุถึงวัยเจริญพันธุ์ จะมีไข่ลักษณะเป็นพวงวางเรียงกันคล้ายดาวห้าแฉก มีสีต่างๆ แล้วแต่พันธุ์ มีน้ำหนักประมาณร้อยละ 8-12 ของน้ำหนักตัว หอยเม่นชอบอาศัยอยู่ตามพื้นท้องทะเลที่เป็นทรายทรายปนโคลน หรือตามโพรงซอกหิน กินสาหร่ายทะเล ซากสัตว์เน่าเปื่อยและสารอินทรีย์ขนาดเล็กเป็นอาหาร (วันชัย สุทธินุ่น, 2538)

2.1.1 ประโยชน์ของหอยเม่นหรือเม่นทะเล

หอยเม่นที่มีชีวิตสามารถนำมาใส่ในตู้ปลาเพื่อประดับให้เกิดความสวยงามและสร้างบรรยากาศให้เป็นธรรมชาติ กระดองและหนามใช้เป็นเครื่องประดับ สีที่ได้จากการสกัดจากกระดองและหนามใช้ย้อมหนังและตาข่ายดักปลา ส่วนไข่ใช้เป็นอาหารทั้งในรูปไข่สดและไข่แปรรูปรับประทานกับข้าวหรือใช้แกล้มสุรา (วันชัย สุทธินุ่น, 2538) นอกจากนี้หอยเม่นยังเป็นผู้ควบคุมสมดุลในระบบนิเวศ โดยหอยเม่นจะกินพวกสาหร่ายตามวัตถุใต้น้ำ ทำให้ตัวอ่อนของสิ่งมีชีวิตแบบเกาะติด (sessile) เช่น ปะการัง เพรียง ฟองน้ำ หอยฝาคู่ มีโอกาสลงเกาะและเจริญเติบโตต่อไปได้ (สุเมตต์ ปุจฉากร, 2538)

2.1.2 การแปรรูปไข่หอยเม่น

หอยเม่นมีหลายพันธุ์ แต่พันธุ์ที่มีคุณค่าทางการค้าหรือเศรษฐกิจในแง่ของการใช้เป็นอาหาร ได้แก่ *Strongylocentrotus pulcherrimus* (หอยเม่นสีเขียว), *Strongylocentrotus intermedius* (หอยเม่นสีม่วง), *Strongylocentrotus nudus*, *Strongylocentrotus franciscanus* (หอยเม่นสีแดง), *Anthocidaris crassispina*, *Pseudocentrotus depressus*, *Temnapleurus loremmaticus, Mespilia globulus, Tripneustes gratilla, Pseudoboletia maculata, Tocopneustes pilcolus* และ *Colobocentrotus mertensii* ในบรรดาหอยเม่นที่กล่าวมาทั้งหมด *Strongylocentrotus pulcherrimus* และ *Strongylocentrotus franciscanus* มีราคาแพงที่สุด เนื่องจากไข่มีขนาดใหญ่ ปริมาณมาก มีสีเหลืองถึงแดงรสชาติอร่อยกว่าพันธุ์อื่นและมีคุณค่าทางอาหารสูง (วันชัย สุทธินุ่น, 2538) โดยไข่หอยเม่นสดมีองค์ประกอบทางเคมี คือ ความชื้น 71.5% โปรตีน 15.8% ไขมัน 8.5% คาร์โบไฮเดรต 2.2% กลูโคส 103.0 มิลลิกรัม % และ inosine monophosphate (IMP) 2.0 มิลลิกรัม % (Ramachandran และ Terushige, 1991) ไข่หอยเม่นมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าปลา หมู และสัตว์ปีก แต่มากกว่าสัตว์น้ำประเภทหอยและปลาหมึก และมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตต่ำกว่าหอยนางรม แต่สูงกว่าปลา เนื้อสัตว์ หมู และสัตว์ปีก ส่วนความชื้นมีปริมาณใกล้เคียงกัน (วันชัย สุทธินุ่น, 2538)

หอยเม่นเป็นอาหารของมนุษย์มาตั้งแต่โบราณ โดยเฉพาะในประเทศเขตร้อน และแถบเมดิเตอร์เรเนียน (Mediterranean) ซึ่งบริโภคไข่หอยเม่นเพียงบางชนิดเท่านั้น โดยทั่วไปมักจะบริโภคสด แต่บางพื้นที่จะทำให้สุกก่อนบริโภค (Harvey, 1956)

ในบางประเทศจัดหอยเม่นเป็นสัตว์เศรษฐกิจชนิดหนึ่ง โดยใช้เป็นอาหาร ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น ชิลี และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น แต่รายงานเกี่ยวกับชีววิทยาของหอยเม่นนั้น ยังมีไม่มากนัก ยกเว้นในประเทศญี่ปุ่น การทำประมงหอยเม่นนั้น จะต่างชนิดกันไปในแต่ละประเทศ เช่น ประเทศในกลุ่มแอตแลนติก ยุโรป และประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน จะทำประมงหอยเม่นชนิด *Paracentrotus lividus* มากที่สุด นอกเหนือจากนั้นจะเป็นพวกที่มีขนาดใหญ่ ได้แก่ *Echinus esculentrus* และ *Echinus melo* เป็นต้น ในประเทศกลุ่มแอตแลนติก อเมริกาเหนือ จะทำประมงหอยเม่นชนิดคือ *Strongylocentrotus droebachiensis* กันมาก ส่วนในอเมริกาใต้จะทำประมงหอยเม่น ชนิด *Loxechinus albus* เป็นส่วนใหญ่ และประเทศที่มีการทำประมงหอยเม่นมากที่สุด คือ ประเทศญี่ปุ่นซึ่งจะทำประมงหอยเม่นชนิดหลักๆ ได้แก่ *Strongylocentrotus intermedius, Heterocentrotus pulcherrimus* และ *Pseudocentrotus depzessus* สาเหตุที่ทำประมงมาก เพราะชาวญี่ปุ่นนิยมบริโภคไข่ของหอยเม่นในรูปของซูชิ จึงทำให้ราคาค่อนข้างสูง และมีการทำ

ประมงอย่างแพร่หลาย (ธนิฏฐา ณ นคร, 2522; ประหยัด มะหมัดและคณะ, 2540; วันชัย สุทธินุ่น, 2538)

ในอิตาลี หอยเม่นเป็นที่รู้จักในชื่อ ricci di mare มักบริโภคร่วมกับหอยนางรมและอาหารทะเลชนิดอื่น ซึ่งเรียกอาหารชนิดนี้ว่า frutta di mare ในเมืองเนเปิลส์ (Naples) นิยมบริโภคหอยเม่นพันธุ์ *Paracentrotus lividus* และ *Sphaerechinus granularis* แต่หอยเม่นพันธุ์ *Sphaerechinus granularis* ส่วนใหญ่บริโภคโดยชาวประมง เนื่องจากหายากและอาศัยอยู่ในน้ำลึก หอยเม่นพันธุ์ *Psammechinus microtuberculatus* ซึ่งมีขนาดเล็กมาก และพันธุ์ *Arbacia lixula* จะไม่นำมาบริโภค

ในประเทศกรีซ จะบริโภคหอยเม่นสดหรือปรุงอาหารผสมกับข้าว นอกจากนี้ ยังมีการบริโภคหอยเม่นในประเทศโปรตุเกสและอเมริกาใต้ รวมทั้งประเทศชิลีตอนใต้ มีการบริโภคหอยเม่นพันธุ์ *Loxechinus albus* ประเทศญี่ปุ่นมีหอยเม่นที่สามารถบริโภคได้อย่างน้อย 6 พันธุ์ และมีราคาแพง โดยนิยมบริโภคสด และบางครั้งจะบริโภคกับมะนาวเล็กน้อยหรือทำให้สุก เช่น นำหอยเม่นมาต้มและบริโภคกับมะนาวเล็กน้อยหรือทำเป็นซุป นำไข่หอยเม่นมาวางบนเปลือกหอยแล้วให้ความร้อนโดยการย่าง เรียกว่า Motomura หรือนำไข่หอยเม่นมาผสมกับเกลือในปริมาณ 3 เท่า แล้วทำเป็นเพส (paste) บรรจุขวด ใช้เป็นเครื่องปรุงรส (Harvey, 1956)

สำหรับในประเทศไทยการบริโภคหอยเม่นยังไม่เป็นที่แพร่หลาย นอกจากนำมาใช้ในการศึกษาวิจัยโดยใช้เป็นดรรชนีบ่งชี้คุณภาพน้ำตามแหล่งต่างๆ ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับหอยเม่นในเมืองไทยจึงมีค่อนข้างน้อย (ประหยัด มะหมัดและคณะ, 2540) ในประเทศไทยมีหอยเม่นประมาณ 11 ชนิด ซึ่งการที่จะนำเอามารับประทานหรือเพื่อการส่งออกนั้นจำเป็นต้องมีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเพิ่มเติม เนื่องจากขณะนี้ส่วนมากจะเป็นการแพร่พันธุ์ตามธรรมชาติและยังมีขนาดเล็กเกินไป นอกจากนี้การศึกษาเพื่อแปรรูปและปรับปรุงรสชาติของหอยเม่นไทยให้ดีขึ้นก็มีความจำเป็นเช่นกัน (ปกรณ์ อุ่นประเสริฐ, 2534) หอยเม่น พันธุ์ *Diadema setosum* เป็นหอยเม่นที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจของไทยแต่ชาวไทยไม่นิยมบริโภคไข่ของหอยเม่นชนิดนี้เท่าใดนัก ในขณะที่ชาวญี่ปุ่นรับประทานกันอย่างแพร่หลายโดยรับประทานแบบสดๆ บีบมะนาวหรือดองแล้วนำมาจิ้มกับซีอิ๊วญี่ปุ่น เรียกว่า "Nama-Uni" มีราคาแพง นอกจากนี้ยังสามารถใช้เปลือกของหอยเม่นทำเป็นเครื่องประดับ หรือผสมกับอาหารสัตว์ (สุภาวดี จุลละศร, 2525)

กรรมวิธีการแปรรูปไข่หอยเม่น ทำได้โดยนำหอยเม่นเป็นๆ มาล้างทำความสะอาดผ่ากระดองออกโดยใช้มีดและค้อนทุบเบาๆ เพื่อให้ไข่คงรูปเป็นพวงที่สมบูรณ์ที่สุด ไข่พวกนี้นิยมนำไปรับประทานสดๆ แช่เย็นหรือแช่แข็ง ซึ่งมีราคาแพง ส่วนไข่ที่หลุดร่วงจากพวง จะรวบรวมแล้วนำ

ไปทำเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น ไข่หมักเกลือ ซึ่งมีราคาต่ำลงมา จากนั้นใช้ช้อนตักเอาเครื่องในออก แยกเอาเฉพาะไข่ใส่ตะแกรงตาถี่นำไปล้างในอ่างน้ำเกลือ เพื่อให้สิ่งอื่นๆ ที่มีน้ำหนักเบาลอยขึ้นมา แล้วตักทิ้งไป นำไข่ที่ล้างสะอาดดีแล้วปล่อยทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ รวบรวมใส่ในถังไม้แยกกันระหว่างไข่ที่เป็นพวงสมบูรณ์ และไข่ที่หลุดร่วงจากพวง นำไปประมูลขายกันในตลาดสด หรือแปรรูปเป็นไข่หมักเกลือต่อไป (Ramachandran และ Terushige, 1991)

ผลิตภัณฑ์ไข่หอยเม่นหมักเกลือมีหลายชนิด มีความแตกต่างกันอยู่ที่ลักษณะของผลิตภัณฑ์และขั้นตอนการแปรรูป แต่มีสิ่งที่เหมือนกันคือ นิยมใช้หอยเม่นที่หลุดร่วงจากพวงเท่านั้น ผลิตภัณฑ์ไข่หอยเม่นหมักเกลือ (Tanikawa, Motohiro และ Akiba, 1985) ได้แก่

Mizu-uni ลักษณะค่อนข้างเหลว ทำได้โดยการนำเกลือป่นโรยเป็นชั้นๆ สลับกับไข่ในถังไม้หรือถังพลาสติก เกลือที่ใช้ประมาณร้อยละ 30-40 ของน้ำหนักไข่ ปิดฝาให้แน่น ทิ้งไว้ในที่เย็นระยะหนึ่ง เพื่อให้เกิดการหมักอย่างช้าๆ

Dori-uni มีลักษณะคล้าย Mizu-uni แต่มีความข้นหนืดมากกว่า นิยมใช้ไข่ของหอยเม่นสีม่วงและสีแดง นำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 6-9 จากนั้นปล่อยทิ้งไว้ให้สะเด็ด โรยด้วยเกลือป่นร้อยละ 25-30 สลับเป็นชั้นๆ กับไข่

Neri-uni นิยมใช้ไข่สีม่วงและสีแดงเช่นเดียวกับ Dori-uni นำมาล้างทำความสะอาด ทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ โรยเกลือเป็นชั้นบางๆ บนโต๊ะ ฉีดพ่นด้วยน้ำเกลือและโรยทับด้วยเกลือป่นอีกครั้ง ปริมาณของเกลือที่ใช้โรยขึ้นอยู่กับคุณภาพ ฤดูกาลและความสดของไข่ แต่ปกติจะอยู่ในช่วงร้อยละ 20-30 ทิ้งไว้ระยะหนึ่ง จากนั้นนำมาเกลี่ยบนตะแกรงไม้ไผ่ตาถี่เพื่อให้สะเด็ดน้ำ รวบรวมใส่ในถังไม้ ปิดฝาให้สนิทปล่อยทิ้งไว้ให้เกิดการหมักเป็นระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นนำไข่ขึ้นมาแล้วบดด้วยกระบอกไม้ไผ่หรือเครื่องบดก็ได้จนละเอียด ใส่ในถังไม้ เติมน้ำตาล เหล้าสาเกชนิดหวานและผงชูรสคลุกเคล้าให้เข้ากันดี ปิดฝาให้สนิท ปล่อยทิ้งไว้ให้เกิดการหมักอีกครั้งจนได้ที่ บรรจุขวดเก็บรักษาไว้ในสภาพแช่เย็นหรืออุณหภูมิห้องขึ้นอยู่กับความเค็มและแอลกอฮอล์ที่ใช้ล้าง โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ที่มีความชื้น ปริมาณเกลือและแอลกอฮอล์ร้อยละ 50, 10 และ 7 ตามลำดับ สามารถเก็บได้เป็นเวลานานถึง 3-5 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง

2.1.3 ฤดูกาลวางไข่ของหอยเม่นหรือเม่นทะเล

หอยเม่นชนิดหนามยาว พันธุ์ *Diadema setasum* มีมากที่สุดในย่านทะเลโซนร้อนตั้งแต่หมู่เกาะฮาไวอิ จนถึงแอฟริกาและโดยเฉพาะในย่านอินโดแปซิฟิก หอยเม่นชนิดนี้มีหนามหรือขนแข็งแต่เปราะ หนามจะยาวกว่าลำตัวมาก ประมาณ 30 ซม หรือมากกว่า (นภา รายะนาค,

2533) การผสมพันธุ์ของหอยเม่นหนามยาว *Diadema setosum* จะรวมกันเป็นกลุ่มใหญ่แล้วจะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์เพื่อผสมกันภายนอกตัว และหอยเม่นในสกุล (genus) *Diadema* และ *Toxopneustis* มีความน่าจะเป็นที่จะสามารถใช้ประโยชน์ นำมาศึกษาการพัฒนาการของไข่และตัวอ่อน และการทดสอบสารมลพิษ (สุเมตต์ ปุจฉากร, 2538)

ประหยัด มะหมัดและคณะ (2540) ได้ศึกษาฤดูกาลวางไข่ และชนิดอาหารของหอยเม่นหนามยาว พันธุ์ *Diadema setosum* บริเวณหมู่เกาะแสมสารและละแวกใกล้เคียง พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของ gonad โดยพิจารณาจากค่า gonad index พบว่าค่า gonad index ของหอยเม่นบริเวณเกาะขามจะสูงในเดือนมกราคมถึงเดือนสิงหาคม และสูงสุดในเดือนเมษายน ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ค่า gonad index ของหอยเม่นบริเวณเกาะแสมสารจะสูงในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนกรกฎาคม ส่วนหอยเม่นบริเวณเกาะแรดจะมีค่า gonad index สูงในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนตุลาคม และอุณหภูมิน้ำทะเลบริเวณที่เก็บตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงน้อย นอกจากนี้องค์ประกอบของอาหารที่พบในระบบทางเดินอาหารของหอยเม่น ส่วนใหญ่จะเป็นพวกไดอะตอม ส่วนแพลงก์ตอนสัตว์และซากอินทรีย์วัตถุจะพบน้อย

นิภาวรรณ บุษราวิช (2535) ศึกษาฤดูกาลวางไข่ของหอยเม่น พันธุ์ *Diadema setosum* ที่แพร่กระจายอยู่บริเวณชายทะเล แหลมพันวาทางตอนใต้ของเกาะภูเก็ต พบว่าหอยเม่น พันธุ์ *Diadema setosum* มีฤดูวางไข่แบ่งออกเป็น 2 ช่วง ช่วงแรกตั้งแต่ปลายเดือนมิถุนายนถึงเดือนสิงหาคม โดยมีการวางไข่สูงสุดตอนปลายเดือนกรกฎาคม ช่วงที่สองเริ่มตั้งแต่ปลายเดือนตุลาคมจนถึงธันวาคม ขนาดของหอยเม่นต่ำสุดที่สามารถจะเป็นแม่พันธุ์ได้จะมีปริมาตรตัวไม่ต่ำกว่า 40 ซม^3 และมีน้ำหนักตัวประมาณ 50 กรัม

Pearse (1968) พบว่าหอยเม่น พันธุ์ *Diadema setosum* และ *Echinometra mathaei* จะมีไข่มากบ้างน้อยบ้างตลอดปีเมื่อเกิดอยู่ใกล้บริเวณศูนย์สูตร แต่ประชากรของหอยเม่นทั้งสองพันธุ์นี้ที่อาศัยอยู่ในเส้นรุ้งที่ห่างออกไปทางเหนือขึ้นไปหรือใต้เส้นศูนย์สูตรลงไป พบว่ามีช่วงเวลาของการสืบพันธุ์เด่นชัดมากกว่าพวกที่เกิดอยู่ใกล้บริเวณศูนย์สูตร วงจรการสืบพันธุ์ (reproductive cycle) ของ *Diadema setosum* จะเห็นชัดเจนเมื่ออยู่ที่เส้นรุ้ง 10-16 องศา จากเส้นศูนย์สูตร และพวกที่อยู่ที่เส้นรุ้ง 30 องศา จะวางไข่เฉพาะในฤดูร้อนเท่านั้น ดังนั้นอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงขึ้นๆ ลงๆ และเขตเส้นรุ้งที่หอยเม่นอยู่อาศัยเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อวงจรของการสืบพันธุ์

Vernberg และ Vernber (1972) กล่าวว่ากระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (gametogenesis) ของหอยเม่นเริ่มขึ้นในกลางฤดูหนาวขณะที่อุณหภูมิต่ำลงและเป็นวันที่มีช่วง

แสงสั้น และเริ่มวางไข่ในเดือนเมษายน เมื่ออุณหภูมิน้ำสูงสุดคือประมาณ 25 °C และสิ้นสุดลงในเดือนกันยายน ขณะที่อุณหภูมิน้ำต่ำกว่า 25 °C และความเค็มคงที่เฉลี่ยประมาณ 42.5 ส่วนในพัน นอกจากนี้ Pearse (1968) ยังกล่าวว่าวงจรการสืบพันธุ์มีความสัมพันธ์กับอาหารสะสมของสัตว์น้ำ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น อัตราการหายใจจะสูงไปด้วย จึงต้องใช้พลังงานมากขึ้นทำให้มีอาหารสะสมน้อย ดังนั้นกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์จะเริ่มในฤดูหนาวเมื่อมีอาหารสะสมมากพอกับความต้องการ และสิ้นสุดลงในกลางฤดูร้อนเมื่อมีอาหารสะสมน้อยลง

2.2 **องค์ประกอบของสารสกัด** (extractive components)

รสและรสชาติของสัตว์น้ำเกิดจากองค์ประกอบที่ละลายในน้ำหรือละลายในน้ำลายเมื่อบริโภค ในบางครั้งรสและรสชาติอาจเกิดจากโปรตีน โพลีแซคคาไรด์ สารประกอบรงควัตถุ และวิตามิน แต่องค์ประกอบที่สำคัญที่ทำให้เกิดรสและรสชาติคือองค์ประกอบของสารสกัด

องค์ประกอบของสารสกัดที่ให้รสของอาหารทะเลเป็นสารประกอบที่ละลายในน้ำและมีมวลโมเลกุลต่ำ องค์ประกอบของสารสกัดสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ สารประกอบไนโตรเจน (nitrogenous compounds) เช่น กรดอะมิโนอิสระ สารประกอบของกรดอะมิโน สารประกอบนิวคลีโอไทด์ และ organic bases เป็นต้น และสารที่ไม่เป็นสารประกอบไนโตรเจน (non-nitrogenous compounds) ได้แก่ น้ำตาลและกรดอินทรีย์ เป็นต้น (Fuke, 1994; Konosu และ Yamaguchi, 1982)

<u>สารประกอบไนโตรเจน (nitrogenous compounds)</u>

<u>กรดอะมิโนอิสระ (free amino acids)</u>

สัตว์น้ำแต่ละชนิดมีปริมาณของกรดอะมิโนอิสระแตกต่างกัน โดยปริมาณของกรดอะมิโนอิสระในปลาจะมีมากที่สุด รองลงมาคือ สัตว์จำพวก crustaceans และ mollusks ตามลำดับ

ปลาเนื้อขาวบางชนิด ปลาเนื้อแดง ปลาทะเลและปลาน้ำจืด จะมีปริมาณ taurine สูง ส่วนสัตว์จำพวก crustaceans และ mollusks จะมีปริมาณ taurine, proline, glycine, alanine, และ arginine สูง แต่สัตว์จำพวก mollusks จะมีปริมาณของกรดอะมิโนอิสระชนิดดังกล่าวแตกต่างกัน ขึ้นกับพันธุ์ของสัตว์แต่ละชนิด ซึ่งจะเห็นได้ว่ากรดอะมิโนอิสระที่พบมากในสัตว์น้ำเกือบทุกชนิด คือ taurine ซึ่งในหอยเป๋าฮื้อมีปริมาณ taurine ประมาณ 1,000 มิลลิกรัม / กรัม

นอกจากนี้ยังพบ sarcosine, citrulline, ∝-amino-n-butyric acid, β-alanine, β-aminoiso-butyric acid, γ-amino-n-butyric acid, ethanolamine, ornithine, 1-methylhistidine และ 3-methylhistidine แต่จะพบในปริมาณที่น้อยและมีปริมาณที่ต่างกันไปขึ้นกับพันธุ์ของสัตว์น้ำ และในปลาบางชนิด ยังพบ phosphoserine, phosphoethanolamine, serine ethanolamine phosphate และ threonine ethanolamine phosphate (Konosu, 1971) โดยจะพบ serine ethanolamine phosphate และ threonine ethanolamine phosphate ในปริมาณน้อยในกล้ามเนื้อของ rainbow trout และ carp (Porcellati, Floridi, และ Ciammarughi, 1965)

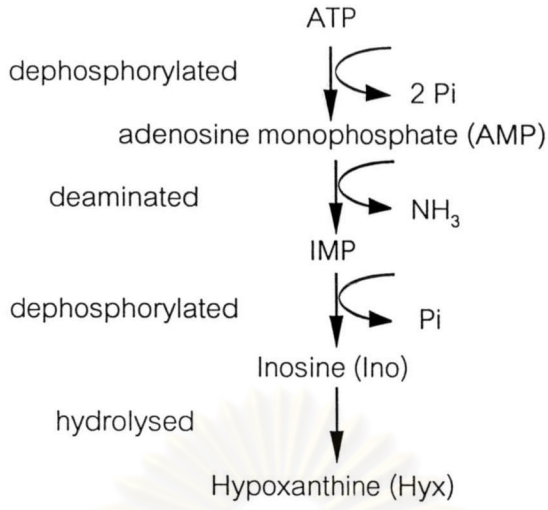
เพปไทด์ (peptides)

ในสารสกัดจากกล้ามเนื้อของปลาและสัตว์จำพวกหอย จะมีเพปไทด์ในจำนวนจำกัด ชนิดของเพปไทด์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำที่พบในสารสกัด เช่น carnosine, anserine, balenine และ glutathione ซึ่ง carnosine เป็นไดเพปไทด์ที่ประกอบด้วย β-alanine และ histidine ส่วน anserine เป็นไดเพปไทด์ที่ประกอบด้วย β-alanine กับ methylhistidine (Konosu และ Yamaguchi, 1982)

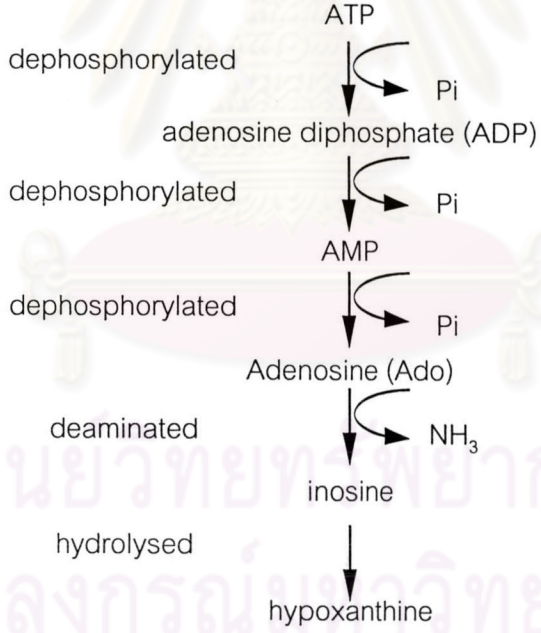
สารประกอบนิวคลีโอไทด์และสารประกอบอื่นที่เกี่ยวข้อง (nucleotides and related compounds)

สารประกอบนิวคลีโอไทด์และสารประกอบอื่นที่เกี่ยวข้อง มีบทบาทสำคัญทำให้เกิดรส umami สารประกอบ 5'–necleotide เช่น IMP (inosine monophosphate) และ GMP (guanosine monophosphate) จะทำหน้าที่ทำให้เกิดรส umami เมื่ออยู่ร่วมกับ glutamic acid และสารประกอบนิวคลีโอไทด์ส่วนใหญ่ในกล้ามเนื้อของปลาและสัตว์จำพวกหอย เป็นอนุพันธุ์ของสารประกอบพิวรีน (purines) และยังพบอนุพันธ์ของ uracil และ cytosine ในปริมาณเล็กน้อย (Seki, 1971)

ในกล้ามเนื้อของสัตว์ที่ยังมีชีวิตจะมี ATP (adenosine triphosphate) เป็นองค์ประกอบหลัก หลังจากสัตว์ตายจะเกิดการสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ โดย pathway ของการสลายตัวของสารประกอบตัวนี้ในกล้ามเนื้อปลา เป็นดังนี้



เนื่องจากปฏิกิริยาในการสลายตัวของ IMP ไปเป็น inosine เกิดค่อนข้างช้า ทำให้ในกล้ามเนื้อของปลาสดมีปริมาณ IMP สูง ส่วนในสัตว์จำพวก crustaceans จะมีแนวโน้มที่จะมี AMP สูง เนื่องจาก AMP deaminase มี activity ต่ำ และสัตว์จำพวก mollusks จะมี AMP deaminase น้อย ดังนั้น pathway หลักของการสลายตัวของ ATP จะเป็นดังนี้



แต่อย่างไรก็ตามปริมาณของสารประกอบนิวคลีโอไทด์ชนิดต่างๆ ยังขึ้นกับความสดของสัตว์น้ำด้วย (Konosu และ Yamaguchi, 1982)

Guanidino compounds

ในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำจะพบ guanidino compounds ชนิดหลัก คือ creatine และ arginine โดยจะพบ creatine มากในปลา และพบ arginine เป็นจำนวนมากในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง สารประกอบทั้งสองในกล้ามเนื้อของสัตว์ที่ยังมีชีวิต มักจะอยู่ในรูป phosphorylated form ทำหน้าที่เป็นสารประกอบที่ให้หมู่ฟอสเฟต (phosphagen) ใน energy metabolism ของกล้ามเนื้อ ส่วน creatinine จะเกิดจากปฏิกิริยา dehydration ของ creatine (Konosu และ Yamaguchi, 1982) octopine เป็น guanidino compound ที่พบเฉพาะในสัตว์จำพวก mollusks และ octopine ในหอยแครง จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อปริมาณของ arginine phosphate ลดลง (Grieshaber และ Gaede, 1977)

ยูเรีย (urea)

ยูเรียในกล้ามเนื้อ จะทำหน้าที่ในปฏิกิริยา detoxification ของ ammonia และทำหน้าที่ควบคุม osmotic pressure ในกล้ามเนื้อ (Konosu และ Yamaguchi, 1982)

Quaternary ammonium bases

เบสที่พบทั่วไปในกล้ามเนื้อของปลาและสัตว์จำพวกหอย คือ trimethylamine oxide (TMAO) และ betaines โดย TMAO จะทำหน้าที่เป็น osmoregulator และ trimethylamine (TMA) เป็นสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นไม่ดีในเนื้อปลา (Botta, 1994) ซึ่งจะมีปริมาณน้อยมากในกล้ามเนื้อสด แต่จะมีปริมาณเพิ่มขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยา reduction ของ TMAO ด้วยจุลินทรีย์หลังจากที่สัตว์ตาย สารประกอบ betaines ชนิดหลัก คือ glycine betaine ซึ่งจะพบในสัตว์จำพวก crustaceans และ mollusks รองลงมาคือ hormarine ซึ่งส่วนใหญ่จะพบในสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (Hayashi, Yamaguchi และ Konosu, 1978) นอกจากนี้ สารประกอบ betaines ตัวอื่นที่พบ คือ γ-butyrobetaine, carnitine, trigonelline และ stachydrine แต่จะพบในปริมาณน้อย (Konosu และ Yamaguchi, 1982)

สารที่ไม่เป็นสารประกอบไนโตรเจน (non-nitrogenous compounds)

กรดอินทรีย์ (organic acids)

กรดอินทรีย์ที่พบในกล้ามเนื้อสัตว์น้ำ เช่น lactic acid, propionic acid, acetic acid, pyruvic acid, succinic acid และ oxalic acid เป็นต้น โดย lactic acid เกิดจากปฏิกิริยา glycolysis (Konosu และ Yamaguchi, 1982)

น้ำตาล (sugars)

น้ำตาลอิสระที่พบมากในกล้ามเนื้อปลาและสัตว์จำพวกหอย ได้แก่ glucose และ ribose โดยทั่วไปจะพบน้ำตาลอิสระในกล้ามเนื้อปลาและสัตว์จำพวกหอยในปริมาณค่อนข้างน้อย แต่น้ำตาลอิสระปริมาณเพียงเล็กน้อยนี้ สามารถทำให้เกิดรสและรสชาติในสัตว์น้ำได้ (Konosu และ Yamaguchi, 1982)

เกลืออนินทรีย์ (inorganic salts)

ไอออนของเกลืออนินทรีย์ที่มีผลทำให้เกิดรสและรสชาติที่สำคัญ และพบมาก ได้แก่ Na^+, K^+ และ Cl^- และยังพบ PO_4^{3-} ในปริมาณที่น้อยกว่า (Hayashi, Yamaguchi, และ Konosu, 1981)

ประโยชน์ของการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดคือการได้ข้อมูลที่สามารถนำมาใช้ในการบ่งชี้สาเหตุของการเกิดรสและรสชาติของผลิตภัณฑ์ ทราบสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงของรสและรสชาติของผลิตภัณฑ์ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ได้ข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสัตว์น้ำและสัตว์ชนิดอื่น และเป็นข้อมูลในการผลิตสารสกัดสังเคราะห์เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร

ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบของสารสกัดที่สำคัญที่สุดคือพันธุกรรมของสัตว์แต่ละชนิด ซึ่งมีผลทำให้สัตว์แต่ละชนิดมีรสและรสชาติเฉพาะตัว นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อองค์ประกอบของสารสกัด เช่น ฤดูกาล กระบวนการให้ความร้อน ระยะของการเจริญเติบโต การอพยพเพื่อวางไข่ สภาวะแวดล้อม อาหาร ส่วนของเนื้อเยื่อ และความสด เป็นต้น ซึ่งในงานวิจัยนี้สนใจที่จะศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังนี้ พันธุ์ของสัตว์ทะเลแต่ละชนิด ฤดูกาลในการเพาะเลี้ยงหรือจับสัตว์ทะเลและกระบวนการให้ความร้อนระหว่างการแปรรูป

2.2.1 ผลของพันธุ์ (species) ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสกัด

องค์ประกอบของกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดในสัตว์จำพวกหอย มีปริมาณมากกว่าในปลา แต่มีปริมาณน้อยกว่าในสัตว์จำพวกปู กุ้งและปลาหมึก ซึ่งวิเคราะห์พบ taurine, proline, glycine, alanine และ arginine ในปริมาณมาก โดยระดับของกรดอะมิโนจะแปรผันตามชนิดของสัตว์ เช่น ปริมาณ glycine จะแปรผันตั้งแต่ 1,455 มิลลิกรัม / 100 กรัม ในกล้ามเนื้อหอยแครงสดถึง 10 มิลลิกรัม / 100 กรัม ในกล้ามเนื้อปลาหมึกสด และมีรายงานถึงความแตกต่างระหว่างปลาหมึกและหอย คือ ปลาหมึกมีปริมาณ proline มากกว่าหอยแต่มีปริมาณ glutamic acid น้อย

กว่าหอย ปลาหมึกมีปริมาณ TMAO อยู่ในช่วง 129-1,045 มิลลิกรัม/ 100 กรัม กล้ามเนื้อสด และหอยมีปริมาณ TMAO อยู่ในช่วง 3-107 มิลลิกรัม / 100 กรัม กล้ามเนื้อสด (Fuke, 1994)

Shirai และคณะ (1983) ได้ศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดจากปลาแซลมอน จำนวน 4 พันธุ์ พบว่า องค์ประกอบที่พบมากคือไดเพปไทด์ของ anserine รองลงมาคือ histidine, taurine, alanine และ glycine ซึ่งปริมาณขององค์ประกอบทั้งห้าชนิดนี้คิดเป็น 80-90% ของปริมาณกรดอะมิโนอิสระและสารประกอบที่เกี่ยวข้องทั้งหมด และองค์ประกอบของสารสกัดจากปลาแซลมอนแต่ละพันธุ์จะแตกต่างกันอย่างชัดเจน แต่มีความแตกต่างกันเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศและส่วนของกล้ามเนื้อ

Murata, Henmi และ Nishioka (1994) ได้ศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดจากกล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) ของปลาในวงศ์ (family) Scombridae จำนวน 10 พันธุ์ และเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดของกล้ามเนื้อปลาในวงศ์นี้ เพื่อพิสูจน์หาสาเหตุของรสฝาดเล็กน้อย (astringency) และรสเปรี้ยวของเนื้อปลา skipjack ซึ่งไม่เป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภค โดยใช้ปลาในวงศ์ Scombridae จำนวน 10 พันธุ์ พบว่า ปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดในเนื้อปลา skipjack และ frigate mackerel มีมากกว่า 1,000 มิลลิกรัม / 100 กรัม แต่มีปริมาณเพียง 300-400 มิลลิกรัม / 100 กรัม ในเนื้อของ Spanish mackerel ในทุกตัวอย่างมีสารประกอบ imidazole อยู่ 57-96% ของ ninhydrin positive substances ทั้งหมด แต่ไม่มี anserine ใน mackerel skipjack ส่วน frigate mackerel มี lactic acid และ malic acid มากกว่าปลาชนิดอื่น และในกล้ามเนื้อของปลาที่นำมาวิเคราะห์ทุกพันธุ์ มีปริมาณนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 230-500 มิลลิกรัม / 100 กรัม และมีปริมาณ IMP 150-410 มิลลิกรัม / 100 กรัม ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากล้ามเนื้อของ skipjack และ frigate mackerel ที่มีรสฝาดจะประกอบด้วยองค์ประกอบของสารสกัดจำนวนมาก รวมทั้งมีกรดอินทรีย์และนิวคลีโอไทด์ปริมาณเล็กน้อย ดังนั้นรสฝาดและรสเปรี้ยวของเนื้อปลาจึงมีสาเหตุมาจากสารประกอบเหล่านี้รวมกัน

2.2.2 ผลของฤดูกาลที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสกัด

Watanabe, Uehara และ Sato (1985) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบที่เป็นสารประกอบไนโตรเจนของสารสกัด (extractive nitrogenous compounds) ในกล้ามเนื้อของเพรียงหัวหอม (ascidians) พันธุ์ *Halocynthia roretzi* ที่เพาะเลี้ยงตามฤดูกาล โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 เดือน ตั้งแต่เดือนมกราคม ปี 1983 ถึงเดือนมกราคม ปี 1984 ที่อ่าว Okkirai อำเภอ Iwate พบว่า สารสกัดจากกล้ามเนื้อ ascidians มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระสูง โดยเฉพาะ taurine, proline, glutamic acid, glycine, alanine และ histidine และสังเกตพบ quaternary

ammonium bases เช่น glycine betaine และ homarine แต่เกือบจะไม่พบ arginine และ creatine ไนโตรเจนที่สกัดได้ส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนอิสระและสารประกอบนิวคลีโอไทด์และสารประกอบที่เกี่ยวข้อง โดยจะมีปริมาณสูงที่สุดในฤดูร้อนและ/หรือฤดูใบไม้ร่วง และมีปริมาณต่ำที่สุดในฤดูหนาวของทุกปี

Park และคณะ (1991) ได้ศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดจากกล้ามเนื้อ ascidians พันธุ์ *Styela clava* และ *S. plicata* ซึ่งเพาะเลี้ยงที่ชายฝั่งตอนใต้ของประเทศเกาหลี ที่เก็บในเดือนธันวาคม ปี 1988 และเดือนเมษายน ปี 1989 พบว่า ในแต่ละตัวอย่างมี taurine, proline, glutamic acid, glycine และ alanine เป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีปริมาณ taurine มากที่สุด คือ มีปริมาณเป็น 43-65% ของปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมด และมีปริมาณ glycine betaine มากในตัวอย่างที่เก็บในเดือนเมษายน โดยมีปริมาณมากกว่า 300 มิลลิกรัม / 100 กรัม กล้ามเนื้อสด สำหรับสารประกอบนิวคลีโอไทด์และสารประกอบอื่นที่เกี่ยวข้องจะมี AMP เป็นองค์ประกอบหลักของทุกตัวอย่าง เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบองค์ประกอบหลักของสารสกัดจากกล้ามเนื้อ ascidians ทั้งสองพันธุ์กับพันธุ์ *Halocynthia roretzi* ซึ่งได้ทำงานวิจัยไว้ก่อนหน้านี้ (Park และคณะ, 1990; Watanabe และคณะ, 1983; Watanabe และคณะ, 1985) พบว่าองค์ประกอบหลักของสารสกัดคล้ายคลึงกันและปริมาณขององค์ประกอบของสารสกัดจากกล้ามเนื้อของตัวอย่างที่เก็บในฤดูหนาวจะมีปริมาณน้อยกว่าตัวอย่างที่เก็บในฤดูใบไม้ผลิ

Watanabe, Yamanaka และ Yamakawa (1992) ได้ศึกษาผลของฤดูกาลที่มีต่อองค์ประกอบของสารสกัดจากกล้ามเนื้อของ disk abalone พันธุ์ *Haliotis discus* ที่เกี่ยวข้องกับ umami taste โดยเก็บตัวอย่างมาทดลองทุกๆ 2-3 เดือน ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม ปี 1990 ถึงเดือนกรกฎาคม ปี 1991 พบว่า ตัวอย่างที่เก็บในเดือนกรกฎาคมถึงเดือนกันยายนมีปริมาณ AMP มาก ตัวอย่างที่เก็บในเดือนกันยายนมีปริมาณของกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดสูงที่สุดและมีปริมาณลดลงเป็นครึ่งหนึ่งในเดือนอื่น นอกจากนี้ ปริมาณรวมของ glutamic acid, glycine และ AMP ซึ่งเป็นสารประกอบที่ให้รสจะสูงที่สุด (470 มิลลิกรัม / 100 กรัม กล้ามเนื้อสด) ในเดือนกันยายน และมีปริมาณต่ำที่สุด (130 มิลลิกรัม / 100 กรัม กล้ามเนื้อสด) ในเดือนกุมภาพันธ์

2.2.3 ผลของกระบวนการให้ความร้อนที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสกัด

ความร้อนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสกัด แต่มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องไม่มากนัก Shirai และคณะ (1984) กล่าวว่า creatine บางส่วนของปลาแปซิฟิกแซลมอนจะเปลี่ยนไปเป็น creatinine ในระหว่างการให้ความร้อน และการเปลี่ยนแปลงรสของปลาแซลมอนเนื่องจากความร้อนสามารถสังเกตได้ชัดเจน โดยการทดลองชิมปลาแซลมอนสดเปรียบเทียบกับปลาแซลมอนบรรจุกระป๋อง

การสลายตัว (degradation) ของ ATP จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิสูง เช่น ในกรณีที่พบในปูหิมะ (snow crab) ต้ม (Hayashi และคณะ, 1978) และ กล้ามเนื้อของปลาหางเหลือง (yellow tail) ต้ม (Murata และ Sakaguchi, 1988) การศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดจากกุ้งพันธุ์ *Penaeus japonicus* ที่ได้รับความร้อนโดยการต้ม พบว่า ในช่วงแรกของการต้ม จะมีปริมาณ AMP มากแต่มีปริมาณ IMP เล็กน้อย และปริมาณ IMP จะเพิ่มขึ้นในระหว่างการต้ม ซึ่งมีผู้ทดลองเติม AMP ลงในสารสกัดสังเคราะห์ ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนอิสระและ sodium chloride ความเข้มข้น 1% พบว่า สารสกัดสังเคราะห์มีความหวานเพิ่มขึ้น และเมื่อเติมทั้ง AMP และ IMP ลงในสารสกัดสังเคราะห์จะทำให้มีความหวานและมีรส umami เพิ่มขึ้น (Fuke และ Watanabe, 1990)

Hatae และคณะ (1996) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารสกัดของเนื้อหอยเป๋าฮื้อที่ได้รับความร้อนโดยการต้มเป็นเวลา 0, 15, 30, 60, 180 และ 360 นาที พบว่าหลังจากให้ความร้อนเป็นเวลา 15 นาที ปริมาณ ATP ในสารสกัดจากหอยเป๋าฮื้อจะลดลงจนเกือบหมด ในทางตรงกันข้าม หลังจากให้ความร้อนเป็นเวลาเท่ากันปริมาณ AMP จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และวิเคราะห์ไม่พบ IMP ซึ่งเป็นสารให้รส umami แต่ AMP เป็นสารที่ช่วยสนับสนุนให้เกิดรส umami โดยจะเกิด synergism กับ glutamic acid ดังนั้น จึงตั้งสมมุติฐานว่าหอยเป๋าฮื้อที่ผ่านการให้ความร้อนจะมีรส umami เพิ่มขึ้น เนื่องจากมี AMP เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ในระหว่างการให้ความร้อน เนื้อเยื่อจะหดตัวและบีบให้ drips ออกมา ปริมาณรวมของกรดอะมิโนในสารสกัดจากเนื้อเยื่อจึงเพิ่มขึ้นหลังจากให้ความร้อนในช่วงเวลาสั้นๆ เช่น 15 และ 30 นาที แล้วจะมีปริมาณลดลงเมื่อให้ความร้อนนานขึ้น ส่วนปริมาณ AMP จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาในการให้ความร้อน 15-30 นาที โดยมีองค์ประกอบสำคัญของสารสกัดคือ taurine, arginine, alanine, glutamic acid และ glycine และการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบหลักดังกล่าวระหว่างการให้ความร้อนจะคล้ายคลึงกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด อย่างไรก็ตาม ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดใน drips จะเพิ่มขึ้น

2.3 **องค์ประกอบที่ให้รส** (taste active components)

การประเมินหาองค์ประกอบที่ให้รสของอาหาร โดยเฉพาะอาหารทะเล มักจะนิยมใช้วิธี omission test ซึ่งมีขั้นตอนในการประเมินหาองค์ประกอบที่ให้รสหลักๆ ดังนี้

การสกัดสารสกัดจากตัวอย่างอาหาร

สกัดสารสกัดจากตัวอย่างอาหารที่ต้องการทดสอบ โดยใช้ aqueous solution หรือน้ำร้อน ภายใต้สภาวะที่ที่สามารถจะสกัดรสของตัวอย่างอาหารให้ออกมาอยู่ในสารที่ใช้สกัด

การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัด

วิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดที่ได้อย่างละเอียด วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนและปริมาณ dry matter ในสารสกัด แล้วคำนวณ % recovery เพื่อยืนยันว่าสารสกัดที่ใช้ในการวิเคราะห์ ประกอบด้วยองค์ประกอบที่สำคัญครบทุกชนิด

การเตรียมสารสกัดสังเคราะห์ (synthetic extract)

เตรียมสารสกัดสังเคราะห์ โดยใช้สารเคมีทางการค้า โดยสูตรที่ใช้ในการเตรียมสารสกัดสังเคราะห์ได้จากข้อมูลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัด แล้วให้ผู้ทดสอบทดสอบสารสกัดสังเคราะห์ เพื่อยืนยันว่าสารสกัดสังเคราะห์มีรสเหมือนสารสกัดธรรมชาติ

Omission test

การประเมินหาองค์ประกอบที่ให้รสของอาหาร โดยวิธี omission test มักใช้การทดสอบแบบ triangle test หรือบางครั้งใช้ paired difference test โดยให้ผู้ทดสอบ ทดสอบสารสกัดสังเคราะห์ที่มีองค์ประกอบของสารสกัดจากตัวอย่างอาหารครบทุกชนิดเปรียบเทียบกับสารสกัดสังเคราะห์ที่ไม่ได้เติมองค์ประกอบบางชนิดหรือบางกลุ่ม แล้วประเมินหาความแตกต่างของสารละลายที่ใช้ทดสอบ โดยใช้แบบทดสอบ rating scale สำหรับประเมินสมบัติทางด้านรส ได้แก่ รสหวาน รสเค็ม รสเปรี้ยว รสขม และรส umami และสมบัติทางด้านรสชาติ เช่น mouthfulness, thickness, continuity และ ความชอบโดยรวม เป็นต้น แล้วนำผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสมาวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อสรุปว่าองค์ประกอบชนิดใดที่ไม่ได้เติมในสารละลายทดสอบแล้วผู้ทดสอบรู้สึกถึงความแตกต่างในด้านต่างๆ ข้างต้น ซึ่งแสดงว่าองค์ประกอบชนิดนั้นเป็นองค์ประกอบที่ให้รสของตัวอย่างอาหาร (Fuke, 1994)

ในประเทศญี่ปุ่น ไข่หอยเม่นสดและหมักเกลือ มีราคาแพงและเป็นที่นิยมรับประทาน Komata (1964) จึงศึกษาองค์ประกอบที่ให้รสของไข่หอยเม่น พันธุ์ *Strongylocentrotus pulcherrimus* โดยใช้วิธี omission test พบว่า มี glutamic acid, glycine, alanine, valine, methionine, IMP และ GMP เป็นองค์ประกอบที่ให้รสของไข่หอยเม่นพันธุ์ดังกล่าว เมื่อไม่เติม glutamic acid ในสารสกัดสังเคราะห์ จะทำให้มีรส umami ลดลง แต่มีรสหวานเพิ่มขึ้น และเมื่อไม่เติม glycine หรือ alanine จะทำให้สารสกัดสังเคราะห์มีรสขมมากขึ้นและมีรสหวานลดลง ส่วน valine จะทำให้ไข่หอยเม่นมีรสขมเล็กน้อย และ methionine จะเป็นองค์ประกอบที่ทำให้เกิดรสเฉพาะตัวของไข่หอยเม่น ทำให้ไข่หอยเม่นมีรสเข้มข้นขึ้นและเกิด after-taste นอกจากนี้ IMP และ GMP เมื่ออยู่ร่วมกันจะทำให้เกิดรสชาติของเนื้อ

Shirai และคณะ (1996) ได้วิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากกล้ามเนื้อส่วนท้องของ Japanese spiny lobsters และ shovel-nosed lobsters พบว่า lobsters ทั้งสองพันธุ์ มีปริมาณ glycine, arginine, glycine betaine, TMAO, glutamine, taurine, homarine, proline, alanine, adenosine diphosphate (ADP), Na^+, K^+, PO_4^{3-} และ Cl^- สูงและประเมินทางประสาทสัมผัสเพื่อหาองค์ประกอบที่ให้รสของ Japanese spiny lobsters และ shovel-nosed lobsters พบว่า glycine, arginine, proline, alanine, glutamic acid, glycine betaine, TMAO, AMP, IMP, NaCl, KCl และ KH_2PO_4 เป็นองค์ประกอบที่ให้รสของ Japanese spiny lobsters ส่วน shovel-nosed lobsters มี glycine, arginine, proline, alanine, glutamic acid, glycine betaine, TMAO, AMP, NaCl, KCl, KH_2PO_4, valine, isoleucine, leucine, sarcosine และ methionine เป็นองค์ประกอบที่ให้รส

Shirai และคณะ (1997) ได้วิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากกล้ามเนื้อลำตัวและหนวดของ boreo Pacific gonate squid พันธุ์ *Gonatopsis borealis* พบว่ากล้ามเนื้อลำตัวมีปริมาณ taurine, arginine, glycine betaine, TMAO, octopine และ homarine สูง โดยปริมาณของกรดอะมิโนอิสระของกล้ามเนื้อลำตัวและหนวดของ boreo Pacific gonate squid จะค่อนข้างน้อยกว่าปลาหมึกทั่วไป และกล้ามเนื้อหนวดจะมีปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นกรดและเป็นกลาง, Na^+ และ Cl^- สูงกว่าในกล้ามเนื้อส่วนลำตัว แต่จะมีปริมาณ homarine และ octopine น้อยกว่าในกล้ามเนื้อส่วนลำตัว และการประเมินหาองค์ประกอบที่ให้รสของกล้ามเนื้อของ boreo Pacific gonate squid โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า threonine, serine, glutamic acid, glycine, arginine, proline, alanine, glycine betaine, TMAO, TMA, 5'-adenylic acid, NaCl, KCl และ KH_2PO_4 เป็นองค์ประกอบที่ให้รสของกล้ามเนื้อ boreo Pacific gonate squid