

Graan(bio)chemie en haar rol in de graan- en meelverwerkende industrie

R.J. Hamer

TNO-Voeding

Inleiding

Sinds mensenheugenis wordt er al tarwe geteeld en verwerkt tot bloem en meel. En natuurlijk wordt er ook al eeuwen brood gebakken. In dat kader zou je kunnen vragen wat er nog te doen is voor de moderne wetenschap op een terrein waarop al zoveel vakmanschap is ontwikkeld. Misschien kan het gemakkelijkst een antwoord op die vraag worden gegeven door eens te kijken op welke wijze één van de takken van die wetenschap, de (bio)chemie, in de afgelopen jaren een bijdrage heeft geleverd aan de graanverwerkende industrie. Op basis daarvan kan dan wellicht ook een indruk verkregen worden van het belang van de biochemie bij toekomstige ontwikkelingen in deze industrie. Bij deze analyse van de rol van de (bio)chemie zal gebruik worden gemaakt van voorbeelden uit het tarweonderzoek zoals dat in de afgelopen jaren binnen TNO-Voeding is uitgevoerd.

Onderzoeksterreinen

Over het algemeen zou je kunnen zeggen dat er twee terreinen zijn waarmee de graanchemie zich bezighoudt:

- het karakteriseren van de grondstof (korrels, bloem/meel);
- het leggen van relaties tussen grondstofeigenschappen en verwerkings- en produktkwaliteit.

De ontwikkelingen op deze beide gebieden worden in grote mate gestuurd door technische ontwikkelingen. Op het gebied van de analytische en biochemische technieken is in de afgelopen jaren sterke vooruitgang geboekt. Met de moleculaire biologie is zelfs een geheel nieuwe onderzoeksrichting tot ontwikkeling gekomen. Nieuwe methoden worden in de regel het eerst toegepast om de grondstof beter te karakteriseren.

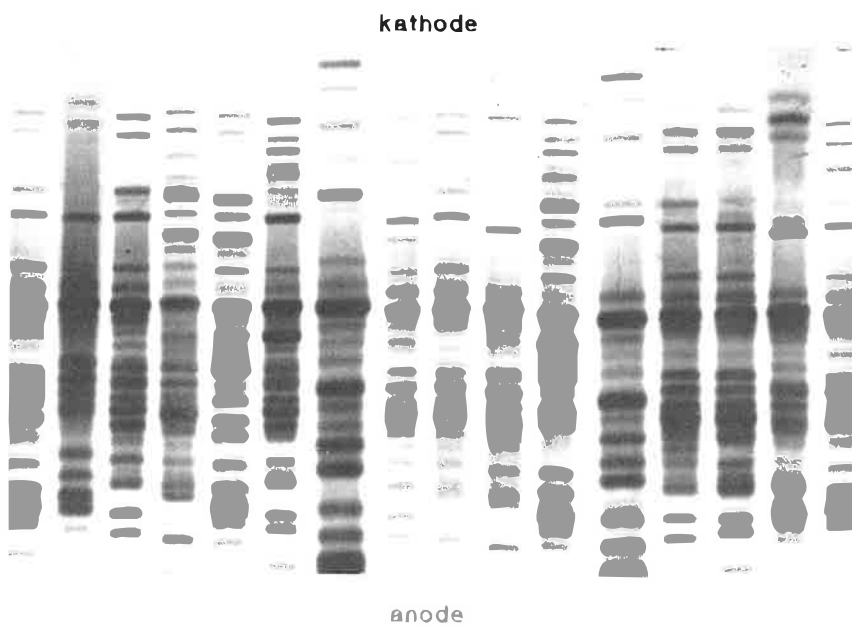
Het karakteriseren van de grondstof

Het is voor een gebruiker van tarwe van groot belang zijn grondstof te kennen. Dat geldt met name voor een zo aan verandering onderhevige grondstof als tarwe. Invloeden van ras, bemesting en oogstcondities spelen daarbij een zodanig grote rol

dat de industrie zich na elke oogst opnieuw moet instellen op de kwaliteit van de verschillende beschikbaar gekomen tarwes. Daarbij komt dat er duidelijk sprake is van een wereldmarkt. Het aantal mogelijke tarwes waaruit kan worden geselecteerd is dan ook groot. Eén van de belangrijkste selectiecriteria is het ras. Veel kwaliteitseigenschappen worden genetisch overgedragen en zijn derhalve raseigenschappen. Het is dan ook van groot belang van elk monster bloem of tarwe het ras te kunnen vaststellen. Nu kan de ervaren graandeskundige al aardig aan het uiterlijk van de korrel zien met welk ras hij te maken heeft, maar zijn kennis is van geen waarde meer zodra de korrels vermalen zijn. Het is op dit gebied dat de graanbiochemie zijn eerste sporen heeft verdiend. Elektroforetische technieken waarmee de in het meel aanwezige eiwitten zichtbaar konden worden gemaakt, bleken dermate complexe en karakteristieke patronen op te leveren dat hiermee een methode was ontstaan om een ras eenduidig te identificeren. In eerste instantie ging het hier om elektroforese van korrelextracten op een gel van zetmeel (figuur 1A). Deze lastige techniek is tegenwoordig geheel vervangen door de elektroforese op polyacrylamide-gels, waardoor een beter resultaat wordt verkregen (figuur 1B). Hiermee wordt een gedeelte van de tarwe-eiwitten als ingewikkelde patronen van bandjes zichtbaar. Door patronen van verschillende bekende rassen te vergelijken met het patroon van het te onderzoeken monster kan de identiteit van het monster worden vastgesteld. Deze techniek wordt regelmatig toegepast om rasechtheid vast te stellen en vragen met betrekking tot de herkomst van partijen tarwe op te lossen. Een recentere techniek is 'reversed phase' hoge-drukvlloeistofchromatografie (HPLC, figuur 2). In combinatie met moderne gegevensverwerkingstechnieken kan deze techniek worden gebruikt om niet alleen individuele rassen te identificeren, maar ook de samenstelling van niet al te complexe mengsels op te helderen. Zeer recent zijn ontwikkelingen rond FPLC-technieken, die wellicht in veel kortere tijd dezelfde resultaten kunnen opleveren als HPLC. DNA-hybridisatietechnieken zoals de RFLP-analyse ('restriction fragment length polymorphism') behoren weliswaar ook tot de mogelijkheden, maar lijken vooralsnog minder breed toepasbaar.

Naast het ras spelen teelt -en oogstcondities een belangrijke rol bij het ontstaan van de uiteindelijke kwaliteit van de tarwe. Samenstelling van de bodem, bemestingsregime en klimaat hebben elk hun invloed op de opbrengst per hectare, het eiwitgehalte, maar ook de samenstelling van de korrel. In figuur 3 wordt een voorbeeld gegeven van het effect van stikstofbemesting op het HPLC-eiwitpatroon. Uit de figuur blijkt dat er onder invloed van stikstofbemesting binnen één ras niet alleen verschillen optreden in hoeveelheid eiwit, maar ook in samenstelling van dit eiwit.

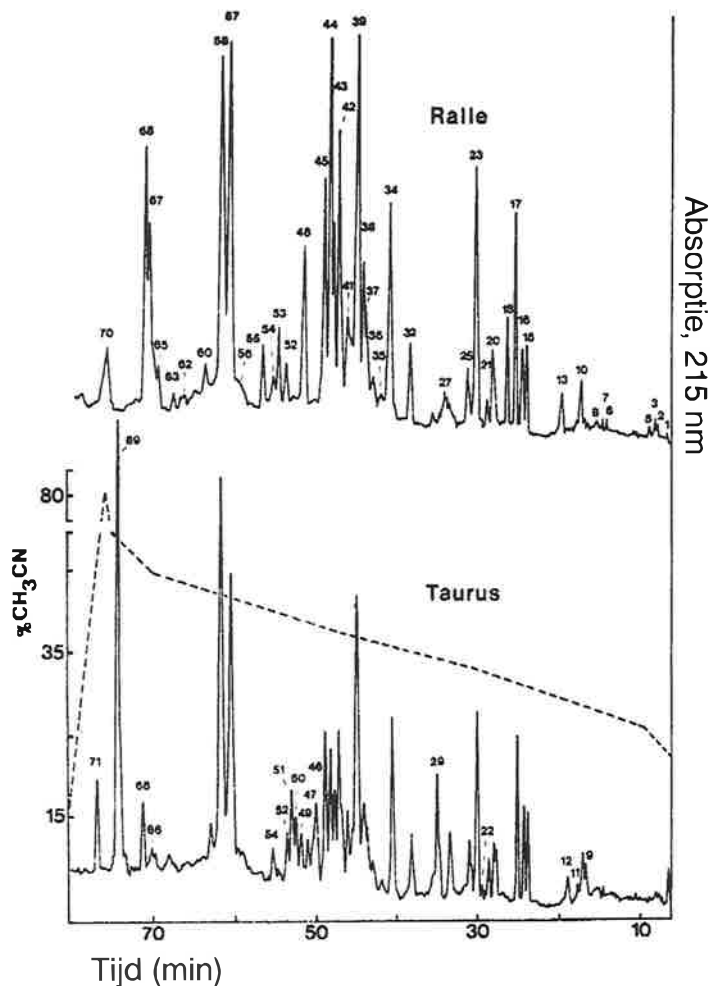
Het optreden van schot is in dit verband ook een belangrijke factor. Met schot wordt bedoeld: het vroegtijdig kiemen van de tarwekorrel op het veld. Hierdoor wordt de verwerkingswaarde van tarwe sterk verminderd. Bij het optreden van schot spelen naast het klimaat ook rasebonden eigenschappen een rol. Op dit moment is nog geen goede methode voorhanden om het schotrisico in Noord-West Europa te verkleinen. Door TNO is onlangs gestart met een project om analytische instrumenten te ontwikkelen die het mogelijk maken het gevaar van schot op het veld tijdig te onderkennen en tevens efficiënt rassen met een hoge schotresistentie te



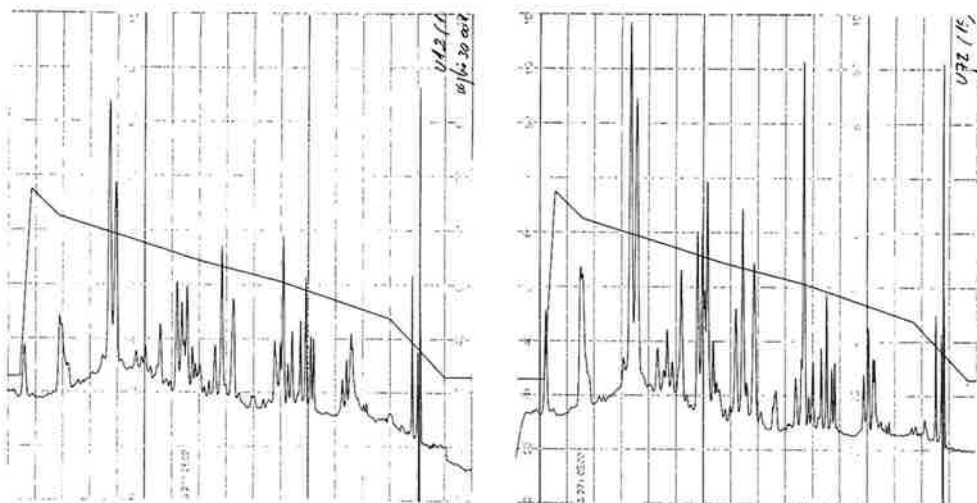
Figuur 1 (vorige pagina). Elektroforetische analyse van tarwe-eiwitten.

Figuur 1A (boven) laat het resultaat zien van elektroforese van geëxtraheerde tarwe-eiwitten op een gel van zetmeel. In de verschillende 'laantjes' zijn na kleuring voor de verschillende tarwerassen de eiwitten als patronen van bandjes zichtbaar. De laantjes corresponderen met de volgende rassen: 1, 3, 5, 7 en 9, Diplomat; 2, Capitole; 4, Maris Huntsman; 6, Rex; 8, Joss.

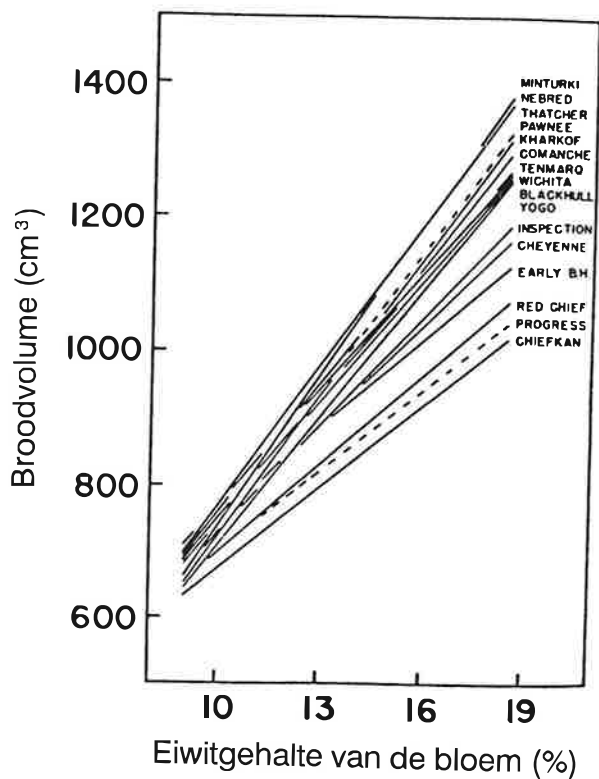
Figuur 1B (onder) laat het resultaat zien van elektroforese in een polyacrylamide-gel. Deze techniek wordt tegenwoordig veel gebruikt voor identificatie en controle op zuiverheid.



Figuur 2. 'Reversed phase' HPLC-analyse van tarwe-eiwitten. Bij de analyse van geëxtraheerde eiwitten met behulp van hoge-drukvlloeistofchromatografie worden de eiwitten gebonden aan een kolom en vervolgens daarvan afgespoeld met een verdringingsvlloeistof in een toenemende concentratie. De verschillende eiwitten die na elkaar van deze kolom af komen, worden zichtbaar als pieken in het chromatogram. In de figuur zijn de chromatogrammen afgebeeld van de tarwerassen Ralle en Taurus. Dergelijke chromatogrammen kunnen eveneens worden gebruikt voor identificatie en zuiverheidscontrole.



Figuur 3. 'Reversed phase' HPLC-analyse van twee monsters tarwe, afkomstig uit een stikstof-bemestingsproef. De chromatogrammen geven de kwantitatieve en kwalitatieve verschillen weer die ontstaan in het eiwitpatroon als gevolg van een toenemende stikstofbemesting. Het linker chromatogram is afkomstig van een tarwe geteeld zonder extra stikstofbemesting. Het rechter chromatogram geeft hetzelfde tarweras weer, maar nu geteeld met een hoge stikstofgift.



Figuur 4. Regressielijnen voor broodvolume en eiwitgehalte van 13 harde wintertarwerassen (—) en 2 harde zomertarwerassen (-----).

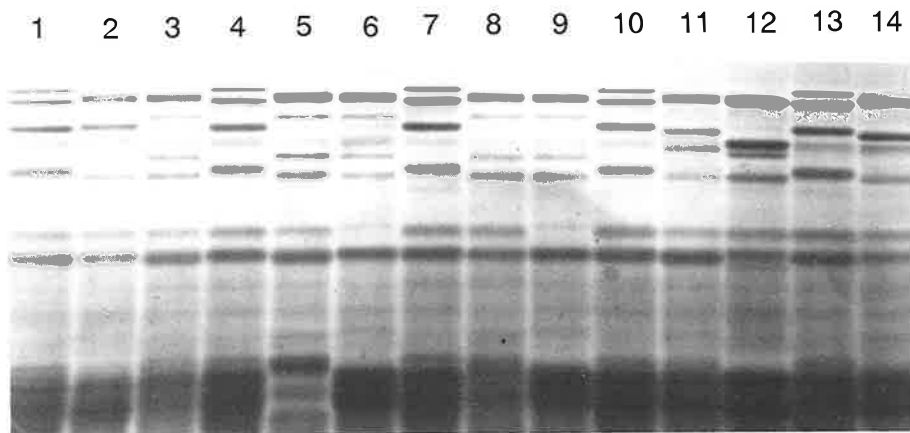
selecteren. Dit programma wordt gesubsidieerd door het Nederlands Graancentrum en de Europese Gemeenschap (ECLAIR).

Elektroforesetechnieken en HPLC-methoden stellen ons nu beter in staat de grondstof te definiëren. Van nog groter belang is echter dat inzicht wordt verkregen in de relatie tussen hetgeen wordt gemeten en de verwerkingskwaliteit van de tarwe. Voor het eiwitgehalte is deze relatie redelijk bekend. In figuur 4 wordt dit voor een aantal tarwerassen weergegeven. Hoewel er tussen eiwitgehalte en broodvolume steeds lineaire relaties worden gevonden, vallen de rasverschillen onmiddellijk op. Een groot deel van het biochemisch onderzoek is er dan ook op gericht geweest deze verschillen te kunnen verklaren.

Relaties tussen grondstofeigenschappen en verwerkings/produktkwaliteit

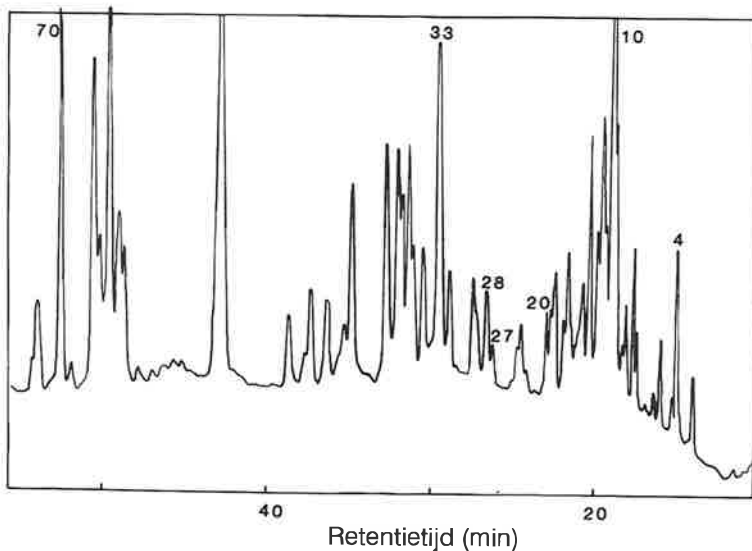
Het belang van verklarend onderzoek naar relaties tussen inhoudstoffen en verwerkingseigenschappen ligt in het verkrijgen van betere criteria. Deze criteria kunnen dan worden gebruikt om te definiëren welke tarwes dienen te worden gekweekt en geteeld, hoe moet worden geteeld (in verband met bijvoorbeeld het bemestingsregime) en hoe een verwerkingsproces kan worden geoptimaliseerd zodat een zo goed mogelijk product wordt verkregen.

De broodbakwaliteit van de in Europa geteelde tarwerassen wordt grotendeels bepaald door het eiwitgehalte van de tarwes en door de kwaliteit van deze eiwitten.



Figuur 5. Elektroforese van glutenine-eiwitten. Met behulp van elektroforese onder denaturende omstandigheden kan een scheiding naar molecuulgrootte worden verkregen. De grootste eiwitten verplaatsen zich het langzaamst en zijn bovenaan in elk laantje zichtbaar. Deze eiwitten, de hoogmoleculaire glutenine A-banden, kunnen worden gerelateerd aan een hogere bakkwaliteit van tarwe. Met deze techniek kan de erfelijk bepaalde glutenine A-bandensamenstelling van een tarweras eenvoudig worden bepaald.

De 'laantjes' corresponderen met de volgende rassen: 1, Sicco; 2, Hardi; 3, Timmo; 4, Sicco; 5, Magnus; 6, Holme; 7, Sicco; 8, Hildur; 9, Starbe; 10, Sicco; 11, Sappo; 12, Pinqua; 13, Sicco; 14, Olympic.



Figuur 6. Invloed van gliadinen op de bakkwaliteit van tarwe. De variatie in broodbakkwaliteit van een groep tarwes met gelijke glutenine A-bandsamenstelling kan statistisch gezien vrijwel volledig worden verklaard door de relatieve gehalten van bepaalde gliadinen in deze tarwes. De gehalten van deze gliadinen worden bepaald met 'reversed phase' HPLC. In de tabel bij deze figuur wordt weergegeven welke gliadinepieken uit het chromatogram hier van belang zijn. In het chromatogram is de positie van deze pieken aangegeven.

Statistische verklaring van de variatie in broodvolume met behulp van de hoeveelheden van bepaalde gliadinen:

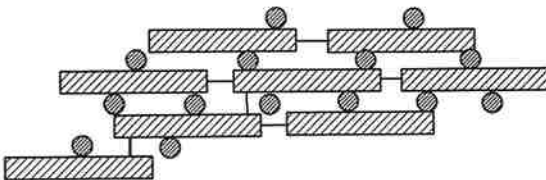
Aantal gliadinepieken in vergelijking	Pieken gekozen door statistisch programma	Gecorrigeerde R^2
1	70	0,398
2	33, 70	0,616
3	10, 33, 70	0,740
4	4, 10, 33, 70	0,818
5	4, 10, 28, 33, 70	0,878
6	4, 10, 27, 28, 33, 70	0,906
7	4, 10, 20, 27, 28, 33, 70	0,939

Dit maakt het de moeite waard eens aandacht te besteden aan de tarwe-eiwitten. Via fractioneringstechnieken kunnen tarwe-eiwitten worden gescheiden in globulinen, albuminen, gliadinen en gluteninen. Hiervan hebben met name de gluteninen in de afgelopen tien jaar veel aandacht gekregen. Aangetoond werd dat bepaalde glutenine-eiwitten consequent voorkomen in rassen met een betere bakkwaliteit. Dit gegeven – hoe beperkt ook – heeft in sterke mate bijgedragen aan het huidige, gerichte veredelingsonderzoek. Gluteninen kunnen met elektroforese worden herkend (zie figuur 5) en vervolgens in 'kwaliteitscategorieën' worden ingedeeld. De veredelaar

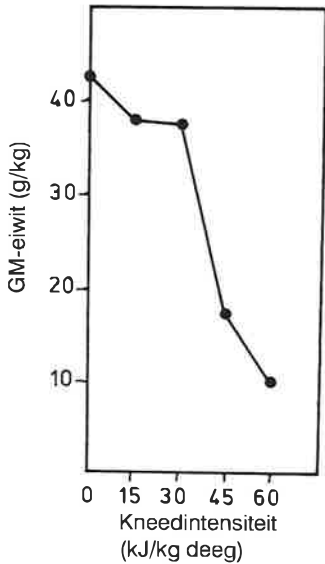
kan zo op de aanwezigheid van gewenste 'bandencombinaties' selecteren. Onderzoek van TNO (Moonen, 1984) heeft aanzienlijk tot deze techniek bijgedragen, maar daar inmiddels ook de nodige kritische noten bij geplaatst (Hamer et al., 1990). Niet alleen de aard, maar ook de totale hoeveelheid van deze glutenine-eiwitten is van belang voor de bakkwaliteit. Recent is bevestigd dat daarnaast ook gliadinen een belangrijke rol spelen. In figuur 6 wordt het resultaat weergegeven van een statistische studie naar de invloed van gliadinen op de bakkwaliteit van een groep tarwerassen van verschillende kwaliteit, maar met dezelfde gluteninensamenstelling. Het verschil in kwaliteit kan statistisch gezien nu vrijwel volledig worden verklaard op basis van verschillen in gliadinensamenstelling.

Hoewel deze studies duidelijk het belang van gluteninen en gliadinen onderstrepen, is het inzicht dat hieruit naar voren komt beperkt. Dit inzicht komt wel wat naderbij als we de eigenschappen van deze eiwitten wat meer in detail beschouwen. Van de meeste hoogmoleculaire gluteninen en van enkele gliadinen zijn nu de aminozuursequenties bekend. Daarnaast komt steeds meer structurele informatie beschikbaar. Hierdoor wordt bevestigd dat gluteninen bij uitstek polymere structuren kunnen vormen, die worden gestabiliseerd door disulfidebruggen. In figuur 7 wordt hiervan een schematische voorstelling gegeven. Hierin vormen de gluteninen een kop-staart-polymer van gigantische lengte. Daartussen zijn de gliadinen afgebeeld. Dit zijn monomere eiwitten die via merendeels hydrofobe interacties met dit netwerk geassocieerd zijn.

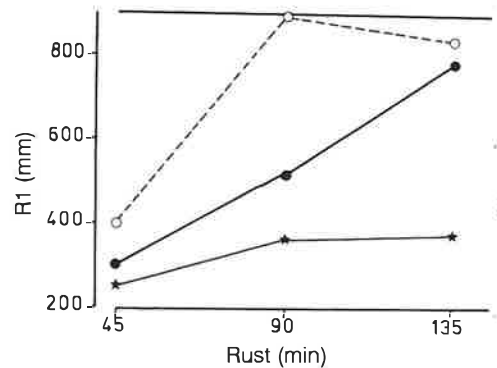
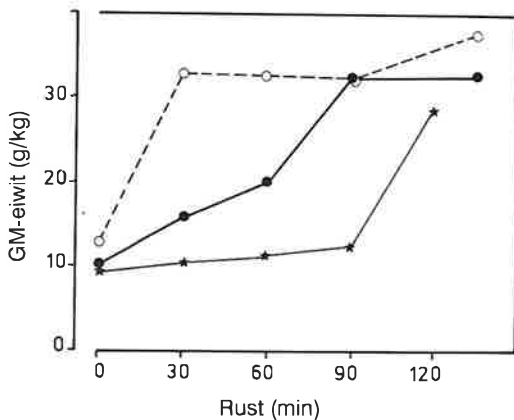
Het glutenine/gliadinemodel in figuur 7 vormt het centrale aangrijpingspunt voor het biochemische onderzoek naar de factoren die de kwaliteit van tarwe bepalen. We weten nu dat gluteninen zeer hoogmoleculaire complexen vormen, die tijdens het kneden van het deeg uit elkaar kunnen worden getrokken (zie figuur 8). Deze structuren worden tijdens het rusten van het deeg weer gevormd, hetgeen duidelijk gerelateerd is aan een toename van de rekweerstand van het deeg (zie figuur 9). Hiermee is een duidelijke relatie tussen een inhoudsstof en een verwerkings-eigenschap aan het licht gekomen. Dit uit elkaar getrokken worden en opnieuw gevormd worden van gluteninepolymeren is een proces dat zowel inzicht geeft in het kneedproces (figuur 8) als in de werking van meelverbetermiddelen zoals ascorbinezuur (figuur 9). Dit proces is niet alleen van belang bij de broodbereiding. Ook bij de bereiding van beschuit en biscuit en zelfs bij de winning van zetmeel uit tarwe blijkt dit proces een belangrijke rol te spelen. Bij de brood- en beschuitbereiding is het



Figuur 7. Schematische voorstelling van het gluteneiwitnetwerk. In deze tekening worden de gluteninemoleculen voorgesteld als staafjes die via kop-staartverbindingen een netwerk kunnen vormen. De gliadinen zijn getekend als bolletjes. Deze bolletjes zijn geassocieerd met dit netwerk.



Figuur 8. Afbraak van gluteninepolymeren door het kneden. Afhankelijk van kneedtijd en kneedintensiteit (in KJ/kg deeg) kunnen de zeer hoog moleculaire gluteninepolymeren uit elkaar worden getrokken en 'breken'. Dit leidt tot een afname in het gehalte aan 'GM-eiwit' (gluteninematrixeiwit, in g/kg deeg) zoals zichtbaar gemaakt in deze figuur.



Figuur 9. Vorming van deegeiwitten en deegsterkte tijdens het rusten. In figuur 9A (links) is de terugvorming van de gluteninematrixeiwitten weergegeven als functie van de tijd en als functie van het toegevoegde meelverbetermiddel (*-*: geen meelverbetermiddel; o - o: met het vroeger toegepaste meelverbetermiddel kaliumbromaat; ● - ●: met het tegenwoordig toegepaste ascorbinezuur). Figuur 9B (rechts) geeft de toename weer in de tijd van de reologische parameter R1 (de weerstand tegen uitrekking van een deeg na 5 cm). De symbolen zijn als in figuur 9A.

gewenst voldoende van deze structuren te hebben in verband met de viscoëlasticiteit van het deeg. Bij de biscuitbereiding zijn dergelijke elastische degen ongewenst en dienen de zeer grote gluteninepolymeren juist volledig afgebroken te zijn. Bij de scheiding van gluten en zetmeel is de snelheid van het zogenaamde coagulatieproces van belang. Hiermee wordt bedoeld op het samenklonteren van de bloemdeeltjes,

waarna vrijwel onmiddellijk de gluteninepolymeren worden gevormd. Een te langzame coagulatie geeft scheidingsproblemen.

Deeigenschappen kunnen voor een groot deel worden verklaard met behulp van het gluteninemodel. Van een deeg tot het uiteindelijke produkt is echter nog een lange weg. Een ander belangrijk proces bij bijvoorbeeld het broodbereidingsproces is het rijzen: het groter worden van de gascellen in het deeg onder invloed van koolzuurgasvorming door de gist. Ook hierbij speelt het gluteneiwit een rol. Er is echter geen directe relatie te vinden tussen de hoeveelheid hoogmoleculaire gluteninen en dit gashoudend vermogen. Ook vetten en lipiden zullen hierbij een rol spelen. Hoe deze componenten moeten worden ingebouwd in het glutenine/gliadine-model is echter nog niet bekend. Verder inzicht in deze materie kan alleen worden verkregen door de zogenaamde interacties tussen eiwitten, lipiden en vetten te bestuderen. Dit interactieonderzoek maakt deel uit van een langlopend onderzoeksprogramma bij TNO dat het doel heeft de diverse interacties die tussen tarwe-componenten optreden in kaart te brengen en hun relatie met deeg- en produkt-eigenschappen te bestuderen. In hetzelfde programma zullen ook de effecten van veel gebruikte additieven (met name emulgatoren) worden onderzocht.

De betekenis van de graan(bio)chemie nu en in de toekomst

In het voorgaande is een overzicht gegeven van een aantal technische en wetenschappelijke ontwikkelingen binnen de graanchemie. Deze ontwikkelingen hebben geleid tot een betere definiëring van grondstoffen en tot een beter inzicht in de veranderingen die zich tijdens de verschillende verwerkingsprocessen afspelen. Maar wat betekent nu deze kennis voor de graan- en meelverwerkende industrie?

De graan- en meelverwerkende industrie heeft behoefte aan constante en zo goedkoop mogelijke grondstoffen en aan een zo groot mogelijke flexibiliteit om snel op veranderingen in de markt te kunnen inspelen. Bij dat laatste spelen productie-efficiency en produktkwaliteit een belangrijke rol.

De inzichten die uit het graanchemisch onderzoek zijn voortgekomen hebben op een aantal terreinen mogelijkheden gegeven om aan deze behoeften tegemoet te komen. Een beter inzicht in kwaliteitseisen en kwaliteitsbepalende factoren van gluten hebben tot geleid tot een vervanging van – dure – Amerikaanse/Canadese tarwes door uit EG-tarwe geproduceerde gluten. In dat kader is door TNO een kwaliteitstest voor gluten ontwikkeld (Weegels & Hamer, 1989), onderzoek verricht naar kwaliteitsbepalende factoren voor gluten en naar mogelijkheden de kwaliteit van gluten te verbeteren. Ook is door TNO onderzoek verricht naar de geschiktheid van Nederlandse tarwe voor de glutenbereiding en naar mogelijkheden om met behulp van enzymen de verwerkbaarheid van mindere kwaliteiten tarwe te vergroten (Hamer et al., 1989). Resultaten van dit onderzoek worden al op brede schaal toegepast.

Een ander voorbeeld van graanchemisch onderzoek door TNO dat de basis vormt voor toepassingen in de praktijk, is het enzymonderzoek. Enzymen kunnen worden toegepast om de kwaliteit van de grondstof op het vereiste niveau te brengen, zodat een betere verwerkbaarheid en een betere produktkwaliteit wordt verkregen (Hamer,

1989). Door kennis van zowel enzymen als graanchemie is TNO bij uitstek in staat om enzymapplicaties voor de bakkerijsector te ontwikkelen. Op dit gebied werkt TNO dan ook al enkele jaren intensief samen met bedrijven uit deze sector.

Het huidige onderzoek van TNO richt zich meer op de toekomst. Het genoemde onderzoek waarin interacties tussen bloemcomponenten worden bestudeerd, is bedoeld om het fundament te leggen voor de ontwikkeling van gemakkelijke en lekkere produkten waarin de gehalten aan vetten en synthetische hulpstoffen is geminimaliseerd. In dat kader werkt TNO ook aan hulpstoffen die met behulp van enzymen worden bereid uit het tarwe-eiwit zelf. Deze natuurlijke hulpstoffen kunnen bijvoorbeeld worden gebruikt om proteasen of bepaalde chemische reductiemiddelen te vervangen. In Europees verband werkt TNO samen met onderzoeksinstituten uit bijna alle lidstaten van de EG om de kwaliteitseisen die de verschillende verwerkingsprocessen aan de tarwe of bloem stellen, te vertalen in biochemische parameters. Deze biochemische parameters kunnen vervolgens gebruikt worden in veredelingsprogramma's om precies die tarwes te kweken die de Europese markt nodig heeft. (In 1990 is TNO gestart met het ECLAIR-programma 'To explore and improve the industrial use of E. C. wheats'.)

Concluderend mag worden gesteld dat graan(bio)chemisch onderzoek een belangrijke stimulerende en ondersteunende rol speelt bij ontwikkelingen in de graan- en meelverwerkende industrie. De graanbiochemici van TNO zullen hieraan zowel nationaal als internationaal hun bijdragen blijven leveren.

Literatuur

- Hamer, R.J., 1989. Enzymen in de broodbereiding. *Koolhydraten in Nederland 5* (augustus): 18 – 21.
- Hamer, R.J., Weegels, P.L., Marseille, J.P. & Kelfkens, M., 1989. A study of the factors affecting the separation of wheat flour into starch and gluten. In: Y. Pomeranz (ed.), *Wheat is unique: structure, composition, processing, end-use properties and products*, pp. 467 – 478. AACC, Minneapolis.
- Hamer, R.J., Weegels, P.L. & Marseille, J.P., 1990. Prediction of the bread-making quality of wheat. *Journal of Cereal Science*, geaccepteerd voor publicatie.
- Moonen, J.H.E., 1984. Eiwitsamenstelling en bakkwaliteit van tarwe. TNO-rapport 84-230.
- Weegels, P.L. & Hamer, R.J., 1989. Predicting the baking quality of gluten. *Cereal Foods World* 34: 210 – 212. (International Wheat Gluten Association Best Paper Award.)