

MEDEDELING NR 59

Amylasewerking en Broodkwaliteit

DOOR

Ir D. H. GREUP



Amylasewerking en Broodkwaliteit

door

Ir D. H. GREUP

(Afdeling Graan-, Meel- en Broodonderzoek van het Centraal Instituut voor Voedingsonderzoek T.N.O.)

Inleiding

Bij de bereiding van brood spelen *enzymen* een belangrijke rol. Zo wordt in een gistdeeg de vorming van koolzuurgas tijdens het rijs- en bakproces geheel beheerst door de werking van verschillende typen enzymen. De van nature in de bloem aanwezige *amylasen* breken het zetmeel af tot dextrinen en vergistbare suikers. De in gist aanwezige *maltase* splitst de gevormde maltose in de enkelvoudige suiker glucose, welke op zijn beurt weer door de inwerking van *zymase* wordt omgezet in koolzuurgas en alcohol. Het ontwikkelde koolzuurgas doet het deeg rijzen en bepaalt mede het uiteindelijke volume van het brood. Tenslotte dragen de gevormde suikers bij tot het ontstaan van de bruine korstkleur.

De omzetting van zetmeel in koolzuurgas en alcohol verloopt derhalve in verschillende fasen. De eerste fase, de afbraak tot dextrinen en vergistbare suikers, neemt in het gehele proces een bijzondere plaats in. Immers de dextrinen spelen een belangrijke rol bij de vorming en de uiteindelijke geaardheid van de broodkruim, terwijl de hoeveelheid gevormde suikers in feite het verloop van de volgende fasen bepaalt. Een tekort bijv. aan zetmeelsplitsende enzymen in de bloem komt tot uiting in onvoldoende vorming van vergistbare suikers. Als gevolg hiervan zal de in de volgende fasen gevormde hoeveelheid koolzuurgas ontoereikend zijn om een behoorlijk broodvolume te verkrijgen. Korstkleur en kruimeigenschappen worden tevens ongunstig beïnvloed. Een hoog amylasegehalte van de bloem heeft daarentegen tot gevolg, dat te veel dextrinen worden gevormd, waardoor een kleffe broodkruim ontstaat. De korst zal in een dergelijk geval zeer sterk kleuren.

Klaarblijkelijk is een bepaalde hoeveelheid amylasen, welke overigens nog binnen zekere grenzen kan variëren, vereist om de gewenste zetmeelafbraak in verband met de geaardheid van de broodkruim te verkrijgen en om een voldoende koolzuurgasproductie te verzekeren. Het spreekt van zelf, dat hierbij ook de geaardheid van het substraat, i.e. het zetmeel, een rol speelt. De eigenschappen van de tarwe en de techniek van de vermalen zijn in dit verband van belang.

De in de bloem aanwezige amylasen worden onderscheiden in *alpha*- en *bèta*-amylase, welke ieder

een specifieke werking t.o.v. zetmeel vertonen. *Bèta*-amylase is vrijwel steeds in voldoende mate aanwezig; het *alpha*-amylasegehalte van de bloem kan sterk wisselen. Een tekort aan amylasen, met zijn reeds beschreven ongunstige invloed op de broodkwaliteit, wordt dan ook in de regel veroorzaakt door een tekort aan *alpha*-amylase. In bakkerstermen spreekt men in dergelijke gevallen van een te gering suikervormend vermogen van de bloem en men heft dit doorgaans op door bepaalde amylasebevattende producten aan het deeg toe te voegen.

*

Graanamylasen

Het meest bekende product is *diastatisch moutextract*, dat al vele jaren in de bakkerij wordt gebruikt. Het wordt bereid door gerst of tarwe te laten kiemen, waardoor het *alpha*-amylasegehalte van de korrel sterk toeneemt. Na 4 of 5 dagen kiemen worden de korrels gedroogd. Daarna wordt het product fijn vermalen, waardoor moutmeel ontstaat. Voor de bereiding van moutextract worden de gekiemde korrels grof vermalen, waarna extractie met water plaats vindt. Na filtreren wordt de extractievloeistof in vacuumpannen ingedampt tot een viskeuze stroop.

Een bepaalde eigenschap van de in moutproducten voorkomende *alpha*-amylase is in verband met de broodbereiding van grote betekenis, nl. de hittebestendigheid. De amylolytische werkzaamheid neemt aanvankelijk toe met stijgende temperatuur, totdat na het bereiken van een bepaalde temperatuur — de inactiveringstemperatuur — de activiteit vrij snel afneemt. Nu blijken er in dit opzicht verschillen te bestaan tussen tarwemout- en gerstmout-*alpha*-amylasen: de eerstgenoemde verliezen het grootste deel van hun werkzaamheid tussen 70° en 75° C, de gerstmout-*alpha*-amylasen tussen 75° en 80° C. De betekenis van dit kleine verschil in thermostabiliteit wordt pas duidelijk wanneer men bedenkt, dat in het deeg de amylolytische afbraak van zetmeel pas goed kan plaats vinden bij hogere temperaturen, waarbij het zetmeel eerst zwelt en daarna verstijft. Hierdoor wordt het zetmeel bijzonder toegankelijk voor amylasewerking. Dit verstijfsen vindt plaats tijdens het bakproces bij een gemiddelde temperatuur van ca 70—75° C. Het is

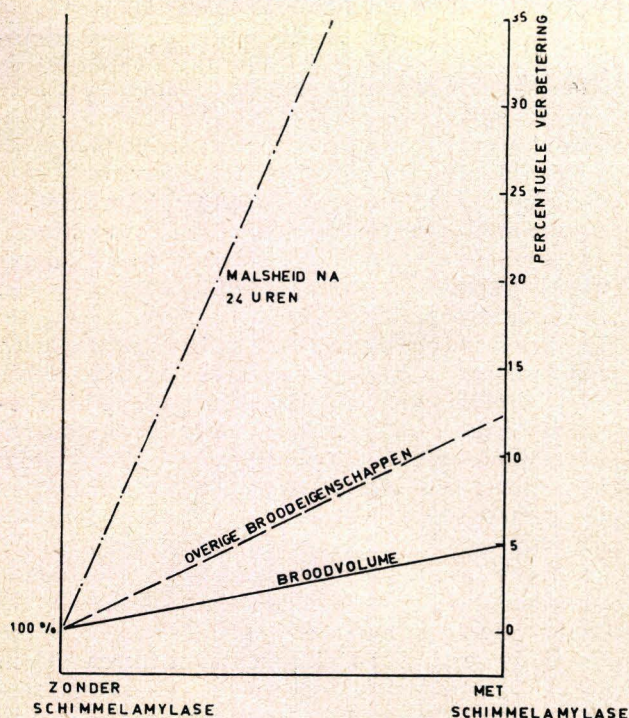
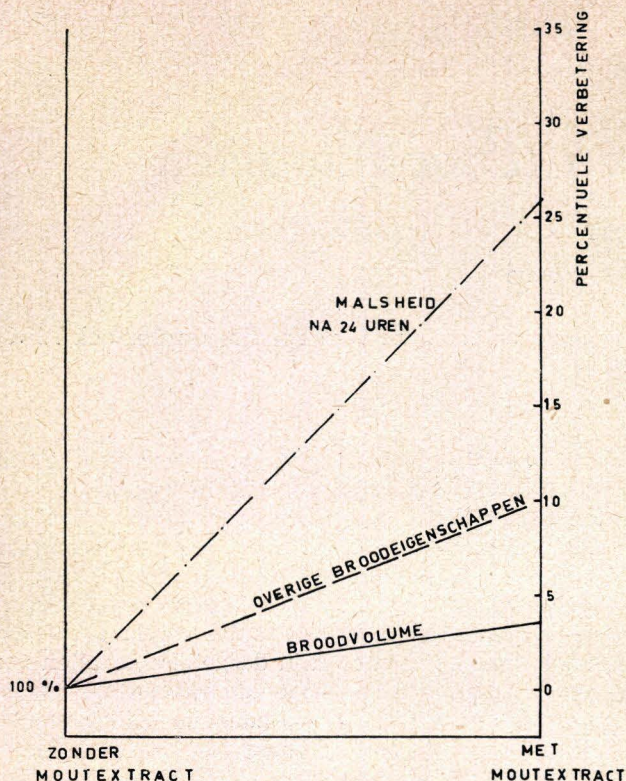


Fig. 1. Schematische voorstelling van de gemiddelde verbeteringen in broodkwaliteit, welke kunnen worden verkregen door toevoeging van moutextract en schimmelaylase. Onder „overige broodeigenschappen” worden verstaan: korstkleur, structuur en kleur van de kruim, stand en scheuring van het brood.

derhalve van belang of de alpha-amy-lasen reeds bij 70° C, dus vóór de grootste verstijfseling, hun werkzaamheid gaan verliezen of pas tussen 75° en 80° C. In dit laatste geval is er tijdens het bakproces meer gelegenheid tot zetmeelafbraak, alvorens de alpha-amy-lasen worden geïnactiveerd, dan in het eerste geval. Dit heeft tot gevolg, dat meer dextrinen worden gevormd, hetgeen van invloed is op de kruimeigenschappen en het oudbakkenworden van het brood.

*

Schimmelaylase.

Anderzijds wordt de kans op zetmeelafbraak tijdens het bakproces kleiner, wanneer de toegevoegde amy-lasen het grootste deel van hun werkzaamheid reeds hebben verloren bij een temperatuur, welke beneden de verstijfselingstemperatuur van het zetmeel ligt. Dit doet zich voor bij de zg. *schimmelaylase*, die de laatste jaren sterk de aandacht van graanchemici hebben getrokken en tegenwoordig in de U.S.A. en in West-Duitsland met succes in de bakkerij worden toegepast. Deze enzymen worden verkregen uit bepaalde schimmels (*Aspergillus oryzae*), die worden gekweekt op tarwezemelen of in groeitanks, waarin zich een vloeistof bevindt waaraan bepaalde voedingsstoffen zijn toegevoegd. Tabel I geeft een overzicht van het verlies aan activiteit van tarwemout-, gerstmout- en schimmel-alpha-amy-lase bij toenemende temperaturen. De activiteit bij 60° C is als basis genomen en gelijkgesteld aan 100 %

Tabel I

Temperatuur in °C	Activiteit van		
	tarwemout- α-amy-lase	gerstmout- α-amy-lase	schimmel- α-amy-lase
60	100 %	100 %	100 %
65	98 „	100 „	100 „
70	91 „	100 „	63 „
75	29 „	72 „	6 „
80	14 „	29 „	0 „

Verloop activiteit van enkele alpha-amy-lasen bij stijgende temperatuur.

Men ziet, dat juist in het voor de zetmeelverstijfseling belangrijke temperatuursgebied van 70—80° C de werkzaamheid der verschillende soorten amy-lasen nogal uiteenloopt. Terwijl de schimmel-alpha-amy-lase bij 75° C reeds bijna onwerkzaam is geworden, heeft de tarwemout-alpha-amy-lase ruim $\frac{1}{4}$ en de gerstmout-alpha-amy-lase nog bijna $\frac{3}{4}$ van zijn activiteit behouden. Dit wil dus zeggen, dat gedurende het bakproces het verstijfselde zetmeel vrijwel niet meer wordt afgebroken door de schimmelaylase, wél door de tarwemoutamy-lase en in veel sterkere mate door de gerstmoutamy-lase. In het laatste geval zal dus ook de grootste dextrinevorming optreden en is derhalve bij iets te hoge doseringen de kans op het ontstaan van een kleffe

broodkruim het grootst. Bij een kleine overdosering van tarwemout-alpha-amylase dreigt dit gevaar ook; daarentegen zal dit euvel bij de schimmel-alpha-amylase niet optreden. Zelfs een 8-voudige overdosering is hier nog zonder schadelijke invloed op de geaardheid van de broodkruim gebleken.

Ter illustratie van het effect van mout- en schimmelamylase-toevoeging op de broodkwaliteit zijn in figuur 1 de gemiddelde percentuele verbeteringen van de broodeigenschappen schematisch weergegeven. Hierbij moet worden opgemerkt, dat zowel het moutextract als het schimmelamylasepreparaat een zeer geringe eiwitsplitsende werking vertoonden. Bovendien bevatte het moutextract ook suikers, dextrinen en enig eiwit. De gunstige invloed berust bij beide enzymproducten echter overwegend op de daarin aanwezige alpha-amylase en men mag de bereikte verbeteringen in broodkwaliteit dan ook als representatief beschouwen voor de werking van de alpha-amylase.

*

Bacterie-amylasen

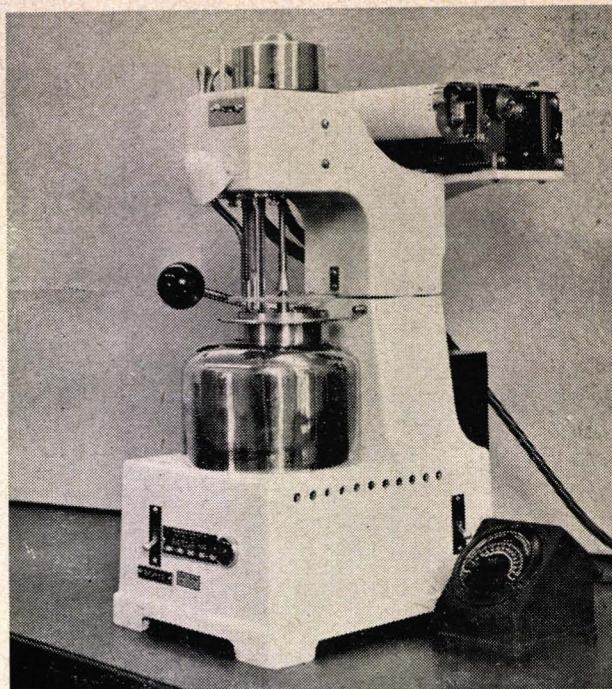
De alpha-amylase, die wordt gevormd door de *Bacterie subtilis*, onderscheidt zich van bovengenoemde graan- en schimmelamylasen door zijn grote hittebestendigheid. Deze thermostabiliteit wordt nog in belangrijke mate beïnvloed door de concentratie van het substraat en het enzym, hetgeen wordt gedemonstreerd in tabel II. In de tweede kolom staat het verloop van de activiteit vermeld, wanneer een waterig extract van het enzym langzaam wordt verhit. In de derde kolom het verloop bij dezelfde enzymconcentratie, maar in tegenwoordigheid van 50 g bloem. In de vierde kolom bij dezelfde substraat-, maar dubbele enzymconcentratie.

Tabel II

Temperatuur in °C	Activiteit in %		
	2	3	4
60	100	100	100
75	100	100	100
80	92	100	100
85	58	100	100
90	22	80	100
95	8	26	62

Verloop van de activiteit van bacterie-alpha-amylase bij stijgende temperatuur en wisselende concentraties substraat en enzym: 2. waterig extract, enzymconcentratie x ; 3. waterig extract + 50 g bloem, enzymconcentratie x ; 4. waterig extract + 50 gram bloem, enzymconcentratie $2x$.

De thermostabiliteit van bacterie-alpha-amylase neemt dus vrij belangrijk toe door de aanwezigheid van substraat en door verhoging van de enzymconcentratie. Bij de mout- en schimmel-alpha-amylase zijn onder gelijke omstandigheden slechts



Afb. 2. Amylograaf van Brabender, waarmee de verstijfingskarakteristiek van bloem-watersuspensies kan worden bepaald.

kleine verschillen in thermostabiliteit waargenomen.

In deeg is de substraatconcentratie uiteraard hoog en het wekt derhalve geen verwondering, dat ook bij zeer lage enzymconcentratie de bacterie-alpha-amylase door het bakproces niet volledig onwerkzaam wordt gemaakt.

De grote hittebestendigheid van de bacterie-alpha-amylase is dan ook oorzaak, dat deze amylasen geen waarde hebben als hulpmiddel om een tekort aan suikervormend vermogen van de bloem op te heffen. De hiervoor benodigde hoeveelheden zouden nl. steeds een kleffe broodkruim veroorzaken als gevolg van een te sterke zetmeelafbraak tijdens het bakproces. Onderzoekingen van de laatste tijd hebben echter aangetoond, dat bacterie-alpha-amylasen toch met succes bij de broodbereiding kunnen worden gebruikt. Het oogmerk is dan niet vergroting van het suikervormend vermogen van de bloem, maar bestrijding van het oudbakken worden.

Dit oudbakkenworden wordt voornamelijk veroorzaakt door veranderingen, die na het bakproces in het zetmeel plaats vinden en hieruit bestaan, dat het zetmeel in een minder oplosbare vorm overgaat, waarbij oorspronkelijk gebonden water geleidelijk vrij komt. Nu is de ketenlengte van het zetmeel van invloed gebleken op de snelheid, waarmee deze omzetting (ook wel retrogradatie genoemd) plaats vindt. Bij afnemende ketenlengte wordt, althans in het geval van tarwezetmeel, de retrogradatiesnelheid kleiner. Indien nu tijdens het bakproces het verstijfelde zetmeel voor een belangrijk deel wordt omgezet in moleculen met kortere ketenlengte, die dus een kleinere retrogradatiesnel-

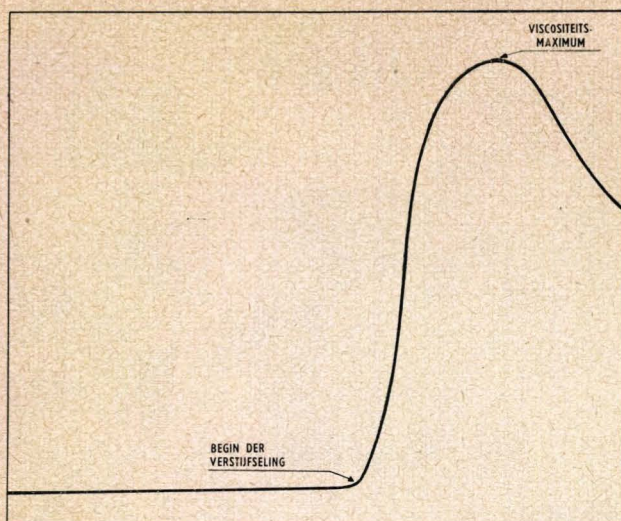


Fig. 3. Amylogram van een tarwebloem-water-suspensie.

heid bezitten, dan zal de broodkruim ook minder snel oudbakken worden.

Een dergelijke zetmeelaafbraak tijdens het bakproces zou bereikt kunnen worden door zeer kleine hoeveelheden bacterie-alpha-amyласen aan het deeg toe te voegen. Deze amylasen zijn nog volledig werkzaam op het moment dat het zetmeel gaat verstijfselen, dus bijzonder aantastbaar wordt, en zij zijn dank zij hun grote hittebestendigheid ook in de laatste periode van het bakproces nog in staat, het verstijfselde zetmeel om te zetten in producten met lager molecuulgewicht. Bovendien zijn er aanwijzingen, dat ook na het bakproces het nog overgebleven werkzame deel der amylasen dit afbraakproces voortzet. Als gevolg van deze werking tijdens en na het bakproces wordt een groter deel van het zetmeel omgezet in producten met kortere ketenlengte, waardoor de broodkruim minder snel oudbakken zal worden.

Het merkwaardige feit doet zich dus bij deze bacterie-alpha-amyласen voor, dat zij vroeger onbruikbaar werden geacht voor de broodbereiding als gevolg van hun grote hittebestendigheid, maar dat juist deze eigenschap nu van belang zou kunnen zijn om het oudbakken worden van brood te bestrijden.

*

Het onderzoek van amylasepreparaten in het laboratorium

De verschillen in thermostabiliteit van de besproken graan-, schimmel- en bacterie- alpha-amyласen komen blijkens het voorgaande in het bijzonder tot uiting in de eigenschappen van de broodkruim. In hoeverre kan men nu reeds een indruk krijgen van de werking dezer enzymen zonder het uitvoeren van een bakproef? In het laboratorium van de Afdeling Graan-, Meel- en Broodonderzoek wordt hiervoor gebruik gemaakt van de *amylograaf van Brabender* (afb. 2), waarmee de viscositeitsveranderingen van bloem-water-suspensies onder invloed van een temperatuurstijging van 1,5° C per minuut automatisch kunnen worden geregistreerd.

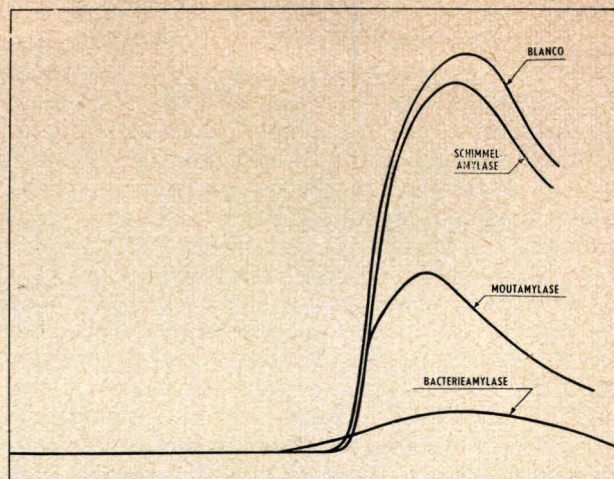


Fig. 4. Invloed van mout-, schimmel- en bacterie-amyласe op het viscositeitsmaximum van een tarwebloem-water-suspensie.

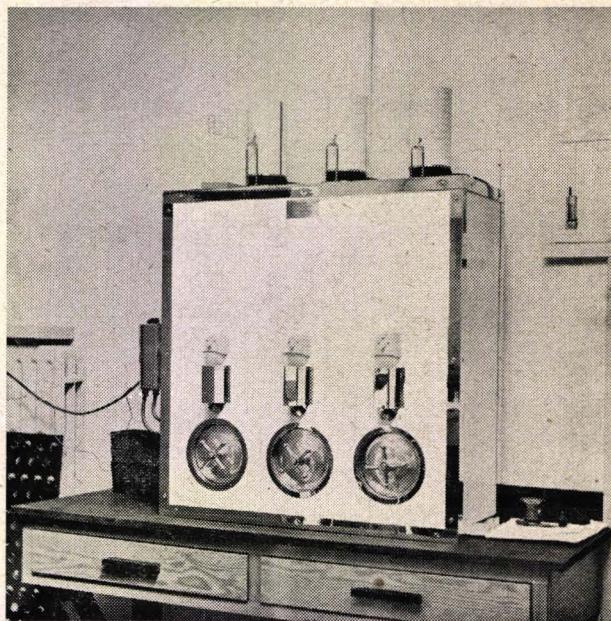
Bij het geleidelijk verhitten van een suspensie van bloem (of zetmeel) in water gaat het zetmeel zwellen en verstijfselen, waardoor de viscositeit van de suspensie sterk toeneemt, door een maximum gaat en bij voortgezette verhitting weer afneemt. In principe vindt hier hetzelfde plaats als bij het bakproces, maar de omstandigheden, waaronder het zetmeel verstijfselt, wijken belangrijk af van die bij het bakproces. In de amylograaf is nl. naar verhouding veel meer water aanwezig dan in het deeg. Figuur 3 geeft een voorbeeld van het verstijfselingsverloop van een waterige suspensie van tarwebloem.

Het viscositeitsmaximum wordt in hoge mate beïnvloed door de amylasewerking. De amylasen breken het zetmeel gedeeltelijk af tot dextrinen en suikers, waarvan het waterbindend vermogen veel kleiner is dan van verstijfseld zetmeel. Dit heeft een daling van het viscositeitsmaximum tot gevolg, mits de amylasen niet reeds zijn geïnactiveerd bij de temperatuur, waarbij het zetmeel verstijfselt en daardoor goed aantastbaar wordt. In figuur 4 zijn enkele viscositeitskrommen (amylogrammen) weergegeven van bloem-water-suspensies waaraan geen amylasen, resp. tarwemout-, schimmel- en bacterie-amyласen zijn toegevoegd in aequivalente hoeveelheden. Het blijkt, dat de daling van het viscositeitsmaximum rechtstreeks verband houdt met de thermostabiliteit van de drie typen amylasen. Schimmelamyласen veroorzaken vrijwel geen daling (geringe thermostabiliteit); bacterieamyласen doen het viscositeitsmaximum in zeer belangrijke mate dalen (grote thermostabiliteit). Dit wil zeggen, dat tijdens het bakproces door de schimmel-amyласen weinig, door de bacterie-amyласen daarentegen zeer veel dextrinen zullen worden gevormd. Onder invloed van tarwemoutamylase daalt het viscositeitsmaximum tot ongeveer de helft van zijn oorspronkelijke waarde; m.a.w. wel aanzienlijke dextrinevorming tijdens het bakproces, maar niet in die mate als bij toevoeging van bacterie-amyласe. Dit komt overeen met de geringere thermostabiliteit

van tarwemoutamylase vergeleken met die van bacterie-amylase. Men kan uit de amylogrammen tevens concluderen, dat een gunstige beïnvloeding der kruimeigenschappen door toevoeging van bacterie-amylase alleen mogelijk is, indien zeer kleine hoeveelheden worden gebruikt. Met behulp van de amylograaf van Brabender kan men dus reeds een indruk krijgen van de door amylasetoevoeging veroorzaakte zetmeelafbraak tijdens het bakproces. Daarnaast wordt in het laboratorium gebruik gemaakt van de *S. J. A. Fermentation Recorder*, die automatisch de hoeveelheid in het deeg gevormd koolzuurgas registreert (afb. 5 en fig. 6). Men kan met behulp van dit apparaat op eenvoudige wijze vaststellen, welke invloed een amylasetoevoeging heeft op de koolzuurgasproductie in het deeg en indirect dus op het suikervormend vermogen van de bloem. Daartoe meet men onder gelijke omstandigheden de hoeveelheid ontwikkeld koolzuurgas in degen zonder en met amylasetoevoeging en men berekent uit de verkregen gistingskrommen de toename in ml koolzuurgas per tijdseenheid of wel de gasontwikkelingssnelheid. Deze uitgezet tegen de tijd levert krommen als weergegeven in figuur 7. De gasontwikkelingssnelheid neemt de eerste uren voortdurend toe om vervolgens weer af te nemen. Voorts blijkt, dat de gasontwikkelingssnelheid in de degen met aequivalente toevoegingen van tarwemout-amylase en schimmel-amylase groter is dan in het deeg zonder toevoeging, hetgeen uiteraard wordt veroorzaakt door de grotere suikervorming als gevolg van de inwerking der toegevoegde amylasen op het zetmeel. Men constateert in dit opzicht echter een belangrijk verschil tussen de tarwemout- en schimmel-amylase bevattende degen. In het

eerste geval (evenals trouwens bij het blanco deeg) begint nl. de gasontwikkelingssnelheid in het deeg reeds af te nemen op een tijdstip, waarop de gasontwikkelingssnelheid in het deeg met schimmel-amylase nog steeds toeneemt. Na een rijstijd van bijv. 4 uren zal derhalve in het schimmelamylase bevattende deeg aanzienlijk meer koolzuurgas zijn gevormd.

Welke conclusies kan men nu op grond van deze gistingskrommen trekken t.a.v. het verloop van het



Afb. 5. S.J.A. Fermentation Recorder, waarmee de in een deeg ontwikkelde hoeveelheid koolzuurgas kan worden bepaald.

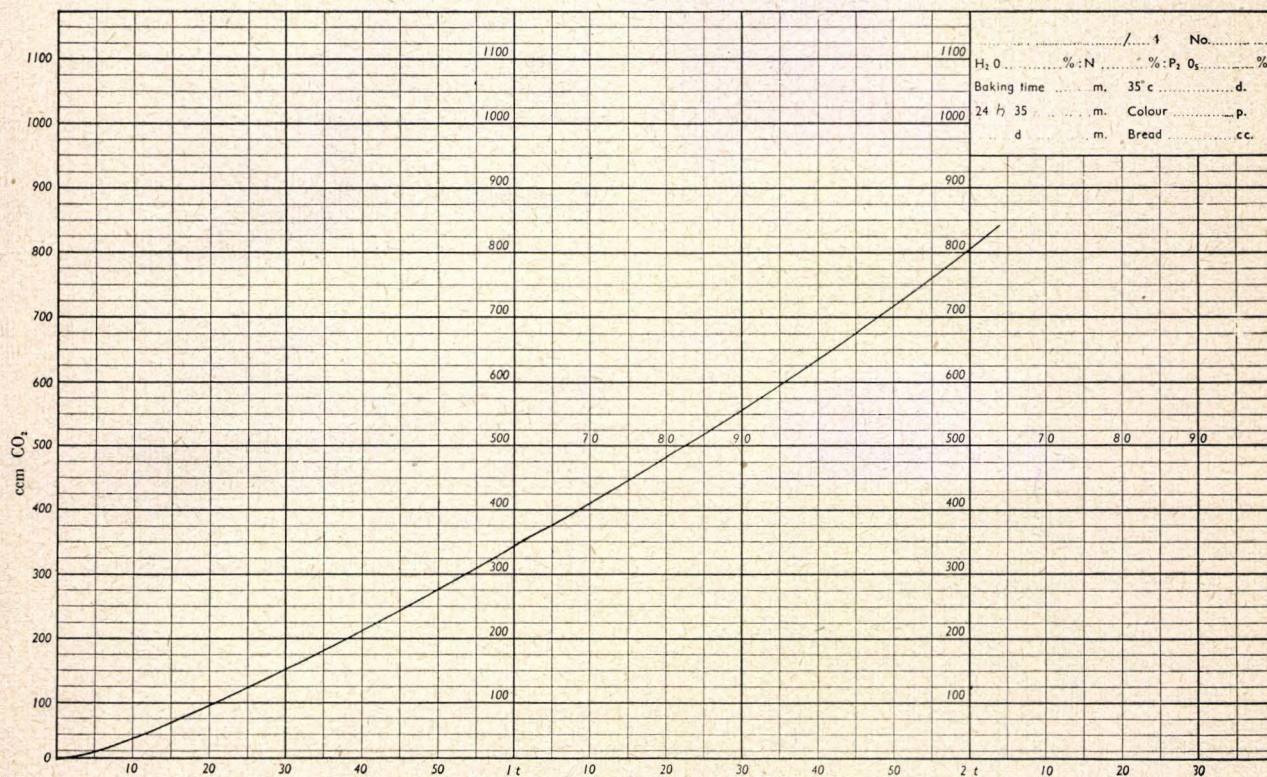


Fig. 6. Gistingcurve van een deeg, zoals deze wordt opgetekend door de Fermentation Recorder.

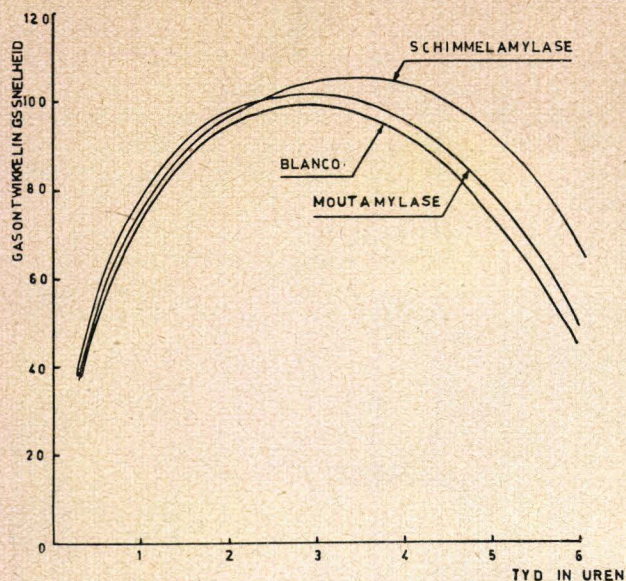


Fig. 7. Invloed van mout- en schimmel-alpha-amylase op het gasontwikkeld vermogen van het deeg.

rijs- en bakproces en van de kwaliteit van het brood? Gezien het relatief korte rijsproces (ca 2 uren), dat hier te lande wordt toegepast, zal de als gevolg van amylasetoevoeging grotere koolzuurgasontwikkeling nog van ondergeschikte betekenis zijn (vgl. fig. 7). In sommige gevallen, hetgeen mede wordt bepaald door de gebezigde bloemsoort, zal het rijsproces met ten hoogste enkele minuten kunnen worden bekort. Gedurende de eerste helft van het bakproces, waarin de enzymatische activiteit als gevolg van de temperatuurstijging nog aanzienlijk toeneemt, zal deze verhoogde koolzuurgasontwikkeling echter sterker tot uiting komen en aan belangrijkheid winnen. Het gevolg zal zijn, dat een groter broodvolume wordt verkregen dan bij een deeg zonder amylasetoevoeging.

Het is evenwel nauwelijks mogelijk, aan de hand van enkele gistingskrommen vast te stellen, of toevoeging van schimmelamylase een groter broodvolume zal bewerkstelligen dan die van moutamylase. Weliswaar zal de koolzuurgasontwikkeling in

het eerste geval aanvankelijk groter zijn, maar hier- tegenover staat, dat de schimmelamylase tijdens het bakproces eerder onwerkzaam wordt gemaakt. Wordt bij de broodbereiding echter een langer rijs- proces toegepast, zoals bijv. in Engeland en de U.S.A. (ca 4 uren), dan zal meer profijt kunnen worden getrokken van de verhoogde koolzuurgasproductie onder invloed van schimmelamylase.

Zoals reeds werd opgemerkt, hebben bacterie-amy- lasen geen waarde als hulpmiddel om het gasont- wikkeld vermogen van het deeg te vergroten. De hoeveelheden van dit type amylase, welke met gunstig gevolg kunnen worden toegevoegd, zijn te klein om tijdens het rijsproces invloed op de suiker- vorming en dus op de gasproductie te kunnen uit- oefenen.

*

Samenvatting

Op grond van het voorgaande kan worden vastge- steld, dat elk der besproken typen amylasen krach- tens zijn oorsprong bepaalde kenmerken bezit, die hun stempel drukken op het verloop van het rijs- en bakproces. Zo komt de uiteenlopende hittebesten- digheid van mout-, schimmel- en bacterie-alpha- amylasen tot uiting in een verschillende beïnvloe- ding van de eigenschappen van de broodkruim. Daarnaast reageert het gasontwikkeld vermogen van het deeg verschillend op een toevoeging van deze enzymen.

Tenslotte blijkt ook zonder bakproef reeds enig in- zicht in de werking dezer amylasen tijdens het rijs- en bakproces verkregen te kunnen worden door het bepalen van de verstijfselingskarakteristiek van bloem-water-suspensies onder toevoeging van amy- laseproducten en door het bepalen van het gasont- wikkeld vermogen van het deeg.

*

Literatuur:

- JOHNSON, J. A., MILLER, B. S.: *Cereal Chem.* **25** 163 (1948).
MILLER, B. S., JOHNSON, J. A., PALMER, D. L.: *Food Techn.* **7** 38 (1953).
SCHULTZ, A. S., SCHOONOVER, F. D., FISHER, R. A., JACKEL, S. S.: *Cereal Chem.* **29** 200 (1952).
JACKEL, S. S., SCHAEDEER, W. E., SCHULTZ, A. S.: *Cereal Chem.* **30** 190 (1953).