

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszer-tudományi Tanszék

ENZIMOLÓGIA KISELŐADÁS

**Sütőipari enzimek**

Készítette: Goldmann Dóra (hemicellulázok, oxidoreduktázok)

 Puskás Zsófia (proteázok, lipázok)

 Sánta Anna (kenyérkészítés, amilázok, egyéb enzimek)

**A kenyérkészítés folyamata**

A kenyértészta alapanyagait, a lisztet, vizet, élesztőt, sót és az adalékanyagot először alaposan összekeverik. A liszt főleg glutént, keményítőt, nem keményítőből származó poliszacharidokat és lipideket tartalmaz. A tésztakészítés következő fázisában az élesztő elkezd ,,dolgozni”, ezalatt az élesztő megerjeszti a cukrokat alkohol- és szén-dioxid-keletkezés közben, amitől a tészta megkel.Miután a tészta megkelt, megsütik. Amint a megsült kenyeret kiveszik a kemencéből, számtalan, a kenyér minőségromlását előidéző változás indul meg (öregedés), amelyek a tárolás során folytatódnak.

Ahhoz, hogy az élesztő szén-dioxidot termeljen (ami megemeli a tésztát) erjeszthető cukrokra van szükség. A lisztben kevés (0.5%) fermentálható cukor van, többnyire maltóz, de ez nem elegendő a kenyér gyártáshoz. A búzaliszt α-, és β-amilázokat is tartalmaz, amelyek hatására több erjeszthető cukor keletkezik a tésztában. Csírázás során a búza nagy mennyiségűβ-amilázt, és kis mennyiségű α-amilázt tartalmaz, amelynek eredményeként a fermentálható cukrok mennyisége nem elegendő. Ezért gyakran kiegészítésként a liszthez gombaeredetű α-amilázt adnak.

***Az amilázok szerepe***

A maláta vagy gombaeredetű α-amilázokat széleskörben használják a sütőiparban. Ezek az enzimek optimalizálják a lisztben az amiláz aktivitását, növelik a fermentálható és redukáló cukrok mennyiségét. Az α- és β-amilázok különböző, de egymást kiegészítő funkciókkal rendelkeznek a kenyérkészítés folyamata alatt. Az α-amilázok lebontják a sérült keményítőszemcséket alacsony molekulatömegű dextrinekre, míg a β-amilázok átalakítják ezeket az oligoszacharidokat maltózzá, amelyet az élesztők képesek erjeszteni.

Továbbá, ezek az enzimek képesek javítani a tészta gáz visszatartó tulajdonságát, és csökkenteni a tészta viszkozitását. Ennek következményeként a termék nagyobb térfogatú és lágyabb, rugalmasabb lesz.

A redukáló cukrok növekvő mennyisége vezet a Maillard reakció (a redukáló cukrok aldehid csoportjai a fehérjék szabad aminocsoportjaival reagálnak) termékeinek kialakulásához. A reakció során aromakomponensek és barna színű pigmentek, melanoidinek keletkeznek, fokozva a kenyér ízét és a héj színét.

***Öregedés***

Amint a megsült kenyeret kiveszik a kemencéből, számtalan, a kenyér minőségromlását előidéző változás indul meg. Ezek közé tartozik a bélzet jól ismert megkeményedése, a héj ropogósságának csökkenése, a nedvességtartalom csökkenése és az illat fokozatos elvesztése. Mindezeket a változásokat, amelyek a tárolás során tovább folytatódnak, összefoglalóan öregedésnek nevezik. A kenyéröregedés egyik fő előidézője a keményítő, elsősorban az amilopektin retrogradációja. Retrogradáció során a keményítőkomponensekben lejátszódó változások következtében az oldott és disszociált állapot megszűnik. (A retrogradációért elsősorban az amilóz felelős, az amilopektin kevésbé hajlamos a retrogradációra). Az amilóz gyengén, az amilopektin vízben oldódik, mindkettő micellákat képez. A retrogradáció során 2 molekula ütközik, részlegesen dehidratálódik, hidrogén kötések révén asszociálódik, és így pelyhes csapadék alakul ki.

***Adalékanyagok***

Az öregedés késleltetésére, a bélzetállomány javítására, a sütőipari termékek térfogatának és aromájának javítására különböző sütőipari adalékokat használnak. Ezek közé különböző vegyszerek, kis molekulatömegű cukrok, enzimek és ezek kombinációi tartoznak. A legismertebbek a tejpor, glutén, emulgeálószerek (mono- és digliceridek, cukorészterek, lecitin stb.), granulált zsír, oxidálószerek (kálium-bromát), cisztein, cukrok és sók.

***Öregedésgátlás-amilázok***

Az *α-amilázok* képesek késleltetni az öregedést, csökkenteni a kenyér morzsálódását. Viszont túladagolásuk ragadós, gumiszerű tésztát eredményez, ugyanakkor az öregedés késleltetése csak 3–4 nap múlva jelentkezik. A ragadósságot az α-amiláz hatására keletkező elágazó szénláncú DP 20-100 maltodextrin idézi elő. A probléma elágazásbontó enzim, pl. pullulanáz adagolásával csökkenthető, sőt teljesen ki is küszöbölhető. Jó eredményt értek el a két enzim – az α-amiláz és a hőstabil pullulanáz – kombinációjával. A pullulanáz viszonylag rövid idő alatt hidrolizálja az elágazó szerkezetű maltodextrint, de az amilopektint nem bontja. Továbbá, *exoamiláz* alkalmazásával is megoldható a probléma. A *maltogén amiláz* hatására a maltooligoszaharidból 2–6 glükózegységből álló különféle lineáris oligoszacharidok, pl. maltóz, maltotrióz és maltotetraóz keletkezik. A sütőipari gyakorlatban a *Bacillus stearothermophilus*-ból izolált hőstabil maltogén amiláz használata vált be. Az exoamilázok közül a *β-amiláz és az amiloglükozidáz* hasítja az amilopektin oldalláncában található maltózt vagy glükózmolekulát. A kenyéröregedés késleltetése azon alapul, hogy a két exoamiláz szinergens hatására csökken az amilopektin retrogradációja, ezáltal megnő a sütőipari termékek minőségmegőrzési ideje.

**Egyéb enzimek:**

***Az aszparagináz*** csökkenti az akrilamid képződését a sütés alatt. Az aszparagináz (L-aszparaginamidohidroláz) katalizálja az aszparagin hidrolízisét aszparaginsavra és ammóniára, eltávolítva az akrilamid képződéséhez szükséges prekurzort. Az akrilamid egy lehetséges humán rákkeltő anyag, amely a melegített ételekben, az aszparagin és karbonil forrás közti Maillard reakción keresztül keletkezik. Az aszparagináz megtalálható állatokban, növényekben, mikroorganizmusokban (pl.: fonalas gomba: *Aspergillusoryzae, A. niger*).

***A transzglutaminázok*** (mikrobiális eredetű) által az élelmiszerekben lévő fehérjék módosíthatók keresztkötések kialakításán keresztül. Ezáltal textúrált (terjedelmesített) termékek keletkeznek. Megvédik a lizint (esszenciális aminosav, aránya a búzalisztben alacsony) a nem kívánt kémiai reakcióktól, kapszulába zárják a lipideket, és a lipid oldható anyagokat, hő és víz ellenálló filmeket képeznek, növelik a rugalmasságot és a víz-visszatartó kapacitást, módosítják az oldhatóságot és a funkcionális tulajdonságokat, nagyobb tápértékkel rendelkező fehérjéket hoznak létre. Az enzim hatásának mechanizmusa során a fehérjék aminosavai között erős kovalens kötés, valamint fehérje polimerizáció keletkezik. Ennek következtében javul az élelmiszerek minősége: állag kedvezőbb minősége, jobb víz- és zsírkötés, jobb rugalmasság, hőstabilitás és hosszabb szavatosság.

***A lakkáz*** egy réztartalmú enzim, amely sokféle fenolos vegyület oxidációját katalizálja egy elektron eltávolításával, reaktív fenolgyököket eredményezve. Ez az enzim képes az arabinoxilán láncok között, ferulasav dimereken és trimereken keresztül keresztkötéseket kialakítani, így egy erős arabinoxilán hálózatot alakít ki. Javítja a termékek szerkezetét. Növeli a szilárdságot és a stabilitást, valamint csökkenti a tészta ragadósságát.

**Proteázok**

A búzaliszt előnyös sütőipari tulajdonságai a főleg a fehérjéknek köszönhetők, így a fehérjék minősége és a mennyisége alapvetően meghatározza a búzaliszt minőségét.

A búzaszemek jelentős mennyiségű fehérjét tartalmaznak, hazánkban a szem kb. 12-18%-át teszik ki. Az egyszerű fehérjék (albumin, globulin, prolamin, glutelin) főleg az endospermiumban, az összetett fehérjék (nukleoproteidek) főleg a csírában találhatók. A búzaliszt tulajdonsága, hogy sikértartalma (gliadin+glutenin) vízzel összedolgozva egy viszkoelasztikus tésztaszerkezetet hoz létre. A két sikérképző fehérje víz hatására olyan jellegzetes térhálós szerkezetet alakítanak ki, amelyben a fehérje–fehérje és a fehérje–lipid kölcsönhatások eredményeképp egy erősen rugalmas térhálós szerkezet jön létre. Ez a glutén mátrix visszatartja a kelesztés során keletkező gázt a tésztában, és egy buborékokkal lazított szerkezet jön létre. A laza, rugalmas szerkezet sütés után is megmarad.

A hidrolázok csoportjába taroznak a fehérjéket bontó proteázok (EC 3.4), melyek az aminosavakat összekapcsoló peptidkötés hidrolízisét végzik. Különböző szempontok alapján csoportosíthatjuk őket: termelő szervezetek alapján lehetnek baktériális vagy gomba eredetűek. Támadás helye szerint endo/exopeptidázokat különböztetünk meg. Az aktív centrumban működő kémiai funkciós csoportok szerint szerin, cisztein, aszparaginsav proteázok csoporttokra oszthatók, felhasználásuk optimális pH tartománya szerint alkalikus, neutrális, savas proteázokat különböztetünk meg.

A sütőiparban döntően neutrális proteázokat alkalmaznak.

A fehérjebontó enzimek adagolása megváltoztatja a tészta szerkezetét és ezzel a sütési tulajdonságokat is. Előfordulhat, hogy a túl sűrű fehérjeszerkezet nem engedi kellően kitágulni a pékárut, az túlságosan tömött és kicsi marad a kelesztett péksütemény. A proteázok (ebben az esetben főként az Aspergillus oryzae proteáza) képesek úgy lazítani a sikért, hogy jobb lesz a tészta nyújthatósága, gyorsabban kel és ezáltal a végtermék állaga és mérete is jobb lesz. A fehérjebontó enzimek a fehérjeláncok oldalágait lehasítják, melyek feloldódnak, ezzel elősegítve az egyszerűsödött fehérjemolekulák gyorsabb rendeződését, a nyújthatóság növekedését.

(Hasonló hatás érhető el kémiai szerekkel, például L-ciszteinnel vagy nátrium-metabiszulfittal is. Ezek a redukáló szerek a fehérjeláncok közti diszulfid hidak felbontásával csökkentik a térhálósítás mértékét. Ezek az idegen anyagok viszont benne maradnak termékben és fel kell tüntetni az áru csomagolásán, ezért szívesebben választják az enzimes kezelést)

Természetesen ez a hidrolízis csak egy bizonyos mértékig kívánatos, mert ha ez túl sokáig tart, a sikérváz elveszíti rugalmasságát és gázvisszatartó képességét.

A kelesztés nélkül készült termékeknél, mint például a kekszek vagy ostyák viszkoelasztikus tulajdonság nem előnyös. Ezeknél a kívánt textúra kemény, törékeny és ropogós. A glutén térháló a rugalmasságot segíti elő, hiányában kapunk merev, törékeny terméket. A szerkezetalkotó fehérjéket specifikus proteázok, jellemzően Bacillus proteázok alkalmazásával megbontani.

A peptidázoknak szerepe van a kenyér ízének és a kéreg színének kialakításában is.A peptidázok aminosavakat és oligopeptideket termelnek, melyekből hő hatására keletkező molekulák befolyásolják az ízeket. Aromás, édes és keserű anyagok, ízfokozók és potenciális oxidánsok jelenhetnek meg. A szabaddá váló amino-csoportok hő hatására reakcióba lépnek a cukrok aldehid csoportjával (Maillard-reakció), ami szintén szín- és ízanyagok kialakulását eredményezi. Ezek adják például a kenyérhéj jellegzetes ízét és barna színét.

Alkalmazásának mennyisége nagyban függ a kívánt végtermék mibenlététől (kelesztett pékáruk vagy kekszek), de jellemzően pár g/kg nagyságrendben alkalmazzák.

**Lipázok**

A búza és más gabonaféleségek viszonylag kevés lipidet tartalmaznak. Fokozottabban vonatkozik ez a búzalisztekre, amelyekben a csírarész részleges vagy közel teljes eltávolítása következtében mindössze 0,5-2,0% lipid található. A kis mennyiségek ellenére a lipidek sütőipari technológiai jelentősége számottevő. A lipidek főleg a csírában és kisebb mértékben az aleuronrétegben helyezkednek el, mennyiségük a teljes mag körülbelül 3-4%-a, míg a búzaliszt lipidtartalma már csak 1-2%, nyersanyagtól és feldolgozási technikától függően. A gabonafélék lipidjeinek zsírsavösszetételében nincs jelentős különbség, a zsírsavak között a linolsav dominál.

Lipidek két formában lehetnek jelen:

 ~25% keményítő-kötött állapotban, asszociátumot képezve

 ~ 75% nem keményítő-kötött állapotban

Az el nem szappanosítható lipidek, az apoláris lipidek közé tartoznak a szénhidrogének, tokoferolok, színezékek, szterinek, a poláros lipidek közé pedig a trigliceridek, (kevés mono- és diglicerid), tartoznak. Előfordulnak még foszfolipidek (kolaminfoszfatidok, etanolaminfoszfatidok, szerinfoszfatidok, inozitfoszfatidok, szfingomielinek), és glükolipidek (glükogliceridek, cerebrozidok stb.) is.

A tészta reológiai tulajdonságainak befolyásolásában elsősorban a nem keményítő kötött lipideknek van jelentős szerepe. Pozitív hatással a poláros lipidek rendelkeznek, elősegítik a gáztartó képesség és a sütési térfogat növekedését. A nem poláros lipidek a legtöbb búzafajta esetében viszont rontják a sütési eredményt.

A poláros lipidek tésztaminőségre gyakorolt pozitív hatásának lehetséges magyarázatai:

1. A poláros lipidek, mint amfifil tulajdonságú felületaktív anyagok a gáz/folyadék határrétegben feldúsulva stabilizálják a gázbuborékokat-, ezáltal nem engedik összeolvadni őket.

 2. A poláros lipidek és a folyadékfázisban lévő felületaktív fehérjék együtt egy vékony lamellát alkotnak. Ez a kettősréteg összetartja, mintegy „tömíti” a gluténfilmen a dagasztás során kialakuló pórusokat.

Lipázok szerepe az apoláros lipidek hidrolízise, mely több poláros lipidet eredményez. A lipáz enzimek az egységes nómenklatúra szerint az EC 3.1.1.3 besorolást kapták, ahol az első hármas jelöli, hogy a hidrolázok csoportjába tartozik, a következő szám pedig azt, hogy észter kötést hasítanak. Az utolsó két szám definiálja a szubsztrát mibenlétét: karbonsav észtert és azon belül a triglicerideket hasítanak, tehát a természetes zsírok és olajok összetevőinek hidrolízisét katalizálják. A természetben előforduló legtöbb lipid molekuláris gerince a glicerin, s a lipázok aktivitásukat főként a glicerin váz észterkötésein fejtik ki. A sütőiparban alkalmazott lipázok széles szubsztátspecificitást kell mutassanak triglicerideken, foszfolipideken valamint galaktolipideken egyaránt.

Az enzim alkalmazásának főbb előnyei:

Tészta nyújthatóságának elősegítése

Glutén szerkezet javítása

Tészta erjedési képességeinek növelése

Növeli a tészta térfogatát

Emulgeálószerek helyettesítése / igény csökkentése

Egységes, lágy kenyérbélzet

Fontos a felhasznált lipáz mennyiség, általában 1-100 ppm (0,1-10 g lipáz/kg liszt) között mozog, enzim és lisztminőségtől, sütési technikáktól függően. Túladagolása olyan következményekhez vezethet, mint például térfogatcsökkenés.

**Hemicellulázok (Xilanázok)**

Ezen enzimcsalád funkciója a hemicellulóz hidrolízise. A hemicellulóz a növényi sejtfalba jelen lévő változatos összetételű poliszacharid. A hemicellulázok közül az endo-1,4-β-xilanáz vagy egyszerűbben csak xilanáz használatos a sütőiparban. Ez az enzim a 1,4-β-D-xilozidos kötést hidrolizálja a xilánban és az arabinoxilánban. Számos különböző mikroorganizmus forrásból származó xilanázt (baktérium, gomba, archea) használnakak sütőiparban.

Már 1970 óta használatosak gyakorta amiláz, lipáz és oxidoreduktáz enzimekkel együtt alkalmazva a kenyértészta minőségi javítására. Ezen enzimek a kenyér mellett kekszek, torták és egyéb pékáruk előállításánál is használatosak. Azon xilanázok a legalkalmasabbak a kenyérkészítésnél, melyek elsődleges szubsztrátjai a vízoldhatatlan arabinoxilázok (WU-AX), míg a vízoldható arabinoxilázokat (WE-AX) kevéssé képesek hidrolizálni. Így eltávolítva a vízoldhatatlan arabinoxilánt (ami zavarja a glutén térháló képződését) nő a tészta viszkozitása és a stabilitása.

Xilanáz alkalmazásával stabilabb, rugalmasabb, könnyebben kezelhető tésztát kapunk, nő a kenyér térfogata és puhább lesz a héja. Mindezek mellett nő az arabinoxilán-oligoszacharidok mennyisége a kenyérben ami prebiotikus hatása révén előnyös.

**Oxidoreduktázok**

Lipoxigenázok

A lipooxigenázok számos növényi és állati szövetben előforduló dioxigenázok, melyek többszörösen telítetlen zsírsavak (linolsav, liolénsav) molekuláris oxigénnel történő oxidációját katalizálják mely során zsírsav hidroperoxidok képződnek. Ezen enzimek nagy mennyiségben vannak jelen hüvelyeskben és burgonya félékben, kisebb mennyiségben a búzalisztben. Elsődleges forrásuk az enzimakív szója vagy fava bab. Kezdetben a tészta fehérítésére használták a lipooxigenázokat mivel a karotinoid pigmenteket is oxidálják, ám más pozitív hatásai is vannak. Javítják a tészta kezelhetőségét, ami glutén fehérjék tiol csoportjainak oxidációjával magyarázható mivel ez a kénhidak újra rendeződéséhez vezet, valamint tirozin keresztkapcsolások jönnek létre a glutén térhálót megerősítve. Mindez térfogat növekedéshez is vezet.

Glükóz oxidázok

A glükóz oxidázok a β-D-glükóz oxidációt katalizálják D-glukono-δ-laktonnáés hidrogén-peroxiddá. Főleg Aspergillus és Penicillium törzsekből származó enzimek használatosak. Az enzim pontos hatásmechanizmusa nem ismert, de feltételezhető, hogy a képződő hidrogén-peroxid indirekt módon diszulfid hidak és/vagy tirozin keresztkapcsolások kialakulását segíti elő. Így megfelelő glutén térháló alakul ki, ami jó gáz visszatartást, megfelelő tésztaminőséget és nagy kenyér térfogatot eredményez. Glükóz oxidáz adagolása a tésztához jelentős reológia változásokat és minőség javulást okoz. A glükóz oxidáz sérült glutént is képes „megjavítani” és kenyér készítésre használhatóvá tenni. Ezt a sérült liszt nagy moláris tömegű glutenin részeire kifejtett hatása révén éri el. Ditirozin keresztkapcsolásokat létrehozva a búzafehérjék közt, regenerálja a glutén térhálót.

Felhasznált irodalom:

Ângelo Samir Melim Miguel, Tathiana Souza Martins-Meyer, Érika Veríssimo da Costa Figueiredo, Bianca Waruar Paulo Lobo and Gisela Maria Dellamora-Ortiz: *Enzymes in Bakery: Current and Future Trends* Food Industry

Angel Yeast Co., Ltd Product & Services, <http://en.angelyeast.com/products/enzymes/lipase.html>

Bonet A, Rosell CM, Perez-Munuera I, Hernando I.: *Rebuilding gluten network of damaged wheat by means of glucoseoxidase treatment.* Journal of the Science of Food and Agriculture 2007;87(7) 1301–1307

Chen, R.: *Enzyme engineering: rational design versus directed evolution.* Trends in Biotechnology, 19. k. 1. sz. 2001. p. 13–14.

Julio Polaina and Andrew P. MacCabe: *Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications*. Springer, 2007

K Gasztonyi, Amit a búzalisztek sütőipari értékéről tudni kell, *Sütőiparosok, pékek, 2004,* 51./6. 54-60.

L Radomir, S Monori, E Vince, *Hazai búzákból készült lisztek lipidjeinek vizsgálata I. Gliceridek és zsírsav-összetételük*, 1971, Budapesti Műszaki Egyetem Élelmiszerkémia Tanszéke

LR Gerits, B Pareyt, K Decamps, JA Delcou: *Lipases and Their Functionality in the Production of Wheat-Based Food Systems,* 2014, Institute of Food Technologists

M Móré, Z Győri, P Sipos, *A gabonafehérjék és a sütőipari minőség kapcsolata*, <https://dea.lib.unideb.hu/dea/bitstream/handle/2437/164958/file_up_A%20gabonaf%3Fh%3Frj%3Fk%20%3Fs%20a%20s%3Ft%3Fipari%20min%3Fs%3Fg%20kapcsolata.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

Maarel, M. J. E. C., Veen, B*.: Properties and applications of starch-converting enzymes of the α-amylasefamily.* Journal of Biotechnology, 94. k. 2. sz. 2002. márc. 28. p. 137–155.

Pécs Miklós: *Biotermék technológia, Ipari enzimek*

S. Renzetti, EK Arendt, *Journal of Cereal Science,* 2009**,** 50, 22–28

Sapienta Erdélyi Magyar Tudományegyetem, *Élelmiszer kémia oktatási segédanyag, Gabonafélék*

Veen, B. A.; Alebeek, G.-J. W. M.: *The three transglycosylation reactions catalyzed by cyclodextrin glycosiltransferase from Bacillus circulans (strain 251) proceed via different kinetic mechanisms*. European Journal of Biochemistry, 267. k. 6. sz. 2000. p. 568–665.

Kérdések:

1.: Mi az amilázok szerepe a sütőiparban?

2.: Milyen amilázok alkalmasak az öregedésgátlásra?

3.: Milyen fehérjék találhatók a lisztben és melyek a sikérképzők?

4.: Mely lipideknek van kedvező hatása a tésztaszerkezetre és miért?

5.: Milyen xilanázok használata előnyös a kenyér készítésnél?