



Foto 1. Kogte og pillede rejer.

Samarbejde forbedrer pilning og kvalitet af rejer

I et netop afsluttet knap 4-årigt projekt (TECHSHELL) har forskere fra Københavns Universitet og DTU Fødevareinstituttet samt de to danske fiskeindustrier Royal Greenland Seafood A/S og Launis A/S samarbejdet om at finde og screene nye bæredygtige teknologier, der kan accelerere rejemodningen, og dermed forbedre den maskinelle rejepilning og kvalitet ved produktion af kogte og pillede rejer.

Af Niels Bøknæs¹, Jan Soinjoki¹, Pia Louise Nielsen¹, Ole Mejlholm¹, Vibeke Orlien², Tem Thi Dang², Karsten Olsen², Nina Gringer³, Flemming Jessen³, Paw Dalgaard³, Gert Nielsen⁴ og Mikkel Knudsen⁴

¹ Royal Greenland Seafood A/S

² DTU Fødevareinstituttet

³ Københavns Universitet,

Institut for Fødevarevidenskab

⁴ Launis A/S

Målet med TECHSHELL var at sammenligne forskellige teknologiers evne til at forbedre pilbarheden af rejer uden at gå på kompromis med kvaliteten af rejerne. En objektiv og kvantitativ målemetode af pilbarheden eksisterede ikke ved projektets opstart, hvorfor



Figur 1. Pilbarhedsmetode. A) de tre segmenter til testen, B) isoleret prøve, C) rejeprobe spiddet på nål og fastgjort til teksturanalyser, D) klips fastgjort til skal, E) kraftmåling under separering af skal fra muskel.

Målingens resultat var afhængig af rejerens størrelse, hvorfor det målte arbejde (mJ) blev normaliseret i forhold til prøvens vægt: skalløsningsarbejdet = mJ/g prøve. På den måde kan metoden give sammenlignelige resultater for rejer af forskellig størrelse.

det var en vigtig opgave at opsætte en sådan metode. Den udviklede metode benytter et teksturanalyseinstrument ("Texture analyzer") til at måle den nødvendige kraft for at adskille reje-skallen fra musklen på de tre første segmenter af rejets krop [1]. Således skæres forsigtigt hoved og de tre sidste segmenter plus halen af rejen. Benene skæres forsigtigt fra prøven, hvorefter denne spiddes på langs gennem musklen på en tynd nål, der fastmonteres på en "Texture analyzer". En klips klemmes fast på skallens frie del ved bugsidens, og trækker efterfølgende skallen af rejen som vist på figur 1.

Sammen med det normaliserede pillearbejde noteres, hvorvidt rejen er pillet tilfredsstillende (uden rest af skaller på musklen og uden ødelagt muskel) eller ej, og herved kan det afgøres om den testede behandling resulterer i rejer, der nemmere kan pilles. Pilbarheden af rejer er af stor betydning primært for industrien, da denne påvirker det endelige udbytte af de rå, ikke pillede rejer, og dermed direkte indtjeningen ved industriel fremstilling af kogte og pillede rejer. En anden vigtig faktor er rejernes kvalitet efter pilning, såsom farve og tekstur. Farven målt med Videometer er yderst vigtig og er primært et resultat af den røde hinde, epidermis, der ligger mellem musklen og skallen. Hvis epidermis sidder fast på skallen under pilning, vil rejen fremstå bleg, hvorimod rejen får sin flotte røde farve, når epidermis bliver siddende på musklen efter pilning. Den røde farve skyldes astaxanthin, som er et fedtopløseligt pigment. Forskellige teknologier til at forbedre rejepilning forventes at kunne påvirke dette pigment forskelligt, hvorfor farven af de behandlede rejer er vigtig at evaluere. Ligeledes kan forskellige teknologier påvirke rejeteksturen, og dermed ændre rejens spisekvalitet. En tekstur profilanalyse (TPA) benyttes derfor til at undersøge de forskellige teknologiers effekt på tekturen.

Nye rejemodningsteknologier

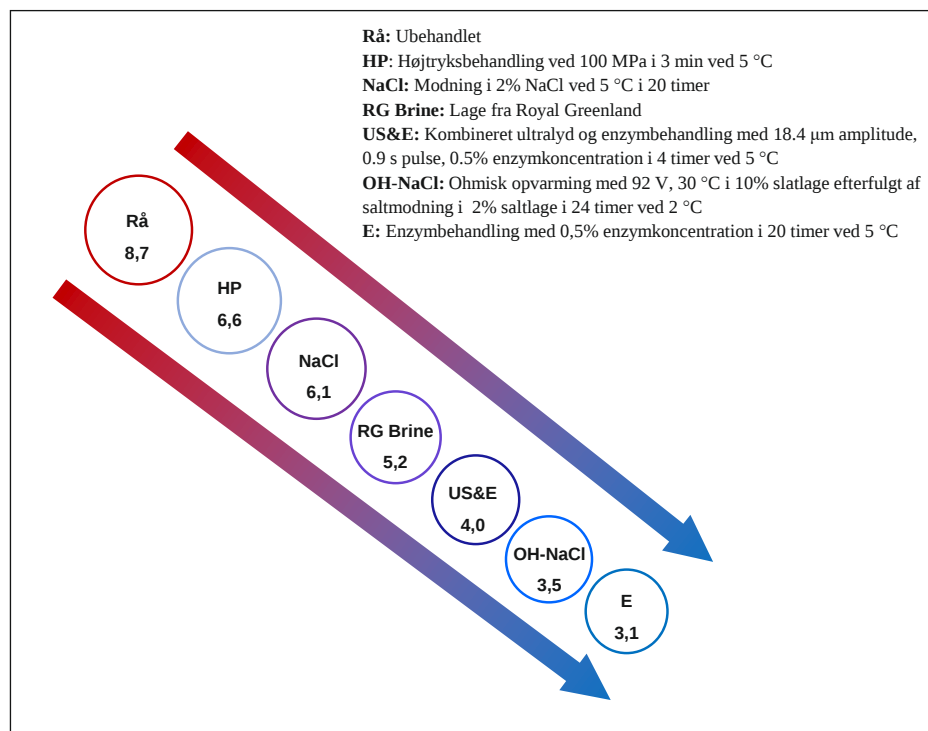
TECHSHELL tog udgangspunkt i de bæredygtige teknologier: Højtryk (HPP), ultralyd, ohmisk opvarmning og enzymologi, idet disse metoder har vist sig at fremme kemiske reaktioner og fysiske processer [2]. Således kan disse teknologier inducere strukturelle ændringer i proteiner via effekten på de elektrostatiske og hydrofobiske interaktioner i selve molekylestrukturen. Derfor opstillede vi hypotesen, at proteinændringerne frembragt via disse teknologier ville kunne påvirke proteinændringer i epi-

dermis direkte, og dermed fremme og accelerere rejeskalløsning. Da styring af proteinændringer ikke er simpelt, var det nødvendigt med systematiske undersøgelser af trykniveau, frekvens, intensitet og modningslagesammensætning samt behandlingstemperatur og -tid.

Teknologierne blev brugt som hovedbehandling (enzym, ultralyd og højtryk) eller forbehandling (ohmisk opvarmning) af de friske rejer. Hovedbehandlingen kræver ingen efterfølgende behandling, hvorimod forbehandlingen med ohmisk opvarmning kræver en saltmodning som efterbehandling. Derudover kan hovedbehandlingerne udføres som enkeltstående processer (kun en teknologi) eller i kombination (to teknologier benyttet samtidig). Figur 2 illustrerer, hvor effektive disse teknologier var til at fremme skalløsningen, og danner grundlag for den efterfølgende præsentation af resultaterne.

bag denne enzyminducerede skalløsning skyldes, at enzymet forårsager intens nedbrydning af de strukturelle proteiner i epidermis, hvilket resulterer i forringelse af muskel-skal fastgørelsen og dermed løsning af skallen. Et endoproteaseenzym foretager en relativ uspecifik hydrolyse af proteinet. Det vil sige, at det kan spalte et protein flere steder i proteinkæden, hvorimod exoproteaseenzymet kun kan spalte proteinet i enderne. Således vil en kombination af sådanne to enzymer have yderst stor effekt på proteinnedbrydning, som også blev observeret.

Endvidere viste det sig, at et endoproteaseenzym med bred specificitet var mere effektivt i forhold til et endoproteaseenzym med smal specificitet og et exoproteaseenzym. Enzymer er kendetegnet ved at have et specifikt pH-optimum, det vil sige et pH-interval, hvor enzymet virker bedst. Vores forsøg



Figur 2. Oversigt over effektiviteten af forskellige afprøvede teknologier til at løsne skallen fra rejen. De angivne værdier er det laveste målte skalløsningsarbejde (mJ/g prøve) for de respektive metoder [2].

Enzymbehandling

Enzymbehandling i 20 timer var den mest effektive skalløsningsteknologi, idet det laveste pilningsarbejde (3,1 mJ/g) blev opnået. Denne bedste skalløsning blev opnået med en kombination af et endoproteaseenzym og et exoproteaseenzym i koncentrationen 0,25 procent for begge eller endoproteaseenzymet i 0,5 procent, hvilket resulterede i 100 procent fuldstændigt pillede rejer og et kødudbytte på 89 procent. Mekanismen

viste dog, at enzymkoncentrationen og modningstiden havde større indflydelse på skalløsningen end variationen i pH, som varierede fra pH=6 til pH=8. I forhold til bæredygtighed var det muligt at genbruge enzymopløsning på grund af bibeholdelse af høj aktivitet, og dermed stadig opnå effektiv skalløsning. Kvaliteten af disse enzymmodnede rejer var generelt på niveau med de konventionelt fremstillede rejer. På grund af de lovende resultater med enzymbehandling ►



Foto 2. Industriel mekanisk pilleproces af rejer hos Royal Greenland.

i forhold til rejepilning blev det undersøgt, om de anvendte endo- og exoproteaseenzymer samtidig havde en positiv effekt i forhold til inaktivering af uønskede mikroorganismer under modning og efterfølgende varmebehandling af skalrejer. Laboratorieforsøg med podede rejer viste dog ingen signifikant effekt af enzymbehandling på overlevelse og inaktivering af *Listeria monocytogenes* under modning og varmebehandling.

Ved at kombinere enzymbehandlingen med ultralydsbehandling kunne modningstiden reduceres betragteligt. Det blev således fundet, at for en kombineret ultralyd-enzymbehandling (0,5 procent) tog det kun 3-4 timer at opnå tilfredsstillende skalløsning, selvom det kun blev den næstlaveste skalløsningsarbejde (4 mJ/g). Ved ultralyd dannes såkaldte kavitationsbobler, der bombarderer rejeskalslagene, så der frembringes mikroskopiske huller i skallen (vist ved mikroskopiske og spektroskopiske teknikker). Disse huller fungerer som veje for enzymet, hvilket fremmer enzymdiffusionen til epidermis medførende hydrolyse af strukturproteinerne. Idet ultralyd genererer varme, er det afgørende for rejekvaliteten, at temperaturen under ultralydsbehandlingen holdes under 5°C. Rejekvaliteten efter en sådan kombineret ultralyd-enzymbehandling var lig rå rejerens kvalitet, men mere røde, fastere, elastisk og sejere end de industrielle rejer.

Højtryksteknologi

Højtryksteknologien bruges i vid udstrækning til at behandle østers og hummere for nemmere at adskille kød fra skal. Derfor var det oplagt at afprøve højtryksteknologien til behandling af rejer. Højtryksbehandling går ud på at påføre fødevarer et tryk på mellem 1.000 og 8.000 atmosfære (svarende til 100 til 800 MPa). Det særlige ved højtryk er, at trykbehandlingen fremmer strukturelle ændringer i proteiner, som kan ende med total denaturering, hvormed proteinet mister sin funktion. I praksis nedsænker man den emballerede fødevarer i et trykkammer fyldt med vand, og en kompressor sørger for at øge trykket inde i trykkammeret, og ifølge det isostatisk princip udsættes fødevarer for et ensartet tryk overalt på samme tid. Det viste sig dog, at højtryksbehandling (fra 100 til 600 MPa i tre minutter) var en mindre effektiv skalløsningsproces end de enzym- og ultralydbaserede teknikker til at fremme rejepilning.

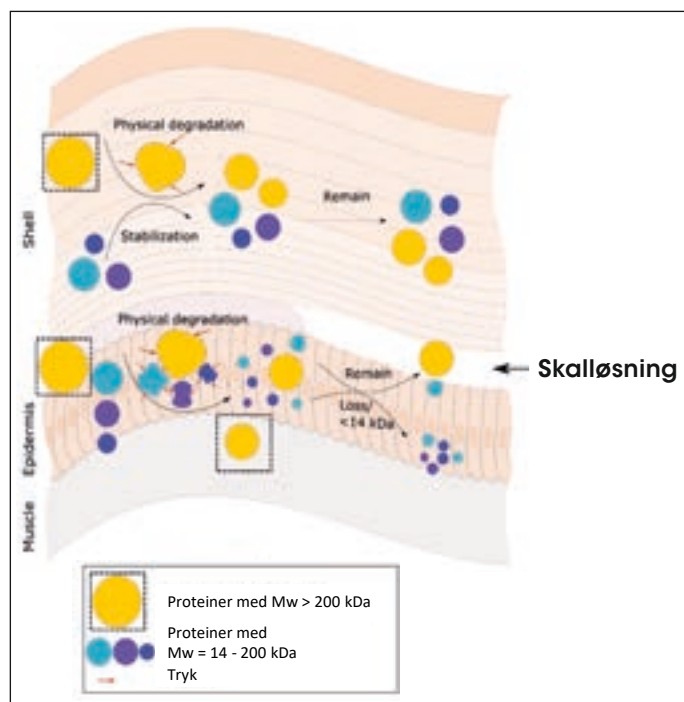
Undersøgelserne frembragte dog nogle interessante resultater, idet lave tryk medførte øget skalløsning og dermed nemmere pilning, hvorimod høje tryk resulterede i fæstning af skallen til kødet og således vanskeligere pilning. Ved brug af mikro-

skopiske og proteomiske teknikker blev mekanismerne for de to typer effekter afklaret. Den øgede skalløsning ved lave tryk (100 MPa) skyldes nedbrydning af proteiner i skal og epidermis, hvilket er ensbetydende med nedbrydelse af muskel-skal forbindelsen, se figur 3. Højtryksbehandling ved høje tryk (600 MPa) forårsagede stabilisering af kollagen i skallen, hvilket forhindrer skalløsningsprocessen i nogen grad. Dette tilskrives en mere effektiv strukturel stabilisering af kollagen på grund af øget dannelse af hydrogenbindinger og andre typer af krydsbindinger efter højtryksbehandling, endda en kraftigere tilknytning end den der er tilstede i rå rejer. Højtryksbehandling ved lave tryk viser således potentiale for en industriel udnyttelse, idet behandlingstiden er ganske kort (i dette studie tre minutter), men flere forsøg med hensyn til trykniveau, tid og temperatur er nødvendige for helt at kunne kortlægge højtrykseffekten på skalløsning.

Ohmisk opvarmning

Ohmisk opvarmning blev afprøvet som en forbehandlingsmetode for at teste, om dette kunne fremme effektiviteten af en efterfølgende saltlagmodning. Ohmisk opvarmning er en metode, som omdanner elektrisk energi til varme. Overordnet beskrevet lægges rejerne ned i et kar med saltvand, hvortil der sættes strøm (92, 138 eller 184 volt) til en given temperatur (30, 35, 40, 50 eller 60°C) er opnået, hvorefter rejerne afkøles i isbad og saltmodnes (i en 2 procent NaCl-opløsning) i 24 timer. Undersøgelserne viste, at denne forbehandling ikke havde nogen betydelig effekt på rejerens pilbarhed. Faktisk blev et markant højere skalløsningsarbejde (over 5,5 mJ/g) målt efter behandling ved høj temperatur (for eksempel 50°C), hvilket indikerer en øget skalfæstning.

Ved høj temperatur denatureres kollagen i skal og epidermis (45°C for skal og 55°C for epidermis), hvilket resulterer i nedbrydning af den tredobbelte spiralformede struktur til enkelte kollagenmolekyler, som kan gelere ved efterfølgende afkøling. Gelen fungerer som et slags klæbemiddel, som dermed fastgør skallen til kødet, hvilket medfører den øgede skalfæstning og vanskeligere pilning.



Figur 3. Mekanismen bag skalløsning ved højtryksbehandling ved 100 MPa [2].

Lovende potentiale for enzymer og ultralydsbehandling

I TECHSHELL blev der på universiteterne som noget helt nyt udviklet systematiske metoder til bedømmelse af pilbarhed, tekstur og farve til brug for afprøvning og screening af nye teknologier i laboratorieskala som enzymer, ultralyd, højtryksbehandling og ohmisk opvarmning til at forbedre og accelerere skalløsningen af rejerne samt optimere produktkvaliteten.

TECHSHELL har vist et lovende potentiale for i laboratorieskala at kunne teste enzymer og ultralydsbehandling eller en kombination af disse teknologier til optimering af skalløsningsprocessen ved produktion af kogte og pillede rejer. Næste step bliver derfor at få disse nye bæredygtige teknologier valideret og verificeret i større produktionsskala, så de på sigt kan blive en integreret del af en optimeret produktionslinje til fremstilling af mere bæredygtige kogte og pillede rejer med højere kvalitet.

Projektet "Bæredygtige teknologier til ressource- og kvalitetsoptimering af rejeproduktion (TECHSHELL)" er støttet af Grønt Udviklings- og Demonstrationsprogram (GUDP) med ca. 7,5 millioner kroner i perioden 2015-2018.

E-mail:

Vibeke Orlén: vor@food.ku.dk

Flemming Jessen: fjes@food.dtu.dk

Niels Bøknæs: nibk@royalgreenland.com

Referencer

1. Gringer, N., Dang, T.T., Orlén, V., Olsen, K., Bøknæs, N., & Jessen, F. (2018). A quantitative method to measure and evaluate the peelability of shrimps (*Pandalus borealis*). *LWT - Food Science and Technology*, 94, 20-24.
2. Dang, T.T. (2018). Novel technologies for shell loosening and meat quality of shrimp (*Pandalus borealis*). Ph.D. afhandling, Københavns Universitet.
3. Høegh L. (1989). Kvalitetsindex for rejer. Erhvervsforskerprojekt. Fiskeriministeriets Forsøgslaboratorium og Royal Greenland.

Fakta

Det danske kongerige er verdens største producent af koldvandsrejer (*Pandalus borealis*), hvor langt mere end 50 procent af verdens fangster foregår i havene omkring Danmark og Grønland.

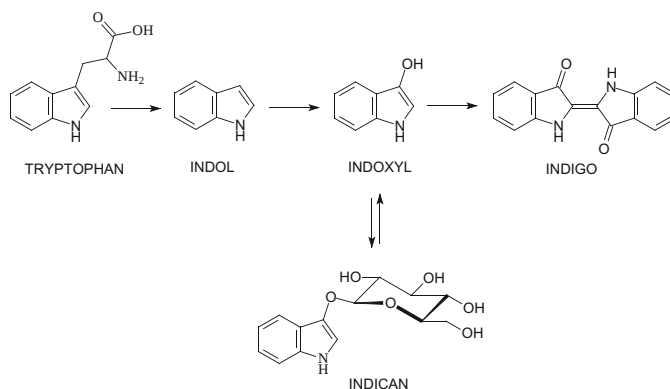
En stor del af disse rejer forarbejdes på landbaserede fabrikker til kogte og pillede rejer, se foto 1, side 16, der sælges som et meget populært "ready-to-eat" produkt, primært på det europæiske marked. Forarbejdningen af kogte og pillede rejer dækker over en lang kædeproces fra fangst til færdigvare: kølemodning af rejeråvaren, kogning, maskinel pilning, saltning, sortering og frysning. Rejerne ises eller fryses umiddelbart efter fangst og fangstbehandling ombord på fiskefartøjet.

Kølemodningen på den landbaserede fabrik foregår ved, at rejerne lagres på is ved 0-2°C eller i en blanding af is og vand i store kar. Modningen bevirker, at proteinbindingerne i huden (epidermis) mellem kød og rejeskal bliver nedbrudt enzymatisk [3]. Herved løsnes skallen lettere fra kødet, således at den mekaniske pilleproces, se foto 2, kan udføres uden at ødelægge rejekødet. Ulempen ved den nuværende produktionsmetode er, at modningstiden som oftest er 4-6 dage, og under denne kølelagring forringes spisekvaliteten. Derfor er det vigtigt at undersøge de nye teknologiers effekt på rejemodningen.



Nyt om ...

... Grøn syntese af blå farve



Indigo har været kendt og skattet siden antikken for sin dybe blå farve. Indigo blev oprindeligt fremstillet ud fra planten *Polygonum tinctorium*. I 1905 lykkedes det imidlertid Adolf von Baeyer at syntetisere indigo. Syntesen, der blev en alvorlig konkurrent til den naturlige fremstilling, er imidlertid ikke særlig miljøvenlig, idet den involverede en række miljøskadelige og toksiske stoffer som benzen, nitrobenzen, anilin, formaldehyd og hydrogencyanid. Farveprocessen er også problematisk, idet indigo er uopløseligt i vand, hvorfor det først skal reduceres til det opløselige leucoindigo og efter farvningen igen oxideres til indigo.

Der findes en række andre blå farver; men indigo er den eneste, der giver den eftertragtede blå farve til cowboybukser, og den eneste, der kan "slides" af til det ønskede brugte look. Det er imidlertid nu lykkedes at gennemføre en "grøn" farveproces, hvor udgangsmaterialet er tryptophan som vist nedenfor. Alle trinene i den viste proces kan gennemføres ved hjælp af genmodificerede udgaver af *Escherichia coli*, også farvningen. Den glycosylerede indican er stabil og kan opbevares. Metoden er dog endnu ikke industri anvendelig; men forfatterne håber at kunne løse det problem også.

Carl Th.

Employing a biochemical protecting group for a sustainable indigo dyeing strategy, *nature chemical biology*, Advance online publication 8 January 2018. DOI:10.1038/NCCHEMBIO.2552.

LABORATORIE

Analyser og teknisk service

Se mere på: www.neutron-nordic.com