

Маленькие помощники мельников

Dr. Lutz Popper, Director of Research & Development, Mühlenchemie, Ahrensburg
 Долгое время предполагалось, что α - и β -амилазы являются единственными ферментами, которые могут быть использованы в мельничной индустрии. С введением около 20 лет назад хемицеллюлаз это представление частично изменилось, но только успех липолитических ферментов изменил его окончательно. Однако существует гораздо больше ферментов, которые при определённом использовании играют второстепенную роль (таб.1), но, возможно, когда-нибудь смогут использоваться также многогранно, как и упомянутые выше ферменты. Этот доклад посвящён малоизвестным свойствам обычно используемых ферментов и малоизвестным применениям известных ферментов.

Таблица 1: Ферменты, могущие служить улучшению муки и хлеба¹

Фермент	Действие
Грибная α -амилаза	Поставщик энергии для дрожжей
Бактериальная α -амилаза	Разжижитель
α -амилаза, средняя жароустойчивость	Предотвращает черствление
Амилоглюко시다за (глюкоамилаза)	Поставщик энергии, лучший цвет, лучший аромат
Глюкотрансфераза (фермент разветвления)	Водосвязывающая способность
Целлюлаза	Водосвязывающая способность
Фуранозидаза, арабинофуранозидаза	Структура теста, водосвяз. способн.
Эстеразы феруловой и кумаровой кислот	Структура теста, водосвяз. способн.
Глютацинооксидаза	Усиление протеина
Глюколипаза, галактолипаза	Стабильность теста и объём выхода
β -глюканаза	Структура, разжижение
Глюкоза-оксидаза, галактоза-оксидаза, гексоза-оксидаза	Усиление протеина
Хемицеллюлаза, ксиланаза, пентозаназа	Структура теста, водосвязывающая способность, объём выхода
Лактаза, полифенолоксидаза	Стабильность теста
Липаза	Аромат, <i>in-situ</i> эмульгирование, стабильность теста, объём выхода
Липоксигеназа, липоксидаза	Структура теста, обесцвечивание
эксо-пептидаза	Цвет, аромат
Пероксидаза	Усиление протеина
Фосфолипаза	Структура пор, объём выхода
Протеаза, протеиназа	Ослабление протеина, разжижение
Пуллуланаза	Структура, водосвязыв. способность
Сульфгидрилоксидаза	Усиление протеина
Сульфгидрилтрансфераза	Усиление протеина
Трансглутаминаза Т	Создание протеиновой сети, стабилизация глютена

Понятие «хемицеллюлаза» обозначает целое семейство ферментов. Все члены этого семейства, представленные на рис.1, могут расщеплять пентозан. Однако на тесто и свойства при выпечки эти ферменты действуют очень различно.

¹ Таблица не претендует на завершенность.

Предполагается, что пентозан и глютен образуют некую сеть. Причём чем больше пентозана вовлечено в эту сеть, тем она становится крепче. Поэтому более тёмная пшеничная мука и смеси с ржаной мукой дают меньший объём выхода, чем при белой муке. Добавлением хемицеллюлаз можно значительно улучшить объём выхода при любой муке.

Большинство этих ферментов получают из штаммов *Aspergillus*, которые специально выводят или специализируют для производства хемицеллюлаз.

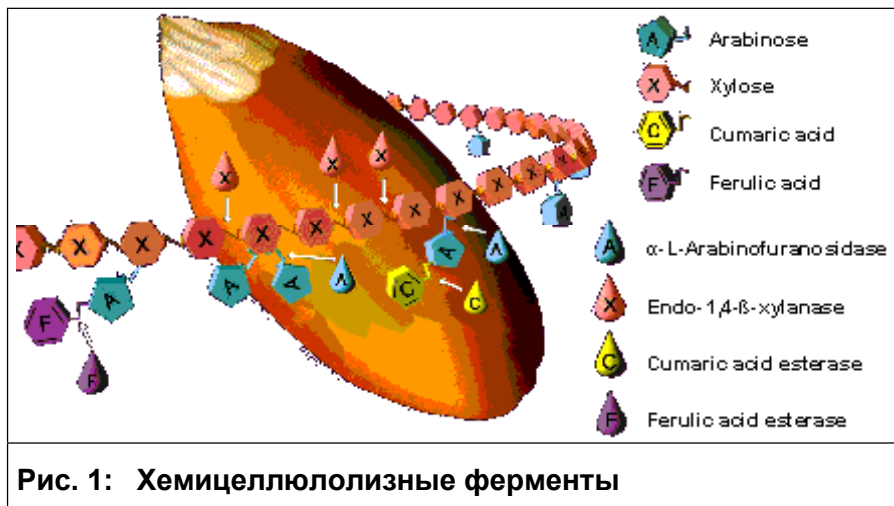


Рис. 1: Хемицеллюлолизные ферменты

Хемицеллюлазы предлагаются в основном совместно с амилазами. Общие указания по дозировке не могут быть даны, потому что не существует стандартного процесса для определения активности хемицеллюлаз. Доступные процессы базируются, как правило, на выделении редуцированного сахара, уменьшении вязкости или расщеплении синтетических или цветных молекул и являются трудносравнимыми между собой. Из-за этого стандартный процесс для различных хемицеллюлаз не обязательно позволял бы делать выводы о свойствах при выпечке, т.к. имеется слишком много возможностей, в каких местах хемицеллюлазы различного происхождения нападают на молекулы пентозана

Протеазы

Протеазы (известны также как протеиназы и пептидазы) расщепляют протеиновые ветви молекул глютена (рис.2) и вызывают таким образом сначала размягчение, а затем полное разрушение структуры. Только чистая и особоспециализированная протеаза в состоянии расщеплять только некоторое небольшое количество пептидных связей и вызывать этим только ограниченное размягчение.

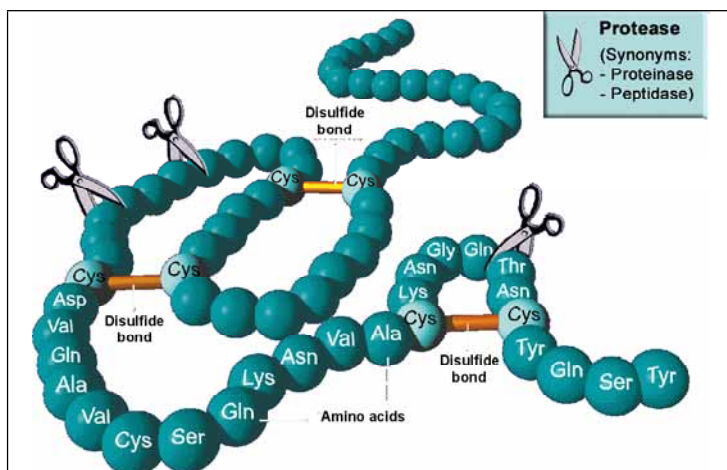


Рис. 2: Действие протеаз на глютен

При более короткой глютеневой структуре может быть желательным небольшое размягчение. В этом случае значение схоже с получаемым при введении цистеина. Протеолитическое воздействие более зависимо от времени, чем действие цистеина. Оно увеличивается со временем брожения. Это вызывает ярко выраженный спрос на ферментные препараты, не содержащие даже следов протеазы.

Введение протеаз в муку, содержащую много глютена, менее критично. При производстве американского хлеба для тостов это даже обычно, потому что здесь требуется мягкое тесто, хорошо заполняющее форму. Протеазы также очень помогают при производстве муки для крекеров, печенья или вафель, т.к. там эластичность глютена нежелательна.

Ферменты для печенья, крекеров и вафель

В то время как при производстве хлеба требуется высокое содержание протеина и сильный глютен, для мучных кондитерских изделий предпочтительна мука с малым и слабым глютеном. Причины этому лежат в склонности теста снова съёживаться после раскатывания и образовании нежелательных глютеных комочков в вафельном тесте. Не важно, доступна ли мука с низким содержанием протеина или со слабым протеином или нет – использование снижающих эластичность средств даёт преимущества на каждой ступени процесса производства. Складывание удаётся более единообразно, раскатывание на желаемую толщину может происходить быстрее и продуктивнее, время отлёжки тестовой ленты может быть сокращено или вообще опущено, тестовые заготовки после штамповки сохраняют свою форму, тесто в печи не съёживается и не деформируется и не образуются трещины. При применении амилаз не нужны больше такие дорогостоящие рецептурные составляющие как молочные компоненты для цвета поверхности. Весь процесс становится менее зависимым от качества муки.

Применение для печенья и крекеров

Таблица № 2 показывает рецептуру для простого твёрдого печенья, которое изготавливается с протеазой (Alphamalt ВК 5020) и без неё. В последней строке сравниваются размеры печенья. Как показывает соотношение длины к ширине (среднее от 25 печений), в печеньях с применением фермента практически нет различия между длиной и шириной печенья, в то время как печенья без ферментов съёживаются в одном направлении.

Таблица 2: Печенье, произведённое с бактериальной протеазой и без неё

Состав (кг)	Без протеазы	С протеазой
Мука	100	100
Жир	50	50
Сахар	50	50
Соль	0,2	0,2
Вода	10	10
Alphamalt ВК 5020	-	0,05
Длина/ширина (мм)	62,3 / 59,6	63,6 / 63,3

Т.к. протеазы разрушают большую часть внутреннего напряжения, продукты даже при выпечке менее склонны к деформированию. В верхнем ряду рисунка 3 показаны нижние стороны печенья, испечёного без протеазы. Печенье имеет коричневый цвет почти только по краю, то есть там, где имелся контакт с площадью пода. Во время выпечки это печенье выпукло деформировалось, т.к. во время термической денатурации протеин асимметрически скрючивается. Эту проблему можно заметить во многих представленных на рынке изделиях. Печенье, сделанное с применением протеазы (нижний ряд), остаётся плоским и имеет единообразно окрашенную нижнюю сторону.

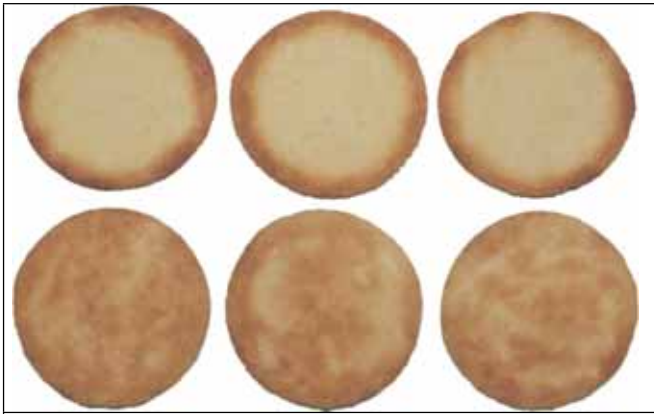


Рис. 3: Нижние стороны твёрдого печенья, сделанного с Alphamalt BK 5020 (нижний ряд) и без него (верхний ряд).

Применение для вафель

Масса для производстве вафель содержит большое количество воды. Для получения равномерных вафель с гомогенной структурой важно иметь малую вязкость и равномерную дисперсию всех составляющих. Образование глютеиновых комочков может привести к остановке машин из-за блокировки проходов и сит. Кроме того может получиться, что выпеченные вафли будут иметь неравномерный цвет и меньший срок хранения. К тому же использование бедной протеином муки желательно, но не обязательно достаточно. Разжижающие ферментные комплексы расщепляют весь глютен в жидкой массе. Получается единообразная смесь с оптимальной текучестью. Т.к. к тому же снижается и вязкость, нужно добавлять не так много воды. При выпечке из-за этого требуется меньше энергии и с меньшим временем выпечки на печь идёт меньше нагрузки. Такие ферменты очень подходят для полубесперывного процесса с временем приостановки не менее 10 минут, т.к. ферментная реакция требует некоторого времени.

При помощи амилографа Брабендера и ряда простых экспериментов при постоянной температуре мы установили влияние «вафельного фермента» на реологические свойства жидкого теста (рис.4). Для этого теста использовалась стандартная пшеничная мука для хлеба. В Браун-миксере смешивались 250 г муки и 330мл воды в течении 1 мин 45 сек, затем смесь переносилась в реакционный сосуд. В одну пробу до начала замеса добавлялся Alphamalt LQ 4020 в дозировке из расчёта 20 г на 100 кг муки.

Референц-проба приблизительно сохраняла свою вязкость в течении около 40 мин, в то время как фермент вызвал мгновенное падения вязкости. Более того, как можно видеть на графике, все глютеиновые ветви были полностью разрушены. В противоположность этому референц-проба показала сильные колебания, вызванные глютеиновыми комочками или глютеиновыми ветками, прилипшими к мешалке амилографа.

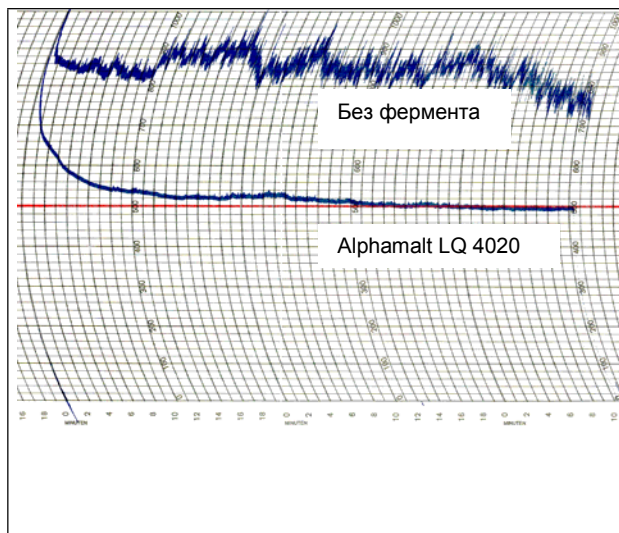


Рис. 4: Влияние Alphamalt LQ 4020 на вязкость пшеничного теста для вафель

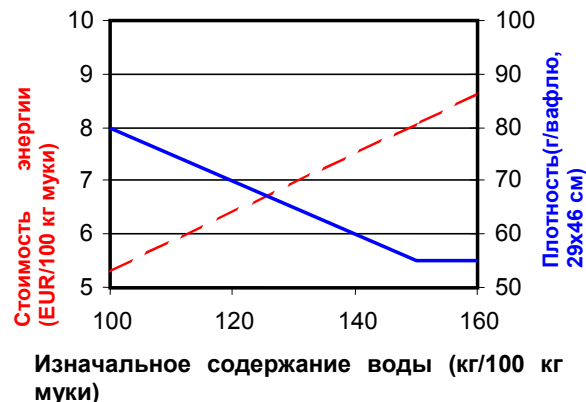


Abb. 5: Влияние добавления воды на стоимость выпаривания

При пробных выпечках в пилотных масштабах с помощью ферментов удалось управлять добавлением воды и тем самым влиять на вес и плотность вафель. Это даёт большие экономические преимущества (снижение потребностей в энергии, большая проходимость) и большую свободу при разработке новых продуктов (рис.5). Вафли с большей плотностью являются более хрустящими и дольше остаются такими из-за меньшего водопоглощения.

Замена метабисульфита натрия при производстве крекеров и вафель

Метабисульфит натрия является сильным редуцирующим средством, разрушающим связи внутри молекул глютена и между ними. Он даёт мгновенное снижение сопротивляемости теста и его вязкости. Метабисульфит натрия дешевле и прост в применении.

Во многих странах метабисульфит натрия используется также для производства крекеров и вафель. К сожалению это средство разрушает витамин В1 и может вызывать у чувствительных к этому людей проблемы со здоровьем. Кроме того, он мешает появлению хорошего цвета поверхности изделия и вызывает похожее на серное послевкусие. Ферменты являются не только здоровой альтернативой метабисульфиту натрия, они имеют также определённые технические преимущества. Они вызывают постоянные свойства теста, как только реакция закончилась. К преимуществам относятся сравнимая структура старого и свежего теста, более низкая водопоглощающая способность вафельного теста и возможность управлять плотностью и стабильностью вафель.

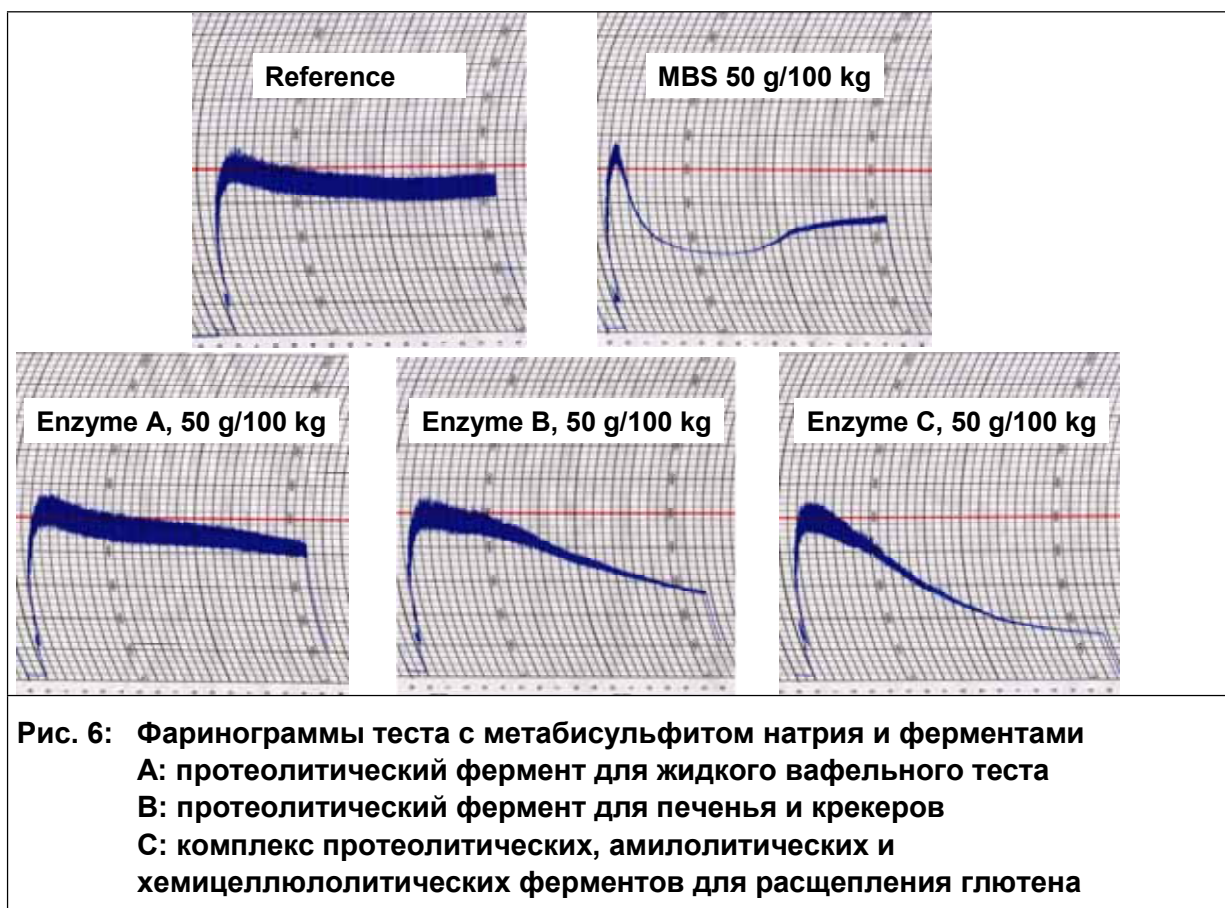


Рис. 6: Фаринограммы теста с метабисульфитом натрия и ферментами
A: протеолитический фермент для жидкого вафельного теста
B: протеолитический фермент для печенья и крекеров
C: комплекс протеолитических, амилалитических и
хемицеллюлитических ферментов для расщепления глютена

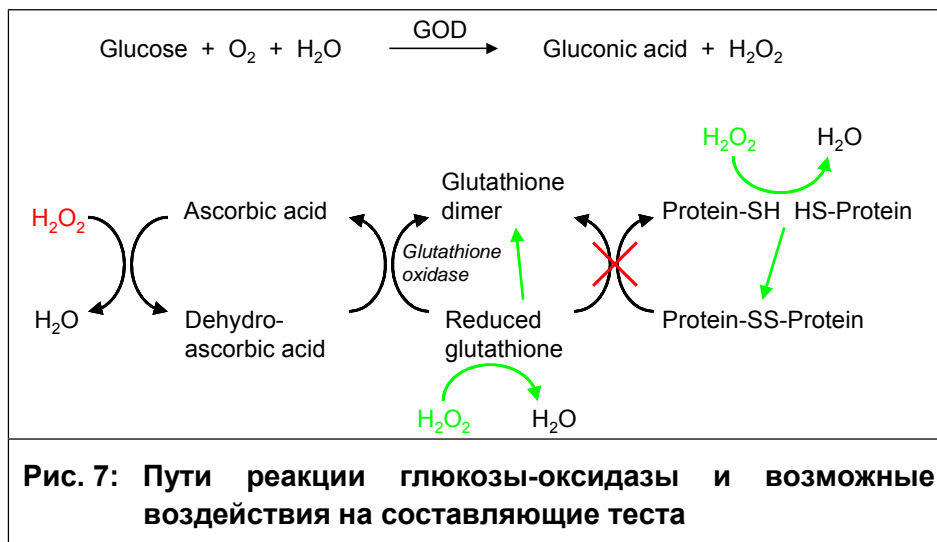
При испытании на фаринографе и натриум метабисульфит, и ферменты показывают сильное падение сопротивляемости замесу (рис.6). Реакция метабисульфита натрия наступает быстрее. Способность к сопротивлению частично возвращается вновь при длительном замесе, когда разрушенные метабисульфитом натрия связи между дисульфитными мостами возникают снова, что, вероятно, обусловлено присутствием воздушного кислорода (наверху справа). Более медленная, но не длительная реакция ферментов заканчивается, после того, как вся субстанция ферментов растворилась, минимальными значениями сопротивления.

Глюкоза-оксидаза

Фермент глюкоза-оксидаза получают в основном из штаммов *Aspergillus*, иногда из штаммов *Penicillium*. Мёд также содержит много глюкозы-оксидазы. Фермент попадает в него из специальных пчелиных желёз. Его применение ограничено из-за вкусовых свойств носителя.

Воздействие глюкозы-оксидазы на тесто состоит в оксидации глюкозы при помощи воздушного кислорода с образованием в результате глюконовой кислоты. Лёгким окислением, наступающим во время этого процесса, можно пренебречь. Другое воздействие заключается в преобразовании воды в пероксид водорода (рис.7). Это окисляющее средство воздействует на тиоловые группы в глютене, причём напрямую или через многие обменные пути. Образуются дисульфитные мосты, которые вызывают усиление протеина. Ограничивающим параметром в этом процессе является доступность кислорода.

Наряду с другими химическими реакциями, в которых используется кислород, дрожжи тоже нуждаются в кислороде до собственной ферментации, т.к. в начале они скорее дышат, чем ферментируют. Это означает, что хорошие для глюкозы-оксидазы условия, находятся только на поверхности теста, т.к. там имеется достаточно доступного кислорода. Это ограничение может быть предупреждено техническими методами в процессе приготовления теста, например пониженным давлением или введением кислорода посредством мешалки.



Липолитические ферменты

Липаза является ещё одним чудо-ферментом, который долгое время недооценивался. Этот фермент превращает неполярные липиды в диглицериды и моноглицериды, т.е. в эмульгаторы (рис.8). В пшеничной муке присутствуют также и полярные липиды, особенно фосфолипиды и гликолипиды, которые могут быть превращены действием специальных липаз и фосфолипаз в их гидрофильные лизоформы.

Это *in situ*-образование эмульгаторов вызывает укрепление теста и более высокий объём выходного продукта, но не приносит более длительного срока хранения. Это противоположно действию моно- и диглицеридов, добавленных к хлебным рецептурам. Последние способны во взаимодействии с крахмалом снизить черствение, но их влияние на конечный объём продукта очень мало. Вероятно, влияние ферментно созданных эмульгаторов на конечный объём потому выражается так сильно, что эти эмульгаторы уже находятся в тесте на правильных, с точки зрения улучшения свойств теста, местах. Для замедления процесса черствения количества созданных эмульгаторов однако недостаточно для затруднения ретроградации крахмала. Также интересны дискуссии вокруг вопроса о том, должно ли тесто содержать дополнительный жир, и если да, то какой, чтобы липазы могли удовлетворительно работать. В соответствии с нашими выводами жир снижает действенность липаз, т.к. фермент «отвлекается» от «нужной цели», т.е. от липидов в муке.

Остаётся ещё проблема возможного негативного влияния на вкус по причине высвобождения вкусоактивных жирных кислот, особенно если в тесте содержится жир. Однако для определённых областей применения использование липаз очень полезно.

	<table border="1"> <tr><td>Всего липидов</td><td>1,280</td></tr> <tr><td>Неполярные липиды</td><td>457</td></tr> <tr><td>Полярные липиды</td><td>823</td></tr> <tr><td>Фосфатиды</td><td>250</td></tr> <tr><td>Phosphatidyl acid</td><td>30</td></tr> <tr><td>Phosphatidylglycerol</td><td>51</td></tr> <tr><td>Phosphatidylcholine</td><td>27</td></tr> <tr><td>Phosphatidylethanolamine</td><td>traces</td></tr> <tr><td>Phosphatidylserine</td><td>15</td></tr> <tr><td>Lyso-phosphatidylcholine</td><td>117</td></tr> <tr><td>Lyso-phosphatidylethanolamine</td><td>10</td></tr> <tr><td>Всего галактолипидов</td><td>249</td></tr> <tr><td>Другие полярные липиды</td><td>320</td></tr> </table>	Всего липидов	1,280	Неполярные липиды	457	Полярные липиды	823	Фосфатиды	250	Phosphatidyl acid	30	Phosphatidylglycerol	51	Phosphatidylcholine	27	Phosphatidylethanolamine	traces	Phosphatidylserine	15	Lyso-phosphatidylcholine	117	Lyso-phosphatidylethanolamine	10	Всего галактолипидов	249	Другие полярные липиды	320
Всего липидов	1,280																										
Неполярные липиды	457																										
Полярные липиды	823																										
Фосфатиды	250																										
Phosphatidyl acid	30																										
Phosphatidylglycerol	51																										
Phosphatidylcholine	27																										
Phosphatidylethanolamine	traces																										
Phosphatidylserine	15																										
Lyso-phosphatidylcholine	117																										
Lyso-phosphatidylethanolamine	10																										
Всего галактолипидов	249																										
Другие полярные липиды	320																										
<p>Рис. 8: Воздействие липаз на молекулы жира</p>	<p>Рис. 9: Средний состав липидных фракций (мг/100 г) в муке (0,405 % зольности)</p>																										

Китайский хлеб (паровой хлеб)

Китайский хлеб часто делается из пшеничной муки с низким или умеренным содержанием протеина. Процесс производства часто очень похож на производство западного формового хлеба, однако тесто выпекается не в печи, а в паровой камере или корзине. Поэтому этот хлеб внешне выглядит иначе. Китайский хлеб белый и имеет мягкую, блестящую поверхность. Наиболее близко этот хлеб можно сравнить с паровой лапшой, даже если рецептуры и имеют различия. Обычный вес хлеба лежит между 30 и 120 г. Хлеб имеет либо форму подушки, либо круглую форму (рис.10 и 11)



Рис.10: Паровой хлеб в форме подушки

Рис. 11: Круглый паровой хлеб

Такие ферменты как амилазы или хемицеллюлазы в основном улучшают внешний вид парового хлеба. Для некоторых сортов парового хлеба более интересными кажутся липазы. Значительное воздействие на стабильность теста и объёме выходной продукции заметно особенно при после длительного замешивания или при длительном тестоведении. Как показывает рис.12, увеличение объёма произошло примерно на 70%. Это воздействие в чрезвычайной степени зависимо от процесса и поэтому не может быть перенесено на все методы приготовления теста.

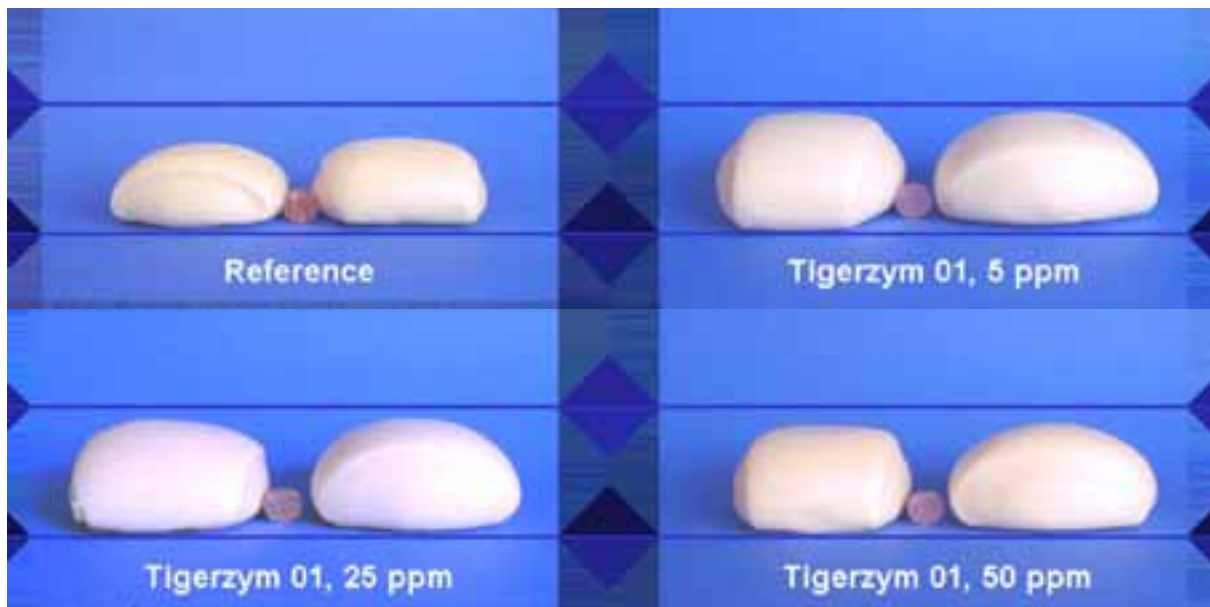


Рис. 12: Воздействие ферментного препарата с липазами (Tigerzym 01) на размер парового хлеба. Конечный объём на 100 г муки составил 300, 447, 477 и 512 мл (с левого верхнего фото до правого нижнего)

Действие теста поддерживает выгодное действие липаз. Это обусловлено, вероятно, большей поверхностью теста, приходящей в соприкосновение с воздушным кислородом. При липолизе из жирных кислот посредством воздействия липоксигеназ, содержащихся в пшенице, и при наличии достаточного количества кислорода получаются гидропероксиды. Они в свою очередь реагируют с составляющими муки. Наряду с укреплением теста возникает отбеливающий эффект, т.к. каратиноиды муки окисляются. Т.к. липазы нацеленно воздействуют на содержащие триглицерид жирные кислоты, не все липазы подходят для улучшения парового хлеба.

Макаронные изделия

Воздействие липаз можно наблюдать и в макаронных изделиях. Pastazym является препаратом, содержащим липазы и набор других ферментов. Липазы отвечают за осветляющий эффект, что показано на рис.13, и за укрепление, что представлено на рис.14. Оба эти воздействия могут быть не только доказаны с помощью сложных приборов в лаборатории, но замечаются и конечным потребителем (рис.15). Однако имеются ограничения. Сделанные из дурум-пшеницы макароны едва ли могут быть улучшены и использование яйца перекрывает действие ферментов. Наилучший результат достигается в макаронных изделиях, произведённых исключительно из твёрдой или мягкой пшеницы. Представленный на рис.11 и 15 отбеливающий эффект

не всегда желателен, т.к. некоторые пользователи предпочитают макаронные изделия с желтоватым оттенком.

Тем не менее применение ферментов может оказаться очень полезным, если например используется пробоистая или сероватая мука. Фермент уменьшает количество незрелых частиц и осветляет тёмный цвет, так что для ввода допустимого жёлтого пищевого красителя в наличии имеется светлый фон (рис.16).

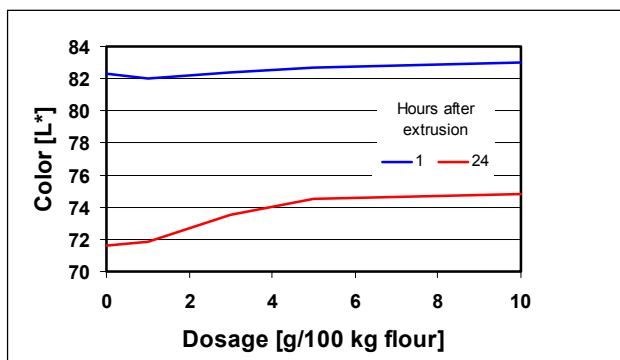


Рис. 13: Действие фермента Pastazym на цвет свежих неваренных макарон (оценка с помощью системы определения цвета от Minolta)

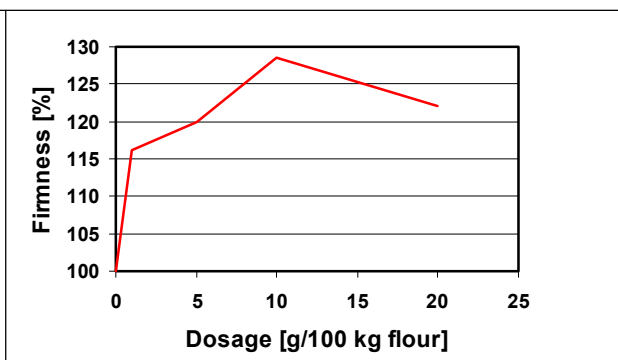


Рис. 14: Твёрдость свежих неваренных макарон при воздействии фермента Pastazym (определение анализатором Texture Analyser TA.XT2)



Рис. 15: Воздействие фермента Pastazym на цвет свежих неваренных макарон



Рис 16: Неваренные макароны: необработанные (слева) и с добавлением Pastazym und EMSEcolor BC (β-каротин) (справа)

Использование сорбата калия

Менее впечатляющим, но с глобальной точки зрения гораздо более важным является использование в производстве хлеба сорбата калия. Это чрезвычайно действенный и недорогой улучшитель муки по причине наносимого здоровью человека вреда запрещается к использованию во всё большем числе стран.

Наряду с альтернативными окисляющими средствами как замена сорбату калия применялись и досрочно окисляющие ферменты. Удивительно, но эти ферменты показали себя только как ограниченно способные к применению.

Гораздо более действенными являются амилазы, ксиланазы и на сегодняшний день также липазы в комбинации с невреждающими здоровью окислирующими средствами, например с аскорбиновой кислотой. Рис.17 показывает результаты ранее сделанного исследования о замене бромата калия в no-time-процессе (Chorleywood) производства хлеба. Рис.18 показывает сегодняшнее состояние техники, а именно действие ведущего на рынке препарата Alphamalt BX как замену сорбату калия. Alphamalt BX может применяться при коротком и при длинном тестоведении (3-24 часа)



Рис. 17: Заменитель бромата в no-time тесте.
Bromso B50 = 50 % бромата калия
Alphamalt VC 5000 = грибная- α -амилаза с 5.000 SKB/g
Alphamalt BE = ферментная система
ELCO K-100 K = аскорбиновая кислота, 100 %
ELCO BE CS = аскорбиновая кислота в капсулах, 70 % аскорбиновой кислоты



Рис. 18: Заменитель бромата при длинном тестоведении. Alphamalt VC 5000 = грибная- α -амилаза с 5.000 SKB/g
Alphamalt BX = ферментная система с содержанием оксидантов