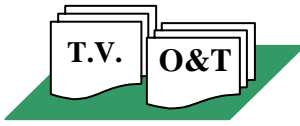


## Bron activiteit 6



Tijdschrift voedsel ond.& tech. 21 (2), 2003, 57-64.

# Brood bakken: Structuren en eigenschappen geverifieerd met de elektronen microscoop.

B. Bax, G. Draad & J.A. Rojas

Ontvangen: 23 mei 2003; geaccepteerd juni 2003

### Samenvatting

Doel van dit artikel is het beter begrijpen van de complexe chemie en processen die plaatsvinden tijdens het broodbakken. De methode van onderzoek is gebaseerd op de algemeen geaccepteerde regel dat er een oorzakelijke verband is tussen mesostructuren in het product en de eigenschappen van het product. Door gebruik te maken van standaard experimenten wordt een biochemische beschrijving van het bakken in broodbakmachines opgesteld geverifieerd met elektronenmicroscoop foto's en experimenten. Uit dit onderzoek blijkt dat de beschrijving van de chemie achter het brood bakken nog niet voldoende goed is ontwikkeld.

### Inleiding

De mens is 6000 jaar al bezig met het verwerken van graan tot brood. Maar de chemie van het broodbakken is nog niet ontrafeld tot in de kleinste details. Dat komt onder andere doordat er verschillende graansoorten zijn zoals tarwe en rogge. Daarnaast wordt maïs en rijst veel verbouwd. Deze graansoorten maken al eeuwenlang deel uit van ons voedsel. Deze zetmeelbronnen leveren een belangrijke bijdrage aan onze dagelijkse behoefte aan koolhydraten.

Technologische en wetenschappelijke vooruitgang op het gebied van de werking van gist (Pasteur), mechanische kneedmachines, volautomatische ovens en analyse-technieken zoals, de scanning electron microscope (SEM), hebben geleid tot fundamenteel onderzoek aan het broodbakken. Het gevolg is een onoverzichtelijke hoeveelheid aan empirische en fundamentele onderzoekresultaten. Er is behoefte aan een overzichtartikel met de meest recente inzichten uit de zeer divergente broodbak-literatuur.

Het is algemeen aanvaard dat *de mesostructuren, die aanwezig zijn in het brood, de eigenschappen bepalen van datzelfde brood* (Aguilera & Stanley, 1999; Crussler & Moggridge, 2001). Dit bepaalt het perspectief waarbinnen het proces van broodbakken wordt besproken in dit overzichtartikel. Deze mesostructuren veranderen tijdens het broodbakken: er vinden allerlei chemische reacties

plaats. Daardoor veranderen de eigenschappen van afzonderlijke ingrediënten en interacties tussen ingrediënten. De omstandigheden waaronder het brood wordt gebakken, de procescondities (Scanlon & Zghal, 2001), beïnvloeden deze verandering.

Dit artikel heeft als doel het bakken van brood in een broodbakmachine beter te begrijpen. Centraal hierin staan twee belangrijke ideeën die de kwaliteit van het brood bepalen. Ten eerste is dat de relatie tussen de aanwezige mesostructuren in het brood en de uiteindelijke eigenschappen van het brood. Ten tweede idee is de invloed van het bakproces op de gewenste mesostructuren. Experimenten zijn bedoeld om de mesostructuren en eigenschappen van brood tijdens de verschillende processtappen beter te begrijpen. Doel is om tot een meer fundamentele beschrijving te komen van de chemie van het broodbakken.

Uit de literatuur (Aguilera & Stanley, 1999; Rojas, *et al.*, 2000) blijkt dat tijdens het bakproces tijdens alle processtappen de mesostructuur steeds veranderd wordt, totdat in het uiteindelijke product de mesostructuur wordt bestendigd. Het is dus belangrijk dat in elke processtap (zie tabel 1) de gewenste structuur ontstaat. Dit is tevens een wetenschappelijke onderbouwing van het bakkersgezegde: *'lukt het in deze stap niet dan lukt het nergens'*. Verwaarlozing van de voorgaande processtappen, dat dus een 'ongewenste

mesostructuur tot gevolg heeft, levert een kwalitatief ander brood.

### Materialen en methode.

De uiteindelijke kwaliteit van brood wordt in belangrijke mate bepaald door de chemische samenstelling van het meel en de processen die zich afspelen bij het bakken van brood. De chemische samenstelling van tarwebloem is gemiddeld als volgt: koolhydraten 70%, water 15%, eiwit 12%, vet 2% en andere stoffen 1%. Het eiwit bestaat voor ongeveer 80% uit gluten. Gluten fungeren tijdens het bakproces als kleefstof voor de koolhydraten, die overwegend uit zetmeel bestaan.

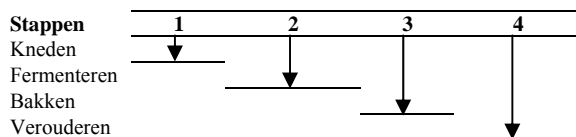
### Standaard deegbereiding

De standaard formule voor deeg is 100 g meel, 2 g gist, 2 g zout en ongeveer 60 g lauw water tot een maximale absorptie, waarbij geen plakkerig deeg ontstaat. Er is dan meestal 65 g water nodig. Soms worden er enkele additieven toegevoegd zoals olie of melkpoeder.

### Methode van onderzoek

De *standaard test-bak-methode* is bedoeld om de eigenschappen of functies van een enkele stof of groep stoffen te bestuderen. Deze methode is een systematische bestudering van de invloed van alle processtappen. Uit één portie gekneet deeg worden vier monsters genomen direct na elke processtap, om de mesostructuren en eigenschappen van elke stap te bestuderen. (zie tabel 1). Daarnaast worden met deze monsters enkele experimenten gedaan: de deegbaltest, het trek-rek experiment en de cryo-elektronen microscopie. Hierdoor is het broodbakken te volgen op ontwikkeling van aanwezige mesostructuren en verandering in eigenschappen.

Tabel 1. Stappen die doorlopen worden door de vier verschillende monsters 1 t/m 4 bij de standaard test-bak-methode.



De *deegbaltest* (appendix 1) is een zeer bruikbare semi-kwalitatieve methode om de bakkwaliteit van deeg te bestuderen. De tijd waarin deeg uiteenvalt, de Pelshenke-waarde (P-waarde), is vooral bruikbaar om broodonderzoek te doen zonder dat brood gebakken hoeft te worden. De bakkwaliteit wordt bepaald door het gasproducerend vermogen van de gist en gashoudend vermogen van het deeg. Het gehalte aan suikers moet minimaal 1% zijn, omdat anders de groei van de gist te traag is, met als gevolg dat de CO<sub>2</sub> productie te laag is en daarmee ook het rijzen te traag verloopt. Het

gashoudend vermogen hangt namelijk af van het gehalte aan suikers. Dit gehalte kan op dezelfde waarde gehouden worden door de enzymatische afbraak van zetmeel tot suikers.

Het gashoudend vermogen wordt bepaald door de hoeveelheid gluten. Daarnaast heeft het glutennetwerk de eigenschap dat het elastisch is, waardoor het rijzen mogelijk gemaakt wordt.

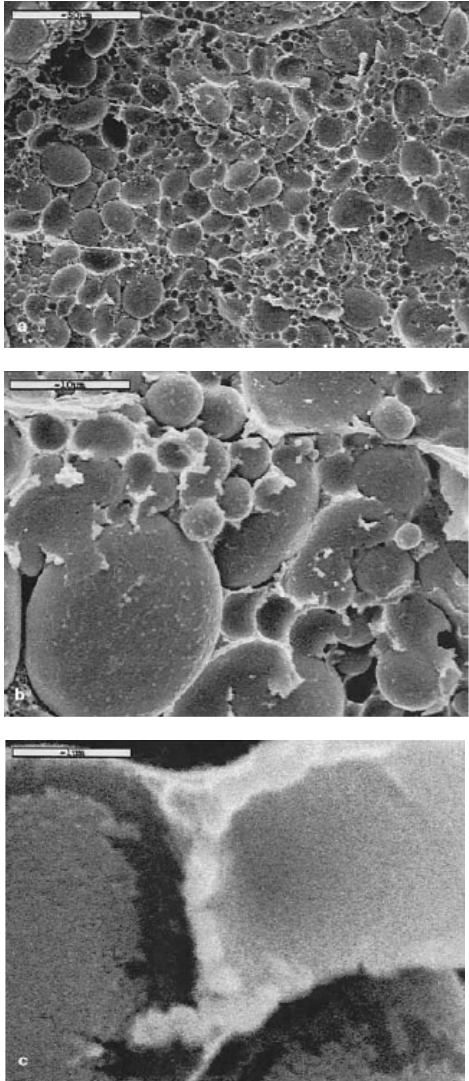
Het *trek-rek-experiment* (appendix 2) is meer een kwantitatieve methode om de elasticiteit van deeg te bepalen. Een 1 cm dikke gekneet deegstaaf wordt gecontroleerd opgetild tot het moment dat de deegstaaf scheurt. De mate van uitrekking, totdat er breuk optreedt, is een maat voor de visco-elastische eigenschap van deeg. Daarbij kan een stof wel iets uitrekken als er een spanning op wordt gezet. Wordt er spanning voortdurend veranderd dan treedt er definitieve vervorming op in het materiaal. Het lukt niet om terugkomen in zijn oorspronkelijke vorm.

De *cryo elektronen microscopie* foto's zijn gemaakt met een Jeol JSM-5410 scanning elektronen microscopie uitgerust met een CT-1500 C cryo-unit (Oxford Instruments). Het monster was geplaatst in de cryo-specimen houder, en cryo-gefixeerd in een stikstof-sneeuw ( $\leq -210^{\circ}\text{C}$ ), en in dat diepgevroren stadium overgebracht naar de cryo-unit, waar het wordt verbrijzeld, gecoat (15 min op  $-90^{\circ}\text{C}$ ) met goud (4 min, 2 mbar). De tarwe korrels en broodkruimel zijn niet verbrijzeld maar voorzichtig gesneden voordat er de cryo-fixatie plaatsvindt in de stikstofsneeuw. Tenslotte wordt het monster naar de microscopie gebracht en bekeken bij 15 kV and  $-130^{\circ}\text{C}$ .

## Resultaten

### Mesostructuur van tarwemeel

De cryo-SEM afbeeldingen laten zien dat in meel de zetmeelkorrel stevig op elkaar gepakt zitten in een laag van eiwitten (witte kleur in fig. 2a). Er zijn grofweg twee afmetingen van zetmeelkorrels te onderscheiden (fig. 2b). De afmeting van de grote korrels is ongeveer 25  $\mu\text{m}$  bij 20  $\mu\text{m}$ . De kleine bolvormige korrels hebben een diameter van ongeveer 7  $\mu\text{m}$ . Dit komt overeen met eerdere bevindingen (Rojas, *et al.*, 2000). Bij hoge vergroting (fig.2c) is de witte laag van eiwitten rondom een zetmeelkorrel in detail zichtbaar. De bolvormige structuren in de eiwitmantel (fig. 2c) zijn de eiwitten (gluten).

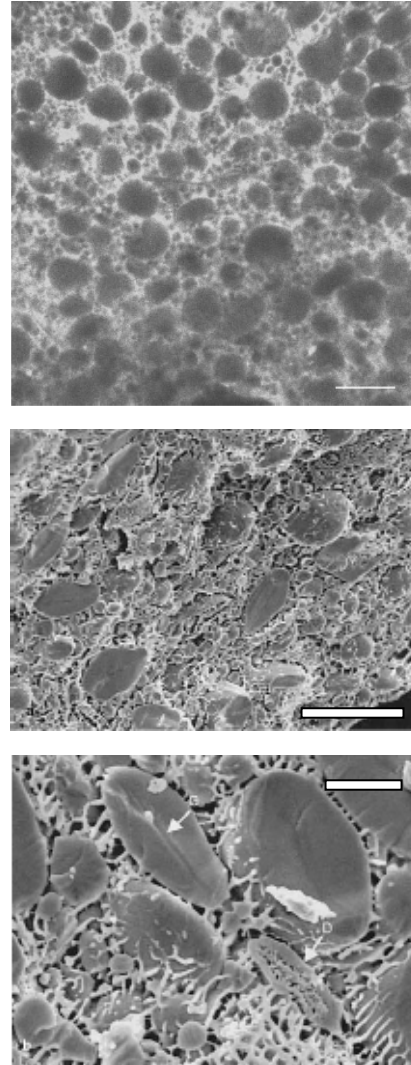


**Fig. 2** Cryo SEM afbeeldingen van zetmeelkorrel in tarwemeel, met een witte laag. Afmetingen van het balkje zijn weergegeven tussen haakjes a) Dicht gepakte stapeling van korrels verbonden met eiwit laag (50  $\mu\text{m}$ ). b) grote (langwerpig) en kleine (bolvormig) zetmeelkorrels (10  $\mu\text{m}$ ). c) detail van de eiwitlaag van een zetmeelkorrel. Duidelijk zijn de bolvormige eiwitten zichtbaar (1  $\mu\text{m}$ ).

#### *Mesostructuur van het deeg na het kneden*

Tijdens het kneden van het deeg ontstaat er een glutennetwerk. De zetmeelkorrels zijn daarin fijn verdeeld (zie figuur 3a,b,c). Bij een hoge vergroting (fig. 3c) is een groef in een zetmeelkorrel zichtbaar en een gedegradeerde zetmeelkorrel. Het zetmeel is daarin omgezet tot suiker door enzymen.

De gevonden structuren duiden allemaal op het bestaan van een glutennetwerk dat verantwoordelijk is voor het rijzen van het deeg. Het rijzen van deeg valt te beschouwen als 'het opblazen van een heleboel kleine ballontjes'. Het glutennetwerk is de ballon. Het 'opblazen' komt doordat het gist in het deeg gas ( $\text{CO}_2$ ) produceert. Daarbij moet er wel een holte aanwezig zijn.



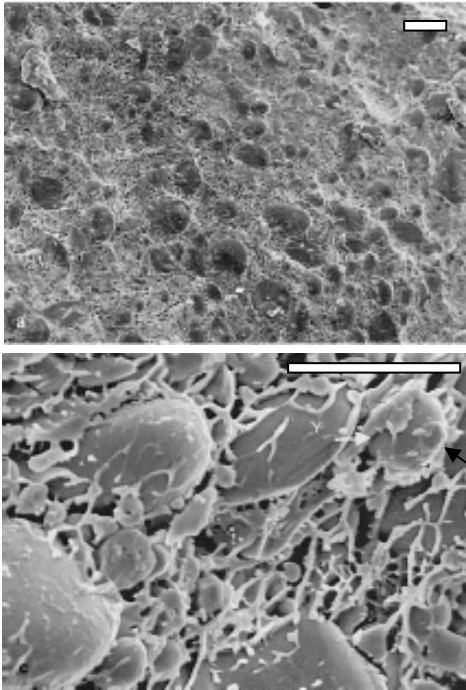
**Figuur 3 a,b,c.** a) Afbeelding afkomstig van Bagusu *et al.* (2002) (gluten zijn wit gekleurd). De balk heeft een afmeting van 50  $\mu\text{m}$ . b) een afbeelding van Rojas *et al.*, (2000), bevestigt dat de zetmeelkorrels ingebed liggen in een netwerk van gluten. De balk heeft een afmeting van 50  $\mu\text{m}$ . c) detail opname van een gegroefde zetmeelkorrel (pijl) en een hoog gedegradeerde zetmeelkorrel (D). De balk heeft een afmeting van 10  $\mu\text{m}$ .

Het inslaan van luchtbelletjes tijdens het kneden zorgt voor plekken waar de door de gist geproduceerde  $\text{CO}_2$  naar toe kan. Door de continue toevoer van  $\text{CO}_2$  groeien deze kiemen uit tot grotere holtes die tenslotte de holtes in het uiteindelijke brood worden.

#### *Mesostructuur bij de fermentatie*

Er ontstaat een goed ontwikkelde glutennetwerk, waarin de zetmeelkorrels stevig verankerd liggen (zie fig. 4a). Dit glutennetwerk wordt dichter en steviger gedurende de fermentatie. De componenten blijken homogeen te zijn verdeeld over het netwerk (Rojas, 2000).

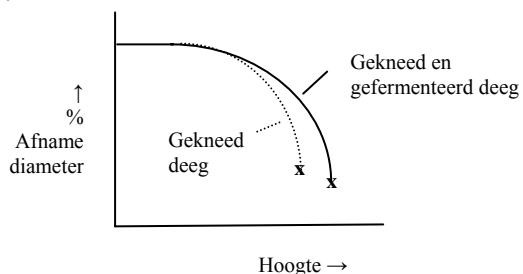
Bagusu (2002) toonde aan dat er interacties tussen eiwitten en koolhydraten plaatsvinden. Het vermoeden bestaat dat er meer interacties ontstaan



**Fig. 4 a,b.** Afbeeldingen van gefermenteerd deeg. a) Duidelijk is een beter ontwikkelde matrix te zien. b) In de matrix zijn liggen zetmeelkorrels ingebed naast bolvormige gistcel met karakteristieke knop (rechtsboven in fig.4b). (balken komt overeen met 10  $\mu\text{m}$ )

tijdens de fermentatie. Bij kleinere afmeting (zie fig. 4b) zijn stevig verbonden zetmeelkorrels te zien ingebed in een glutennetwerk. Rechtsboven is een bolvormige gistcel met bobbel zichtbaar.

Deze bevindingen zijn in overeenstemming met de resultaten van het deegbal-experiment. Het tarwedeg viel niet uit elkaar, ging drijven en zwellen doordat het deeg het  $\text{CO}_2$  vasthoudt. Metingen met het trek-rek experiment laten zien dat het deeg na fermentatie beter is ontwikkeld dan deeg dat alleen gekneet is. Het gefermenteerde deeg was elastischer en brak later (zie figuur 5). Dit duidt op een beter ontwikkeld sterker netwerk van gluten.

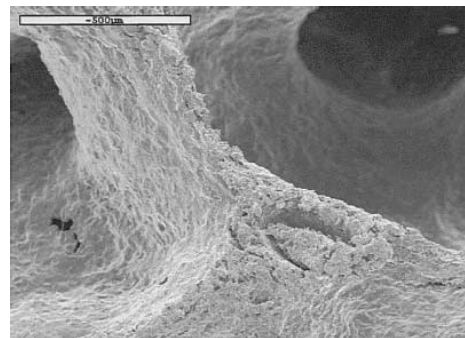


**Fig. 5.** Insnoering van het deeg. x is breuk – gefermenteerd deeg ..... gekneet deeg

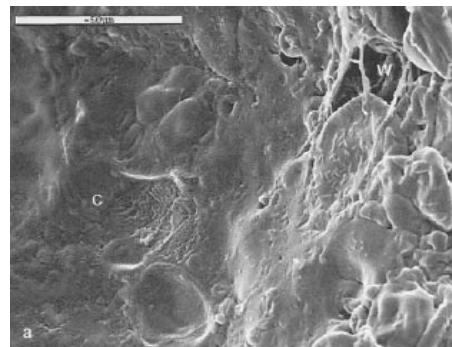
#### Mesostructuur van het brood

Tijdens het bakken wordt de structuur die ontstaan is tijdens de fermentatie gefixeerd. Door de temperatuurstijging in het brood vindt er een denaturatie plaats van het glutennetwerk, maar

gelijktijdig wordt er een nieuwe structuur gevormd van zetmeel. De structuur van broodkruim is te vergelijken met een spons. Er zijn grote en kleine holtes of cellen omringd door wanden (zie fig. 6). De celwanden bestaan uit een continue laag waarin de oorspronkelijke zetmeelkorrels niet meer te onderscheiden zijn (zie fig. 7). De zetmeelkorrels zijn gedeeltelijk omgezet in een gel van zetmeel. Zetmeel afkomstig uit tarwe gaat bij een temperatuur  $60^\circ\text{C}$  over in een gel doordat amyloseketens uit de korrel diffunderen en water binden. Dit proces wordt gelatinisatie genoemd en wordt versneld door de enzymactiviteit voor het bakken.



**Fig. 6.** Grote en kleine luchtholtes in het uiteindelijke brood. Duidelijk zijn de celwanden als dragende structuur aanwezig (balk komt overeen met 500  $\mu\text{m}$ ).



**Fig. 7.** Een close-up opname van een celwand. (balk komt overeen met 50  $\mu\text{m}$ )

#### Conclusies en implicaties voor verder onderzoek

Uit de literatuur en met eenvoudige experimenten is er een beschrijving van de chemie en fysica die plaatsvindt tijdens alle processtappen te geven. Vooral toekomstige productontwikkelingen lijken hiermee gediend. Toch zijn er wel enkele facetten van het broodbakken en het bijbehorende proces die om een nadere opheldering vragen. Het is bijvoorbeeld nog onduidelijk wat de exacte oorzaak is van het elastische gedrag van gluten. Er moet dus nog meer onderzoek gedaan worden naar de relatie tussen gluten, elasticiteit van het deeg en het gashoudend vermogen door het deeg.

Ook de invloed van de zetmeelkorrels en het gist is nog niet nader onderzocht. Van de laatste verwacht men geen invloed op de elasticiteit van het deeg omdat gistcellen niets anders uitwisselen dan glucose, dat erin gaat, en  $\text{CO}_2$ , dat eruit komt.

Gezien recente productontwikkelingen vindt er onderzoek plaats met betrekking tot de kwaliteit van voorgebakken brood en functionele voeding. Bij dit laatste onderzoek worden er verbeteringen aangebracht in voeding om aan de wensen of gezondheid van consumenten te voldoen. Een recent voorbeeld (Özboy, 2002) is de ontwikkeling van glutenarm brood. Uit het onderzoek van Özboy is gebleken dat er nog steeds veel onderzoek wordt gedaan naar glutenvervangers in brood. Recente ontwikkelingen in de voedselindustrie laten zien dat voedselproducten steeds meer aangepast kunnen worden aan de wensen van de consument. Door het ontwerpen van nieuwe producten zal het niet lang meer duren voordat de chemie van het broodbakken geheel bekend is.

### Literatuur

Aguilera, J. M., & Stanley, D.W. (1999). Micro structural principles of food processing and engineering (2nd ed.) (pp. 238–244). Gaithersburg, MD: Aspen Publishers, Inc.

Bugusu, B., B. Rajwa, B.R. Hamaker (2002). Interaction of Maize Zein with Wheat Gluten in Composite Dough and Bread as Determined by Confocal Laser Scanning Microscopy, scanning vol. 24, 1–5.

Cussler E.L. & G.D. Moggridge, (2001), Chemical product design, *Cambridge University Press*, Cambridge.

Elzebroek T., M. Munneke, P. Roos & C. Lever-de Vries Ons dagelijks brood-de deegbaltest-, *VWO-campus*, WUR, the Netherlands)

Özboy, Ö.(2002) Development of corn starch-gum bread for phenylketonuria patients, *Food*, 46 (2), pp. 87 ± 91

Rojas, J.A., C.M. Rosell, C. Benedito de Barber, I. Pérez-Munuera & M.A. Lluch (2000). The baking process of wheat rolls followed by cryo scanning electron microscopy, *Eur Food Res Technol* (2000) 212 :57–63.

Scanlon M.G. & M.C. Zghal, (2001). Bread properties and crumb structure, *Food Research International*, 34, 841–864.

J.A. Gray and J.N. Bemiller, (2003). Bread Staling: Molecular Basis and Control, *comprehensive reviews in food science and food safety*, Vol. 2, 1-21.

## Appendix 1: de deegbalttest

Onderstaande test (Elzebroek *et al.*) is bruikbaar om de deegkwaliteit te bepalen.

### Materialen

Broedstoof, of een warmwaterbad, waarin een constante temperatuur van 32°C kan worden gehandhaafd. Balans. Stopwatch/Horloge. Maatcilinder. Bekerglazen. Schaaltje voor de bereiding van deeg  
Meel (tarwe, gerst, maïs) en verse bakkersgist.

### Voorschrift:

- Neem van elke meelsoort een monster van 10 gram en doe deze elk in een schaalje.
- Voeg per monster 5 cc van een 10% gistsuspensie toe
- Het meel, het water en de gist worden in het schaalje tot een deeg gekneet en vervolgens tot een balletje gevormd. Kneet elk balletje even lang en krachtig.
- Het balletje wordt in een bekeerglas met water met een constante temperatuur van 32°C gebracht (door de bekers in een broedstoof of waterbad te plaatsen).
- Zet de stopwatch aan of noteer de tijd.
- Aanvankelijk zinkt het deegballetje naar de bodem van het glas. Wanneer de gist begint te werken wordt er CO<sub>2</sub> gevormd, dat het deegballetje doet uitzetten. Daardoor wordt de

dichtheid van het balletje kleiner en gaat het na 10 à 12 minuten drijven.

- Na verloop van tijd is het balletje niet meer in staat om de steeds toenemende hoeveelheid CO<sub>2</sub> vast te houden. Er ontstaan scheurtjes en tenslotte valt het balletje in stukken uiteen, die naar de bodem zakken.
- Op het moment dat het balletje uiteen valt, wordt de tijdwaarneming gestopt. De tijd (in minuten) die er verloopt tussen het ogenblik waarop het balletje in de bekeerglazen wordt gedaan en het ogenblik waarop het balletje uiteenvalt, is de zogenaamde Pelshenke- of P-waarde. De P-waarde is een maat voor het gasvoortbrengend en het gashoudend vermogen van het deeg. Aangezien deze beide eigenschappen de bakwaarde van tarwe in belangrijke mate bepalen, is het een bruikbare aanwijzing voor de bakkwaliteit.

### Resultaat verwerking:

Beoordeel de gevonden P-waarden (in minuten) als volgt:

- onder de 25 is slecht
- 25 tot 50 is matig
- boven de 50 is goed.

Bij tarwe met een zeer goede bakkwaliteit vallen de deegballetjes vaak niet eens uiteen. Ze nemen na bijvoorbeeld 90 minuten een schijfvorm aan en zakken dan in hun geheel naar de bodem. De P-waarde wordt dan gemeten tot het ogenblik waarop de schijven de bodem van de bekeerglazen bereiken.

---

## Appendix 2: het trek-rek experiment.

De bepaling van de visco-elasticiteit van deeg is niet eenvoudig. De uiteindelijke bepaalde waarde is namelijk afhankelijk van de druk (belasting) die uitgevoerd wordt op het deeg en de frequentie waarin dat gebeurt. Kortom de tijd die men kneedt, bepaalt de gemeten waarde. Daarom is het belangrijk dat de monsteropname op hetzelfde moment in het proces plaatsvindt. Daarnaast is het vervormen van de gepakte pluk deeg naar de staaf deeg belangrijk. Dit 'knedend' beïnvloedt de meting.

De opstelling bij dit experiment is schematisch weergegeven in fig. 8 en gefotografeerd in fig. 9. In deze opstelling wordt een staaf deeg ingeklemd op een plank waarin een gleuf is aangebracht. Een bolvormige haak wordt van onder af gelijkmatig omhoog bewogen waardoor de staaf uitgerekt wordt. Gelijktijdig wordt de insnoering bij elke hoogte gedurende het experiment vastgelegd op digitale video. Het experimenteel bepalen van de insnoering staat hiernaast weergegeven. Figuur 10 geeft het deeg na afloop weer.

*De uitvoering* is als volgt:

- kneed deeg op basis van het meel, zout en water (gebruik geen gist).
- Draai een staaf met een diameter van 2 cm en ongeveer 20 cm lang. Een monster van ongeveer 70 g is daarvoor voldoende.
- Stop de deegstaaf in de klemmen. Houd voortdurend een liniaal langs het omhoog getrokken deeg.
- Start de video/film opname (geklemd op een statief.)
- Door aan de haak een constant gewicht van 200 gram (200 ml water) aan te hangen beweegt deze met een bepaalde snelheid omhoog. Deze snelheid is afhankelijk van de weerstand die ondervonden wordt door de elasticiteit van het deeg.
- Het experiment is gestopt als er breuk is opgetreden. De hoogte waarbij dit plaatsvindt, is een maat voor weerstand tegen de treksterkte en dus voor de elasticiteit van het deeg.

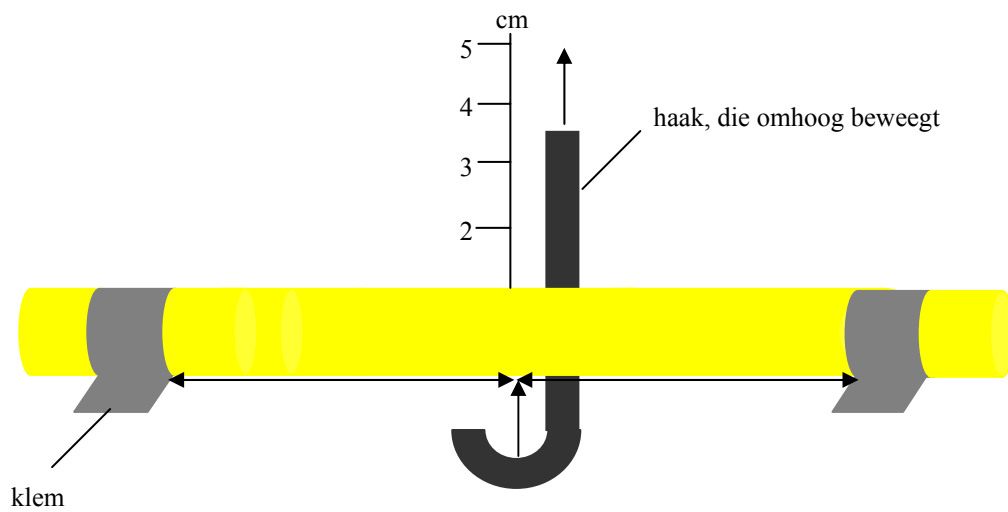


Fig. 8 schets van het trek-rek experiment

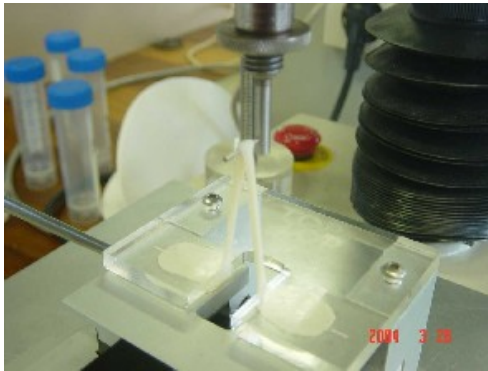


Fig. 9 foto van het trek-rek experiment



Fig. 10 Uitgerekt deeg na afloop van het trek-rek experiment