

Enzimas – Las mejores amigas de las harinas

Las pequeñas ayudantes de los fabricantes de harinas

Dr. Lutz Popper, Mühlenchemie GmbH & Co. KG, Ahrensburg, Alemania

Durante mucho tiempo se creyó que la α - y la β -amilasa eran las únicas enzimas que podían usarse en la industria de la molinería. Esta creencia ha cambiado radicalmente desde la introducción de las hemicelulasas hace dos décadas y ha recibido ahora otro impulso gracias al éxito de las enzimas lipolíticas. Existen muchas más enzimas (Tab. 1) que todavía desempeñan papeles en nichos para determinadas aplicaciones, pero que un día pueden volverse tan versátiles como los tipos anteriormente mencionados. Esta presentación se centra en las propiedades menos conocidas de las enzimas comunes y algunas aplicaciones de nicho de las enzimas bien conocidas.

Tab. 1: Enzimas sugeridas para la mejora del pan y de la harina (no exclusivas)

Enzima	Efecto pretendido
α -amilasa, fungal	Suministro de energía para la levadura
α -amilasa, bacteriana	Licuefacción
α -amilasa, estable al calor intermedio	Antiendurecimiento
Amiloglucosidasa (glucoamilasa)	Suministro de energía, color, sabor
Enzima ramificada (glucotransferasa)	Retención de agua
Celulasa	Retención de agua
Furanosidasa, arabinofuranosidasa	Estructura de la masa, retención de agua
Esterasa de ácido ferúlico y cumárico	Estructura de la masa, retención de agua
Glutación oxidasa	Refuerzo de las proteínas
Glicolipasa, galactolipasa	Estabilidad de la masa y rendimiento de volumen
β -glucanasa	Estructura, licuefacción
Glucosa oxidasa, galactosa oxidasa, hexosa oxidasa	Refuerzo de las proteínas
Hemicelulasa, xilanasa, pentosanasa	Estructura de la masa, retención de agua, rendimiento de volumen
Laccasa, polifenol oxidasa	Reforzamiento de la masa
Lipasa	Sabor, emulsificación <i>in-situ</i> , estabilidad de la masa y rendimiento de volumen
Lipoxigenasa, lipoxidasa	Estructura de la masa, decoloración
Exopeptidasa	Color, sabor
Peroxidasa	Reforzamiento de las proteínas
Fosfolipasa	Estructura porosa y rendimiento de volumen
Proteasa, proteinasa	Relajación de las proteínas, licuefacción
Pululanasa	Estructura, retención de agua
Sulfidril oxidasa	Reforzamiento de las proteínas
Sulfidril transferasa	Reforzamiento de las proteínas
Transglutaminasa	Reticulación de las proteínas, estabilización del gluten

El término hemicelulasa designa una familia de enzimas. Todos los miembros mostrados en la Fig. 1 pueden disgregar los pentosanos, pero sus impactos sobre la masa y propiedades de panificación varían mucho.

Se supone que los pentosanos forman una red con el gluten; cuantos más pentosanos hay implicados, más firme es la red. Éste es el motivo por el que las harinas de trigo más oscuras y las mezclas que contienen harina de centeno tienen un rendimiento de volumen menor que las harinas blancas. El rendimiento de volumen de todas las harinas puede aumentarse considerablemente agregando hemicelulasas.

La mayoría de estas enzimas derivan de las clases *Aspergillus* seleccionadas o especializadas en la producción de hemicelulasas.



Fig. 1: Enzimas hemicelulolíticas

Las hemicelulasas se venden mayoritariamente en compuestos con amilasa. No es posible proporcionar una recomendación de dosificación general, ya que no existe un método estándar para determinar la actividad de hemicelulasa. Los métodos disponibles se basan normalmente en la determinación de la liberación de azúcares reductores, la reducción de viscosidad o la disgregación de moléculas sintéticas o coloreadas son muy difíciles de relacionar entre sí. Además, incluso el uso de un método estándar para diferentes hemicelulasas no permite necesariamente sacar conclusiones respecto a las propiedades de panificación, presumiblemente debido a que los puntos en que las hemicelulasas de diferente origen atacan las moléculas de pentosano son muy diferentes.

Proteasa

Las proteasas (conocidas también como proteinasas o peptidasas) dividen las cadenas de proteínas de la molécula de gluten (Fig. 2) y de este modo se produce en primer lugar un ablandamiento y después un colapso completo de la estructura. Una única proteasa purificada y muy específica sólo podría disgregar unos pocos enlaces de péptidos, produciendo sólo un ablandamiento limitado.

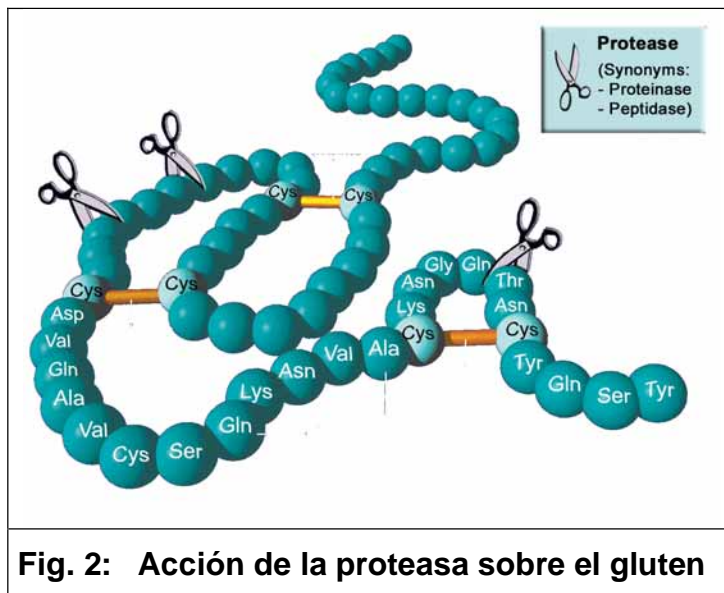


Fig. 2: Acción de la proteasa sobre el gluten

Con las estructuras de gluten cortas puede ser conveniente un ligero ablandamiento; en este caso tiene una importancia similar al uso de la cisteína. La acción proteolítica depende más del tiempo que la función de la cisteína. Como resultado, aumenta con el tiempo de fermentación de la masa. Éste es el motivo por el que existe una demanda considerable de preparados de enzimas que no contienen trazas de proteasa.

El uso de proteasa es menos crucial con las harinas ricas en gluten. Incluso es muy común en la producción de pan de molde (tostadas), donde se necesita que una masa blanda rellene con precisión el molde. Las proteasas son muy útiles también para la producción de harinas para crackers, galletas o barquillos donde no se desea elasticidad del gluten.

Enzimas para galletas, crackers y barquillos

Mientras que un alto contenido de proteínas y un gluten fuerte son propiedades deseadas en muchos procesos del pan, las harinas con poco gluten y débil son preferibles para los productos panificados duraderos. La tendencia de la masa a recuperarse después de estirla con el rodillo y la formación no deseada de grumos de gluten en la pasta para barquillos son los motivos para este requisito. Si hay disponible o no una harina con pocas proteínas y débiles, el uso de agentes reductores de la elasticidad tendrá ventajas en todas las etapas del proceso: La extensión será más uniforme; la reducción del grosor de la hoja de masa puede realizarse de forma más rápida y reproducible; los periodos de relajación para la hoja de masa pueden reducirse o incluso omitirse; los trozos de masa mantendrán la forma dada mediante el corte;

se evitan la contracción y la curvatura en el horno, así como la formación de grietas capilares (comprobación). Con las amilasas apropiadas puede prescindirse de los componentes de la receta caros, como los sólidos lácteos, que de lo contrario son necesarios para un tostado suficiente. Además, todo el proceso dependerá menos de la calidad de la harina.

Aplicaciones para galletas y crackers

La Tab. 2 muestra las recetas para galletas duras simples fabricadas sin y con proteasa (Alphamalt BK 5020). En la fila inferior se comparan las dimensiones de las galletas. Como muestra la relación largo:ancho (media de 25 galletas), no hay casi diferencia entre el largo y el ancho de las galletas con adición de enzimas, mientras que las que no tenían enzimas se encogieron en una dirección.

Tab. 2: Galletas horneadas con y sin proteasas bacterianas

Componente (kg)	Referencia	Con enzimas
Harina	100	100
Grasa	50	50
Azúcar	50	50
Sal	0,2	0,2
Agua	10	10
Alphamalt BK 5020	-	0,05
<hr/>		
Largo / ancho (mm)	62,3 / 59,6	63,6 / 63,3

Dado que la proteasa elimina la mayor parte de la tensión interna, los productos tienen una tendencia menor a curvarse durante el horneado: La primera fila de la Fig. 3 muestra la parte inferior de las galletas sin proteasa; la coloración se produjo principalmente en los márgenes, que todavía tocaban la piedra del horno cuando adoptaron una forma convexa debido a la contracción asimétrica de las proteínas al producirse desnaturalización térmica. Las galletas fabricadas con proteasa se mantuvieron planas y mostraron un dorado uniforme (fila inferior). Éste es también un problema común que puede observarse con muchas galletas duras producidas comercialmente.

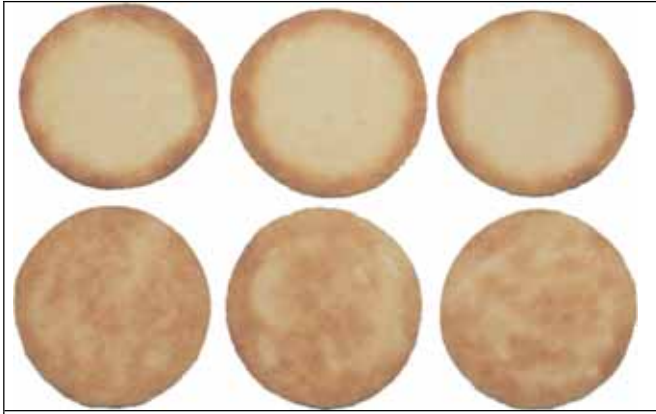


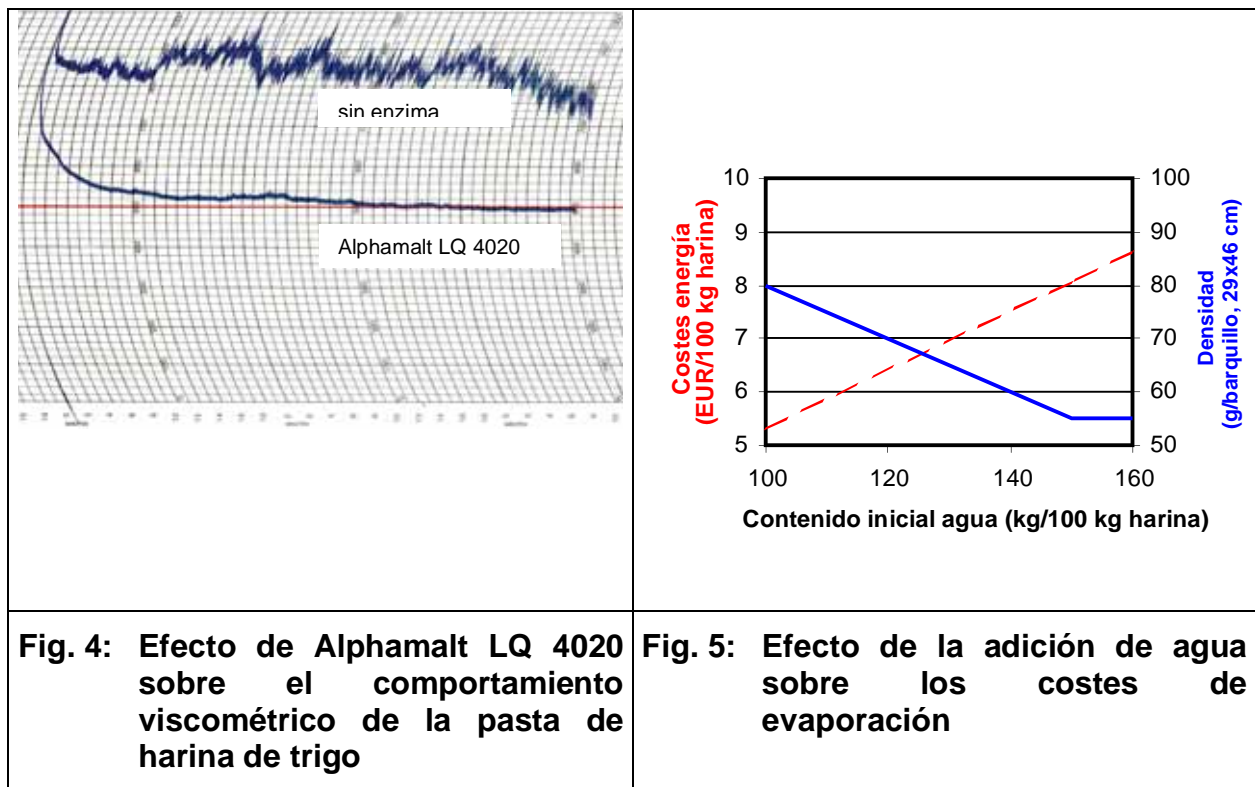
Fig. 3: Parte inferior de las galletas duras horneadas sin (arriba) y con Alphamalt BK 5020 (abajo)

Aplicaciones para barquillos

Las pastas para la producción de barquillos contienen una gran cantidad de agua. Es esencial una baja viscosidad y una dispersión uniforme de todos los ingredientes para obtener barquillos uniformes con una estructura homogénea. Dado que la formación de grumos de gluten durante el mezclado puede causar una parada de la maquinaria debido al bloqueo de los tubos y tamices o el dorado no uniforme y la reducción de la estabilidad de los productos horneados, es conveniente el uso de harina baja en proteínas, pero puede no ser suficiente. La licuefacción de los complejos de enzimas hidrolíticos puede descomponer cualquier gluten presente en una pasta líquida, dando como resultado una mezcla uniforme con propiedades de flujo óptimas. Debido a la reducción de la viscosidad, la cantidad de agua usada en la receta puede reducirse, lo que proporcionará un consumo menor de energía para el horneado y un rendimiento del horno superior. Estas enzimas son las más apropiadas para los procesos semicontinuos, con tiempos de lote de 10 min mínimo, dado que la reacción de las enzimas necesita algunos minutos más para que tenga efecto.

Utilizamos el amilógrafo de Brabender a una temperatura constante para una prueba simple con el fin de demostrar el efecto de una 'enzima para barquillos' sobre las propiedades reológicas de un sistema de masa líquida (Fig. 4). Se usó una harina de trigo estándar para fabricar pan en todas las pruebas; se realizó una mezcla previa de 250 g de harina con 330 mL de agua en una batidora Braun durante 1 min 45 s y después se colocó en un recipiente de reacción. La enzima para barquillos Alphamalt LQ 4020 se añadió en una prueba de 20 g por 100 kg de harina antes de empezar la mezcla.

Mientras que la prueba de referencia se mantuvo casi en la misma viscosidad durante 40 min aprox., la enzima causó una caída inmediata de la viscosidad. Además, se destruyeron todas las fibras de gluten, lo que es evidente en la forma definitiva de la curva. Por contraste, la curva de referencia muestra grandes fluctuaciones debido a los grumos o fibras de gluten adheridas a la herramienta de mezcla del amilógrafo.



En las pruebas de panificación con una planta de escala piloto se pudo controlar la adición de agua y de este modo el peso y la densidad de los barquillos con la ayuda del compuesto de enzimas. Esto ofrece grandes ventajas económicas (demanda de energía menor, rendimiento superior) y mayor libertad para el desarrollo del producto (Fig. 5). Las barquillos de mayor densidad son más crujientes y se mantienen así más tiempo debido a la menor absorción de agua.

Sustitución del metabisulfito sódico (SMB) en la producción de crackers y barquillos

Este agente intensamente reductor divide los enlaces de disulfuro entre cadenas y dentro de las cadenas del gluten, provocando una caída inmediata de la resistencia de la masa o viscosidad de la pasta. El SMB es muy barato y fácil de usar.

Por lo tanto, en muchos países, el SMB se usa todavía en la producción de barquillos y crackers. Lamentablemente, el SMB destruye la vitamina B1 y puede causar problemas de salud en las personas sensibles. Además, inhibe la reacción del tostado y causa un sabor sulfuroso desagradable. Las enzimas no sólo ofrecen una alternativa saludable al SMB; también tienen ventajas técnicas decisivas, como las propiedades de la masa constantes una vez se ha producido la reacción, incluyendo una textura comparable de la masa de retorno y la fresca, la reducción de adición de agua a las pastas de barquillo y el control de la densidad y la estabilidad de los barquillos.

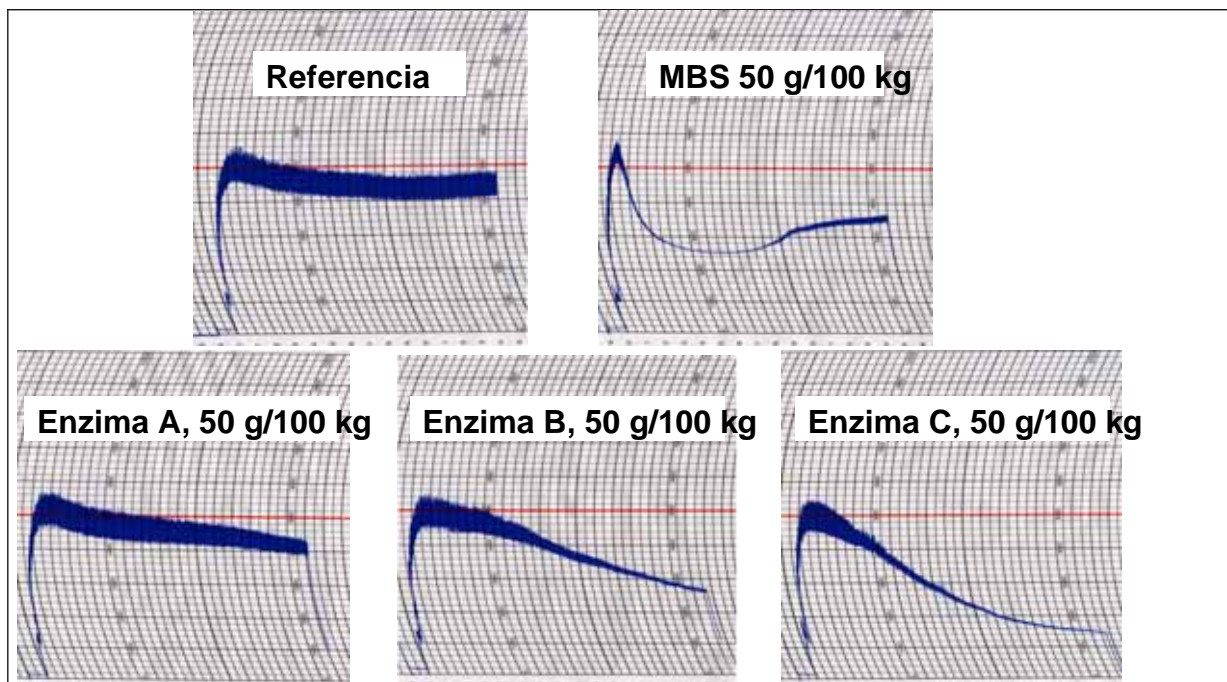


Fig. 6: Farinógrafos con metabisulfito sódico (SMB) o enzimas. A: enzima proteolítica para pastas de barquillos líquidas; B: enzima proteolítica para galletas y crackers; C: complejo enzimático proteolítico, amilolítico y hemicelulolítico para la disgregación rápida del gluten.

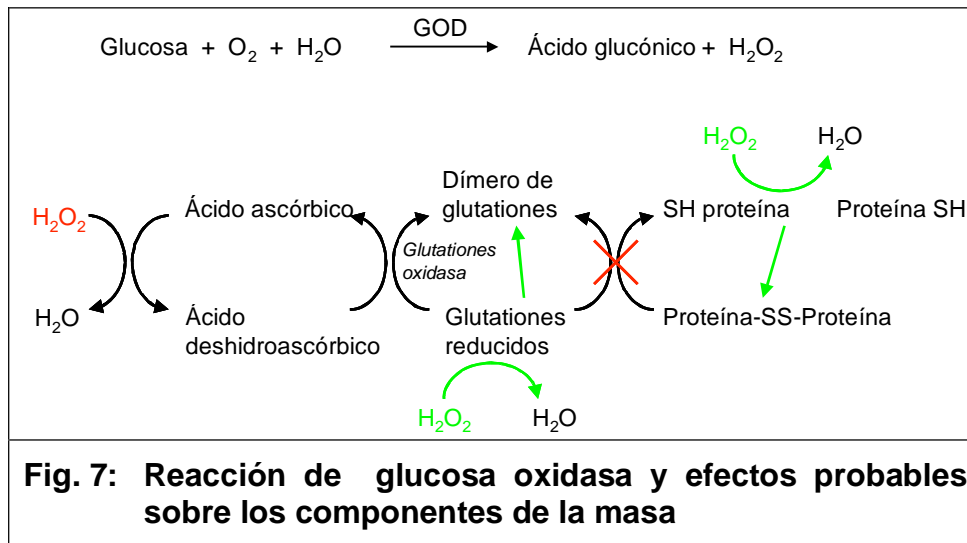
Cuando se prueban en el farinógrafo, los SMB y las enzimas muestran una reducción de la resistencia al amasamiento (Fig. 6). La reacción del SMB se produce más rápidamente, pero probablemente debido a la presencia de oxígeno atmosférico, parte de la resistencia se restablece durante el mezclado continuo, cuando los enlaces de disulfuro se rompen por la recuperación del SMB (arriba derecha). La reacción más lenta pero persistente de las enzimas produce una resistencia mínima, cuando se ha degradado todo el sustrato de las enzimas.

Glucosa oxidasa

La enzima glucosa oxidasa (GOD) deriva normalmente del hongo *Aspergillus*, a veces del *Penicillium*. La miel también es una fuente abundante de GOD. La enzima procede de las glándulas faríngeas de las abejas. Sin embargo, su idoneidad está bastante limitada por el gusto de su portador.

Un efecto del GOD en la masa es la oxidación de la glucosa para formar ácido glucónico con la ayuda del oxígeno atmosférico, pero la ligera acidificación que se produce en el proceso es negligible; su otro efecto es la transformación del agua en peróxido de hidrógeno (Fig. 7). Este agente oxidante actúa sobre los grupos de tiol del gluten, ya sea directamente o a través de varias vías de acceso, incluyendo la formación de enlaces de disulfuro y de este modo reforzando la proteína. El factor limitador en este proceso es la disponibilidad de oxígeno. Junto a otras reacciones químicas que consumen oxígeno, la levadura necesita oxígeno antes de empezar la fermentación real, ya que inicialmente respira en lugar de fermentar. Esto significa que las condiciones para GOD sólo son buenas en la superficie de la masa cuando hay mucho oxígeno disponible permanentemente.

Esta limitación puede solucionarse con medidas técnicas durante la preparación de la masa, por ejemplo, la sobrepresión o el suministro de oxígeno adicional a través de la herramienta de mezclado.

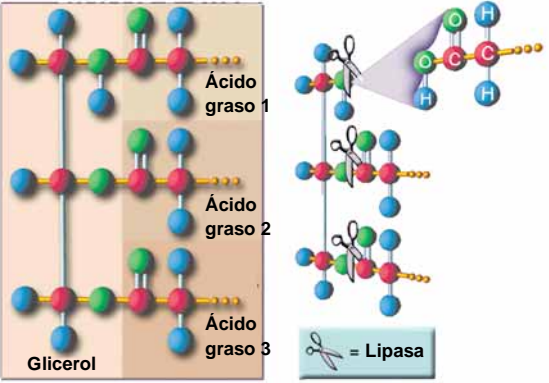


Enzimas lipolíticas

La lipasa es ahora otra enzima milagro subestimada durante mucho tiempo. La enzima convierte los lípidos no polares en diglicéridos y monoglicéridos, es decir, emulsificantes (Fig. 8). También existen lípidos polares en la harina de trigo, los fosfolípidos y glicolípidos (Fig. 9), que pueden convertirse en lisoformas hidrofílicas por medio de algunas lipasas o fosfolipasas especiales.

La formación *in situ* de emulsionantes produce un reforzamiento de la masa y un rendimiento de volumen mayor, pero no una mejora del tiempo de caducidad. Esto contrasta con el efecto de los mono- y diglicéridos que se añaden a una fórmula de pan. Debido a la interacción con el almidón, pueden reducir la rapidez de endurecimiento. Por otro lado, su efecto sobre el rendimiento de volumen es muy limitado. Lo más probable es que la acción de los emulsionantes formados enzimáticamente sobre el rendimiento de volumen sea pronunciada debido a que ya están situados en los lugares correctos de la masa para mejorar las propiedades de las proteínas; pero para los efectos antiendurecimiento no se forma suficiente emulsionante para interferir con la retrogradación del almidón. Es interesante la disputa de si las masas deben contener grasa adicional y, si es así, qué tipo de grasa, para que la lipasa funcione satisfactoriamente. Según nuestras averiguaciones, la grasa reduce la eficacia de la lipasa, probablemente 'distrayendo' la lipasa del 'objetivo correcto', es decir, los lípidos de la harina.

También existe el problema de una posible inhibición del gusto debido a la liberación de los ácidos grasos activos respecto al sabor, especialmente si hay implicada manteca. En cualquier caso, existen ciertas aplicaciones en las que las lipasas se usan considerablemente.

	<table border="1"> <tr><td>Total lípidos</td><td>1.280</td></tr> <tr><td>Lípidos no polares</td><td>457</td></tr> <tr><td>Lípidos polares</td><td>823</td></tr> <tr><td>Fosfatidos</td><td>250</td></tr> <tr><td>Ácido fosfatídico</td><td>30</td></tr> <tr><td>Fosfatidilglicerol</td><td>51</td></tr> <tr><td>Fosfatidilcolina</td><td>27</td></tr> <tr><td>Fosfatidiletanolamina</td><td>trazas</td></tr> <tr><td>Fosfatidiserina</td><td>15</td></tr> <tr><td>Lisofosfatidilcolina</td><td>117</td></tr> <tr><td>Lisofosfatidiletanolamina</td><td>10</td></tr> <tr><td>Total galactolípidos</td><td>249</td></tr> <tr><td>Otros lípidos polares</td><td>320</td></tr> </table>	Total lípidos	1.280	Lípidos no polares	457	Lípidos polares	823	Fosfatidos	250	Ácido fosfatídico	30	Fosfatidilglicerol	51	Fosfatidilcolina	27	Fosfatidiletanolamina	trazas	Fosfatidiserina	15	Lisofosfatidilcolina	117	Lisofosfatidiletanolamina	10	Total galactolípidos	249	Otros lípidos polares	320
Total lípidos	1.280																										
Lípidos no polares	457																										
Lípidos polares	823																										
Fosfatidos	250																										
Ácido fosfatídico	30																										
Fosfatidilglicerol	51																										
Fosfatidilcolina	27																										
Fosfatidiletanolamina	trazas																										
Fosfatidiserina	15																										
Lisofosfatidilcolina	117																										
Lisofosfatidiletanolamina	10																										
Total galactolípidos	249																										
Otros lípidos polares	320																										
<p>Fig. 8: Efecto de la lipasa sobre las moléculas de grasa</p>	<p>Fig. 9: Composición media de lípidos (mg/100 g) de la harina de trigo (0,405 % ceniza)</p>																										

Pan al vapor

El pan al vapor chino se fabrica con frecuencia con harina de trigo de proteína baja o media, dependiendo del tipo de pan al vapor. En ocasiones, el proceso de preparación es bastante similar al pan de molde estilo occidental, pero el producto final se cura en una cámara o cesto de vapor, no se cuece en un horno. Por lo tanto, existen algunas diferencias en el aspecto. El pan al vapor es de color blanco y tiene una superficie suave y brillante. Los tipos comunes de pan al vapor pesan 30 - 120 g aprox., con formas de almohadilla o redondas (Fig. 10 y Fig. 11).



Fig. 10: Pan al vapor en forma de almohadilla



Fig. 11: Pan al vapor redondo

Las enzimas como las amilasas o hemicelulasas mejoran el aspecto general del pan al vapor. Algunos tipos de pan al vapor parecen ser ideales para las lipasas. Especialmente después del amasado extensivo o de los procesos de fermentación largos, puede apreciarse un efecto espectacular sobre la estabilidad de la masa y el rendimiento de volumen. En el ejemplo de la Fig. 12, el aumento de volumen fue de un 70% neto. Debido a la fuerte dependencia de las condiciones de procesamiento, este efecto no puede reproducirse en todos los métodos de preparación de la masa.

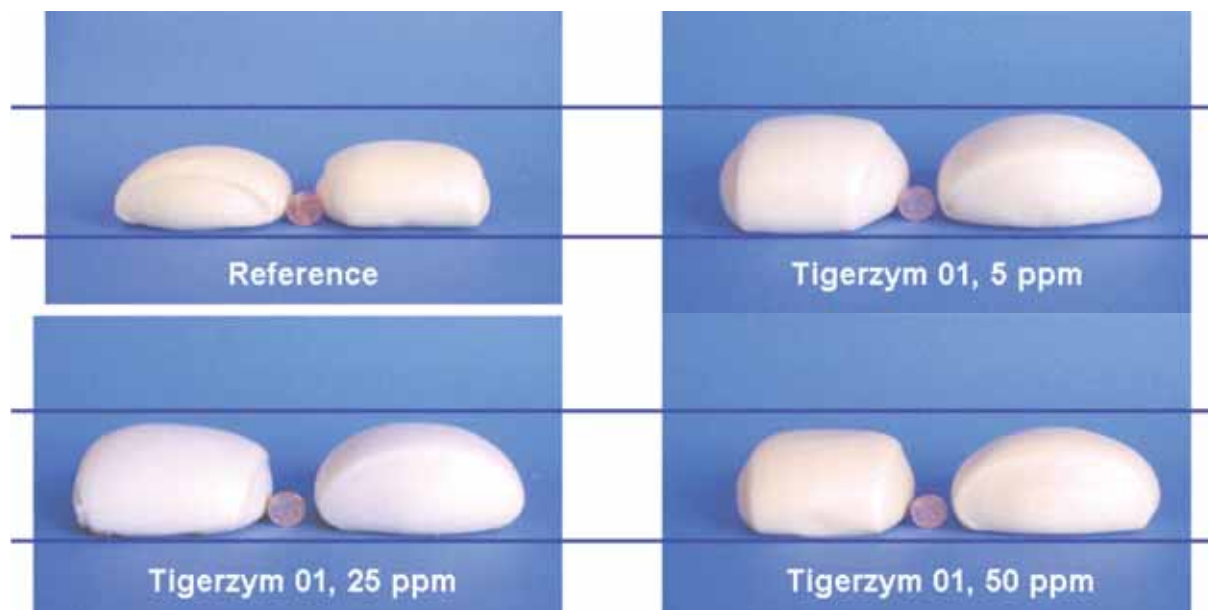


Fig. 12: Efecto de un compuesto enzimático que contiene lipasa (Tigerzym 01) sobre el tamaño del pan al vapor. El rendimiento de volumen por 100 g de harina fue de 300, 447, 477 y 512 mL, respectivamente (de arriba izquierda a abajo derecha)

El desarrollo de la masa mediante su extensión favorece el efecto beneficioso de la lipasa. Esto se debe probablemente a una exposición más extensa al oxígeno atmosférico: la lipolisa expone los ácidos grasos a la acción de la lipoxigenasa de trigo que - en presencia de oxígeno suficiente - se convierte en hidroperóxidos, éstos a su vez reaccionarán con los componentes de la harina. Además del reforzamiento de la masa, se produce un efecto de blanqueo debido a la oxidación de los carotenoides de la harina. Dado que las lipasas son específicas para el tipo de ácido graso presente en los triglicéridos, no todas las lipasas son apropiadas para mejorar el pan al vapor.

Pasta

El efecto de la lipasa también es visible en la pasta. Pastazym es un compuesto con base de lipasa, pero también contiene una selección de otras enzimas. La lipasa es responsable del efecto de abrillantamiento que se muestra en la Fig. 13 y de la mayor parte del efecto de afirmación que se muestra en la Fig. 14. Ambos efectos no sólo son detectables en el laboratorio con instrumentos sofisticados, sino también por el consumidor (Fig. 15). Por supuesto, existen ciertas limitaciones. La pasta fabricada con trigo durum sólo no puede mejorarse y el uso de huevos también enmascara el efecto de las enzimas. La máxima eficacia se logra en la pasta fabricada sólo con trigo duro o blando. El efecto de blanqueo mostrado en la Fig. 13 y la Fig. 15 no siempre es necesario, ya que algunos consumidores prefieren la pasta amarillenta. Sin embargo, en este caso puede ser útil también si se usa, por ejemplo, una harina veteadada o grisácea: la enzima reduce los veteados y el color oscuro y, por lo tanto, proporciona un fondo brillante para los colorantes alimentarios amarillos permitidos (Fig. 16).

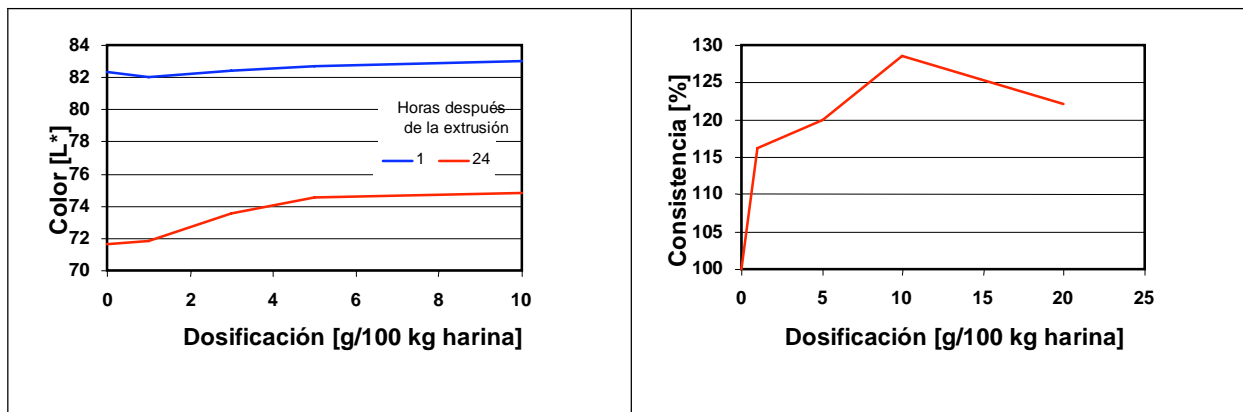


Fig. 13: Efecto de Pastazym sobre el color de la pasta fresca, sin cocer (determinada con el sistema de medición de color Minolta)

Fig. 14: Consistencia de la pasta fresca, sin cocer, después del efecto de Pastazym (determinado con el analizador de textura TA XT2)



Fig. 15: Efecto de Pastazym sobre el color de la pasta fresca, sin cocer



Fig. 16: Pasta sin cocer, sin tratar (izquierda) y tratada con Pastazym + EMCEcolor BC (β -carotina)

Sustitución del bromato potásico

Menos espectacular, pero probablemente incluso más importante desde un punto de vista global, es la sustitución del bromato potásico en los procesos de fabricación del pan. Este mejorador del pan, muy eficiente y económico, está siendo prohibido cada vez en más países por motivos sanitarios.

Aparte de los agentes oxidantes alternativos, el uso de enzimas oxidantes fue un enfoque muy prematuro para afrontar este desafío. Sorprendentemente, estas enzimas demostraron ser de uso limitado. La amilasa, las xilanasas y actualmente las lipasas demostraron ser mucho más eficientes si se combinaban con agentes oxidantes seguros como el ácido ascórbico. Sin embargo, las oxidasas apoyan su función. La Fig. 17 muestra una prueba prematura para sustituir el bromato en los procesos de fabricación del pan "rápida". La Fig. 18 muestra la situación técnica más avanzada, el efecto del compuesto enzimático sustitutivo del bromato líder del mercado, Alphamalt BX, que puede usarse también para procesos cortos y es más indicado para la fermentación larga (3 – 24 h).



Fig. 17: Sustitución del bromato en la masa “rápida”. Bromco B50 = 50 % bromato potásico; Alphamalt VC 5000 = fungal α -amilasa con 5.000 SKB/g; Alphamalt BE = compuesto enzimático; ELCO K-100 K = ácido ascórbico, 100 %; ELCO BE CS = ácido ascórbico revestido, 70 % ácido ascórbico.



Fig. 18: Sustitución del bromato potásico en la fermentación larga. Alphamalt VC 5000 = fungal α -amilasa con 5,000 SKB/g; Alphamalt BX = compuesto enzimático con elementos oxidantes.