

C
232
m
44

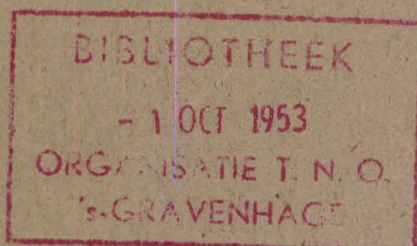
CENTRAAL INSTITUUT VOOR VOEDINGSONDERZOEK T.N.O.
Afdeling Graan-, Meel- en Broodonderzoek te Wageningen

Mededeling nr 44

Die Verwendung von Pilzenzymen bei der Brotherstellung

von

Ir D. H. GREUP und Drs H. M. R. HINTZER



SONDERABDRUCK AUS BROT UND GEBÄCK, 7 (1953) 4-7.

TNO
16791

Die Verwendung von Pilzenzymen bei der Brotherstellung¹⁾

IR D. H. GREUP und DRS H. M. R. HINTZER

Abteilung für Getreide und Getreideprodukte des Zentralinstituts für Ernährungsforschung
T.N.O., Wageningen

Bevor die Verwendung der Pilzenzyme bei der Brotherstellung im einzelnen zu besprechen ist, sollen zunächst einige Bemerkungen über die Tätigkeit der Amylasen im Teig gemacht werden. Die Wirkung der Beta-Amylase auf Stärke ist verhältnismässig einfach und wird durch das Abspalten von Maltose von den Kettenenden der Stärkemoleküle charakterisiert. Dagegen ist die Hauptfunktion der Alpha-Amylase die Beförderung der Stärkeverflüssigung und die Dextrinisierung, demzufolge zu gleicher Zeit die Angriffsmöglichkeiten der Beta-Amylasen in beträchtlichem Masse begünstigt werden. Die kombinierte Wirkung der Alpha- und Beta-Amylase im Teig ergibt eine schnelle Verzuckerung und zwar werden vergärbare Zucker gebildet, die für die Gärtätigkeit von grosser Bedeutung sind. Dennoch ist der Stärkeabbau begrenzt, da die Amylasen hauptsächlich nur beschädigte Körner, die entweder durch mechanische Einwirkung beim Mahlprozess oder durch Verkleisterung angegriffen sind, abbauen können.

Im normalen, gesunden Mehl übertrifft die Menge der Beta-Amylase die der Alpha-Amylase bei weitem, aber wenn der Weizen keimen kann, ist eine besondere Aktivierung der Alpha-Amylase zu beobachten, während die Zunahme der Beta-Amylase-Wirkung nur gering ist. Mehle, welche aus gekeimtem Weizen hergestellt werden, sind schwierig zu verbucken infolge der übermässigen Dextrinbildung. Der Teig und die Brotkrume werden in solchen Fällen leicht klebrig und die äussere Gebäckbeschaffenheit ist ungenügend. Andererseits wenn das Mehl einen natürlichen Mangel an Alpha-Amylase aufweist, ist die Verzuckerung fast ganz auf die Beta-Amylasewirkung beschränkt. Das Gasbildungsvermögen ist in solchen Fällen nur schwach und unzulänglich. Offenbar ist eine gewisse Tätigkeit der Alpha-Amylase notwendig, um den gewünschten Stärkeabbau und eine genügende Gasbildung zu sichern. Um die Enzymarmut von Mehlen zu korrigieren, werden seit langem beim Backen Malzzusätze angewandt. In den letzten 10 Jahren ist besonders in den USA ein beträchtliches Interesse für Enzympräparate zu bemerken, die aus Schimmelpilzen hergestellt werden.

Dazu wurden bestimmte Stämme des *Aspergillus oryzae*, welche neben anderen Enzymen eine Amylase des Alpha-Typs bilden, genommen. Verschiedene Reinigungsmethoden werden bei der Herstellung dieser Pilzenzympräparate ausgenutzt, so dass es möglich ist, die enzymatische Tätigkeit deutlich in einer Richtung, aber sehr wenig in anderen Richtungen hervortreten zu lassen. So werden Präparate hergestellt nicht nur mit hoher amyolytischer und geringer proteolytischer Tätigkeit, sondern auch mit hoher amyolytischer und hoher proteolytischer Aktivität, während die Möglichkeit vorhanden ist, fast jedes erwünschte intermediäre Aktivitätsverhältnis zu erreichen.

Einige Eigenschaften der Pilz-Alpha-Amylase sollen kurz erwähnt werden. Das Enzym hat stärkeabbauende Eigenschaften ähnlich wie Getreide-Alpha-Amylase, aber es ist ziemlich unwirksam hinsichtlich der Viskositätsabnahme des Mehlkleisters, wie mit dem Brabender Amylograph gemessen. Dies ist auf die geringere Thermostabilität zurückzuführen, demzufolge die Enzyme bereits un-

¹⁾ Vortrag von Ir D. H. Greup gehalten auf dem „Deuxième Congrès International des Industries de Fermentation“, Knokke den 20. September 1952.

wirksam werden, bevor viel von der Stärke verkleistert ist. Die kristallisierte Pilz-Alpha-Amylase, durch fraktioniertes Fällern mit Ammonium-Sulfat erhalten, ist in der Kälte dauerhaft zwischen pH-Werten von 4,7 bis 7,8 und hat ihren isoelektrischen Punkt ungefähr bei einem pH 4,0. Ihre Wirkung ist nicht abhängig von irgendeinem Ion, im Gegensatz zur kristallisierten Malz-Alpha-Amylase, die durch Calcium-Ione aktiviert wird.

Das Ziel unserer Untersuchungen war, die Möglichkeiten der Anwendung der Pilzenzympräparate hinsichtlich der Qualitätsverbesserungen des Niederländischen Weissbrotes zu erforschen. Zwei Arten von Enzympräparaten, in USA hergestellt, nämlich „Diastase 33“ und „Rhozyme S“ wurden untersucht. Die erste hatte eine hohe amylytische Aktivität mit nur geringer proteolytischer Wirkung, die zweite zeigte die gleiche hohe amylytische als auch proteolytische Aktivität. Zehn handelsübliche Mehle wurden herangezogen, aus einer Mischung von Niederländischem- und Auslandsweizen gemahlen, wobei die Ausbeute ungefähr 75 Prozent betrug. Bei allen Backversuchen wurde ein einfaches Backrezept angewandt, bestehend aus Mehl, Wasser und jeweils 2 Prozent Salz und Hefe, auf Mehl berechnet. Die Backversuche wurden nach genau festgelegten Bedingungen durchgeführt, wie aus Tabelle 1 zu ersehen ist. Die Teigkonsistenz schien sich

Tabelle I.

Schema des Backversuches.

Kneten		10 Minuten	Teigtemp. 28°C
Erste Gare		25 Minuten	
	durch-		
	stossen		
Zweite Gare		20 Minuten	
	teilen		
Dritte Gare		20 Minuten	
	formen		
Stückgare		60-75 Min. ¹⁾	Backtemp.
Backzeit		30 Minuten	250°C

¹⁾ Die Zeit, benötigt um eine fest gesetzte Menge Kohlensäure zu entwickeln, bestimmt die Dauer der Stückgare.

zu verringern bei der Anwendung von Pilzenzymen, was bei richtig gewählten Zusätzen zu einer Verbesserung der Teigeigenschaften führte. Ein unerwünschtes Nachlassen des Teiges erfolgt jedoch, wenn übermässige Dosierungen gebraucht werden. Die Wirkung der Diastase ist jedoch geringer, als die von Rhozyme. Die Erklärung möchte damit gegeben sein, dass die Abnahme der Teigkonsistenz unter dem Einfluss von Alpha-Amylase begrenzt wird durch die Menge abbau-fähiger Stärke, wogegen die Beeinflussung der Teigkonsistenz unter dem Einfluss von proteolytischen Enzymen nahezu gleich zu setzen ist mit der Konzentration der vorhandenen Proteinase und nicht begrenzt wird durch die Klebereigen-schaften.

Die Ergebnisse der Backversuche mit verschiedenen Konzentrationen von Diastase und Rhozyme werden in den Tabellen 2 und 3 dargestellt. Dazu ist zu

bemerken, dass sehr geringe Mengen von Enzymzusätzen eine vorteilhafte Wirkung auf die Broteigenschaften haben, wie es aus der Wertzahl in der letzten Spalte hervorgeht. Bei Mehl A konnte eine bedeutende Verbesserung nur durch den Zusatz von Diastase erzielt werden, bei Mehl B nur durch den Rhozyme-zusatz. Mehl C reagierte nahezu gleich gut auf beide Zusätze, aber es waren Anzeichen von zu starker Proteolyse bei den höheren Dosierungen von Rhozyme zu finden. In den meisten Fällen war die Farbe der Kruste leicht verbessert. Bei einem der zehn untersuchten Mehle wurden nachteilige Wirkungen, sowohl bei der Anwendung von Diastase als auch Rhozyme beobachtet. Diese Ergebnisse waren jedoch nicht überraschend, da sich dieses Mehl durch eine hohe Amylase-tätigkeit auszeichnete.

Tabelle II.

Beeinflussung des Backergebnisses durch den Zusatz von Pilzenzympräparaten.

	Zusätze		Brotvolumen Vergleichs- versuch 100 %	Äussere Gebäck- beschaffenheit (0 - 12)	Krumencharak- teristiken (0 - 15)	Wertzahl ¹⁾
	Typ	Menge in mg/1000 g Mehl				
Mehl A	ohne	—	100	9	9	40
	Diastase	15	103,5	10	9	48
	"	50	107,5	10	10	57
	"	100	104	10	10	50
Mehl B	ohne	—	100	10	9	42
	Rhozyme	30	105,5	10	10	56
	"	50	106,5	10	11	59
	"	100	107,5	10	11	62

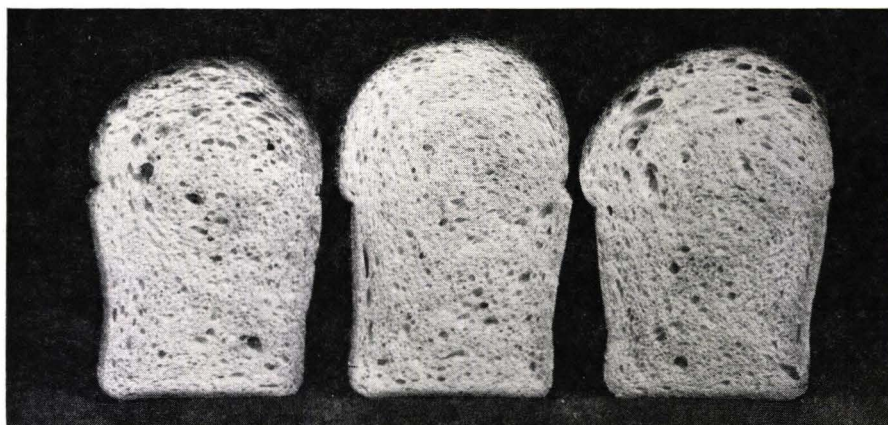
¹⁾ Wertzahl <15 sehr schlecht 47—67 genügend
15—30 schlecht 67—93 gut
30—47 unzureichend >93 sehr gut

Tabelle III.

Beeinflussung des Backergebnisses durch den Zusatz von Pilzenzympräparaten.

	Zusätze		Brotvolumen Vergleichs- versuch 100 %	Äussere Gebäck- beschaffenheit (0 - 12)	Krumencharak- teristiken (0 - 15)	Wertzahl ¹⁾
	Typ	Menge in mg/1000 g Mehl				
Mehl C	ohne	—	100	10	8	72
	Diastase	50	105,5	11	9	87
	"	100	105	11	9	87
	"	200	103,5	11	9	82
	Rhozyme	50	106	11	9	91
	"	100	101	11	9	82
	"	200	99,5	11	8	75

¹⁾ Wertzahl <15 sehr schlecht 47—67 genügend
15—30 schlecht 67—93 gut
30—47 unzureichend >93 sehr gut



1. 2. 3.

Abb. 1. Einfluss von Pilzenzymen auf die Gebäckbeschaffenheit.
1. Vergleichsversuch; 2. mit 100 mg Diastase; 3. mit 200 mg Diastase per 1000 g Mehl.



1. 2. 3.

Abb. 2. Einfluss von Pilzenzymen auf die Gebäckbeschaffenheit.
1. Vergleichsversuch; 2. mit 50 mg Rhozyme per 1000 g Mehl; 3. mit 100 mg Rhozyme per 1000 g Mehl.

Abbildung 1 zeigt die Wirkung auf das Brotvolumen und die Krumeneigenschaften. Die obere Abbildung zeigt Brote, die ohne und mit Zusatz gebacken wurden, die untere Abbildung ist ein Schnittbild dieser Brote. Eine nennenswerte Verbesserung im Brotvolumen wurde bei Brot Nr. 2 erzielt, aber bei Brot Nr. 3 ist die obere Sicherheitsgrenze der Dosierung bereits leicht überschritten worden, was an dem wenig wünschenswerten Bruch an der Seite des Brotes und an einer weniger gleichmässigen Struktur der Krume zu ersehen ist.

Abbildung 2 veranschaulicht ähnliche Wirkungen, die durch den Zusatz von kleineren Mengen von Rhozyme hervorgerufen wurden. Die Zusammendrückbarkeit der Brotkrume wurde nach verschiedenen Lagerzeiten mit dem Panimeter (Abbildung 3) bestimmt. Die Ergebnisse sind wiedergegeben in willkürlichen Einheiten, ein höherer Wert bedeutet eine bessere Krumenbeschaffenheit. In Abbildung 4 werden Diagramme dargestellt, die das Absinken der Zusammendrückbarkeit mit der Zeit und den Einfluss von Enzymzusätzen für die aus verschiedenen Mehlen gebackenen Brote wiedergeben. Diese Diagramme veranschaulichen die vorteilhaften Wirkungen, die durch Pilzenzymzusätze erhalten werden können. Selbst in solchen Fällen, wo die Krumenbeschaffenheit der Vergleichsbrote schon sehr gut war, konnten leichte Verbesserungen wahrgenommen werden.

Zusammenfassend kann herausgestellt werden, dass die Ergebnisse der Backversuche und der Zusammendrückbarkeitsmessungen darauf hindeuten, dass die Pilzpräparate, wenn sie in geeigneten Konzentrationen angewandt werden, die Qualität von Niederländischem Weissbrot in einem beträchtlichen Ausmass verbessern können.

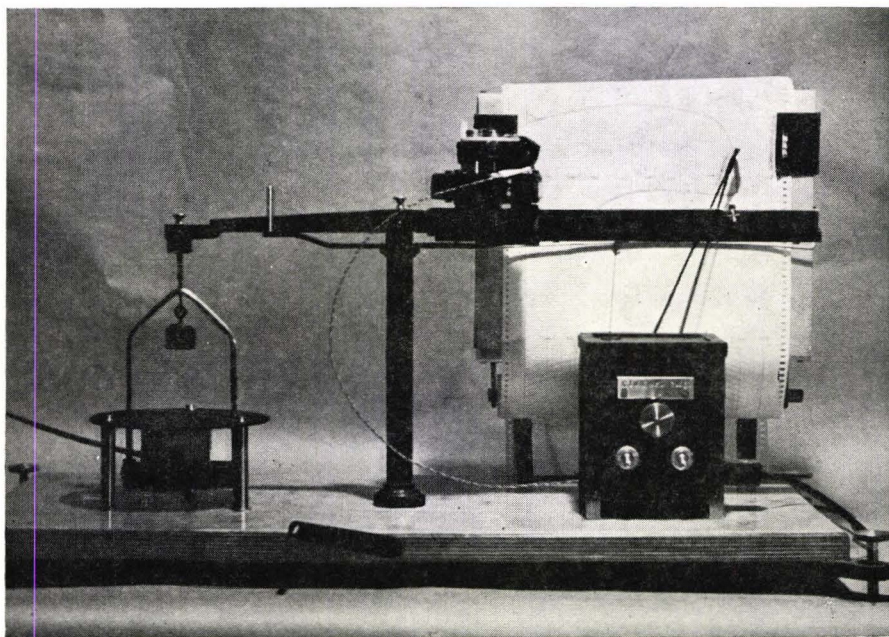


Abb. 3. Panimeter.

Um die Wirkung der Pilzenzymzusätze auf die Backergebnisse besser zu verstehen, wurden der Einfluss auf den Maltosewert, das Gasbildungsvermögen und auf die maximale Viskosität des Mehlkleisters untersucht. Wenn man dieselben Zusätze der Enzympräparate wie beim Backen wählt, erhöht sich der Maltosewert

nur sehr wenig, wogegen die Gasbildung, über einen Zeitabschnitt von 6 Stunden gemessen, erheblich ansteigt. Der Einfluss von Diastase scheint geringer zu sein, als der von Rhozyme. Ein typisches Beispiel dieser Wirkung wird in Abbildung 5 wiedergegeben, wo die Zunahme von Kohlendioxyd per Zeiteinheit in Zeitabständen von 1—6 Stunden aufgezeichnet ist. Bemerkenswert ist, dass die Geschwindigkeit der Gasbildung ohne und mit Zusätzen fast gleich ist bis zur zweiten Stunde, aber dass von der dritten Stunde an der Einfluss der Enzympräparate ganz deutlich hervortritt. Die Hauptwirkung wird offenbar erst nach Ablauf einiger Stunden erreicht. Hinsichtlich der verhältnismässig kurzen Gärzeit, die in den Niederlanden angewandt wird, ist es selbstverständlich, dass diese vorteilhafte Wirkung nur teilweise ausgenutzt wird. Trotzdem kann angenommen werden, dass die zunehmende Gasbildung unter der Einwirkung von Hitze während der ersten Hälfte des Backprozesses bei Anwendung von den Enzymzusätzen bemerkenswerter hervortritt und deswegen zu einem stärkeren Ofentrieb beiträgt und damit auch zur Verbesserung des Brotvolumens. Es wurde weiterhin

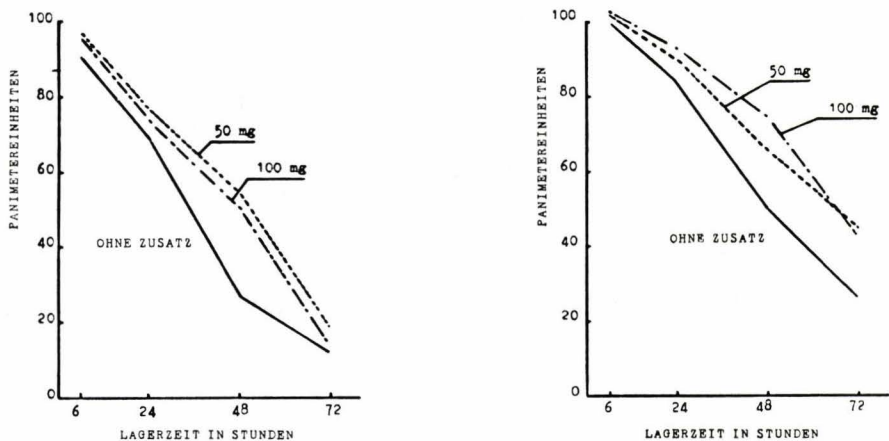


Abb. 4a. Beeinflussung der Krumenzusammendrückbarkeit durch den Zusatz von Diastase.

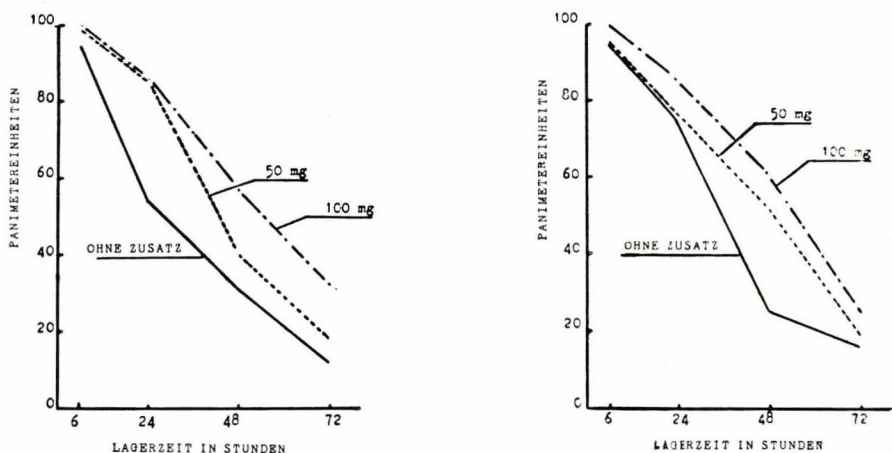


Abb. 4b. Beeinflussung der Krumenzusammendrückbarkeit durch den Zusatz von Rhozyme.

festgestellt, dass die Zunahme der Maltosezahlen, hervorgerufen durch den Zusatz der Enzymkonzentrate kein zuverlässiger Massstab für die damit verbundene Verbesserung in der Gasbildung ist.

Viskositätsmessungen mit dem Brabender Amylographen zeigten schliesslich, dass dieselben kleinen Mengen von Diastase und Rhozyme die maximale Viskosität des Mehlkleisters kaum beeinflussten auf Grund ihrer ziemlich niedrig liegenden Inaktivierungstemperatur. Die Behandlung mit Pilzenzymen begünstigt daher die Bildung von Zuckern ohne irgendeine merkliche Abnahme der Viskosität des Stärkekleisters, währenddem die Bildung von Dextrinen bei den erhöhten Temperaturen während des Backprozesses begrenzt ist. Infolgedessen führt ein zu hoher Zusatz von Pilz-Alpha-Amylase weniger schnell zu einer unerwünschten Krumenbeschaffenheit als bei Malz-Alpha-Amylase, da diese durch eine relativ hohe Inaktivierungstemperatur gekennzeichnet ist.

Alle diese Erkenntnisse, die die Beobachtungen anderer Forscher bestätigen, scheinen anzudeuten, dass die backtechnischen Auswirkungen von Diastase und Rhozyme nur teilweise zu erklären sind aus der Beeinflussung des Gasbildungsvermögens. Es ist nicht ganz unmöglich, dass die zunehmende Porenverfeinerung, die zartere Krumenbeschaffenheit und die bessere Haltbarkeit auf den milden

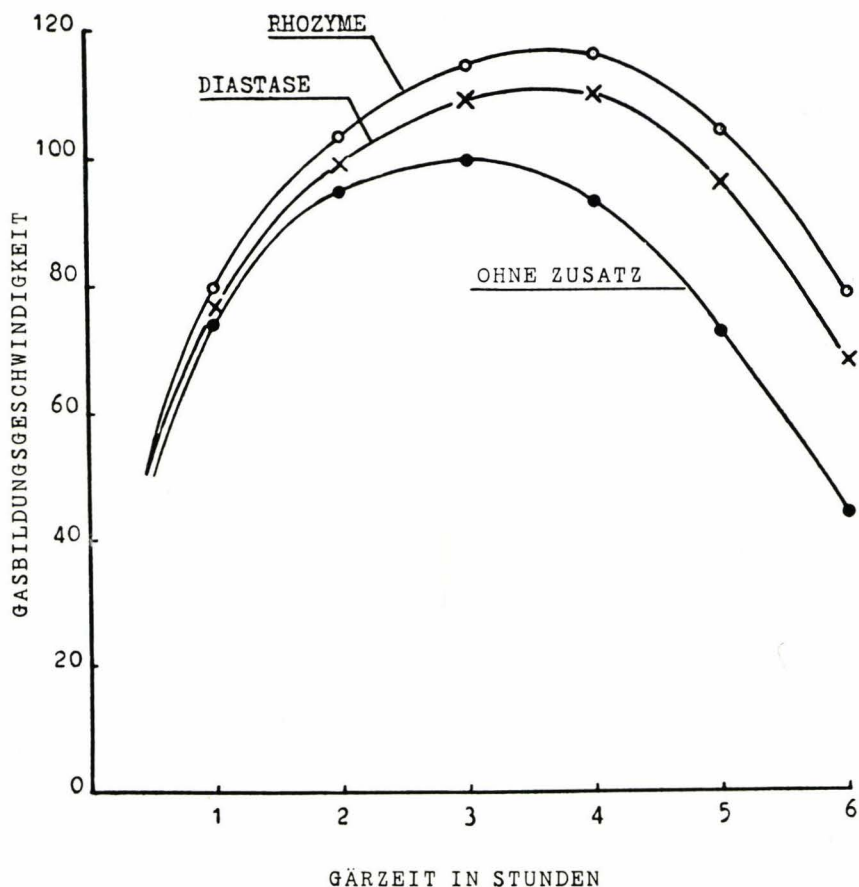


Abb. 5. Beeinflussung des Gasbildungsvermögens durch den Zusatz von Diastase und Rhozyme.

Abbau der Stärke unter dem Einfluss der Pilz-Amylase zurückgeführt werden muss. Die proteolytische Aktivität von Rhozyme kann möglicherweise eine Erleichterung des Stärkeaufschlusses und ein Freiwerden der gebundenen Beta-Amylase hervorrufen, demzufolge eine Beschleunigung der Stärkehydrolyse und zuletzt eine zunehmende Gasbildung eintritt. Es ist jedoch erkannt worden, dass auch andere Faktoren, die bei den drei angewandten Methoden nicht erfasst wurden, das Verhalten von einem Mehl in Beziehung zu den beiden Typen Pilzenzympräparate beeinflussen. Dazu gehören der Alpha-Amylasegehalt des Mehles, die Beschaffenheit der Stärkekörner, die Menge der abbaufähigen Stärke, die Klebereigenschaften und der Einfluss der proteolytischen Enzyme auf gebundene oder sogenannte latente Amylasen.

Einige abschliessende Bemerkungen sollen noch zu der Ermittlung der richtigen Zusätze und zu der Verwendung dieser Pilzenzyme für die mehlverarbeitenden Betriebe gemacht werden. Da der Einfluss auf die maximale Viskosität des Mehlkleisters nicht parallel verläuft mit dem Einfluss auf Maltosewert und Gasbildungsvermögen und demzufolge diese Bewertungsmethoden oft abweichende Resultate ergeben, bleibt der Backversuch bis heute immer noch die beste Prüfung hinsichtlich der richtigen Zusätze.

Ogleich bereits viel über die Tätigkeit dieser Enzyme bekannt geworden ist, sind weitere grundlegende Informationen über ihre Wirkung bei der Brotherstellung erwünscht. Jedoch, der Vorteil eines Enzymproduktes, welches sorgfältig auf amylolytische und proteolytische Aktivität zu standardisieren ist, und der Umstand, dass im allgemeinen sehr geringe Zusätze genügen, versprechen viel hinsichtlich der Anwendung dieser Pilzenzyme für Bäckereizwecke.