ความเป็นไปได้ของการควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งโดยไม่ใช้สารกลุ่มซัลไฟต์

Possibility of Controlling Melanin Black Spot in Shrimps without Using Sulfiting Agents

สมสมร แก้วบริสุทธิ์[1*] และเพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว[1]

Somsamorn Gawborisut[1*] and Penpun Srisakultiew[1]

บทนำ

กุ้งเป็นสินค้าสัตว์น้ำที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายจากผู้บริโภคทั่วโลกและจัดเป็นสินค้าราคาสูง ทำให้ปริมาณการผลิตกุ้งของโลกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ ค.ศ. 1976 (Neiland et al., 2001) ประเทศไทยเป็นผู้นำในการผลิตและส่งออกกุ้งที่สำคัญของโลก ในปี พ.ศ. 2549 ประเทศไทยผลิตกุ้งได้ถึง 601,200 ตัน กุ้งที่ผลิตได้นี้ใช้เพื่อการส่งออกในรูปกุ้งสด แช่เย็น และแช่แข็ง มากถึง 178,237 ตัน ทำรายได้ให้กับประเทศมากถึง 42,828 ล้านบาท (กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง, 2552) แต่กุ้งเป็นสัตว์น้ำที่เน่าเสียได้ง่ายจากการทำงานของแบคทีเรีย เช่น *Pseudomonas* และเอนไซม์ซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น เอนไซม์ ย่อยโปรตีน (protease) ที่ผลิตจากกล้ามเนื้อ และ hepatopancreas ส่งผลให้เนื้อกุ้งนิ่มและยุ่ย (mushy; Xiong et al., 2002) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ polyphenol oxidase ที่ทำให้เกิดจุดดำจากเมลานิน (melanin) ที่หัวและหางของกุ้ง อีกทั้งยังทำให้น้ำจากตัวกุ้งที่อยู่ในถุงบรรจุเปลี่ยนเป็นสีดำ ทำให้ถุงบรรจุกุ้งดูสกปรกและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ปัจจุบันมีการใช้สารกลุ่มซัลไฟต์ (sulfiting agents) เพื่อควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้ง แต่สารนี้มีผลกระทบต่อผู้บริโภคที่เป็นโรคหอบหืด อาจทำให้มีอาการรุนแรงมากขึ้นถึงขั้นทำให้เสียชีวิตได้ บทความนี้ได้รวบรวมและเสนอแนะความเป็นไปได้ที่จะใช้สารเคมีชนิดอื่นที่ไม่ใช่สารกลุ่มซัลไฟต์และวิธีการต่างๆ ควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้ง เพื่อมิให้ผลิตภัณฑ์กุ้งมีผลกระทบต่อผู้บริโภค

กระบวนการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งและผลกระทบต่อคุณภาพ

การเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งเป็นกระบวนการที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ทำให้เกิดสีน้ำตาล (enzymatic browning reaction) กระบวนการนี้พบทั่วไปในสิ่งมีชีวิต ทั้งพืช เช่น แอปเปิ้ล และสัตว์โดยเฉพาะกลุ่มกุ้งและปู เมื่อเกิดบาดแผล จะมีเอนไซม์ phenolase ที่มีหลายชื่อ เช่น polyphenol oxidase, tyrosinase, หรือ catecholase เป็นต้น ทำให้บาดแผลเปลี่ยนเป็นสีดำเมื่อสัมผัสอากาศ (Miller, 1998) เอนไซม์ phenolase ในกุ้งนิยมเรียกว่า polyphenol oxidase (PPO) ในกุ้งมีชีวิตพบ PPO มากในhemolymph และ cuticle (Martinez-Alvarez et al., 2009) เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการป้องกันตัว โดยใช้สำหรับสร้างสารเมลานินสีดำขึ้นเพื่อป้องกันอันตรายจากแสงแดด รักษาบาดแผล กำจัดปรสิตด้วยการสร้างถุงหุ้ม (parasite encapsulation), และทำให้เปลือกเกิดการแข็งตัวหลังการลอกคราบ (sclerotization) เป็นต้น (Kim and Uyama, 2005)

[1] ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

[*] Corresponding author: somsamorn@gmail.com

ในกระบวนการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้ง Marshall et al. (2000) อธิบายว่า PPO เมื่อสัมผัสกับอากาศจะทำให้ออกซิเจนจากอากาศ เติมลงในโมเลกุลของ L-tyrosine ในเนื้อกุ้ง ที่ตำแหน่ง o-position ทำให้มีหมู่ hydroxyl 2 หมู่ในโครงสร้างของ L-tyrosine กลายเป็นสาร quinine ของ L-tyrosine ที่มีชื่อเฉพาะว่า 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA; **Figure 1**) ต่อมา PPO จะกระตุ้นให้เกิดการเติมออกซิเจนอีกครั้ง แต่ในครั้งนี้ออกซิเจนที่เติมลงไปจะดึงไฮโดรเจน ออกจากโครงสร้างของ DOPA ทำให้ได้น้ำ ส่วน DOPA ที่เสียไฮโดรเจนไปจะกลายเป็นสารใน quinone ซึ่งมีชื่อเฉพาะว่า 3,4-dihydroxyphenylalanine quinone (DOPA quinone) ต่อมาสารนี้จะถูกเปลี่ยนโครงสร้างอีกหลายครั้งโดยไม่อาศัยเอนไซม์ ได้เป็นสาร Indole-5,6 quinone ที่จะทำปฏิกิริยากันเองเกิดเป็นสารเมลานินสีดำที่ไม่ละลายน้ำในที่สุด (**Figure 1**)

กระบวนการเกิดจุดดำจากเมลานินจะเริ่มภายใน 2-3 ชั่วโมงหลังการตายของกุ้ง (Gokoglu and Yerlikaya, 2008) แต่จุดดำนี้จะเห็นได้ชัดเจนหลังเก็บกุ้งในน้ำแข็งประมาณ 2-4 วัน (Thepnuan et al., 2008) โดยปริมาณและความเร็วในการเกิดจุดดำจากเมลานินผันแปรตามชนิดกุ้ง (Benjakul et al., 2006; Gokoglu and Yerlikaya, 2008), อุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างของเนื้อกุ้ง (Zheng et al., 2008), ปริมาณ L-tyrosine ในเนื้อกุ้ง, บาดแผลที่ทำให้ออกซิเจนสัมผัสเนื้อกุ้ง, และปริมาณของ PPO (Montero et al., 2001) นอกจากนี้พบว่าตำแหน่งของการเกิดจุดดำจากเมลานินมีความแปรผันตามชนิดกุ้งอีกด้วย ในกุ้งทั่วไปจะเกิดจุดดำจากเมลานินที่หัวก่อนแล้วกระจายไปสู่หาง (Montero et al., 2001; Benjakul et al., 2006; Gokoglu and Yerlikaya, 2008; Thepnuan et al., 2008; Zamorano et al., 2009) เช่น การเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งขาว (Pacific white shrimp: *Litopenaeus vannamei*) จะพบที่หัวก่อน (**Figure 2a**; สมสมรและคณะ, 2552) ในขณะที่กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) สมสมรและคณะ (2552) พบว่าจุดดำจากเมลานินจะเกิดที่หางกุ้งก่อน (**Figure 2b**) โดยตั้งข้อสังเกตว่าตัวอย่างกุ้งก้ามกรามที่พบมีปัญหาโรคหางกร่อน (tail rot disease) เกิดจากแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ chitinase ซึ่งสามารถย่อยหางกุ้งได้ ทำให้เกิดบาดแผลบนหาง ส่งผลให้ปริมาณ PPO สูงเพื่อใช้ในกระบวนการรักษาบาดแผล ประกอบกับหางกุ้งเป็นส่วนที่บางและแคบ เมื่อออกซิเจนจากอากาศเข้าไปสัมผัสเนื้อกุ้งได้ การเกิดจุดดำจากเมลานินที่หางจึงเกิดง่ายกว่าส่วนลำตัว

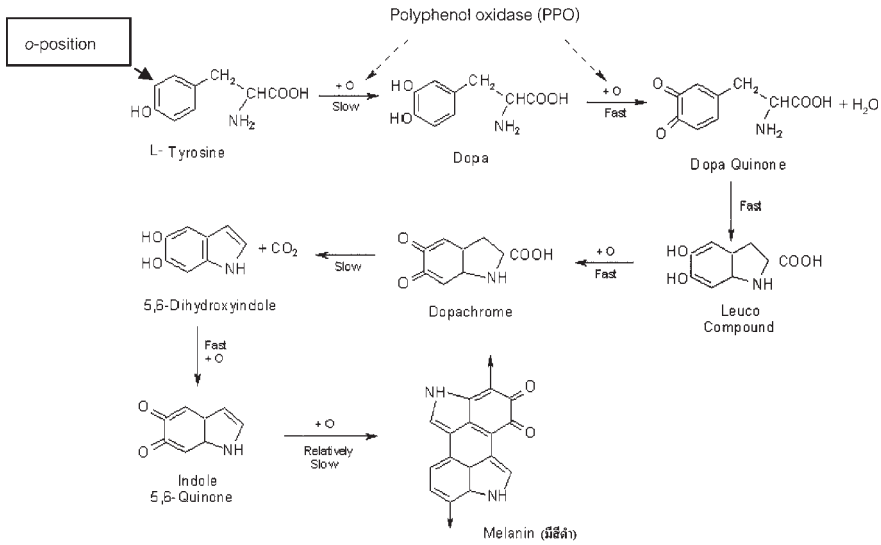

Figure 1 Formation of melanin black spot from tyrosine catalyzed by polyphenol oxidase (PPO) (Adapted from Marshall et al., 2000).

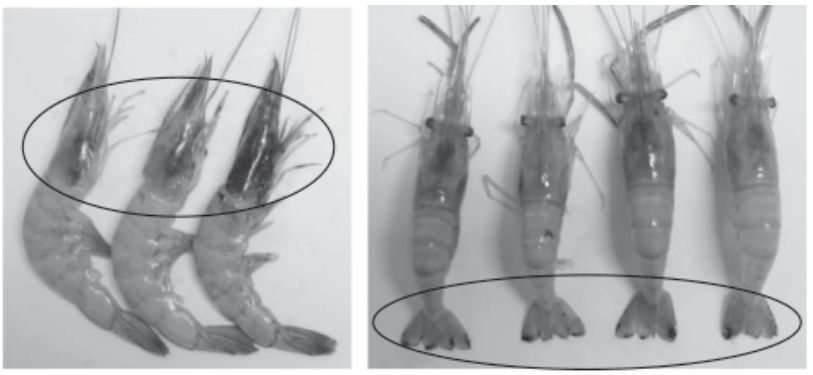

Figure 2 Formation of melanin black spots (in the circles): (a) on the heads of white shrimps and (b) on the tails of giant freshwater prawns after refrigerated at 5°C for 3 days (สมสมรและคณะ, 2552).

การเกิดจุดดำจากเมลานินทั่วไป มีผลลดปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นของมนุษย์ (essential amino acid) เช่น lysine และ cysteine (Kim and Uyama, 2005) ส่งผลให้กลิ่นรสของผักและผลไม้เปลี่ยนไป แต่การเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งไม่ทำให้กลิ่นและรสของกุ้งเปลี่ยนแปลงเมื่อประเมินทางประสาทสัมผัส (organoleptic test) หรือทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค (Marshall et al., 2000; Montero et al., 2001) ประกอบกับการเน่าเสียของกุ้งที่เก็บในน้ำแข็ง โดยทั่วไปเกิดจากการทำงานของแบคทีเรียกลุ่ม *Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter* หรือ *Aeromonas* (Jeyasekaran et al., 2006) มีผลทำให้เกิดกลิ่นเน่าและเนื้อกุ้ง นิ่มเละ ส่งผลให้ระยะเวลาในการเก็บรักษากุ้งสั้นเพียง 5 วันเมื่อเก็บในน้ำแข็ง (Potter and Hitchkiss, 1998) ในขณะเดียวกันจุดดำจากเมลานินจะเริ่มปรากฏชัดเจนในวันที่ 2-4 หลังการเก็บรักษา (Thepnuan et al., 2008; สมสมรและคณะ, 2552) ดังนั้นการเกิดจุดดำจากเมลานินจึงไม่ใช่ตัวชี้วัดการเน่าเสียของกุ้งโดยตรง แต่เป็นสิ่งที่แสดงว่ากุ้งมีคุณภาพต่ำลงตามปริมาณจุดดำที่เกิดขึ้นและอาจเน่าเสีย (Marshall et al., 2000; Thepnuan et al., 2008)

การควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้ง

การใช้สารกลุ่มซัลไฟต์ (sulfiting agents)

รายงานของ Lee and Whitaker (1995) กล่าวว่าสารกลุ่มซัลไฟต์ เช่น sulfur dioxide (SO_2), sodium metabisulfite ($Na_2S_2O_5$), potassium metabisulfite ($K_2S_2O_5$), sodium sulfite (Na_2SO_3), potassium sulfite (K_2SO_3), sodium bisulfite ($NaHSO_3$), และ potassium bisulfite (KH_SO_3) เป็นต้น เป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้ง (**Figure 3b**) การใช้อาจใช้ชนิดเดียวหรือปนกัน 1-2 ชนิดก็ได้ โดยสารเคมีเหล่านี้ทำหน้าที่ดังนี้

1. เปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ PPO ทำให้ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ

2. ทำปฏิกิริยากับสารกลุ่ม quinine กลายเป็น quinine-sulfite complexes ที่มีโครงสร้างซับซ้อน ทำให้กระบวนการสร้างเมลานินหยุดชะงัก

3. ทำหน้าที่เป็น reducing agent โดยทำให้สารกลุ่ม quinone เปลี่ยนกลับมาเป็นสารกลุ่ม quinine ที่ไม่มีสี

4. ทำให้เกิดการฟอกสี ส่งผลให้จุดดำจากเมลานินที่เกิดขึ้นมีสีจางลงกว่าปกติ

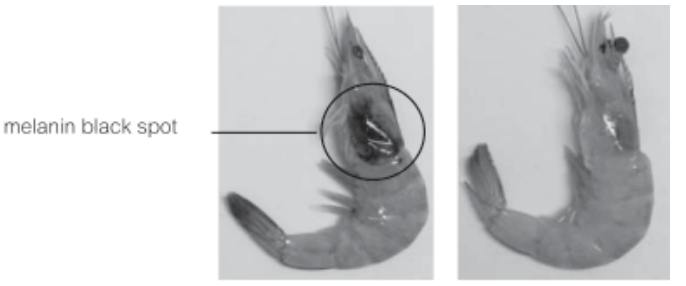

Figure 3 Comparison of white shrimps after refrigerated at 5°C for 3 days: (a) untreated control and (b) treated with sodium metabisulfite (สมสมรและคณะ, 2552).

นอกจากนี้ Lu (2009) รายงานว่าสารกลุ่มซัลไฟต์มีราคาถูกและสามารถทำลายแบคทีเรียที่ทำให้กุ้งเน่าเสียจึงส่งผลให้กุ้งมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น อย่างไรก็ดีการใช้สารเคมีผงระหว่างการเก็บรักษากุ้งในเรือที่มีระบบระบายอากาศไม่ดีและมีความชื้นสูง หรือการโรยสารเหล่านี้ในระหว่างกระบวนการแปรรูปกุ้งของโรงงาน ส่งผลให้เกิดไอของ sulfur dioxide มีผลทำให้คนงานเกิดอาการขาดออกซิเจน (asphyxiation) หากเป็นมากอาจถึงตายได้ (Lee and Whitaker, 1995) นอกจากนี้การบริโภคกุ้งที่มีสารกลุ่มซัลไฟต์อาจส่งผลเชิงลบต่อคนที่เป็นโรคภูมิแพ้ (allergy) และหอบหืด (asthma) ที่ใช้ยากลุ่ม steroid ในการรักษา โดยจะกระตุ้นให้มีอาการแพ้และเกิดการหอบมากขึ้น อาจถึงขั้นทำให้เสียชีวิตได้ (Lee and Whitaker, 1995; Lopez-Caballero et al., 2006; Martinez-Alvarez et al., 2009; Lu, 2009)

ประเทศสหรัฐอเมริกาซึ่งเป็นตลาดรับซื้อกุ้งที่สำคัญของไทย กำหนดปริมาณสารกลุ่มซัลไฟต์ที่คงเหลือในผลิตภัณฑ์กุ้งไม่เกิน 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และให้แสดงชนิดและปริมาณที่ใช้บนฉลากด้วย (Marshall et al., 2000) ส่วนในประเทศไทย สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2548) อนุญาตให้ใช้สารกลุ่มซัลไฟต์ 6 ชนิดในผลิตภัณฑ์กุ้งแช่แข็ง ได้แก่ sodium metabisulfite, potassium metabisulfite, sodium bisulfite, potassium bisulfite, sodium sulfite และ potassium sulfite โดยปริมาณการใช้รวมเมื่อคำนวณเป็น sulfur dioxide ไม่เกิน 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ไม่ว่าจะเป็นสารกลุ่มซัลไฟต์ชนิดเดียวหรือหลายชนิดก็ตาม

การใช้สารเคมีชนิดอื่น

การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินเป็นวิธีที่ได้รับความนิยม เนื่องจากสามารถทำได้ง่าย โดยจุ่มกุ้งในสารที่เลือกหรือโรยสารนั้นบนตัวกุ้งโดยตรง สารที่ไม่ใช่สารกลุ่มซัลไฟต์ซึ่งสามารถใช้ควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งมีดังนี้

1. สาร L-ascorbic acid เป็นสารในกลุ่ม reducing agents ทำให้ quinone และ quinine เปลี่ยนเป็นสารโมเลกุลเสถียรและไม่มีสี นอกจากนี้สารดังกล่าวสามารถจับออกซิเจนทำให้กระบวนการเกิดจุดดำจากเมลานินหยุดชะงัก และสามารถจับโมเลกุลทองแดงในโครงสร้าง PPO ทำให้ PPO หมดประสิทธิภาพ Benjakul et al. (2006) รายงานว่าการใช้ L-ascorbic acid ความเข้มข้นเพียง 2 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถลดการทำงานของ PPO ในกุ้ง pink shrimp ได้ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของไทย อนุญาตให้ใช้ L-ascorbic acid ในกุ้งแช่แข็งในปริมาณที่เหมาะสมตามกรรมวิธีการผลิต (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2548)

2. สาร citric acid เป็นสารในกลุ่ม acidulants สามารถเพิ่มกรดในเนื้อกุ้ง ส่งผลให้ประจุรวมของ PPO เปลี่ยนไปและเสียประสิทธิภาพ การใช้ citric acid ปริมาณน้อยเกินไป ไม่สามารถหยุดการทำงานของ PPO ได้ ส่วนการใช้สารนี้มากเกินไป แม้จะทำให้ PPO เสียประสิทธิภาพถาวร แต่อาจทำให้กุ้งมีรสเปรี้ยและเนื้อสัมผัสกุ้งเปลี่ยนแปลง ปัจจุบันยังไม่มีรายงานปริมาณ citric acid ที่สามารถยับยั้ง PPO ในกุ้ง

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของไทยอนุญาตให้ใช้ citric acid ในกุ้งแช่แข็งในปริมาณที่เหมาะสมตามกรรมวิธีการผลิต (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2548)

3. สาร 4-hexylresorcinol (4-HR) เป็นสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับ L-tyrosine ทำให้เกิดการแข่งขันกับ L-tyrosine ในกระบวนการเกิดจุดดำจากเมลานินในมนุษย์ใช้ 4-HR ในยาและเครื่องสำอาง เพื่อลดการเกิดเมลานินที่ทำให้ผิวหมองคล้ำ ต่อมามีการทดลองใช้ในกุ้ง พบว่าได้ผลดีในกุ้ง Norway lobster (*Nephrops norvegicus*; Lopez-Caballero et al., 2006), กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*; Thepnuan et al., 2008) และกุ้ง pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*; Martinez-Alvarez et al., 2009) การใช้สาร 4-HR ทดแทนสารกลุ่มซัลไฟต์ ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง เนื่องจาก 4-HR เป็นสารที่ปลอดภัย, มีความเสถียรสูงจึงไม่สลายตัวสร้างไอพิษ, ไม่ฟอกสี และไม่ส่งผลเสียต่อสีและกลิ่นรสทางประสาทสัมผัสของกุ้ง (Lopez-Caballero et al., 2006) นอกจากนี้ 4-HR ยังมีประสิทธิภาพสูงแม้จะใช้ปริมาณน้อย วิธีการจุ่มใช้ความเข้มข้นเพียงร้อยละ 0.25 เท่านั้น แต่ข้อเสียของสาร 4-HR คือ มีราคาสูงถึง 2,500 บาท/กิโลกรัม อย่างไรก็ดีการใช้สาร 4-HR อาจไม่สิ้นเปลืองอย่างที่คิด เนื่องจากสาร 4-HR มีประสิทธิภาพสูงที่ความเข้มข้นต่ำ และสารละลายนี้สามารถนำมาจุ่มกุ้งซ้ำได้หลายครั้ง หากเตรียมสารละลายความเข้มข้นร้อยละ 0.25 ปริมาณ 50 ลิตรเพื่อจุ่มกุ้ง 300 กิโลกรัม จะมีค่าใช้จ่ายสำหรับสาร 4-HR ต่อกุ้ง 1 กิโลกรัม ประมาณ 1.04 บาท เมื่อเทียบกับการใช้สาร sodium sulfite ที่มีราคากิโลกรัมละ 380 บาท เมื่อใช้ปริมาณ 100 มิลลิกรัม โรยบนกุ้ง 1 กิโลกรัม ตามข้อกำหนดของคณะกรรมการอาหารและยา (2548) มีค่าใช้จ่ายเพียง 0.038 บาท การใช้สาร 4-HR จึงมีค่าใช้จ่ายสูงกว่าการใช้สาร sodium sulfite หลายเท่าตัว ปัจจุบันประเทศสหภาพยุโรป, สหรัฐอเมริกา, แคนาดา, ออสเตรเลีย และบางประเทศในทวีปอเมริกาใต้อนุญาตให้ใช้สาร 4-HR ได้ในปริมาณไม่เกิน 2 มิลลิกรัม/เนื้อกุ้ง 1 กิโลกรัม แต่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของไทยยังไม่อนุญาตให้ใช้สารนี้ในกุ้ง (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2548)

4. สารกลุ่ม complexing agents ได้แก่ cyclodextrins และ chitosan สาร cyclodextrins จะจับ L-tyrosine ทำให้กระบวนการเกิดจุดดำจากเมลานินไม่เกิดขึ้น แต่สารนี้สามารถจับเม็ดสีและกลิ่นรสในกุ้งได้ ทำให้กุ้งสีซีดและมีกลิ่นรสน้อยลง ดังนั้นอาจไม่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์กุ้ง ส่วน chitosan เป็นสารที่มีประจุบวกจำนวนมาก สามารถจับ PPO ได้ ทำให้ PPO เสียประสิทธิภาพ นอกจากนี้ chitosan ยังสามารถจับ L-tyrosine, quinine, และ quinone ได้อีกด้วย ปัจจุบันยังไม่มีการทดลองใช้ chitosan เพื่อควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้ง ทั้งที่การทดลองดังกล่าวเป็นเรื่องน่าสนใจ เพราะ chitosan ที่ใช้เชิงการค้าส่วนมากผลิตจากเปลือกกุ้งหรือปู โดยใช้กระบวนการทางเคมีเปลี่ยน chitin ในเปลือกเป็น chitosan ดังนั้นการเติมสาร chitosan ที่ผลิตจากเปลือกกุ้งลงไปในผลิตภัณฑ์กุ้งน่าจะทำให้ผู้บริโภคสามารถยอมรับได้ง่ายกว่าการเติมสารเคมีอื่น

5. สารกลุ่ม aromatic carboxylic acids เช่น benzoic acid และ cinnamic acid มีโครงสร้างโมเลกุลคล้าย L-tyrosine ทำให้เกิดการแข่งขันกับ L-tyrosine ในกระบวนการเกิดจุดดำจากเมลานิน เมื่อทำปฏิกิริยาแล้วจะกลายเป็นสารไม่มีสี สาร benzoic acid สามารถควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้ง (Montero et al., 2001) และยังยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้กุ้งเน่าได้ด้วย (Cadun et al., 2005) ส่วน cinnamic acid เป็นสารที่พบในอบเชย (cinnamon) มีกลิ่นหอมคล้ายน้ำผึ้งผสมกลิ่นดอกไม้ (honey-floral odor) เมื่อใช้อาจทำให้กุ้งมีกลิ่นหอมขึ้น แต่ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการทดลองใช้สารนี้ในกุ้ง

6. สารกลุ่ม enzyme inhibitors เป็นสารที่ทำให้ PPO หมดประสิทธิภาพ สารในกลุ่มนี้มีหลายชนิด ได้แก่

6.1 สารกลุ่ม chelating agents ทำหน้าที่ดึงทองแดงออกจากโครงสร้างของ PPO ทำให้ PPO ไม่ทำงาน สารนี้ แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย ประกอบด้วยสารที่ไม่เป็นกรดและสารที่เป็นกรด สารที่ไม่เป็นกรด เช่น adenosine triphosphate (ATP), sodium acid pyrophosphate/metaphosphate, ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA), maltol, และ polysaccharide ชนิด

carrageenan และ amylase sulfate เป็นต้น ส่วนสารที่เป็นกรด เช่น sorbic, malic, tartaric, oxalic, kojic และ succinic acid โดย oxalic acid และ kojic acid สามารถควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งได้ดี (Benjakul et al., 2006) แต่สารทั้งสองกลุ่มนี้ยังไม่ได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการอาหารและยาของไทยให้ใช้ในกุ้ง (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2548)

6.2 กรดอะมิโนและ peptide สายสั้น กรดอะมิโนสามารถจับโมเลกุลทองแดงในโครงสร้างของ PPO ทำให้ PPO เสียประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารกลุ่ม quinone จึงลดการเกิดเมลานินได้ กรดอะมิโนที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้ง PPO คือ L-cysteine ส่วน peptide สายสั้น ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 600 dalton พบมากในน้ำผึ้ง peptide เหล่านี้สามารถจับกับโมเลกุลทองแดงในโครงสร้างของ PPO ทำให้ PPO ไม่ทำงาน

6.3 เกลือ halide พบว่าเกลือ halide ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้ง PPO คือ sodium fluoride (NaF) ตามด้วยเกลือแกง (sodium chloride: NaCl), sodium bromide (NaBr) และ sodium iodide (NaI) ตามลำดับ มีการใช้น้ำเกลือแกงเจือจางป้องกันการเกิดเมลานินในผลไม้ แต่ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการทดลองใช้ในกุ้ง

6.4 เอนไซม์ ficin เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่สามารถย่อยโครงสร้างของ PPO ทำให้ PPO เสียประสิทธิภาพ Benjakul et al. (2006) กล่าวว่า ficin สามารถการควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้ง pink shrimp ได้ดี แต่ ficin เป็นเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนจึงอาจย่อยเนื้อกุ้งให้นิ่มเละได้เช่นกัน

การใช้วิธีการอื่น

นอกจากวิธีการใช้สารเคมีแล้ว อาจใช้วิธีการอื่นชะลอการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งได้เช่นกัน ในวิธีเหล่านี้ บางวิธีการสามารถใช้ร่วมกับสารเคมีเพื่อให้ประสิทธิภาพการควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินเพิ่มสูงขึ้น วิธีการอื่นๆ ที่สามารถควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งได้แก่

1. การจัดการบ่อเลี้ยงและการจับกุ้งอย่างเหมาะสม การจัดการบ่อเลี้ยงกุ้งที่ดีทำให้กุ้งมีสุขภาพแข็งแรง ส่งผลให้กุ้งมีคุณภาพดีตามไปด้วย การเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งจึงช้า โดยเฉพาะในกุ้งก้ามกราม ตามที่สมสมรและคณะ (2552) รายงานปัญหากุ้งก้ามกรามที่เป็นโรคหางกร่อนมาก่อน เมื่อทำการเก็บรักษาในน้ำแข็งจะพบจุดดำจากเมลานินบริเวณแพนหางเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 3 วัน ดังนั้นผู้เลี้ยงกุ้งก้ามกรามควรมีการเตรียมบ่อก่อนเริ่มเลี้ยงกุ้งอย่างเหมาะสม โดยมีการลอกเลน ตากบ่อ และโรยปูนขาวให้ถูกวิธีในทุกรอบที่ทำการเลี้ยง มีการจัดการบ่อเลี้ยงอย่างดีเพื่อทำให้บ่อเลี้ยงสะอาด ลดปริมาณแบคทีเรียที่ทำให้กุ้งก้ามกรามเป็นโรคหางกร่อนลง ส่วนการจับกุ้งก้ามกรามต้องใช้วิธีที่ไม่ทำให้กุ้งบอบช้ำหรือบอบช้ำน้อยที่สุด โดยการใช้อวน ไนล่อนเบอร์ 17 ขนาดตาอวนกว้าง 1.2-1.5 นิ้ว เพื่อให้กุ้งก้ามกรามที่มีน้ำหนักน้อยกว่าตัวละ 50 กรัม ลอดตาอวนออกไป เหลือเฉพาะกุ้งก้ามกรามขนาดใหญ่ ทำให้ไม่เสียเวลาคัดกุ้งก้ามกรามขนาดเล็กออกและกุ้งก้ามกรามไม่บอบช้ำ หากใช้วิธีสูบน้ำออกจนหมดบ่อแล้วจึงจับกุ้งก้ามกราม Food and Agriculture Organization (2002) แนะนำว่าไม่ควรปล่อยให้กุ้งก้ามกรามทับกันที่พื้นก้นบ่อเป็นเวลานาน เพราะจะทำให้กุ้งบอบช้ำ เกิดบาดแผลภายนอก เมื่อกุ้งสัมผัสอากาศ ออกซิเจนในอากาศจะกระตุ้นกระบวนการเกิดเมลานินขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่วนบาดแผลภายในตัวกุ้งทำให้เกิดการปล่อยเอนไซม์ย่อยโปรตีน มีผลกระตุ้นการทำงานของ PPO ทำให้เกิดกระบวนการสร้างจุดดำจากเมลานินต่อไป

2. ใช้การเตรียมกุ้งอย่างเหมาะสมก่อนการแปรรูป โดยหักหัวกุ้งออกทันทีหลังจับและล้างน้ำอย่างเพียงพอ วิธีการนี้ มีความสำคัญต่อการควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งขาว เพราะตำแหน่งการเกิดจุดดำจากเมลานินของกุ้งชนิดนี้จะพบที่ส่วนหัวของกุ้งก่อน หากปล่อยให้เกิดเมลานินที่หัวกุ้ง สีดำของเมลานินจะลามไปติดที่เนื้อกุ้งและล้างไม่ออก มีผลเชิงลบต่อคุณภาพเนื้อกุ้งที่จะได้รับ ส่วนการล้างน้ำอย่างเพียงพอมีความสำคัญมากต่อการควบคุมการ

เกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งก้ามกราม ตามที่สมสมร และคณะ (2552) พบว่าการล้างกุ้งก้ามกรามด้วยน้ำเย็นอย่างน้อยสองครั้ง สามารถลดการเกิดของเหลวสีดำในถุงบรรจุกุ้งได้ (**Figure 4 a and b**) พร้อมกับให้ข้อสันนิษฐานว่าเลือดกุ้งก้ามกราม (hemolymph) ซึ่งมี PPO อยู่ จะไหลออกจากตัวกุ้งหลังการหักหัวไปสะสมในถุงเก็บ เมื่อสัมผัสออกซิเจน PPO ในน้ำเลือดนี้ทำให้เกิดสีดำจากเมลานินขึ้น ส่งผลให้ถุงบรรจุกุ้งดูสกปรก ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

3. ใช้วิธีการแปรรูป เช่น การลดอุณหภูมิ การบรรจุถุงสุญญากาศ และการฉายรังสี เป็นต้น การลดอุณหภูมิโดยการแช่เย็น (chilling) หรือการแช่แข็ง (freezing) เป็นวิธีการแปรรูปเพื่อถนอมรักษาอาหาร โดยลดการเจริญของแบคทีเรียและชะลอการทำงานของเอนไซม์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย การแช่เย็นกุ้งทำได้โดยใช้น้ำแข็งหรือตู้เย็นอุณหภูมิระหว่าง 0-8 องศาเซลเซียส วิธีนี้สามารถควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งได้ เพราะเมื่ออุณหภูมิกุ้งลดลงทุกๆ 10 องศาเซลเซียส การทำงานของ PPO จะลดลง 2 เท่า (Marshall et al., 2000; Gokoglu and Yerlikaya, 2008) แต่การแช่เย็นนี้ไม่สามารถหยุดการทำงานของ PPO อย่างสมบูรณ์ จึงชะลอการเกิดจุดดำจากเมลานินเท่านั้น (Mendez et al., 2006) ส่วนการแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส สามารถหยุดการทำงานของ PPO ได้ แต่หลังการละลายกุ้ง PPO ยังทำงานได้เหมือนเดิมและทำให้เกิดจุดดำจากเมลานินในที่สุด (Mendez et al., 2006; Lopez-Caballero et al., 2007)

วิธีการบรรจุกุ้งในถุงสุญญากาศ (vacuum pack) เป็นการป้องกันกุ้งไม่ให้สัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ ทำให้ขาดออกซิเจนสำหรับกระบวนการสร้างเมลานิน สมสมรและคณะ (2552) พบว่า การบรรจุกุ้งก้ามกรามในถุงสุญญากาศ ทำให้จุดดำจากเมลานินที่หางกุ้งไม่เพิ่มขึ้น แม้กุ้งนั้นจะมีหางกร่อนและมีจุดดำจากเมลานินปรากฏอยู่บนแพนหางแล้วก็ตาม (**Figure 5**) นอกจากนี้สีสันและลักษณะปรากฏโดยรวมของกุ้งก้ามกรามในถุงสุญญากาศ ยังดูดีกว่ากลุ่มควบคุมที่เก็บในสภาพมีอากาศอีกด้วย แม้การใช้ถุงสุญญากาศบรรจุกุ้งก้ามกรามจะควบคุมการเกิดจุดดำของเมลานินได้ แต่วิธีการนี้เป็นการควบคุมเมื่อถุงปิดสนิทเท่านั้น การเปิดถุงหรือการรั่วจากการแทงของหางหรือกรีกุ้งทำให้อากาศเข้าไปในถุง ส่งผลให้เกิดจุดดำจากเมลานินได้เช่นกัน ดังนั้นควรใช้ถุงที่หนาหรือกำจัดหางกุ้งและกรีที่แหลมคมออกก่อน นอกจากนี้การบรรจุถุงสุญญากาศทำให้เกิดสภาพไม่มีอากาศในถุง อาจเอื้อต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน เช่น *Clostridium botulinum* ซึ่งสามารถสร้างสารพิษได้เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 3.3 องศาเซลเซียส (Brody, 1989) ดังนั้นจึงต้องเก็บกุ้งบรรจุถุงสุญญากาศในน้ำแข็งหรือเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 3.3 องศาเซลเซียสเท่านั้น

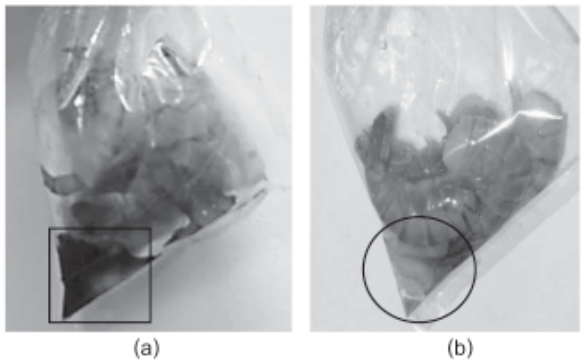

Figure 4 Comparison of giant freshwater prawn storage bags after refrigerated at 5°C for 3 days: (a) unwashed prawns found black liquid of melanin (in the square) and (b) cold water washed prawns found clear liquid (in the circle) (สมสมรและคณะ, 2552).

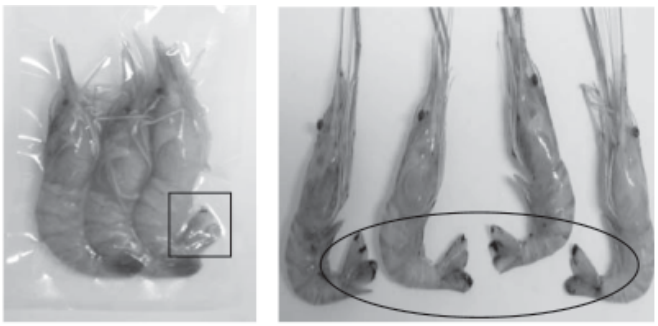

Figure 5 Comparison of giant freshwater prawn packaging after refrigerated at 5°C for 5 days: (a) vacuum pack found little melanin black spots on the tail (in the square) and (b) air pack control found a lot of melanin black spots on the tail (in the circle) (สมสมรและคณะ, 2552).

การฉายรังสี (irradiation) เป็นการแปรรูปเพื่อถนอมรักษาอาหารวิธีหนึ่ง โดยใช้รังสีที่ปลอดภัย เช่น รังสีแกมมา (gamma ray) ปริมาณไม่เกิน 10 KGy ฉายอาหารซึ่งบรรจุถุงปิดสนิท สามารถลดปริมาณแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (Fellows, 2000) Marshall et al. (2000) รายงานว่าการฉายรังสีแกมมาสามารถชะลอการเกิดจุดดำจากเมลานินบนกุ้งได้ แต่กุ้งที่นำมาฉายรังสีต้องไม่มีจุดดำจากเมลานินเกิดขึ้นมาก่อน เพราะหากกุ้งมีจุดดำจากเมลานินเกิดขึ้นแล้ว รังสีจะเร่งให้เกิดจุดดำมากขึ้น

ข้อเสนอแนะการเลือกใช้สารเคมีที่ไม่ใช่สารกลุ่มซัลไฟต์และวิธีการต่าง ๆ เพื่อควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้ง

การควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินเป็นกระบวนการป้องกันตัวเองตามธรรมชาติของพืชและสัตว์ ในการควบคุมนิยมใช้สารกลุ่มซัลไฟต์ อย่างไรก็ดีสารกลุ่มซัลไฟต์มีผลข้างเคียงต่อผู้บริโภคที่เป็นโรคหืดหรือภูมิแพ้ ทำให้มีอาการหอบมากขึ้นและอาจถึงตายได้ มีความเป็นไปได้ที่จะเลือกใช้สารอื่นซึ่งไม่มีผลต่อผู้บริโภคแทนการใช้สารกลุ่มซัลไฟต์ อย่างไรก็ตามสารที่เลือกใช้ต้องได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการอาหารและยาให้ใช้ในกุ้ง ซึ่งสามารถตรวจสอบได้จากเวบไซต์ http://www.ratchakitcha.soc.go.th/ DATA/PDF/2552/E/105/49.PDF สารที่มีคุณสมบัติควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินและได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการอาหารและยาของไทยให้ใช้ในกุ้ง มีเพียง 2 ชนิด คือ L-ascorbic acid และ citric acid สารทั้งสองเป็นสารปลอดภัย สามารถผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี แต่โดยมากผลิตจากสิ่งมีชีวิต โดย L-ascorbic acid ผลิตได้จากผลไม้กลุ่ม citrus เช่น มะนาว และแบคทีเรียกลุ่ม *Gluconobacter* สำหรับ citric acid ผลิตได้จากผลไม้กลุ่ม citrus, ยีสต์กลุ่ม *Candida* และแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* อย่างไรก็ตาม L-ascorbic acid และ citric acid มีข้อด้อย คือ ทำให้กุ้งมีรสเปรี้ยวเมื่อใช้ในปริมาณมาก ปัจจุบันยังไม่มีรายงานปริมาณ L-ascorbic acid และ citric acid ที่สามารถควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงควรมีการศึกษาเรื่องดังกล่าว หากพบว่าปริมาณที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมจุดดำจากเมลานินทำให้กุ้งมีรสเปรี้ยว ควรศึกษาการใช้ L-ascorbic acid และ citric acid ในปริมาณลดลง โดยใช้ร่วมกับสารธรรมชาติชนิดอื่นซึ่งสามารถควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินได้ เช่น เกลือแกง แม้ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาวิจัยใช้เกลือแกงเพื่อควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้ง การใช้สารนี้ในกุ้งน่าจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านมาตรฐานคณะกรรมการอาหารและยา เนื่องจากเกลือแกงเป็นสารเคมีพื้นฐานที่ใช้ในชีวิตประจำวันของมนุษย์อยู่แล้ว และคณะกรรมการอาหารและยาไม่ได้ห้ามใช้สารนี้ในผลิตภัณฑ์กุ้งแต่อย่างใด สำหรับ

สารอื่นที่ผลิตจากสารธรรมชาติ ได้แก่ chitosan ที่ผลิตจากเปลือกกุ้งและปู สาร cinnamic acid ที่ผลิตจากอบเชย หรือ peptide สายสั้นที่พบในน้ำผึ้ง น่าจะทำการวิจัยหาประสิทธิภาพการควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งเช่นกัน พร้อมกับศึกษาผลกระทบของสารดังกล่าวต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์และการยอมรับของผู้บริโภคด้วย

สาร 4-HR แม้ยังไม่ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยาของไทยให้ใช้ในกุ้ง แต่ต่างประเทศที่เป็นตลาดรับซื้อกุ้งสำคัญของไทย เช่น สหรัฐอเมริกาและสหภาพยุโรป อนุญาตให้ใช้ แต่มีปัญหาคือราคาแพงถึงกิโลกรัมละ 2,500 บาท ทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้น ดังนั้นควรมีการศึกษาวิจัยลดความเข้มข้นของสารละลาย 4-HR ที่ใช้จุ่มกุ้งให้ต่ำกว่าร้อยละ 0.25 โดยอาจใช้ร่วมกับสารปลอดภัยชนิดอื่น ที่มีคุณสมบัติควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งแต่มีราคาถูกกว่า เช่น citric acid, L-ascorbic acid, หรือสารอื่นที่ประเทศผู้นำเข้ากุ้งอนุญาตให้ใช้ เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา สามารถตรวจสอบชื่อสารที่อนุญาตให้ใช้ในกุ้งได้จากเว็บไซต์ http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/FoodAdditives/foodAdditiveListings/ucm091048.htm ส่วนประเทศสหภาพยุโรปสามารถตรวจสอบได้ที่ http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1995L0002:20060815: EN:PDF

อย่างไรก็ดีการใช้สารเคมีควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งโดยลำพังอาจต้องใช้ความเข้มข้นที่สูง การลดปริมาณการใช้สารเคมีสามารถทำได้ตั้งแต่ขั้นตอนการเลี้ยงและการจับ ทำให้ได้กุ้งที่มีคุณภาพดี มีการเตรียมกุ้งในโรงงานอย่างเหมาะสม ด้วยการหักหัวและล้างน้ำเย็น ทำให้มีวัตถุดิบที่ดีก่อนเข้าสู่กระบวนการแปรรูป อาจใช้การลดอุณหภูมิเพื่อลดหรือยับยั้งการทำงานของ PPO และจุลินทรีย์ รวมทั้งการบรรจุกุ้งในถุงสุญญากาศที่ทำให้กุ้งไม่สัมผัสออกซิเจนที่เป็นสาเหตุของการเกิดจุดดำจากเมลานิน ขั้นตอนดังกล่าวจะช่วยลดปัญหาการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งได้แม้ใช้สารเคมีในปริมาณต่ำ น่าจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์กุ้งมีคุณภาพสูงได้มาตรฐาน เหมาะสมสำหรับใช้เพื่อการบริโภคในประเทศและส่งออก ทั้งยังมีราคาที่สามารถแข่งขันกับประเทศอื่นได้ในตลาดการค้าโลกอย่างยั่งยืน

สรุป

การควบคุมการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งสามารถทำได้โดยใช้สารเคมีปลอดภัย เช่น L-ascorbic acid, citric acid หรือ 4-HR โดยอาจใช้เพียงชนิดเดียวหรือใช้ร่วมกันมากกว่าหนึ่งชนิด หากต้องการใช้สารเคมีในปริมาณที่ลดลง สามารถทำได้โดยเลี้ยงและจับกุ้งอย่างถูกต้อง เพื่อให้ได้กุ้งที่มีสุขภาพดีจากฟาร์มเลี้ยง ร่วมกับการเตรียมกุ้งและกระบวนการแปรรูปกุ้งที่เหมาะสม เช่น การลดอุณหภูมิและการบรรจุถุงสุญญากาศ จะทำให้สามารถลดการเกิดจุดดำจากเมลานินในกุ้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ ได้ผลิตภัณฑ์กุ้งมีคุณภาพสูงได้มาตรฐาน ในราคาที่เหมาะสม

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง. 2552. สถิติการประมง 2549. แหล่งข้อมูล http://www.fisheries.go.th/it-stat/. ค้นเมื่อ 25 มีนาคม 2552.

สมสมร แก้วบริสุทธิ์ อารายา อารมณ์ฤทธิ์ และเพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว. 2552. รายงานฉบับสมบูรณ์ โครงการผลของสารยับยั้งจุลินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) แช่น้ำแข็ง. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2548. ข้อกำหนดการใช้วัตถุเจือปนอาหาร. แหล่งข้อมูล http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2552/E/105/49.PDF. ค้นเมื่อ 15 เมษายน 2549.

Benjakul, S., W. Visessangguan, and M. Tanaka. 2006. Inhibitory effect of cysteine and glutathione on polyphenol oxidase from kuruma prawn (*Penaeus japonicus*). Food Chem. 98: 158-163.

Brody, A.L. 1989. Modified atmosphere food packaging. Institute of Packaging Professionals, Herndon.

Cadun, A., S. Cakli, and D. Kisla. 2005. A study of marination of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) and its shelf-life. Food Chem. 90: 53-59.

Fellows, P. 2000. Food Processing Technology. 2nd Edition. CRC Press, NY.

Food and Agriculture Organization. 2002. Farming Freshwater Prawn: A Manual for the Culture of the Giant freshwater Prawn (Macrobrachium rosenbergii). Available: http://www.fao.org.docrep/005 -/y4100e/y4100e09. htm#p2203_331578. Accessed July 15, 2006.

Gokoglu, N., and P. Yerlikaya. 2008. Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). Inter. J. Food Sci. Technol. 43: 1004-1008.

Jeyasekaran, G., P., Ganesan, R. Anandaraj, R. Jeya Shakila, and D. Sukumar. 2006. Quantitative and qualitative studies on the bacteriological quality of Indian white shrimp (*Penaeus indicus*) stored in dry ice. Food Microbiol. 23: 526-533.

Kim, Y.J. and H. Uyama. 2005. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. Cell Mol. Life Sci. 62: 1707-1723.

Lee, C.Y. and J.R. Whitaker. 1995. Enzymatic Browning Reaction and Its Prevention. American Chemical Society, Washington, DC.

Lopez-Caballero, M.E., O. Martinez-Alvarez, M.C. Gomez-Guillen, and P. Montero. 2006. Quality of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) treated with a 4-hexylresorcinol-based formulation. Eur. Food Res. Technol. 222: 425-431.

Lopez-Caballero, M.E., O. Mart?nez-Alvarez, M.C. Gomez-Guillen, and P. Montero. 2007. Quality of thawed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with melanosis-inhibiting formulations during chilled storage. Inter. J. Food Sci. Technol. 42: 1029-1038

Lu, S. 2009. Effect of bacteriocides and modified atmosphere packaging on shelf-life of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*). LWT. Food Sci. Technol. 42: 286-291.

Marshall, R.R., J. Kim, and C. Wang. 2000. Enzymatic Browning in Fruits, Vegetables, and Seafoods. Available: http://www.fao.org/ag/ags/agsi/ENZYMEFINAL/Enzymatic%20Browning.html. Accessed February 20, 2009.

Martinez-Alvarez, O., M.E. Lopez-Caballero, M. C. Gomez-Guillen, and P. Montero. 2009. The effect of several cooking treatments on subsequent chilled storage of thawed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with different melanosis inhibiting formulas. LWT. Food Sci. Technol. 42: 1335-1344.

Mendez, R., J. Pestana, and C. Pestana. 2006. Change in 4-hexylresorcinol residues during processing of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*). Eur. Food Res. Technol. 223: 509-515.

Miller, D.D. 1998. Food Chemistry: a laboratory manual. John Wiley and Son, NY.

Montero, P., A. Avalos, and M. Perez-Mateos. 2001. Characterization of polyphenol oxidase of prawns (*Penaeus japonicus*): alternatives to inhibition additives and high pressure treatment. Food Chem. 75: 317-324.

Neiland, A.E., N. Soley, J.B. Varley, and D.J. Whitmarsh. 2001. Shrimp aquaculture: economic perspectives for policy development. Marine Pol. 25: 265-279

Potter, N.N. and J.P. Hotchkiss. 1998. Food Science. 5th Edition. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MR.

Thepnuan, R., S. Benjakul, and W. Visessangguan. 2008. Effect of pyrophosphate and 4-hexylresorcinol pretreatment on quality of refrigerated white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) kept under modified atmosphere packaging. J. Food Sci. 73: s124-s133.

Xiong, S., Y. Xiong, S.P. Blanchard, B. Wang, and J. Ridwell. 2002. Evaluation of tenderness in prawns (*Macrobrachium rosenbergii*) marinated in various salt and acid solutions. Int. J. Food Sci. Technol. 37: 291-296.

Zamorano, J., O. Martinez-Alvarez, P. Montero, and M. C. Gomez-Guillen. 2009. Characterization and tissue distribution of polyphenol oxidase of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*). Food Chem. 112: 104-111.

Zheng, Z., K. Cheng, J. Chao, J. Wu, and M. Wang. 2008. Tyrosinase inhibitors from paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*). Food Chem. 106: 529-535.