

BULLETTIN

EEN UITGAVE VAN HET INSTITUUT VOOR GRAAN, MEEL EN BROOD TNO

JUNI 1989

Enzymen

Toepassing in de bakkerij

door Dr. M.G. van Oort

De laatste tijd horen wij steeds meer spreken over enzymen in de bakkerij. Daarbij gaat het niet alleen over de van nature in de grondstoffen voorkomende enzymen, maar juist over speciaal toegevoegde enzymen. Vroeger werd ook wel gesproken over fermenten, dat is een ouder woord voor enzymen. Een begrip dat wij tevens regelmatig tegenkomen is biotechnologie. De technologie van enzymen is een belangrijk deel van de biotechnologie. Het is goed denkbaar dat deze enzymtechnologie in de toekomst de bereiding van bakprodukten op zijn kop zal zetten. In feite gebeurt dat nu al een klein beetje.

Voor de broodbakkerij zijn enzymen van het allergrootste belang.

Een gistdeeg bruist van de enzymen. Zonder enzymen is de bereiding van ons smakelijke brood ondenkbaar. Meel bevat enzymen die van nature in de tarwe voorkomen. Gist bevat enzymen. Het woord enzym is zelfs afgeleid van gist (enzym betekent "in gist"). Maar sinds een aantal jaren worden enzymen aan deeg toegevoegd. Dat zijn enzymen die niet van nature in de grondstoffen voorkomen. Die toevoegingen worden steeds belangrijker. Die toevoeging gebeurt door de meelfabriek aan het meel en door de fabrikant van hulpgrondstoffen aan de broodverbetermiddelen.

Wat zijn enzymen, hoe worden ze bereid, hoe werken ze en waar vinden we ze terug in de bakkerij? En wat mogen we in de toekomst nog verwachten? Dat zijn de onderwerpen die in dit bulletin aan de orde komen.

Wat zijn enzymen?

Het antwoord op deze vraag begint heel simpel. Enzymen zijn eiwitten. Nu kennen we eiwitten vooral als bouwstenen van de levende natuur. Voorbeelden hiervan zijn spiereiwit (vlees), tarwe-eiwit (gluten), kippe-eiwit (wit van ei), schimmeleiwit (champignons) en ga zo maar door.

Eiwitten hebben in de levende natuur de meest uiteenlopende functies. Enzymen zijn een bijzonder soort eiwitten. Enzymen hebben als functie processen in de levende natuur te versnellen. De spijsvertering van mens en dier, het geleiden van zenuwprakties, spieractiviteiten, ademhaling, kortom alle levensprocessen worden door enzymen geleid.

We kennen ook minerale stoffen die processen sneller laten verlopen zonder daarbij zelf omgezet te worden. Wij noemen die katalysatoren. Meestal zijn dat metalen of metaaloxiden. Zo kennen we ook de katalysator in de uitlaat van auto's waardoor uitlaatgassen volledig worden verbrand. Zo zouden we enzymen biokatalysatoren kunnen noemen: eiwitten die in de levende natuur de noodzakelijke levensprocessen laten verlopen zonder daarbij zelf omgezet te worden.

Enzymen zijn dus eiwitten. Een eiwitmolekuul bestaat uit een grote rij aminozuren die als een keten chemisch aan elkaar gebonden zijn. De aminozuren zouden we de bouwstenen van eiwitten kunnen noemen. In de natuur vinden we 20 verschillende aminozuren. De volgorde waarin die aminozuren in een eiwitmolekuul geplaatst zijn, de lengte van de keten en de ruimtelijke structuur van die keten bepalen de eigenschappen van een eiwit. De meeste enzymen bevatten tussen de 100 en 10.000 van die aminozuren. In feite zijn het daarmee betrekkelijk kleine eiwitten, die daarom meestal in water oplosbaar zijn.

Een voorbeeld van een eiwit dat niet in water oplosbaar is, is het gluten uit de tarwe. Dat zijn veel grotere moleculen.

Eigenschappen

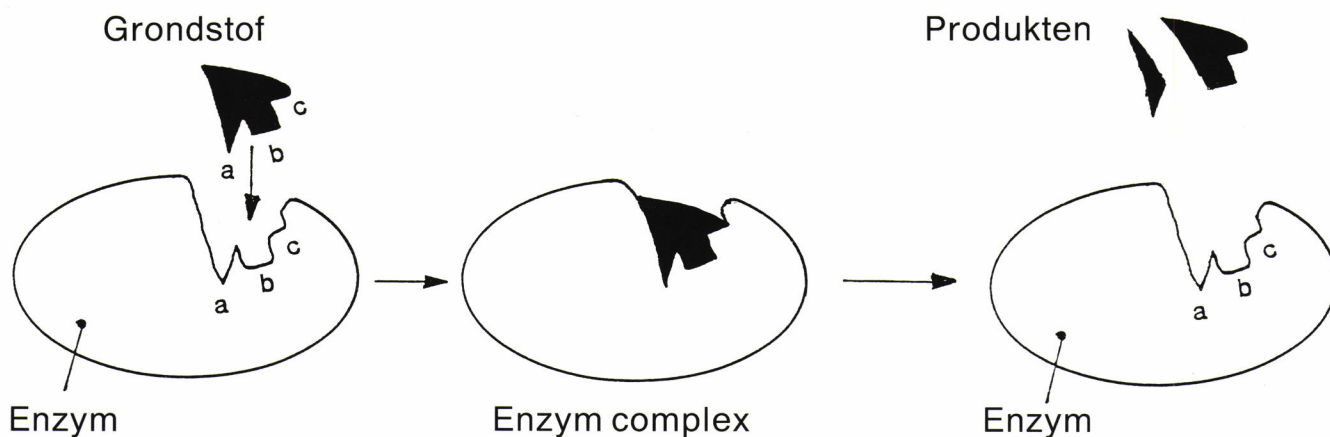
Eén ding moeten wij goed weten: een enzym is levenloze, dode materie. Eiwitten die aan levende cellen zijn onttrokken, maken geen deel meer uit van die levende cellen. Een voorbeeld: mout – gekiemd graan – bevat veel amylasen. Zolang de korrel nog intact is, is er sprake van een levend orga-

De naamgeving van enzymen

Enzymen worden gerangschikt naar de werking ervan. De naam eindigt vrijwel altijd met de uitgang -ase, voorafgegaan door de naam van de stof die het omzet. Zo is een protease een enzym dat proteïne, eiwit, omzet en een cellulase een enzym dat cellulose of celstof omzet in suiker.

die stoffen omzetten in de bouwstenen, bijv. suikers, zoals het genoemde voorbeeld. Ook zijn er in de natuur veel enzymen die stoffen opbouwen vanuit de biologische bouwstenen. Enzymen die bij de opbouw een rol spelen zijn b.v. transaminasen, acyltransferasen en synthetasen.

In de bakkerij hebben we vaak te maken met enzymen



Figuur 1 Schematische weergave van een reactie met behulp van een enzym. Een grondstofmolekuul wordt op actieve plaatsen a, b en c in het enzymmolekuul gebonden. In dit

geval ontstaan twee reactieproducten. De actieve plaatsen a, b en c komen vervolgens weer beschikbaar voor een nieuwe omzetting.

nisme. Door drogen en malen ontstaat een moutmeel, dat niet meer leeft, waarin de amylasen actief zijn. Door drogen en malen hoeft de enzymactiviteit nauwelijks te veranderen. Voor de enzymactiviteit maakt het nauwelijks uit of gekiemd graan of moutmeel aan deeg wordt toegevoegd.

enzymen niet groot is. De ruimtelijke structuur wordt door chemische stoffen, oplosmiddelen, warmte en tijd gemakkelijk veranderd. Dat wordt denaturatie genoemd. Ze verliezen dan het vermogen stoffen om te zetten. Bij industriële enzymen wordt bijvoorbeeld vaak aangegeven hoeveel procent de activiteit per maand achteruit gaat onder bepaalde condities. Bij het werken met enzymen moet men daarmee voortdurend rekening houden.

De belangrijkste eigenschap van enzymen is de **specificiteit**. Daarmee bedoelen we dat elke enzym een zeer kenmerkende activiteit heeft. Elk soort enzym laat één proces verlopen. Deze specificiteit wordt veroorzaakt door de al eerder genoemde ruimtelijke structuur. Deze is zodanig dat de grondstof die door dat enzym omgezet kan worden als het ware in die ruimtelijke structuur past. Dit is duidelijk gemaakt in figuur 1. Het enzym bevat één of meer zogenaamde actieve plaatsen waarin de om te zetten grondstof past als een sleutel in een slot. De omzetting vindt plaats als de stof in het enzym "gevangen" is. Na de omzetting komen de geproduceerde stoffen vrij en is het enzym opnieuw in staat een reactie aan te gaan met de grondstof.

Productie

Enzymen komen voor in de hele levende natuur. Men kan enzymen bereiden uit alle levende materie, dus uit dieren, planten en uit micro-organismen.

De **omstandigheden**, waaronder een enzym werkzaam is, vormen een ander kenmerk. De meeste enzymen werken optimaal tussen 30 en 40°C. Maar er zijn ook enzymen die bij hogere of lagere temperatuur hun maximale activiteit hebben. Hetzelfde geldt voor de zuurgraad waarin een enzym optimaal werkt. Het enzym dat in de maag eiwitten afbreekt, pepsine, werkt optimaal bij een hoge zuurgraad. Bij deze zuurgraad zijn bijna alle andere enzymen niet meer actief. Ook enzymen die in wasmiddelen gebruikt worden, moeten onder vrij uitzonderlijke omstandigheden nog actief zijn. Daarop worden ze geselecteerd.

Een voorbeeld van het gebruik van een enzym uit planten is moutmeel, dat ontstaat door drogen en malen van gekiemd graan. Moutmeel bevat enzymen. Het is het klassieke voorbeeld van toegevoegde enzymen bij de broodbereiding. Dat het amylasen bevat, is geen toeval. Het jonge plantje heeft voor de groei (het kiemen) voedsel nodig. Dat voedsel is het zetmeel uit het meellichaam van de graankorrel. Om dat voedsel in een bruikbare vorm te brengen, is onder andere het enzym amylase nodig. Dat zal het plantje eerst overvloedig moeten maken voordat het kan groeien.

Tenslotte dient men ook nog te weten dat de **stabiliteit** van

In de praktijk gebruikt men voor de bereiding van enzymen veelal micro-organismen, zoals gisten, schimmels en bacteriën. Daartoe worden micro-organismen op een geschikte voedingsbodem gekweekt. Als een schimmel wordt gekweekt op celstof of cellulose (hout, papier etc.) zal de schimmel voor zijn groei celstof moeten omzetten. Hij maakt cellulase. Cellulose wordt door het enzym cellulase omgezet in suikers. Deze suikers worden vervolgens door de schimmel als energiebron gebruikt. Door de juiste keuze van micro-organisme en voedingsbodem zal een hoge concen-

Zuiverheid van enzymen

Enzymen die door een enzymfabrikant voor technische toepassingen worden geleverd, zijn nooit helemaal zuiver. Dat komt enerzijds door de manier waarop enzymen geproduceerd worden. Als men met een bacterie op een voedingsbodem van cellulose cellulase bereidt, zal de bacterie voor zijn eiwitbehoefte ook een kleine hoeveelheid protease aanmaken. Cellulase zal daardoor altijd verontreinigd zijn met een geringe hoeveelheid protease. Daarnaast voegen enzymfabrikanten om commerciële

redenen enzymen samen. Een groot probleem is verder dat verschillende partijen van commerciële enzymen soms verschillend werken. Welke enzymen in een bepaalde toepassing een verbeterende werking hebben, is dan ook niet altijd duidelijk. Dat kan men alleen achterhalen door toepassen van kostbare scheidingstechnieken die alleen op laboratoriumschaal kunnen worden uitgevoerd. De gezuiverde enzymen geven vervolgens uitsluitend welke in het mengsel actief zijn.

tratie van het gewenste enzym ontstaan.

Een bijkomend voordeel is dat de geproduceerde enzymen door het micro-organisme meestal in het waterige milieu worden uitgescheiden, waardoor het enzym in het water oplost. Naarmate het micro-organisme groeit, wordt de enzymconcentratie hoger. Het enzym kan op een eenvoudige wijze worden gescheiden van het micro-organisme, waarna het kan worden gedroogd.

Door verschillende stoffen als voedingsbron te gebruiken, kan een micro-organisme ertoe gezet worden verschillende enzymen te produceren. Door uit te gaan van verschillende soorten micro-organismen kan zo een heel scala van enzymen geproduceerd worden. Men moet daarbij bedenken dat een amylase uit graan heel andere eigenschappen bezit, dan een schimmelamylase of een bacterie-amylase. De verschillen zitten in de manier waarop het zetmeel wordt afgebroken, hittestabiliteit etc. En uiteraard kunnen amylasen uit verschillende soorten bacteriën of schimmels ook verschillende eigenschappen hebben.

In de bakkerij

Zoals we al genoemd hebben, worden tegenwoordig aan meel- en broodverbetermiddelen zonnodig enzymen toegevoegd die de bakaard van de grondstoffen en dus het brood verbeteren. Hieronder wordt uiteengezet hoe de meest voorkomende enzymen werken en wat hun invloed is bij de broodbereiding.

– Amylase.

Het klassieke gebruik van amylase is de toevoeging van moutmeel aan tarwemeel dat van nature een te laag suikervormend vermogen heeft. Het enzym zorgt voor de aanmaak van suikers uit zetmeel, die nodig zijn voor de gistwerking en voor de kleuring van de korst. Ook maakt het de kruim malser door de vorming van dextrinen. Naast moutamylase zien we een toenemend gebruik van amylasen uit schimmels en bacteriën. In sommige toepassingen hebben ze een grotere verbeterende werking dan moutamylase. Eén van de verschillen tussen mout (graan amylasen) en schimmel- en bacterie-amylase is de warmtestabiliteit. Deze neemt toe in de volgorde graan-schimmel-bacterie-amylase. Een aantal bacterie-amylasen is zo stabiel dat ze na het bakken nog enigszins actief zijn. Dit laatste is uiteraard niet de bedoeling. Het leidt meestal tot klef brood. Een goede keuze is dus belangrijk. De grondstoffenindustrie zorgt daarvoor.

– Cellulase, hemicellulase en pentosanase.

Cellulose, hemicellulose en pentosanen komen in geringere hoeveelheden voor in meel en bloem (ca 2% in bloem tot ca 10% in volkoren meel) dan zetmeel. Evenals zetmeel bestaan ze uit langgerekte ketens van suikermolekulen. Door de hiergenoemde enzymen worden deze ketens afgebroken tot kleinere brokstukken en suikers. Sommige van dergelijke enzympreparaten hebben een goede broodverbeterende werking. Hoe die verbeterende werking tot stand komt is nog niet in alle opzichten duidelijk.

– Protease.

Proteasen zijn eiwitsplitsende enzymen. Door eiwitafbraak worden degen soepeler en drijveriger. Proteasen worden dus vooral gebruikt in die gevallen waar het drijverige karakter van deeg gewest is, zoals voor vorm- en spuitkoekjes. Ze worden dus bijvoorbeeld toegevoegd aan Zeeuwse bloem. In broodbloem treffen we ze wel aan als gluten is toegevoegd. De gluten worden door de maalindustrie toegevoegd om de bakkwaliteit van de bloem te verbeteren. Toegevoegd gluten bestaat voornamelijk uit de onoplosbare eiwitten, waardoor degen van bloem waaraan gluten is toegevoegd de neiging hebben stug te worden. Een beetje protease kan dat verhelpen.

– Lipoxygenase.

Lipoxygenase is een enzym dat de vorming van zogenaamde peroxyden in vetten versnelt. Daardoor ontstaat een vorm van actieve zuurstof die in een deeg oxyderend kan werken. Aan lipoxygenase wordt vooral een blekende werking toegekend. Wij vinden het enzym vooral in erwten en bonen. Zo bevat enzymactieve sojabloem lipoxygenase. In Frankrijk wordt soms gebruik gemaakt van een toevoeging van ca 1% bonenmeel (farine de fève) aan tarwebloem. Het geeft een blankere kruim in vergelijking met een bloem zonder bonenmeel.

Het effect in brood

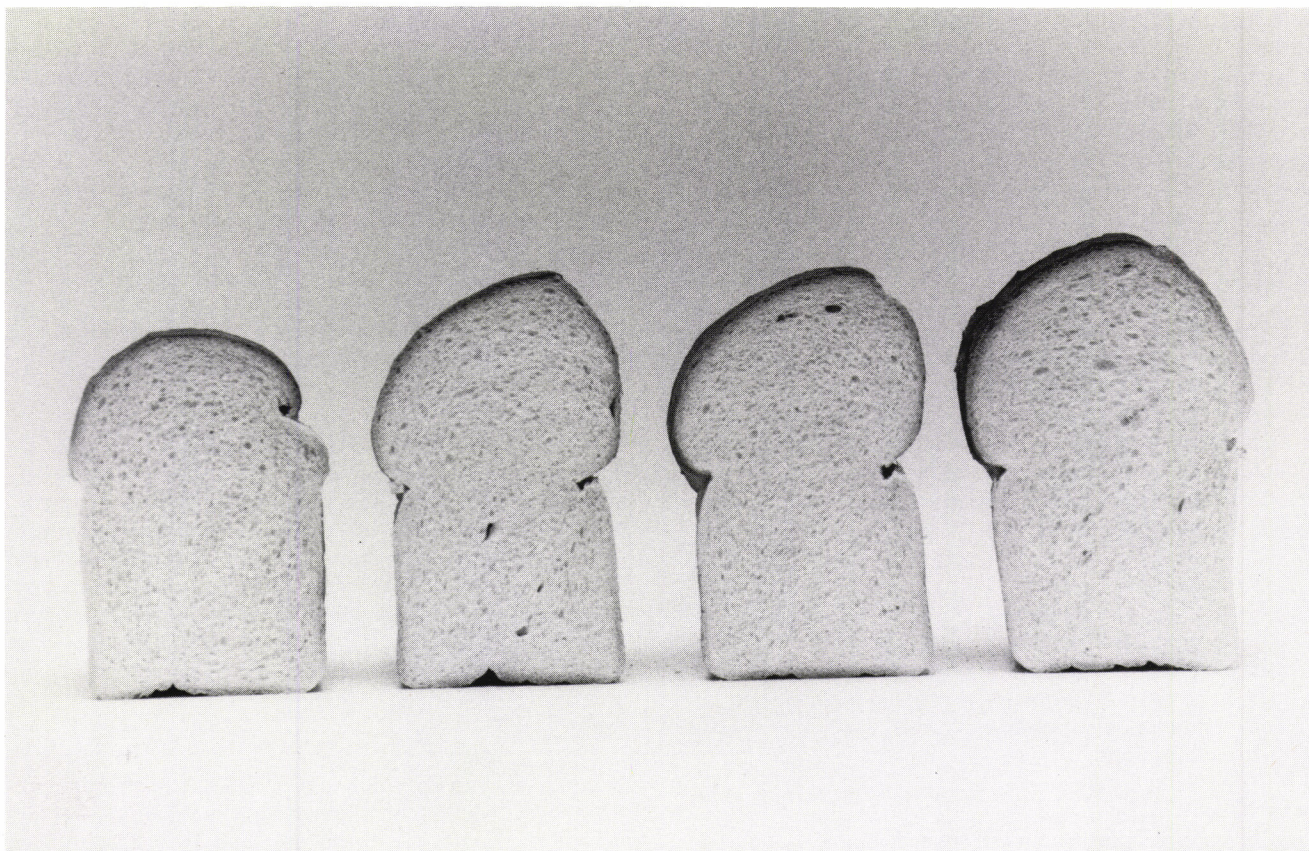
Om het effect van enzymen in brood te demonstreren, hebben we vier bakproeven uitgevoerd, waarbij we de werking van een enzym hebben vergeleken met dat van een vet en van een emulgator. Als enzym hebben we een handelsmonster amylase gebruikt dat volgens de fabrikant van microbiologische oorsprong was. Naast amylase-activiteit vonden we bij het laboratoriumonderzoek ook nog activiteit van pentosanase en hemicellulase. Dit soort producten zijn zeer aantrekkelijk voor het gebruik in meel en broodverbetermiddelen. In andere landen krijgen deze producten dan ook bijzondere namen. De Fransen spreken b.v. van amylase met secundaire activiteiten. Engelsen spreken van magisch poeder (magic dust).

Bakproeven zijn uitgevoerd zonder toevoeging en met toevoeging van steeds afzonderlijk 2% vet, 0,2% emulgator en 0,02% enzymen. Bij toevoeging van vet werd dus 2 kg op 100 kg bloem toegevoegd, bij toevoeging van emulgator 200 g en bij toevoeging van enzym dus 20 g per 100 kg bloem. Doorsneden van broden met deze toevoegingen en van een brood zonder toevoegingen zijn op de foto afgebeeld. Het effect van de drie toevoegingen was min of meer vergelijkbaar. In alle gevallen werd een volumeverbetering van ca 10% bereikt ten opzichte van het brood zonder toevoegingen. De structuur van het brood met enzym was wat opener dan van brood met vet of emulgator. Ook het stugger worden van de kruim bij het bewaren was min of meer vergelijkbaar. Dit voorbeeld geeft een indruk welke effecten met enzymen bereikt kunnen worden en in welke hoeveelheden ze toegevoegd dienen te worden. Uiteraard worden enzymen

Enzymen en de Warenwet

Tot voor kort mochten enzymen, afgezien van mout, niet bij de broodbereiding worden toegevoegd. Sinds 1987 is deze toevoeging geregeld in de toelatingsregeling Enzymen in meel en brood (Warenwet). Volgens deze regeling zijn koolhydraat- en eiwitsplitsende enzymen toegestaan. In de praktijk houdt dit in dat aan broodbloem en aan broodverbetermiddelen deze twee soorten enzymen kun-

nen zijn toegevoegd. Andere enzymen mogen niet als zodanig worden toegevoegd. Uiteraard kunnen wel enzymactieve grondstoffen worden gebruikt die andere enzymen bevatten dan bovenstaande, voor zover deze grondstoffen in brood zijn toegestaan. Te denken valt aan enzymactieve sojabloem die lipoxygenase bevat.



Figuur 2 Doorsneden van brood v.l.n.r. zonder toevoeging, met toevoeging van 2% vet, van 0,2% emulgator en van 0,02% enzym. De broden met de drie verschillende toevoe-

gingen ontlepen elkaar niet veel in eigenschappen (malseheid, kauweigenschappen, oudbakken worden).

steeds in combinatie gebruikt met andere verbetermiddelen, zoals vetten, emulgatoren, suikers, ascorbinezuur.

De toekomst

Zal de toepassing van enzymen de bakkerij doen veranderen? Dat is een vraag, die nu nog niet goed te beantwoorden is. Het gebied is zo nieuw en de ontwikkelingen volgen elkaar zo snel op. De eerste vraag die wij kunnen stellen is: kunnen enzymen de klassieke broodverbetermiddelen vervangen? Dat is nu al mogelijk voor eenvoudige broodsoorten. Wij zien dat ook broodverbetermiddelen op de markt verschijnen, die hoofdzakelijk op enzymwerking zijn gebaseerd. Er is nog veel onderzoek nodig dergelijke producten te ontwikkelen voor luxere broodsoorten. Het is de vraag of alle luxe soorten zo nodig met alleen enzymen gemaakt moeten worden. De tweede vraag is of wij de eigenschappen van enzymen kunnen inbouwen in bijvoorbeeld de gist of de tarwe? Ook daaraan wordt veel onderzoek verricht. Het is voorstelbaar dat zo'n ontwikkeling op langere termijn succes heeft. Dat zal de procesvoering voor de bakker alleen maar vereenvoudigen. We moeten er in ieder geval op rekenen dat de ontwikkelingen snel zullen gaan.

De realisatie van dit bulletin werd mede ondersteund door het Centrum voor Industriële Bioprocessen TNO. Dit Centrum heeft onder andere als taak kleine- en middelgrote ondernemingen in Nederland bekend te maken met de biotechnologie, zoals de toepassing van enzymen in de bakkerij.

Inlichtingen:
Instituut voor Graan, Meel en Brood TNO
Postbus 15
6700 AA Wageningen
telefoon: 08370-99335
telefax: 08370-21221