



Katholieke Universiteit Leuven

Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen

De invloed van emulgatoren en redoxagentia op de broodbereiding en -veroudering

Promotoren:

Prof. J. Delcour

Departement Microbiële en Moleculaire Systemen
Centrum voor Levensmiddelen- en Microbiële Technologie

Prof. W. Lauriks

Faculteit Wetenschappen
Departement Natuurkunde en Sterrenkunde

Eindwerk voorgedragen
tot het behalen van de graad van
Bio-ingenieur in de Scheikunde

Bram Develter

Juli 2007

Dit proefschrift is een examendocument dat na de verdediging niet meer werd gecorrigeerd voor eventueel vastgestelde fouten. In publicaties mag naar dit proefwerk verwezen worden mits schriftelijke toelating van de promotor, vermeld op de titelpagina.

Voorwoord

Bij het beëindigen van dit eindwerk en het afronden van mijn studies bio-ingenieur zou ik graag enkele mensen bedanken. Zonder de hulp, vriendschap en steun van velen zou dit eindwerk niet tot stand gekomen zijn.

In de eerste plaats wil ik mijn promotor professor Jan Delcour bedanken voor de kans die hij me gaf om mijn eindwerk in zijn laboratorium te voltooien. Ook naar mijn co-promotor, professor Walter Lauriks, gaat grote dank uit voor zijn interesse in het onderwerp en het gebruik van apparatuur van het Laboratorium voor Akoestiek en Thermische Fysica. Zonder de hulp van mijn begeleider Bert Lagrain was mijn onderzoekswerk veel moeilijker verlopen. Bert heeft me laten inzien dat de wondere wereld van de wetenschap nog veel complexer in elkaar steekt dan hetgeen in de literatuur geschreven staat. Ik wil hem oprecht bedanken voor de goede begeleiding bij mijn experimenten, de kritische opmerkingen bij de interpretatie van de gegevens, het verbeteren van mijn eindwerk en zijn gedrevenheid. Bert, nog veel succes met je doctoraat en in je verdere leven! Ook Laurens Boeckx ben ik heel erg dankbaar voor het aanleren van de akoestische meettechniek en het verwerken van de gegevens met Matlab. Zijn motivatie en de vrijheid waarin ik kon werken waren de drijfveer voor het fysische gedeelte van mijn thesis. Verder bedank ik alle medewerkers van het labo Levensmiddelenchemie en -biochemie voor de leuke werksfeer. Edith ben ik bijzonder dankbaar voor de hulp bij de akoestische analyse van de eerste broden die ik bakte.

Ook mijn medestudenten in het labo wil ik bedanken. Hoewel ik ze niet zo veel zag omdat ik meestal in de proefbakkerij of bij fysica zat, hebben we elkaar nog beter leren kennen en heel veel vriendschap gedeeld. Ik keek telkens uit naar de gezellige middagpauzes in de bar (of buiten in het zonnetje). Stijn verdient een speciaal woordje van dank voor de vele steun die ik aan hem heb gehad tijdens mijn studies in “'t Geestje” en de vele leuke momenten die we hebben meegemaakt. De ‘Palmkes’ die we vaak samen met Mieke dronken, gaven me de nodige energie voor mijn studies en labowerk. Ook mijn vele andere vrienden van Leuven en Poperinge en mijn kotgenoten wil ik bedanken voor de kameraadschap en de vele fijne momenten die we beleefd hebben. Studeren zonder ontspanning kan niet. Aan dat laatste hebben jullie heel veel bijgedragen. Bedankt voor de jarenlange vriendschap en steun! Het

waren vijf aangename studentenjaren! Mijn vriendin Kristin ben ik ook heel dankbaar voor de vele leuke momenten die we de laatste maanden samen beleefd hebben.

Mama, papa en Jan, jullie verdienen een 'dikke merci' voor alle steun die ik van jullie heb gehad tijdens mijn studies. Ik heb tijdens mijn studies ontzettend veel leuke momenten meegemaakt, maar af en toe waren er ook moeilijkheden. Jullie stonden steeds voor me klaar. Dit zal ik nooit vergeten! Bedankt voor alles wat jullie voor me gedaan hebben en nog steeds voor me doen!

Bram

Mei 2007

Samenvatting

De kwaliteit van bloem voor de bereiding van brood wordt grotendeels bepaald door de proteïnen. Zowel de kwantiteit als de kwaliteit (samenstelling) van de proteïnen spelen een belangrijke rol. In dit eindwerk werd getracht een groter inzicht te krijgen in het fysico-chemisch gedrag van de glutenproteïnen tijdens de deegvorming, de broodbereiding en de broodveroudering door de invloed erop van emulgatoren en redoxagentia.

Emulgatoren bewerkstelligen een betere intermoleculaire binding van de glutenstrengen zodat een groter gehalte aan disulfidebindingen en een brugvorming gluten-emulgator-gluten tot stand kwam. Hierdoor nam de deegstabiliteit toe en versnelde de deegontwikkeling. De emulgatoren hadden een positieve impact op het broodvolume. De efficiëntie hing vooral af van de chemische structuur, de lading en de HLB-waarde. Emulgatoren resulteerden in homogener en fijner broodkruim en in kleinere scheurtjes tussen de gascellen. Dit was voornamelijk het gevolg van de stabilisatie van de vloeistoffilm tijdens de ovenrijs. De emulgatoren vertraagden in sterke mate de broodveroudering. Tussen de emulgatoren onderling waren de verschillen in verouderingssnelheid klein.

Oxidantia vertraagden de deegontwikkeling van een sterkere bloem in kleine mate. Bij een zwakkere bloem werd net het omgekeerde effect vastgesteld. Het zwakkere glutennetwerk werd immers versterkt door toevoeging van oxidantia en versnelde zo de deegontwikkeling. Het deeg was dan ook stabiel en behield langer zijn maximale deegsterkte. Toevoeging van vrije thiolgroepen via glutathion leidde tot het breken van disulfidebindingen via sulfhydryl-disulfide-uitwisselingsreacties. Dit had tot gevolg dat het deeg zich sneller ontwikkelde. Door het breken van disulfidebindingen daalde de maximale deegconsistentie.

Oxidantia hadden een negatieve impact op het broodvolume in deze experimenten. Het verschil tussen jodaat en bromaat was niet significant bij de sterkere bloem. Glutathion had een positieve impact op het broodvolume. De effecten waren veel groter bij de sterkere bloem omdat dit een steviger glutennetwerk vormde en dus meer gevoelig was aan de reductie van disulfidebindingen. De keuze van een reductor of een oxidans voor het bekomen van een optimaal broodvolume hangt bijgevolg af van de karakteristieken van de bloem (Yamada en Preston, 1992).

Het kruim van brood met glutathion was fijner en homogener in vergelijking met controlebrood. De scheurtjes tussen de gascellen waren kleiner dan van controlebrood. De verbindingen tussen de poriën waren nog kleiner in brood met bromaat. Brood met bromaat verouderde sneller dan controlebrood. Glutathion daarentegen had het omgekeerde effect. De deeg eigenschappen, de broodkruimstructuur en de broodveroudering konden dus beïnvloed worden door het ingrijpen op covalente bindingen van de glutenstructuur (door redoxagentia), maar ook door niet in te grijpen op covalente bindingen maar via andere mechanismen (emulgatoren). In dit onderzoek werd het belang van de gluten in de broodbereiding en –veroudering onderstreept.

Lijst met afkortingen

AE	Arbitraire eenheden
BE	Brabender eenheden
CSL	Calciumstearoyl-2-lactylaet
DATEM	Diacetylwijnsteenzuuresters van monoglyceride
DMG	Gedestilleerde monodiglyceriden
ds	Droge stof
E°	Oxidatiepotentiaal
GS	Gluteninesubeenheden
HLB	Hydrofiele/lipofiele balans
HMW	Hoogmoleculair
LMW	Laagmoleculair
min	minuten
MW	Molecuulgewicht
PAGE	Polyacrylamide gelelektroforese
Poly	Polysorbaat
SDS	Natriumdodecylsulfaat
SSL	Natriumstearoyl-2-lactylaet
tpm	toeren per minuut

Inhoudsopgave

DOEL EN SITUERING	1
Deel I: Literatuurstudie	3
1. Proteïnen	4
1.1. Classificatie van graanproteïnen.....	4
1.2. Niet-glutenproteïnen.....	4
1.3. Glutenproteïnen	5
1.3.1. Gliadine	5
α - en γ -gliadinen	6
ω -gliadinen	6
1.3.2. Glutenine	6
HMW-GS.....	7
LMW-GS.....	7
1.4. Gluteninestructuur	9
2. Broodbereiding.....	11
2.1. Zetmeel	11
2.2. Kneden.....	12
2.2.1. Ontwikkeling van het glutennetwerk	13
2.2.2. Elasticiteitsmechanisme	14
2.2.3. Veranderingen van zetmeel tijdens kneden.....	17
2.3. Fermentatie	17
2.4. Bakken	18
2.4.1. Ovenrijs	18
2.4.2. Korstvorming	19
2.4.3. Gascelopening	19

2.4.4. Transformaties van gluten tijdens bakken.....	20
2.4.5. Transformaties van zetmeel tijdens bakken	22
3. Broodveroudering	24
3.1. Retrogradatie van zetmeel	24
3.1.1. Amylose	24
3.1.2. Amylopectine	26
3.2. Watermigratie	27
3.2.1. Uitdroging	27
3.2.2. Herverdeling van vocht tussen kruim en korst.....	27
3.2.3. Herverdeling van vocht tussen broodcomponenten	27
3.3. Rol van glutenproteïnen	29
3.3.1. Belangrijk effect.....	29
3.3.2. Gering effect.....	30
4. Additieven in de broodbereiding	32
4.1. Emulgatoren.....	32
4.1.1. Eigenschappen van emulgatoren.....	32
deegversterkers	32
kruimverzachtters.....	33
4.1.2. DATEM.....	35
4.1.3. SSL en CSL.....	37
4.1.4. Polysorbaten	38
4.2. Redoxagentia	38
4.2.1. Oxidantia: halogenaten.....	38
4.2.2. Reductoren: glutathion	40
Deel II: Experimenteel deel	41
5. Materialen en Methodes	42
5.1. Materialen	42
5.2. Vermalen van tarwe.....	43
5.2.1. Bepalen van het vochtgehalte.....	43
5.2.2. Conditioneren van de tarwe.....	43

5.2.3. De walsenvermaling	44
5.3. Reologische studie van deeg	44
5.3.1. Farinograaf	45
Principe.....	45
Procedure.....	46
5.3.2. Mixograaf.....	46
Principe.....	46
Procedure.....	47
5.4. Broodbereiding.....	48
5.4.1. Het broodbereidingsproces voor kleine broodjes.....	48
5.4.2. Het broodbereidingsproces voor grote broden.....	48
5.4.3. Bepaling van broodgewicht, rijshoogte en broodvolume.....	49
Kleine broodjes.....	49
Grote broden.....	49
5.5. Digitale beeldanalyse van broodkruim.....	50
Principe.....	50
Procedure.....	51
5.6. Akoestische analyse van broodkruim.....	51
5.6.1. Biot-Allard model	51
5.6.2. Parameters	52
open porositeit	52
tortuositeit.....	52
viskeuze karakteristieke lengte	53
thermische karakteristieke lengte.....	53
5.6.3. Bepaling van de tortuositeit en karakteristieke lengtes.....	54
Experimentele opstelling	54
Bepaling van de tortuositeit	55
Bepaling van de karakteristieke lengtes.....	56
5.6.4. Bepaling van de open porositeit.....	58
Experimentele opstelling	58
Bepaling van de open porositeit.....	58
5.7. Mechanische analyse van broodkruim	59
5.8. Statistische analyse	60
6. Impact van emulgatoren op broodbereiding en –veroudering.....	61
6.1. Invloed van emulgatoren op deeeigenschappen.....	62

6.1.1. Invloed van emulgatoren op farinograafparameters.....	62
6.1.2. Invloed van emulgatoren op mixograafparameters	64
6.1.3. Discussie.....	66
Farinograafparameters	66
Mixograafparameters	67
6.2. Invloed van emulgatoren op broodeigenschappen	68
6.2.1. Broodvolume en -densiteit	68
6.2.2. Beeldanalyse.....	71
6.2.3. Akoestische analyse	73
6.2.4. Discussie.....	74
Broodvolume en -densiteit.....	74
Beeldanalyse	76
Akoestische analyse.....	76
6.3. Invloed van emulgatoren op broodveroudering	78
6.3.1. Mechanische analyse.....	78
6.3.2. Discussie.....	79
6.4. Conclusie	81
7. Impact van redoxagentia op broodbereiding en –veroudering	82
7.1. Invloed van redoxagentia op deeeigenschappen	82
7.1.1. Invloed van redoxagentia op farinograafparameters	82
7.1.2. Invloed van redoxagentia op mixograafparameters	84
7.1.3. Discussie.....	87
Farinograafparameters	87
Mixograafparameters	88
7.2. Invloed van redoxagentia op broodeigenschappen	89
7.2.1. Broodvolume en –densiteit.....	89
Constance kneedtijd	89
Variërende kneedtijd.....	93
7.2.2. Beeldanalyse.....	94
7.2.3. Akoestische analyse	96
7.2.4. Discussie.....	97
Broodvolume en -densiteit.....	97
Beeldanalyse	100
Akoestische analyse.....	101

7.3. Invloed van redoxagentia op broodveroudering.....	101
7.3.1. Mechanische analyse.....	101
7.3.2. Discussie.....	103
7.4. Conclusie	105
ALGEMEEN BESLUIT	106
BIBLIOGRAFIE.....	110

Doel en situering

Brood is sinds duizenden jaren een van de belangrijkste onderdelen van het dieet van de mens. Het is een belangrijke bron van koolhydraten, proteïnen, vezels, mineralen, verschillende B-vitaminen en vitamine E. De populariteit van brood is niet enkel toe te schrijven aan zijn voedzaamheid, maar tevens aan het feit dat brood een 'convenience'-product is. Vers brood heeft unieke sensorische eigenschappen zoals smaak, aroma, de textuur van de zachte broodkruim en de krokante korst (Scanlon en Zghal, 2001).

De consument wil graag doorheen de dag een breed assortiment vers brood. Dit is echter niet gemakkelijk haalbaar. Zo zijn de deegeigenschappen niet steeds zoals de bakker het wenst. Het deeg is soms te sterk of te zwak, het zakt te veel in ten gevolge van de trillingen van machines, het deeg ontwikkelt zich te traag enz. Ook de eigenschappen van het brood zijn niet steeds zoals de consument het wenst: het kruim scheurt bij het smeren van de boterham, het kruim is te grof.... Bovendien verouderd brood snel. De belangrijkste negatieve veranderingen zijn kruimverharding, korstverzachting en veranderingen van aroma-karakteristieken. Broodveroudering is verantwoordelijk voor grote jaarlijkse economische verliezen, nl. 3 tot 8% van alle geproduceerde brood wordt ongeschikt voor consumptie (Zobel en Kulp, 1996). De mechanisatie, groteschaalproductie en de vraag van de consumenten naar een hogere kwaliteit, 'convenience' en bewaarbaarheid van brood maakte het gebruik van bereidingsmiddelen, vaak 'broodverbeters' genoemd, noodzakelijk om deze doelen te bereiken (Stampfli en Nersten, 1995).

De kwaliteit van bloem voor de bereiding van brood wordt grotendeels bepaald door de proteïnen. Ondanks uitgebreid onderzoek op glutenproteïnen zijn hun structuur en rol tijdens broodbereiding en -veroudering nog steeds niet volledig opgehelderd. Dit eindwerk heeft tot doel een groter inzicht te krijgen in het fysico-chemisch gedrag van de glutenproteïnen tijdens de deegvorming, de broodbereiding en de broodveroudering. Hiertoe werd gewerkt met twee types broodverbeters, namelijk emulgatoren en redoxagentia. De emulgatoren oefenen hun effect vooral uit via elektrostatische effecten. Ze hebben geen invloed op covalente bindingen. Redoxagentia daarentegen beïnvloeden de glutenproteïnen vooral door in te grijpen op de disulfidebindingen van het glutennetwerk. Bovendien werd de invloed van de redoxagentia nagegaan op twee verschillende soorten bloem. De invloed van deze broodverbeters werd telkens op drie verschillende aspecten nagegaan. In eerste instantie werd het effect op de

degeïgenschappen nagegaan. In een volgend stadium werden twee deelaspecten onderzocht, nl. het broodvolume en de cellulaire kruimstructuur. Het broodkruim werd telkens met twee verschillende technieken geanalyseerd. Ten derde werd ook de broodveroudering opgevolgd door het meten van de hardheid en de elasticiteitsmodulus van het kruim op verschillende tijdstippen.

In een eerste deel (literatuurstudie) wordt de opbouw van de glutenproteïnen, de broodbereiding en broodveroudering besproken, alsook de twee soorten broodverbeteraars die gebruikt werden. In het tweede deel (experimenteel deel) worden eerst de gebruikte materialen en methoden beschreven. Vervolgens wordt de invloed van de emulgatoren nagegaan. In het laatste hoofdstuk worden de effecten van de redoxagentia onderzocht.

Deel I:
Literatuurstudie

1. Proteïnen

Tarweproteïnen zijn voor de bereiding van brood zeer belangrijk omwille van hun unieke functionaliteit. Commercieel gebruikte tarwes bevatten 8 tot 16 % proteïnen. De variatie is voornamelijk te wijten aan omgevingsfactoren (bemesting, ziekte, vorst) en genetische factoren. De tarweproteïnen worden onderverdeeld in glutenproteïnen (80-85 % van het totaal proteïnegehalte) en niet-glutenproteïnen (15-20 % van het totaal proteïnegehalte). Naarmate het proteïnegehalte van tarwe hoger is, stijgt het procentueel aandeel van de glutenproteïnen (Hoseney, 1994). De kwaliteit van bloem voor de bereiding van brood wordt grotendeels bepaald door de proteïnen. Zowel de kwantiteit als de kwaliteit (samenstelling) van de proteïnen spelen een belangrijke rol (Veraverbeke en Delcour, 2002).

1.1. Classificatie van graanproteïnen

Osborne (1924) ontwikkelde begin vorige eeuw een classificatie van plantenproteïnen, gebaseerd op extracties met verschillende solventen. Via extracties met achtereenvolgens water, een verdunde zoutoplossing, 70 % ethanol en een verdunde azijnzuuroplossing worden tarweproteïnen gescheiden in respectievelijk albumine, globuline, gliadine en glutenine. Een significante fractie is echter onoplosbaar in de opgesomde solventen en kan dus niet worden geëxtraheerd. Deze fractie wordt geclassificeerd als het residu. Hoewel Osborne vier verschillende groepen definieert, mag dit niet te strikt geïnterpreteerd worden. Elke fractie bevat een complexe mengeling van polypeptiden en deze overlappen gedeeltelijk qua oplosbaarheid (Gianibelli *et al.*, 2001).

1.2. Niet-glutenproteïnen

De niet-glutenproteïnen komen voornamelijk voor in de buitenste lagen van de tarwekorrel, nl. de aleuronlaag, de zemel en de kiem. Vandaar dat de niet-glutenproteïnen minder belangrijk zijn in de broodbereiding. Het grootste deel van deze groep behoort tot de

albumine- en globulinefractie. De meeste niet-glutenproteïnen zijn monomeren en hebben een structurele of metabolische functie. Een kleine fractie echter zijn polymere reserveproteïnen, triticines genoemd (Shewry en Halford, 2002).

1.3. Glutenproteïnen

Glutenproteïnen zijn de belangrijkste reserveproteïnen van tarwe. Ze komen vooral voor in het endosperm waar ze initieel afgezet worden in discrete proteïne lichaampjes die later een continue matrix rond de zetmeelgranulen vormen. Deze groep proteïnen is grotendeels onoplosbaar in water of verdunde zoutoplossingen. Dit is ondermeer te wijten aan het lage aantal aminozuren met ioniseerbare zijketens en de grote hoeveelheid niet-polaire aminozuren en glutamine (Shewry en Halford, 2002). Vanuit technologisch standpunt zijn de glutenproteïnen uiterst belangrijk omdat ze verantwoordelijk zijn voor de unieke visco-elastische eigenschappen van tarwebloemdeeg. De glutenproteïnen kunnen onderverdeeld worden in twee groepen, die in ongeveer dezelfde hoeveelheid aangetroffen worden in tarwe: de gliadinen en de gluteninen (Veraverbeke en Delcour, 2002).

Hoewel Osborne de prolaminen definieerde als de graanproteïnen die oplosbaar zijn in een waterige alcoholoplossing, wordt de term ook gebruikt voor alle gluteninesubeenheden (GS) en gliadinen, want zowel gliadinen als GS bevatten ongewoon hoge hoeveelheden proline en glutamine. Op basis van aminozuursequenties worden de prolaminen verdeeld in drie groepen: de zwavelrijke, de zwavelarme en de hoogmoleculaire prolaminen (Shewry *et al.*, 1986).

1.3.1. Gliadine

De gliadinen vormen een polymorfe groep van monomere glutenproteïnen waarvan het moleculair gewicht (MW) varieert van 30000 tot 80000. De gliadinen bezitten weinig ioniseerbare aminozuren en zijn goed oplosbaar in waterige alcoholoplossingen. Biochemisch kunnen drie types onderscheiden worden, nl. α -, γ - en ω -gliadine (Gianibelli *et al.*, 2001; Veraverbeke en Delcour, 2002).

α - en γ -gliadinen

Deze gliadinen behoren tot de zwavelrijke prolaminen (Shewry *et al.*, 1986). Cysteïneresidu's in α -type (6 cysteïneresidu's) en γ -type (8 cysteïneresidu's) gliadinen bevinden zich op sterk geconserveerde posities en ze zijn allemaal betrokken in intramoleculaire disulfidebindingen (Shewry en Tatham, 1997). In gliadinen komen dus geen vrije cysteïneresidu's voor, waardoor ze niet tussenkomen in de polymere structuur van gluten. Het repetitieve domein van de γ - gliadinen is rijk aan ' β -turns' en de niet-repetitieve domeinen rijk aan α -helices. Bij de α - gliadinen zijn de ' β -turns' meer onregelmatig verdeeld (Gianibelli *et al.*, 2001).

ω -gliadinen

Het ω -type gliadine bevat geen cysteïneresidu's en heel weinig methionine en behoort dus tot de zwavelarme prolaminen (Shewry *et al.*, 1986). Door de afwezigheid van cysteïneresidu's kunnen ze geen disulfidebindingen vormen. De ω -gliadinen bezitten hoge hoeveelheden aan glutamine en proline. Ze hebben een hoger gehalte aan fenylalanine en minder basische aminozuren in vergelijking met de andere gliadinen (Tatham en Shewry, 1995). Uit dit aminozuurprofiel volgt dat de ω -gliadinen het meest hydrofiel zijn van de glutenproteïnen (Gianibelli *et al.*, 2001).

1.3.2. Glutenine

De gluteninen bestaan uit een heterogeen mengsel van polymeren waarvan het MW varieert van 80000 tot meer dan een miljoen. Een significant deel van de gluteninen is onoplosbaar en behoort dus tot de residufractie. Glutenineproteïnen zijn opgebouwd uit subeenheden die met elkaar verbonden zijn via disulfidebindingen. Door reductie van disulfidebindingen met reducerende agentia (bv. β -mercapto-ethanol of dithiotreitol) kunnen GS worden vrijgesteld die oplosbaar zijn in waterige alcoholoplossingen. Binnen de GS kunnen vier verschillende groepen onderscheiden worden: A-GS [dit zijn hoog moleculaire GS (HMW-GS) met een MW tussen 65000 en 90000] en B-, C- en D- GS [dit zijn laag moleculaire GS (LMW-GS) met een MW tussen 30000 en 60000] (Shewry *et al.*, 1992). LMW-GS kunnen naast intramoleculaire disulfidebindingen ook intermoleculaire disulfidebindingen vormen die leiden tot de incorporatie van LMW-GS in gluteninepolymeren. Deze LMW-GS vormen covalente bindingen met de HMW-GS (Veraverbeke en Delcour, 2002).

HMW-GS

De HMW-GS vormen de groep van de hoogmoleculaire prolaminen (Shewry *et al.*, 1986). Er zijn al meer dan 20 verschillende HMW-GS ontdekt in verschillende tarwevariëteiten. Het meest voorkomende aminozuur is glutamine (35 mol %) en de HMW-GS bevatten ook significante hoeveelheden glycine (20 mol %) en proline (10 mol %) (Tatham *et al.*, 1990). Er zijn twee types HMW-GS, nl. een x-type met een hoger MW en een y-type met een lager MW. Zowel de x-type als de y-type HMW-GS zijn samengesteld uit 3 domeinen: een klein N-terminaal domein, een groot centraal domein en een klein C-terminaal domein (Figuur 1.1). Alle cysteïneresidu's bevinden zich aan de uiteinden van de HMW-GS. Het centraal domein bestaat vooral uit de repetitieve sequenties Pro-Gly-Gln-Gly-Gln-Gln en Gly-Tyr-Tyr-Pro-Thr-Ser-Pro/Leu-Gln-Gln die zowel in de x-type als de y-type GS voorkomen. De x-type subeenheden bevatten ook herhalingen van het tripeptide Gly-Gln-Gln (Shewry *et al.*, 1992, 1994). De terminale domeinen zijn hoofdzakelijk opgebouwd uit α -helices en de structuur is aperiodisch. Het centrale gedeelte bestaat uit een opeenvolging van 'β-turn'-conformaties en geeft zo aanleiding tot een β-spiraal (Belton *et al.*, 1995).

Hoewel er veel gelijkenissen zijn tussen de algemene structuur en de aminozuursequentie van de x-type en y-type HMW-GS, zijn er enkele belangrijke verschillen die mogelijk cruciaal zijn voor de structuur en functionaliteit van de gluteninepolymeren. Er is een verschil in MW (80000 tot 90000 voor de x-type HMW-GS en 65000 tot 75000 voor de y-type HMW-GS) door een verschillende lengte van het centraal repetitief domein. Ook de repetitieve structuren in het centraal domein verschillen: de y-type HMW-GS bevatten nonapeptides en hexapeptides die zich herhalen, terwijl de x-type HMW-GS ook nog tripeptides bevatten (Shewry *et al.*, 1992). Daarnaast is er een verschil in het aantal en de verdeling van de cysteïneresidu's. De y-type HMW-GS bevatten 6 cysteïneresidu's in de niet-repetitieve domeinen (5 cysteïneresidu's in het N-terminaal domein en 1 cysteïneresidu in het C-terminaal domein) en 1 cysteïneresidu in het centraal repetitief domein. In de x-type HMW-GS komen slechts 4 geconserveerde cysteïneresidus's voor (Shewry en Tatham, 1997). In Figuur 1.1 zijn de x-type en y-type HMW-GS voorgesteld.

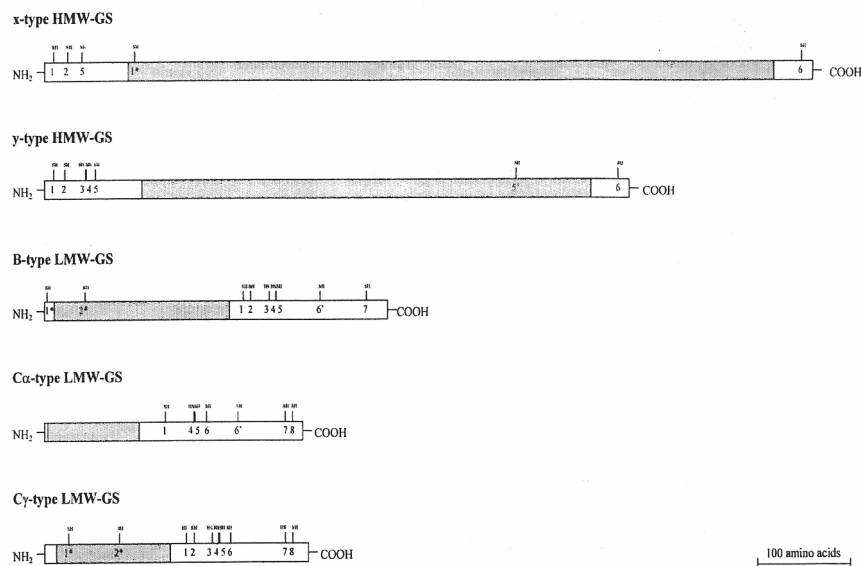
LMW-GS

De LMW-GS vormen een meer heterogene groep van GS dan de HMW-GS. Er zijn al ongeveer 40 verschillende LMW-GS geïdentificeerd in *Triticum aestivum* variëteiten. Per tarwevariëteit komen naar schatting 7 tot 16 verschillende LMW-GS voor. De LMW-GS

worden opgedeeld in B-, C- en D-types op basis van verschillen in mobiliteit in SDS-PAGE (Veraverbeke en Delcour, 2002).

B- en C-type LMW-GS

Op basis van gelijkenissen in de aminozuursequentie worden de B- en C-type LMW-GS ingedeeld onder de zwavelrijke prolaminen (Shewry *et al.*, 1986). Deze prolaminen zijn opgebouwd uit twee domeinen (Figuur 1.1). Het N-terminaal domein bestaat bijna uitsluitend uit repetitieve sequenties die rijk zijn aan proline en glutamine. Deze sequenties worden voorafgegaan door een korte niet-repetitieve N-terminale sequentie. De repetitieve sequenties vormen 'β-turns'. Het C-terminaal domein bestaat uit niet-repetitieve sequenties die in hoofdzaak onder de vorm van een α-helix voorkomen. Bijna alle cysteïneresidu's bevinden zich in dit domein, dat een compacte globulaire structuur vormt (Shewry *et al.*, 1994). In de B-type LMW-GS komen 6 sterk geconserveerde cysteïneresidu's voor. Hiernaast zijn er nog 1 of 2 extra cysteïneresidu's in het C-terminaal domein. B-type LMW-GS bevatten slechts 1 cysteïneresidu in het N-terminaal domein, meestal in de repetitieve sequenties ervan (Shewry en Tatham, 1997). De C-type LMW-GS vertonen meer gelijkenissen met de α-type en γ-type gliadinen dan met de B-type LMW-GS. Het enige verschil is dat de C-type LMW-GS in staat zijn te incorporeren in gluteninepolymeren. Cα-type en Cγ-type LMW-GS bevatten respectievelijk 6 en 8 sterk geconserveerde cysteïneresidu's (Shewry en Tatham, 1997).



Figuur 1.1: Schematische voorstelling van de structuur van de belangrijkste klassen van tarwe GS. De repetitieve domeinen zijn grijs gekleurd, de niet-repetitieve domeinen zijn wit. De cysteïneresidu's zijn genummerd. De niet-geconserveerde cysteïneresidu's worden aangeduid met een accent. Niet-geconserveerde cysteïneresidu's die niet in alle GS voorkomen worden aangeduid met een sterretje (Veraverbeke en Delcour, 2002).

D-type LMW-GS

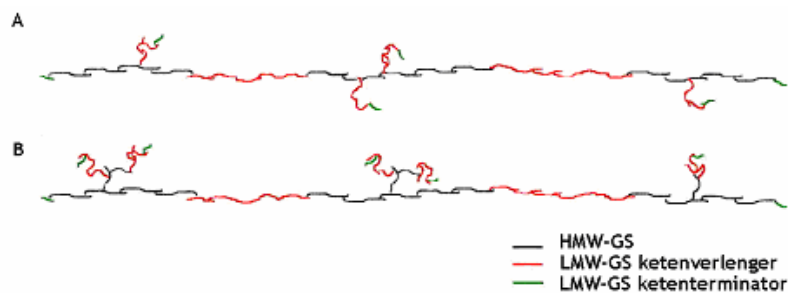
De D-type LMW-GS behoren samen met monomere ω -type gliadinen tot de zwavelarme prolaminen (Shewry *et al.*, 1986). Ze bestaan bijna uitsluitend uit repetitieve sequenties met kleine niet-repetitieve N- en C-terminale domeinen. De repetitieve structuur, die rijk is aan glutamine, proline en fenylalanine, bestaat uit overlappende β -turn domeinen (Shewry *et al.*, 1994).

1.4. Gluteninestructuur

Het is niet eenvoudig om de precieze structuur van glutenine te bepalen door het hoge MW. Ook de lage oplosbaarheid en het gebrek aan kristalliniteit bemoeilijken het ontrafelen van de structuur. Verschillende modellen beschrijven de mogelijke gluteninestructuur. Glutenine bevat heel weinig vrije sulfhydrylgroepen. Hieruit volgt dat de meeste sulfhydrylgroepen betrokken zijn in disulfidebindingen. Door de vorming van disulfidebindingen tussen GS heeft glutenine een polymeer karakter (Veraverbeke en Delcour, 2002). De meeste gluteninepolymeren bestaan zowel uit HMW-GS als LMW-GS. Polymeren die enkel bestaan uit LMW-GS komen ook voor.

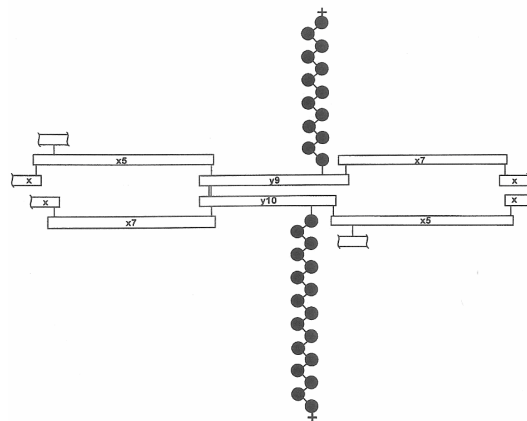
Studies suggereren dat de GS niet willekeurig geassocieerd zijn. Vermoedelijk bevinden de B- type LMW-GS zich aan de rand van het gluteninepolymeer (Lindsay en Skerritt, 1998). Men denkt ook dat x-type en y-type HMW-GS preferentieel met elkaar associëren. Viscositeitsstudies suggereren een lineaire structuur voor glutenine. Kasarda (1989) veronderstelt dat er clusters van LMW-GS bestaan die gevormd worden door disulfidebindingen aan hun C-terminaal domein. In dit model wordt ook rekening gehouden met de hoge verhouding van LMW-GS (80-90 %) tot HMW-GS (10-20 %). Bepaalde subeenheden, voornamelijk de LMW-GS, fungeren als keteterminator. Volgens het model van Gao *et al.* (1992) zijn blokken van HMW-GS-dimeren en HMW-GS-LMW-GS-dimeren, onderling verbonden door disulfidebruggen, aaneengeschakeld via zogenaamde reologisch effectieve disulfidebindingen. Dergelijke verbindingen zijn heel gevoelig aan reductie, zelfs bij lage concentraties van het reducerend agens. Shewry *et al.* (1992) veronderstellen dat β -spiraal van de repetitieve centrale domeinen bijdragen tot de elastische eigenschappen. Volgens Belton *et al.* (1995) zijn, naast de disulfidebindingen, ook glutaminerijke repetitieve sequenties belangrijk ter stabilisatie van de polymeerstructuur doordat deze waterstofbindingen vormen. Lindsay en Skerritt (1999) postuleerden twee structuurmodellen

van glutenine. Ze suggereren in beide modellen dat glutenine bestaat uit een ruggengraat van oligomeren van HMW-GS en LMW-GS. De HMW-GS-oligomeren bestaan uit x- en y-type GS die voorkomen als x-x en x-y dimeren. De oligomeren van LMW-GS zijn samengesteld uit enerzijds dimeren van ketenverlengende B-type LMW-GS en anderzijds dimeren van ketenverlengende B-type LMW-GS en ketenterminerende C- en D- type LMW-GS. De cysteïneresidu's van de y-type HMW-GS van de ruggengraat kunnen vertakkingen vormen. Volgens het eerste model zijn deze vertakkingen lineair en bevatten enkel LMW-GS (Figuur 1.2 A). In het tweede model bestaan de vertakkingen uit LMW-GS en HMW-GS (Figuur 1.2 B).



Figuur 1.2: Structuurmodellen van glutenine. De hoofdketen bestaat uit oligomeren van HMW-GS en LMW-GS. De zijketens bevatten enkel LMW-GS (A) of bevatten zowel LMW-GS als HMW-GS (B) (Lindsay en Skerritt, 1999).

Het moleculair 'twee eenheden'-model is het meest recente structuurmodel van glutenine dat werd beschreven door Wieser (2007). Hierin zijn de twee entiteiten van gluteninepolymeren, die bestaan uit twee y-type HMW-GS, vier x-type HMW-GS en ongeveer dertig LMW-GS, covalent gebonden via disulfidebindingen tussen de ketens (Figuur 1.3). Het moleculair gewicht van deze twee eenheden bedraagt ongeveer 1,5 miljoen. De grootste gluteninestructuur zou meer dan tien van dergelijke dubbele entiteiten bevatten, waarin de x-/y-type en HMW-GS/LMW-GS verhoudingen hoger zijn.



Figuur 1.3: Model voor de interketen disulfidestructuur van LMW-GS (bollen) en HMW-GS (rechthoeken) van gluteninepolymeren (+ = terminator) (Wieser, 2007).

2. Broodbereiding

De essentiële ingrediënten voor broodbereiding zijn bloem, water, zout en gist en/of andere micro-organismen. Vaak worden niet-essentiële ingrediënten toegevoegd zoals vet, suiker, melk of melkpoeder, enzymen, emulgatoren, oxidantia, reductoren, additieven tegen schimmelontwikkeling... (Goesaert *et al.*, 2005). Bloem wordt bekomen door het vermalen van graan. Voor de broodbereiding wordt meestal de hexaploïde *Triticum aestivum* tarwe gebruikt, die behoort tot de familie van de Gramineae, de grassen.

2.1. Zetmeel

Zetmeel is het voornaamste bestanddeel van tarwebloem (*ca.* 70-75 %). Naast zetmeel bevat tarwebloem ook water (*ca.* 14 %), proteïnen (*ca.* 10-12 %) en minorconstituenten zoals niet-zetmeel polysachariden (*ca.* 2-3 %) en lipiden (*ca.* 2 %). Het zijn vooral het zetmeel, het gluten en de arabinoxylanen (dit zijn de voornaamste niet-zetmeelpolysachariden in tarwe) die een invloed hebben op de verwerking van de bloem, alsook op de kwaliteit van het eindproduct (Goesaert *et al.*, 2005). In het eerste hoofdstuk werden de glutenproteïnen uitgebreid besproken. In wat volgt wordt zetmeel toegelicht.

Amylose is een (hoofdzakelijk) lineair molecule dat opgebouwd is uit 500 tot 600 α -(1,4) gebonden D-glucopyranosyleenheden. Een klein deel van de amylosemoleculen is vertakt via α -(1,6)-bindingen. Amylopectine is een heel groot en sterk vertakt polysacharide. De polymerisatiegraad varieert van 3×10^5 tot 3×10^6 α -(1,4) gebonden D-glucopyranosyleenheden die vertakt zijn via α -(1,6)-bindingen (Zobel, 1988a). Er kunnen 3 ketens onderscheiden worden: de onvertakte buitenste ketens (A), de meer naar binnen gelegen ketens (B) die één of meer A en/of B-ketens dragen en 1 keten die drager is van de A- en B-ketens en het reducerend glucoseresidu bevat (C) (Zobel, 1988b). Er werden verschillende structuurmodellen voor amylopectine voorgesteld in het verleden. Heden ten dage wordt het clustermodel algemeen aanvaard (Goesaert *et al.*, 2005). Volgens Hizukuri (1986) vormen de korte A- en B-ketens dubbele helices die gegroepeerd zijn in clusters. De clusters worden

verbonden door langere ketens die zich uitstrekken over twee of meer clusters. Tarwezetmeel bevat typisch 26 tot 31 % amylose en 69 tot 74 % amylopectine (Belitz *et al.*, 2004).

Zetmeelkorrels hebben een dubbelbrekend karakter. Dit wijst op een geordende structuur in de korrels en bovendien kan hieruit afgeleid worden dat de macromoleculen loodrecht op het oppervlak van de granules georiënteerd zijn.

2.2. Kneden

Tijdens het mengen van de ingrediënten wordt tarwebloem gehydrateerd. De componenten worden bij het mengen van elkaar afgeschoven en steeds dunnere lagen worden gevormd. De helft van het aanwezige water is gebonden of onbevriesbaar water. Vrij of bevriesbaar water is enkel aanwezig wanneer het watergehalte meer dan 30 tot 35 % op gewichtsbasis bedraagt. Wanneer nog meer water toegevoegd wordt, ontstaat een tweede waterige fase die van het deeg kan gescheiden worden door middel van centrifugatie. De waterige fase in het deeg bevat de oplosbare bloemcomponenten. In deze fase grijpen reacties plaats, onder andere de gistingsreacties (Hoseney, 1994).

Het inbrengen van lucht is een tweede functie van de kneedfase. Lucht kan opgesloten zitten in de bloemmassa, maar wordt vooral geïncorporeerd tijdens het kneden wanneer het deeg omgevormd wordt tot een schuim (een suspensie van gascellen in een continue vloeistoffase). Men heeft aangetoond dat deeg geen gas kan weerhouden indien het watergehalte van het deeg lager is dan ongeveer 35 % van de totale deegmassa. De gasretentie verbetert bijna lineair wanneer het watergehalte toeneemt van 35 % tot ongeveer 44 % (Gan *et al.*, 1995).

De grootte van deze gascellen is belangrijk voor de uiteindelijke textuur van het brood en wordt bepaald door drie factoren: inbreng van energie tijdens het kneden, de viscositeit van de continue fase en de oppervlaktespanning (Wilde, 2003). De gascellen zijn omgeven door een dunne continue vloeistoffilm (Gan *et al.*, 1995). De gascellen zullen expanderen wanneer koolstofdioxide, geproduceerd door de gist, naar de kernen migreert.

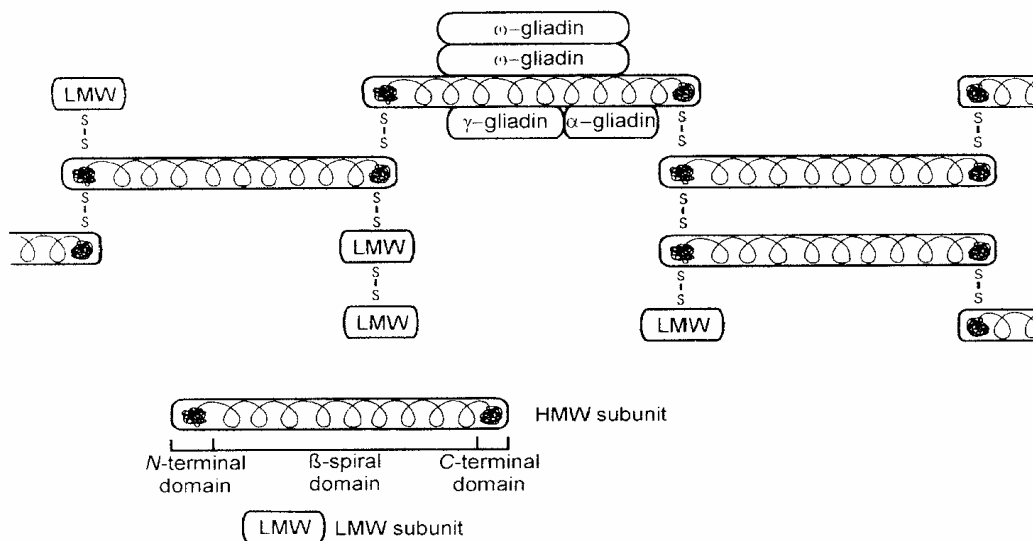
Een derde functie van het kneden is de ontwikkeling van het glutennetwerk. Dit wordt hieronder uitgebreid besproken.

2.2.1. Ontwikkeling van het glutennetwerk

De reserveproteïnen van tarwe hebben de eigenschap een visco-elastisch netwerk, ook wel gluten genoemd, te vormen na hydratatie en inbreng van arbeid. De reologische eigenschappen stellen het deeg in staat gas te weerhouden dat geproduceerd wordt tijdens de fermentatie en ovenrijzen, zodat de typisch luchtige broodkruimstructuur ontstaat tijdens het bakken. Deze eigenschappen zijn uniek en komen zelfs niet voor bij granen verwant met tarwe, zoals gerst en rogge. Hoewel de reologische eigenschappen van deeg voornamelijk bepaald worden door de glutenproteïnen, kunnen interacties van de glutenproteïnematrix met andere bloemcomponenten (bijvoorbeeld lipiden, arabinoxylanen, niet-glutenproteïnen) de reologische eigenschappen beïnvloeden (Veraverbeke en Delcour, 2002). De optimale kneedtijd en de gevoeligheid tot overkneeden worden hoofdzakelijk bepaald door de kwantiteit en kwaliteit van het gluten (Goesaert *et al.*, 2005).

De kwaliteit van tarwebloem voor de broodbereiding is lineair gecorreleerd met het proteïnegehalte, en dus met de hoeveelheid glutenproteïnen (Hoseney, 1994). Naast de proteïnekwantiteit is ook de proteïnekwaliteit belangrijk (Khatkar *et al.*, 1995). Er zijn twee belangrijke factoren die de kwaliteit van de glutenproteïnen bepalen. De eerste factor is de gliadine/glutenine verhouding van de glutenproteïnen. Gliadine en glutenine vervullen immers een verschillende functie in het deeg. Gluteninepolymeren vormen, dankzij hun omvang, een continu netwerk dat cohesiviteit (sterkte, weerstand tegen vervorming) en elasticiteit verleent aan het deeg (Belton, 1999). De HMW-GS vormen een elastische ruggengraat, bestaande uit kop-en-staart polymeren met intermoleculaire disulfidebindingen. Op deze ruggengraat zijn, via disulfidebruggen, vertakkingen ingeplant die opgebouwd zijn uit LMW-GS. Gliadinen kunnen ook interageren met de gluteninepolymeren via niet-covalente interacties. In Figuur 2.1 is een structuurmodel van tarwegluten voorgesteld. Niet-covalente interacties (waterstofbindingen) tussen GS en polymeren kunnen ook bijdragen tot elasticiteit (Shewry *et al.*, 2001). Monomere gliadinen fungeren als weekmaker en verzwakken de interacties tussen de gluteninepolymeren zodat de viscositeit van het deeg toeneemt. Ze dragen op deze manier bij tot de plasticiteit van deeg (Khatkar *et al.*, 1995). Om een optimale deegkwaliteit te hebben is een goede balans vereist tussen plasticiteit/viscositeit en elasticiteit/sterkte, dus moet de gliadine/glutenine verhouding goed zijn. Onvoldoende elastisch gluten weerhoudt het geproduceerde CO₂ onvoldoende en resulteert in een laag broodvolume. Maar te elastisch gluten belemmert de expansie van de gascellen waardoor het broodvolume eveneens laag is (Kasarda, 1989; Shewry *et al.*, 1994).

De tweede factor is de kwaliteit van de gluteninefractie. Ook de kwaliteit van de gliadinen is van belang, maar deze is ondergeschikt aan de gluteninekwaliteit. De kwaliteit van de gluteninen bij de broodbereiding resulteert uit drie eigenschappen: de samenstelling, de structuur en de verdeling van het molecuulgewicht (Veraverbeke en Delcour, 2002). Wanneer de gluteninesamenstelling varieert (er zijn immers verschillende HMW-GS en LMW-GS in verschillende tarwevariëteiten, *cf. supra*), leidt dit tot verschillen in de niet-covalente interacties die de elasticiteit van glutenine mee bepalen. Ook de structuur van glutenine bepaalt de kwaliteit ervan. Tot op zekere hoogte resulteren variaties in de structuur van glutenine ook uit variaties in gluteninesamenstelling. Zo bepaalt bijvoorbeeld de GS-samenstelling de graad van vertakking (Dobraszczyk en Morgenstern, 2003). Ten slotte speelt ook de molecuulgewichtsverdeling een rol in de kwaliteit van de gluteninen. Enkel de polymeren boven een bepaald MW nemen deel aan de elasticiteit van het gluteninepolymeernetwerk. Het MW van glutenine wordt ook (deels) bepaald door de GS-samenstelling (Singh en MacRitchie, 2001).



Figuur 2.1: Een structuurmodel van tarwegluten (Shewry *et al.*, 2001). De HMW-GS binden aan elkaar door middel van disulfidebruggen en vormen zo de ruggengraat. Deze interageert met andere glutenproteïnen via disulfidebindingen (met de LMW-GS) en via niet-covalente interacties (met de gliadinen).

2.2.2. Elasticiteitsmechanisme

Indien een materiaal perfect elastisch is, is uitrekking van het materiaal perfect reversibel. Vermits deeg naast elastische ook viskeuze eigenschappen bezit, zal de arbeid die geleverd wordt om het materiaal te vervormen niet volledig worden omgezet in potentiële energie. Een

gedeelte gaat verloren als warmte ten gevolge van wrijvingsfenomenen. Hierdoor zijn vervormingen van deeg niet volledig reversibel.

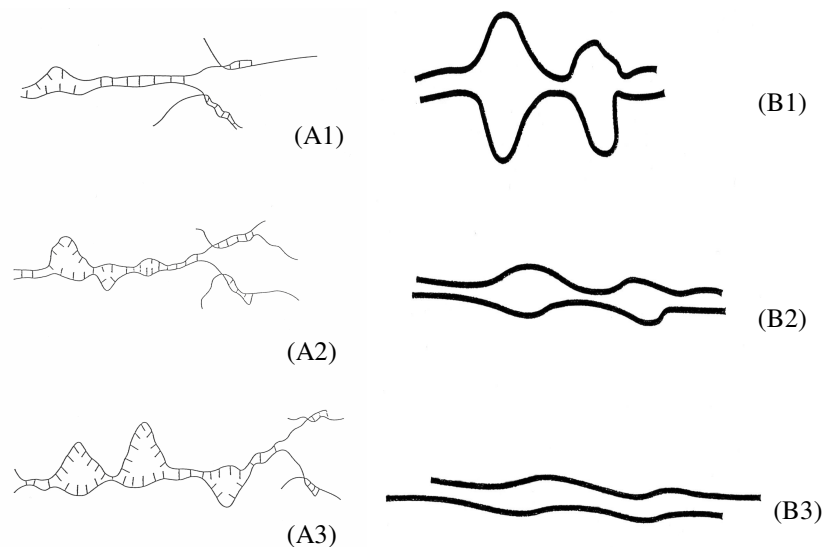
De trekspanning en de energie die nodig is om een bepaalde vervorming te realiseren, nemen af met een verhoogde hoeveelheid water in het deeg. Typisch bevatten degen op basis van tarwebloem 0,6-0,8 g water/g droge stof bloem. De optimale hoeveelheid water die aan bloem dient toegevoegd te worden, is afhankelijk van de eigenschappen van tarwebloem (Cauvin, 2003).

Zoals reeds vermeld is glutenine verantwoordelijk voor de elastische eigenschappen van deeg. Een elastisch systeem vereist continuïteit, zodat krachten die aangelegd worden aan de grenzen van het systeem intern worden doorgegeven om ook daar vervormingen te veroorzaken. In een deeg wordt aan deze vereiste voldaan dankzij het polymeer karakter van glutenine. Iedere glutenineketen interageert over verschillende zones van de keten met andere glutenineketens. Deze interacties kunnen bestaan uit niet-covalente associaties of fysische verstrengeling van ketens en zorgen voor de overdracht van krachten tussen de verschillende glutenineketens. Zowel covalente bindingen als niet-covalente interacties zorgen voor de overdracht van krachten binnen de individuele glutenineketens. Via niet-covalente interacties en fysische insluiting worden ook krachten overgedragen tussen glutenine en andere deegcomponenten (Singh en MacRitchie, 2001).

Een tweede voorwaarde voor elasticiteit is dat er, na uitrekking, een kracht bestaat die het elastisch systeem tot zijn oorspronkelijke dimensies terugvoert. Men neemt aan dat in deeg ook hier glutenine voor verantwoordelijk is. Volgens het model van Shewry *et al.* (1992) bezit het centraal domein van de HMW-GS intrinsiek elastische eigenschappen. Bij de vervorming van de β -spiraal onder invloed van externe krachten worden niet-covalente interacties gebroken waardoor meer apolaire ketens worden blootgesteld aan water. Deze blootstelling van apolaire ketens geeft aan de uitgerokken conformatie een hoge energie-inhoud zodat bij het wegnemen van de krachten teruggekeerd wordt naar de energetisch meer gunstige compacte conformatie.

Volgens het elasticiteitsmodel van Belton (1999) ligt de wisseling van waterstofbruggen (H-bruggen) tussen gluteninepolymeren met waterstofbruggen tussen water en glutenine aan de basis van het elasticiteitsmechanisme van glutenine (Figuur 2.2). In afwezigheid van water zullen glutenineketens, omwille van hun hoog gehalte aan glutamine, de neiging hebben om met elkaar te interageren via waterstofbruggen. Tijdens de deegbereiding, wanneer de bloem met water wordt vermengd, wordt glutenine gehydrateerd en worden een aantal van de H-bruggen tussen of binnen glutenineketens vervangen door H-bruggen tussen glutenine en

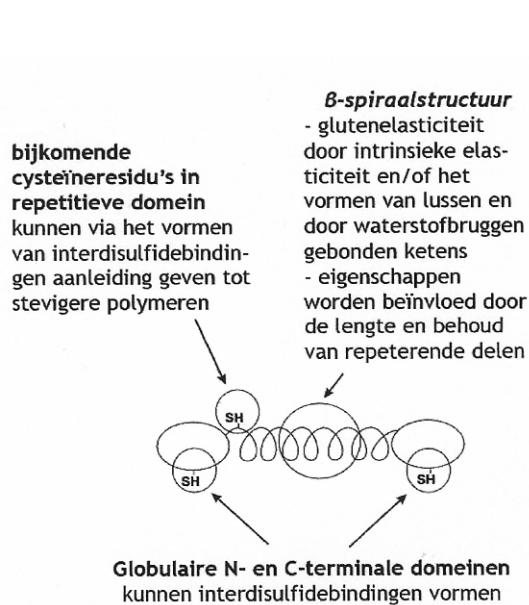
water. Bij een toenemende hydratatie worden de proteïne-proteïne-interactiezones schaarser en korter en ontstaan er lussen waar het glutenine-polymeer met water interageert. Wanneer nu krachten worden uitgeoefend op dit systeem zal het systeem eerst uitrekken door vervorming van de lussen, waarna de ketens nog eens naast elkaar kunnen bewegen. Bij het verdwijnen van de krachten zal het systeem terug evolueren naar het systeem met afwisseling van interactiezones en lussen omdat deze toestand thermodynamisch gunstiger is. De elasticiteitsmechanismen van beide modellen worden samengevat in Figuur 2.3.



Figuur 2.2: A: De effecten van hydratatie op de lussen en de interactiezones van HMW-GS (Belton, 1999). Eenvoudigheidshalve worden enkel de interacties tussen twee ketens getoond. (A1) lage hydratatiegraad; vooral H-bruggen tussen de ketens; (A2) intermediaire hydratatiegraad, er vormen zich lussen; (A3) hoge hydratatiegraad, veel lussen in het systeem, maar er zijn ook nog steeds voldoende bindingen tussen de ketens. B: De vervorming van polymeren door uitrekking van het netwerk (Belton, 1999). (B1) de evenwichtsconfiguratie; (B2) kleine uitrekking, alleen de lussen zijn vervormd; (B3) grote uitrekking; de lussen zijn samengedrukt en de waterstofbruggen tussen de glutenineketens zijn verbroken zodat de ketens over elkaar kunnen schuiven.

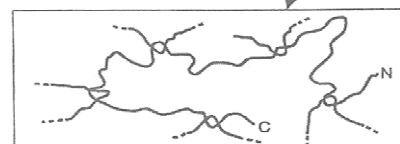
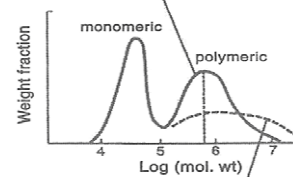
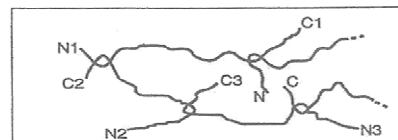
Singh en MacRitchie (2001) veronderstellen in hun recentste structuurmodel dat sterk gepolymeriseerde gluteninen kunnen beschouwd worden als een polymeer netwerk van verknopingen dat gestabiliseerd is door niet-covalente bindingen en additionele disulfidebindingen (Hamer en van Vliet, 2000). In dit model wisselen kleine gebieden, waar de polymeren met elkaar interageren, af met lange, niet-interagerende gebieden. De verknopingen van het polymeernetwerk bepalen de reologische eigenschappen van het deeg. De hoeveelheid verknopingen hangt af van de structuur, de grootte en de concentratie van de polymeren. Als de polymeren niet al te lang zijn (Figuur 2.4 (onderaan)), kunnen de verknopingen tussen de polymeren van elkaar afgeschoven worden. De verknopingen bij heel lange polymeren (Figuur 2.4 (bovenaan)) zijn daarentegen veel moeilijker van elkaar los te

krijgen. De weerstand tegen uitrekking is groter, en de vereiste kneedtijd is langer. Dergelijke aggregaten zijn iets kleiner dan 100 μm . Deze mesoscopische aggregatie treedt op in de graankorrel en in het begin van de deegvorming. Daarna vormen deze partikels verknopingen met elkaar, zodat aggregaten groter dan 100 μm ontstaan (macroscopisch niveau).



Figuur 2.3: Samenvatting van de huidige kennis van de rol van HMW-GS in het elasticiteitsmechanisme van gluten en deeg (Shewry *et al.*, 2001).

matige R_{max}
matige kneedtijd en kneedintensiteit
hoge extensibiliteit



matige R_{max}
lange kneedtijd en hoge kneedintensiteit
lage extensibiliteit

Figuur 2.4: Interactiemodel tussen ketens van gluteneopolymeren via verknopingen (Wieser *et al.*, 2006).

2.2.3. Veranderingen van zetmeel tijdens kneden

Tijdens het kneden worden de verschillende ingrediënten gemengd. Hierdoor komt het zetmeel, dat in zijn natieve vorm aanwezig is, in contact met water. Bij kamertemperatuur absorberen de zetmeelgranulen tot 46 % water op droge stof basis. De volumetoename echter is gering (Goesaert *et al.*, 2005).

2.3. Fermentatie

De belangrijkste reactieproducten die bij de vergisting van de suikers ontstaan, zijn koolstofdioxide en ethanol. De gevormde CO_2 diffundeert naar de waterige fase nabij gascellen. Vervolgens verdampt het en de resulterende overdruk is de drijvende kracht voor

de deegexpansie. Het CO₂-gas kan niet uit de gascellen diffunderen want de waterige fase rondom blijft verzadigd met CO₂ aangezien de gist continu CO₂ blijft produceren (Hoseney, 1984; Hoseney en Rogers, 1990).

Tijdens de fermentatie treden ook veranderingen op in het glutennetwerk, want de extraheerbaarheid van het gluten daalt (Goesaert *et al.*, 2005). Uit de wet van Young-Laplace ($\Delta p = 2\gamma/r$), met Δp de Laplacedruk, γ de oppervlaktespanning en r de straal van de gascel, volgt dat gist niet in staat is om nieuwe gascellen te vormen in het deeg. De initiële grootteverdeling van de gascellen is dus bepalend voor de uiteindelijke kruimstructuur (Wilde, 2003). De stabiliteit van de schuimstructuur en de vloeistoffilm zijn bepalend voor de uiteindelijke gewenste gascelstructuur. Meestal wordt het deeg herkneed. Zo worden bestaande (grote) gascellen verdeeld in meerdere kleine gascellen, worden nieuwe gascellen ingeslaan en worden de deegingrediënten herverdeeld, wat resulteert in een grotere homogeniteit van de broodkruim (Scanlon en Zghal, 2001). Tijdens het rijzen ontstaat er onder invloed van de zwaartekracht toch een gradiënt in de celgroottes. Een massa-eenheid CO₂ in de cellen onderaan in het deeg kan immers minder expansie realiseren dan in de cellen bovenaan in het deeg. Aan het einde van de fermentatie bevat het gerezen deeg ongeveer 70 tot 75 % gas (Campbell, 2003).

Men herhaalt de fermentatiefase en het doorslaan eventueel nog 1 of 2 keer. Alvorens het deeg de laatste fermentatiefase aanvat, wordt het omgevormd tot de uiteindelijke vorm die men wil hebben.

2.4. Bakken

De oventemperatuur bij het bakken van brood ligt tussen de 200 en 250°C. De temperatuur in het centrum van het brood is typisch 92-96°C op het einde van het bakproces (Cauvin, 2003).

2.4.1. Ovenrijs

De ovenrijs is de snelle expansie van het deeg gedurende de eerste minuten van de bakfase. Er zijn verschillende oorzaken van de ovenrijs. Een eerste factor is de volumetoename van het gas bij een hogere temperatuur, volgens de wet van Gay-Lussac. De lagere oplosbaarheid van het gas in de vloeistoffase bij het bereiken van hogere temperaturen brengt mee dat het meeste

opgeloste koolstofdioxide tijdens het bakproces verdampt. Een derde oorzaak is de sterke gistactiviteit in het begin van de bakfase door de temperatuurstijging. Bij temperaturen vanaf ongeveer 50°C wordt de gist geïnactiveerd. Tenslotte is de verdamping van ethanol en water ook verantwoordelijk voor de ovenrijs (Bloksma, 1990). De ovenrijs is beëindigd als de korst voldoende hard is. Aan het einde van de ovenrijs heeft het brood een gasvolume van 75 tot 85% (Campbell, 2003).

2.4.2. Korstvorming

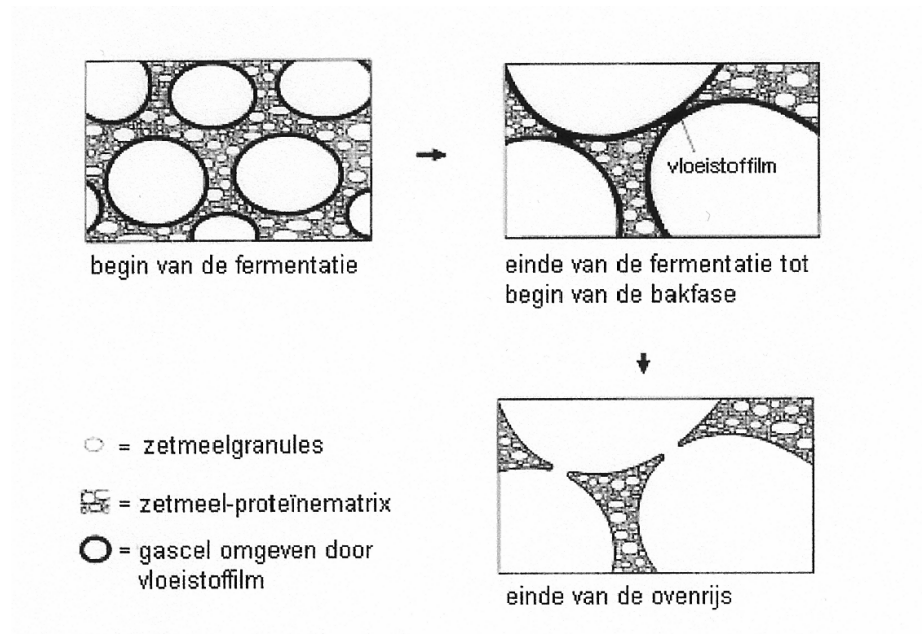
Het deegoppervlak droogt snel uit door contact met de droge, warme lucht in de oven. De korst begint zich reeds te vormen vanaf 70°C aan het deegoppervlak. Wanneer de korst voldoende droog is, treden bruiningsreacties op van het type Maillard (Cauvin, 2003).

2.4.3. Gascelopening

Tijdens het bakken stopt op een gegeven moment de ovenrijs en is er een snel verlies van gas. Bepaalde onderzoekers schrijven dit toe aan een verhoging van de diffusiesnelheid (Hoseney, 1984; Hoseney en Rogers, 1990). Anderen vermoeden dat dit snelle verlies veroorzaakt wordt door het breken van de zetmeelproteïenmatrix die de gascellen omgeeft. Hierdoor komen de verschillende gascellen met elkaar in contact en wordt de schuimstructuur van het deeg omgevormd tot een open sponsstructuur waar bijgevolg snel gas ontsnapt (Figuur 2.5). Men spreekt in dit verband van de gascelopening. Er ontstaat een tweefasensysteem: een continue gasfase (waardoor het gas snel ontsnapt) en een vaste fase bestaande uit gluten en gezwollen zetmeelgranulen met intergranulair, gesolubiliseerd amylose en korte amylopectineketens die aan elkaar gebonden zijn (Gan *et al.*, 1995). Het breken van de zetmeelproteïenmatrix is voor een deel te wijten aan de verhoging van de viscositeit van het deeg door zetmeelverstijfeling (Bloksma en Bushuk, 1988). Er is ook nog een andere reden voor het breken van de matrix. De polymerisatie van glutenine door sulfhydryl-disulfide uitwisselingen draagt bij tot de sterke verhoging van de trekspanning bij het verwarmen van het deeg (Gan *et al.*, 1995).

Een derde hypothese is dat gascelopening gepaard gaat met een breuk in de vloeistoffilm die de gascellen omgeeft. De expanderende gascellen zijn discontinu aanwezig in de zetmeelproteïenmatrix. Door de expansie evolueert de matrix naar dunne, continue membranen tussen naburige gascellen tot de trekspanning het punt bereikt waar breuk optreedt of tot er niet meer genoeg materiaal is om de continuïteit van de vloeistoffilm in

stand te houden. De vloeistoffilm breekt en dit leidt tot snel gasverlies. Oppervlakteactieve stoffen zoals endogene polaire lipiden, proteïnen en arabinoxylanen die opgelost zijn in de waterige fase stabiliseren de vloeistoffilm. Hierdoor kunnen de gascellen meer en langer expanderen vooraleer breuk optreedt, waardoor het broodvolume toeneemt (Gan *et al.*, 1990). Uitgaande van deze hypothese is de stabiliteit van de vloeistoffilm van primair belang. Het belang van een stabiele zetmeelproteïnematrix mag echter ook niet uit het oog verloren worden. Zo kan de toevoeging van gluten een instabiele vloeistoffilm compenseren, terwijl de gasretentie van een weinig elastische zetmeelproteïnematrix verbeterd kan worden door de vloeistoffilm te stabiliseren via toevoeging van emulgatoren. Indien beide factoren ontoereikend zijn, resulteert dit in een deeg met een zwakke gasretentiecapaciteit (Gan *et al.*, 1995).



Figuur 2.5: Model van deegexpansie volgens Gan *et al.* (1990).

2.4.4. Transformaties van gluten tijdens bakken

Tijdens het bakken treden veranderingen op in de visco-elastische eigenschappen van het deeg. Dit is vooral te wijten aan fysico-chemische karakteristieken van de glutenproteïnen en aan het vormen van intra- en intermoleculaire interacties. Gedurende het bakken van deeg grijpen reductie- en oxidatiereacties plaats waardoor het brood zijn vaste textuur krijgt (Lavelli *et al.*, 1996). Een temperatuursverhoging breekt waterstofbindingen, verhindert elektrostatische interacties en verhoogt de kinetische energie van deeltjes (Lefebvre *et al.*,

2000). De vorming van nieuwe disulfidebindingen vergemakkelijkt. Dit resulteert in grotere polymeren en stabilisatie van de gedenuatureerde proteïnen (Schofield *et al.*, 1983). De ω -gliadines, die geen cysteïneresidu's bevatten, worden niet beïnvloed door een hittebehandeling (Domenek *et al.*, 2002). De veranderingen van de glutenproteïnen bij toenemende temperatuur worden hieronder beschreven.

Verwarming tot 55°C

Bij verwarmen tot 40°C zijn de reologische veranderingen van gluten reversibel (Lefebvre *et al.*, 2000). Vanaf 45°C verandert de conformatie van de glutenproteïnen: de compacte structuur wordt ontvouwen waardoor meer hydrofobe zones worden blootgesteld (Guerrieri *et al.*, 1996). Aggregatie via hydrofobe interacties is nu mogelijk (Domenek *et al.*, 2002).

Verwarmen van 55 tot 90°C

Vanaf 55°C beginnen de gluteninen te verknopen. Dit gebeurt voornamelijk door oxidatie van thiolgroepen, omdat het aantal vrije sulfhydrylgroepen afneemt (Weegels *et al.*, 1994a,b). Sulfhydryl-disulfide-uitwisselingsreacties dragen in kleinere mate bij tot de verknoping van gluteninen (Schofield *et al.*, 1983). Volgens Singh en MacRitchie (2004) nemen beneden 100°C en bij een pH van 5 enkel de gluteninen toe in MW, dus niet de gliadinen. Hoe hoger het MW van de gluteninen, des te reactiever ze zijn (Domenek *et al.*, 2002). Boven 60°C stijgt de elasticiteit van het deeg sterk (Weegels en Hamer, 1998). Vanaf 65°C verandert de elektroforetische mobiliteit van gliadinen (vooral de α -gliadinen) drastisch (Guerrieri *et al.*, 1996).

Verwarmen boven 90°C

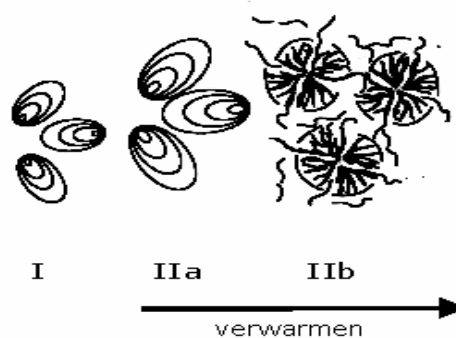
Bij 120°C polymeriseren de gliadinen met glutenine, dus niet onderling. Deze incorporatie van gliadinen in de gluteninestructuur is het gevolg van sulfhydryl-disulfide-uitwisselingsreacties (Singh en MacRitchie, 2004). Lagrain *et al.* (2005) toonden aan dat het aantal vrije sulfhydrylgroepen daalt tijdens verwarmen (5 minuten bij 95°C). Ook de SDS-extraheerbaarheid van gliadine en glutenine dalen. De γ -gliadinen zijn gevoeliger dan de α -gliadinen. Er ontstaan grote aggregaten tussen gliadinen en gluteninen, die gestabiliseerd worden door disulfidebindingen (Lagrain *et al.*, 2005). De transformaties worden vergemakkelijkt door hogere temperaturen en vochtgehalten (Weegels *et al.*, 1994a). Gluten die lange tijd op 110°C verhit worden, zijn zo sterk geaggregeerd dat zelfs een sterk reductans

niet in staat is om de disulfidebindingen te breken. De proteïneaggregatie kan dan als irreversibel beschouwd worden (Guerrieri *et al.*, 1996).

De mate waarin de glutenproteïnen beïnvloed worden door verwarming is niet enkel functie van temperatuur en verhittingsduur. Ook het vochtgehalte heeft invloed op de fysico-chemische veranderingen tijdens de bakfase. Vochtgehaltes vanaf 21 % resulteren in de hierboven beschreven veranderingen. Wanneer glutenproteïnen verhit worden bij hogere vochtgehaltes (50 %) is er een minder uitgesproken daling van de oppervlaktehydrofobiciteit (te wijten aan toenemende proteïne-interacties) en SDS-extraheerbaarheid waar te nemen. Meer water beschikbaar betekent dan dat de mogelijkheden tot aggregeren op basis van oppervlaktehydrofobiciteit schaarser zijn. (Weegels *et al.*, 1994a en 1994b).

2.4.5. Transformaties van zetmeel tijdens bakken

Door de toenemende temperatuur absorberen de zetmeelgranules nog meer water (Figuur 2.6 (IIa)). Beneden een welbepaalde temperatuur (de verstijfelings temperatuur) is dit proces reversibel. Wanneer de temperatuur van het deeg oploopt boven de verstijfelingstemperatuur [voor tarwe varieert deze van 53 tot 65°C (Belitz *et al.*, 2004)], treedt een proces op waarbij de kristalliniteit en moleculaire orde (en dus ook het dubbelbrekend karakter) van de zetmeelgranules verloren gaan (Goesaert *et al.*, 2005). In de niet-kristallijne delen verhoogt de moleculaire beweeglijkheid ten gevolge van hydratatie (water werkt als weekmaker) en verhitting. Dit initieert een irreversibele moleculaire verandering, waarbij onder andere de dubbele helices van amylopectine (de kristallijne gebieden) dissociëren. Men zegt ook dat de kristallen smelten.



Figuur 2.6: Schematische voorstelling van de veranderingen die zich afspelen in een zetmeel-water mengsel tijdens verwarmen (Goesaert *et al.*, 2005). (I) Natieve zetmeelgranules; (II) verstijfeling, geassocieerd met zwelling [a] en uitloging van amylose en partiële disruptie van granules [b]

Door verdere opname van water breken sommige granules open en een deel van het zetmeel (vooral amylose, in mindere mate amylopectine) loogt uit en komt in de intergranulaire ruimte terecht. Dit verhoogt de viscositeit van het deeg. Er ontstaat een suspensie van amorfe, gezwollen zetmeelgranules aangerijkt met amylopectine en gesolubiliseerde macromoleculen (voornamelijk amylose) (Figuur 2.6 (IIb)). De zwelling en uitloging gaat verder bij stijgende temperatuur (Eliasson en Gudmundsson, 1996). Volgens Schoch (1965) is de zwelling en uitloging van amylose eerder beperkt door de beperkte hoeveelheid vrij water in het deeg.

3. Broodveroudering

Onder broodveroudering wordt elke verandering, behalve microbiologisch bederf, verstaan die optreedt tijdens de bewaring van brood waardoor dit minder aanvaardbaar wordt voor de consument. Deze veranderingen kunnen zowel sensorisch (vermindering van aroma en mondgevoel), als fysisch (verharden van de kruim, verzachten van de korst en het kruimelig worden van brood) van aard zijn (Zobel en Kulp, 1996). Hoewel het proces van broodveroudering al meer dan 150 jaar wordt onderzocht, is het nog steeds niet volledig opgehelderd en kan het niet volledig uitgeschakeld worden.

Aangezien zetmeel het hoofdbestanddeel is van brood (*ca.* 80 % op droge stof basis) is het aanvaardbaar te veronderstellen dat zetmeel een belangrijke rol speelt in de broodveroudering. Daarnaast heeft watermigratie een prominente invloed op het verouderingsproces. Ook gluten en gluten-zetmeelinteracties spelen een rol in de broodveroudering (Gray en BeMiller, 2003).

3.1. Retrogradatie van zetmeel

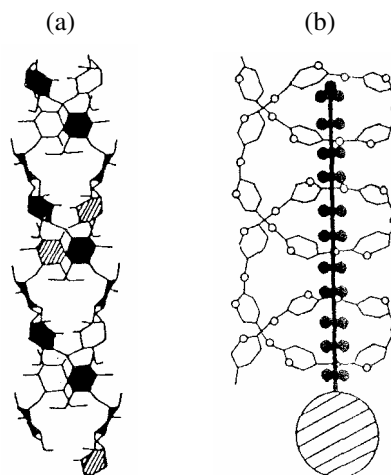
Zetmeelretrogradatie is het verschijnsel dat optreedt na verstijfseling, waarbij zetmeelmoleculen associëren met elkaar en geordende structuren vormen. Aanvankelijk worden dubbele helices gevormd. Vervolgens aggregeren die dubbele helices tot geordende structuren, die onder gunstige omstandigheden kunnen uitgroeien tot kristallen. De hoge graad van orde zoals in de natieve zetmeelgranulen wordt echter niet meer bereikt. Wanneer gesproken wordt over de retrogradatie van zetmeel, wordt niet enkel de retrogradatie van amylopectine bedoeld, maar ook de associatie van amylose.

3.1.1. Amylose

Tijdens het afkoelen van brood worden dubbele helices gevormd tussen de amylosemoleculen die gesolubiliseerd werden tijdens de zetmeelverstijfseling (Figuur 3.1 (a)). Dit noemt men nucleatie. Hierdoor ontstaat een continu netwerk. Dit proces noemt men gelering. Na enkele

uren aggregeren de dubbele helices tot zeer stabiele kristallijne structuren. De amylosekristallisatie is dus vooral verantwoordelijk voor de initiële hardheid van brood. Amylose is een essentieel structurelement van brood (Zobel en Kulp, 1996).

Tijdens en na de verstijfseling kan amylose een inclusiecomplex vormen met de aanwezige lipiden. Het zijn vooral de vrije vetzuren, de monoacylglyceriden en in mindere mate de diacylglyceriden die een inclusiecomplex kunnen vormen met amylose. Voor de triacylglyceriden treedt dit quasi niet op wegens sterische hindering. Ook emulgatoren kunnen een inclusiecomplex vormen met amylose (Figuur 3.1 (b)) (Zobel en Kulp, 1996). De hydrofobe staart van het vetzuur of de emulgator wordt omgeven door de amylosehelix (meer specifiek de gehydrateerde V-helix, *cf. infra*). De binnenkant van de helix is immers hydrofoob. De hydrofiele kop van het vetzuur of de emulgator wordt niet omgeven door de helix want sterische en elektrostatische effecten maken dit onmogelijk. De diameter van de amylosehelix laat toe dat verschillende moleculen in staat zijn een inclusiecomplex te vormen (Gudmundsson en Eliasson, 1990). Opdat de vetzuren of emulgatoren in de holte van de amylosehelix kunnen dringen, moet de balans tussen sterische hindering en interactie-energie gunstig zijn. Een verhoogde temperatuur vergemakkelijkt de complexvorming omdat de sterische hindering verlaagt door toenemende flexibiliteit van de beide componenten (Zobel en Kulp, 1996).



Figuur 3.1: (a) Linkshandig model van een dubbele helixstructuur van amylose in natief en geretrogradeerd zetmeel (b) Schematische voorstelling van een amylose-monoacylglycerol complex (Zobel en Kulp, 1996).

De inclusiecomplexen zijn hittestabiel (tot 120°C) en wateronoplosbaar waardoor ze niet meer kunnen geleren. Na afkoelen kan gecomplexeerd amylose niet meer ingebouwd worden in kristalstructuren door de verminderde flexibiliteit. De retrogradatie daalt dus (Lagendijk en Pennings, 1970). Omdat na afkoelen van brood bijna alle amylose gekristalliseerd is, daalt de

initiële hardheid van brood door toevoeging van lipiden en/of emulgatoren. Dit effect is echter heel klein (Gray en BeMiller, 2003). De belangrijkste verklaring voor de lagere initiële hardheid van brood aangerijkt met lipiden of oppervlakreactieve stoffen, is het verhoogde broodvolume.

3.1.2. Amylopectine

Tijdens het afkoelen vormen eerst de buitenste B-ketens van amylopectinezijketens dubbele helices. Na een inductieperiode voor de aggregatie van amylopectinehelices kristalliseren deze traag (Zobel en Kulp, 1996). Algemeen wordt een correlatie tussen amylopectineretrogradatie en broodveroudering aanvaard, maar het is niet zeker of beide fenomenen deel uitmaken van hetzelfde proces (Gray en BeMiller, 2003). De amylopectineretrogradatie gaat traag (duurt enkele dagen tot weken) en treedt op in de granules. Omdat amylose na afkoelen van het brood reeds bijna volledig gekristalliseerd is, is de amylopectineretrogradatie bepalend voor de structuur- en kristalvorming (hard worden) op lange termijn in brood. Wanneer oudbakken brood in een vochtige atmosfeer wordt opgewarmd bij 80 tot 95°C, wordt het zachter (dus verser). Dit kan verklaard worden door het smelten van de amylopectinekristallen (smelpunt: ongeveer 50°C). Aangezien het smeltpunt van amylosekristallen veel hoger is, smelten deze niet af.

Men heeft bewezen dat er ook complexatie kan optreden tussen de buitenste ketens van amylopectine en vetzuren en/of emulgatoren (Lagendijk en Pennings, 1970; DeStefanis *et al.*, 1977; Gudmundsson en Eliasson, 1990). De amylosemoleculen vormen veel gemakkelijker inclusiecomplexen dan amylopectine, omdat er weinig vertakkingen zijn. De hoeveelheid gecomplexeerd amylopectine is bijgevolg afhankelijk van de amylopectine-amylose verhouding (Gudmundsson en Eliasson, 1990).

Er zijn twee soorten zetmeelkristallen die een belangrijke rol spelen in de broodveroudering. De B-structuren zijn dubbele helices die ontstaan tijdens de veroudering van brood. Vooral deze patronen zijn verantwoordelijk voor de hardheid van brood. De V-kristallen ontstaan door complexvorming van amylose met polaire lipiden of emulgatoren (Pisesookbuntern en D'Appolonia, 1983).

Hoseney en Miller (1998) merkten op dat oudbakken brood tot ongeveer 100°C moet verwarmd worden vooraleer de samendrukbaarheid die van vers brood bereikt. Nochtans smelt geretrogradeerd amylopectine bij 50 à 60°C. Dus kan retrogradatie van amylopectine niet de enige factor zijn die het hard worden veroorzaakt.

3.2. Watermigratie

Water is betrokken in drie processen die optreden tijdens de veroudering van brood: uitdroging, de herverdeling van vocht tussen de kruim en de korst en de herverdeling van water tussen verschillende broodcomponenten en tussen dezelfde componenten onderling (Kulp en Ponte, 1981).

3.2.1. Uitdroging

Tijdens het afkoelen en de verdere bewaring van brood migreert vocht van de korst naar de omgeving. De weerstand tegen massatransfer aan het grensvlak tussen de korst en de omgeving bepaalt de snelheid waarmee het water verdwijnt. Omdat de uitdroging sneller gebeurt dan de watertransfer van de kruim naar de korst, blijven de microscopische en macroscopische watermigratie verder gaan (Piazza en Masi, 1995). Uitdrogen van brood verklaart de veroudering niet, maar kan reacties versnellen die leiden tot broodveroudering (MacMasters, 1961).

3.2.2. Herverdeling van vocht tussen kruim en korst

Wanneer vers gebakken brood begint af te koelen, ontstaat een vochtgradiënt in het brood. De verschillen in dampdruk tussen de korst en het binnenste van het brood veroorzaken een migratie van vocht van de kruim naar de korst. Dit proces wordt ook macroscopische watermigratie genoemd. Door de vochtreductie in de kruim wordt deze harder, want het verdwenen water kan niet meer optreden als weekmaker. Het toegenomen vochtgehalte in de korst maakt deze minder krokant (Piazza en Masi, 1995).

Brood dat bewaard wordt met de korst, wordt significant harder dan brood dat bewaard wordt zonder korst. Het brood, bewaard met de korst, bevatte ook meer geretrogradeerd amylopectine (Gray en BeMiller, 2003).

3.2.3. Herverdeling van vocht tussen broodcomponenten

Algemeen wordt aanvaard dat de transfer van vocht van een bepaalde component van de broodkruim naar een andere component een factor is, die bijdraagt tot de broodveroudering. Men spreekt ook soms van microscopische watermigratie. Het is echter niet zo duidelijk of

het zetmeel dehydrateert, of het gluten. Er is al veel onderzoek naar gevoerd en vaak kwam men tot tegengestelde conclusies. Nu denken de meeste onderzoekers dat water migreert van het gluten naar zetmeel (Gray en BeMiller, 2003).

Zoals reeds hoger vermeld komen de kristallijne delen van zetmeel in het deegstadium (en meer algemeen in niet-gekristalliseerd tarwezetmeel) voor in de A-polymorf. Tijdens de broodveroudering retrogradeert amorf amylopectine tot de B-kristalvorm. Dit kristaltype incorporeert 4,5 keer meer watermoleculen dan de A-polymorf. Water wordt dus uit de omgeving onttrokken en ingebouwd in de B-zetmeelkristallen (Gray en BeMiller, 2003). De watermoleculen die in het kristalrooster zijn ingebouwd kunnen hun weekmakend effect niet meer uitoefenen. Dit resulteert in een hardere en drogere textuur. Dus enerzijds hangt de snelheid van broodveroudering af van het beschikbare water dat als weekmaker fungeert in de gluten-zetmeelmatrix. Anderzijds hangt de verouderingssnelheid af van dit water, omdat dit de amylopectinekristallisatie versnelt. Opdat amylopectine zou kunnen kristalliseren moeten de buitenste ketens immers mobiel genoeg zijn. Daartoe moet voldoende water aanwezig zijn (Levine en Slade, 1990; Slade en Levine, 1989 en 1991). De zetmeelretrogradatie wordt dus bepaald door de hoeveelheid vrij water. Het watergehalte van brood varieert van 35 tot 40 %. Bij hogere vochtgehaltenes wordt de kruim minder hard door het weekmakend effect van water. Maar de beweeglijkheid van de buitenste ketens van amylopectine neemt toe bij hogere vochtgehaltenes, en hierdoor nemen de hoeveelheid en snelheid van zetmeelretrogradatie in brood toe (Zeleznaek en Hoseneey, 1986).

Opdat water zijn weekmakende functie zou kunnen uitoefenen, moeten de watermoleculen natuurlijk wel mobiel zijn en dus in staat zijn om van de ene bindingsplaats van een polymeer naar de andere te migreren. Dit diffusiemodel kan de incorporatie van water in een kristalfase niet verklaren. Daarom stelden Schiraldi *et al.* (1996) een nieuw watermigratiemodel voor. Watermoleculen kunnen binden aan biopolymeren en waterdiffusie wordt gezien als een aantal verplaatsingen tussen naburige bindingsplaatsen op deze polymeren. Zo kan een watermolecule ook een brug vormen tussen bindingsplaatsen van twee verschillende ketens. Bij diffusie van dit watermolecule kan deze waterbrug vervangen worden door een directe intermoleculaire binding tussen de ketens. Na vorming van een groot aantal directe bindingen, wordt een hecht netwerk gevormd waarin geen waterdiffusie meer mogelijk is. Dit model kan vergeleken worden met een ritssluiting, waarbij water fungeert als sluiters tussen twee biopolymeren. Dit model verklaart ook het effect van waterbindende componenten op broodveroudering. Waterredistributie en amylopectineretrogradatie worden verhinderd en broodveroudering wordt vertraagd.

3.3. Rol van glutenproteïnen

3.3.1. Belangrijk effect

Aangezien grotere proteïnehoeveelheden aanleiding geven tot grotere broodvolumes en dus een zachter kruim, is het effect van de proteïnen op de broodveroudering moeilijk te verklaren (Kulp en Ponte, 1981). Bechtel en Meisner (1954) veronderstelden dat de broodveroudering het resultaat is van twee verschillende processen. De veroudering tijdens de eerste 2 tot 3 dagen van bewaring is het resultaat van veranderingen in de organisatie van zetmeelpolymeren. Daarna wordt de broodveroudering veroorzaakt door waterverlies van het gluten. Prentice *et al.* (1954) verklaarden de invloed van de proteïnen op een andere manier. Volgens hen leidt een verhoogde proteïnehoeveelheid tot een zwakkere associatie tussen zetmeelgranulen, ingebed in het glutennetwerk. Hierdoor vertraagt de verharding van de broodkruim. Bovendien zou gluten de rol vervullen van waterreservoir dat veranderingen in de waterbindingscapaciteit van zetmeel kan bufferen.

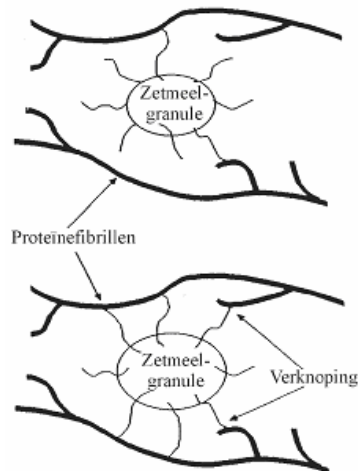
Erlander en Erlander (1969) suggereren dat zetmeel-gluten interacties de veroudering van brood kunnen verhinderen. Dit zou wellicht gebeuren door de vorming van waterstofbruggen tussen de amidegroepen van gliadine, glutenine en waarschijnlijk albumine en hydroxylgroepen van zetmeel. Volgens hen bepaalt de verhouding van zetmeel tot proteïnen in het deeg de verouderingssnelheid.

Maleki *et al.* (1980) postuleren dat gluten de voornaamste bloemcomponent is verantwoordelijk voor verschillen in de verouderingssnelheid en dat de rol van gluten in de broodveroudering meer is dan enkel verdunning van zetmeel.

Martin *et al.* (1991) hebben nog een andere theorie over broodveroudering. Volgens hen is het verouderen hoofdzakelijk te wijten aan de vorming van waterstofbruggen tussen de continue glutenfase en de discontinue fase van gezwollen zetmeelgranulen en uitgeloozd amylose.

De verknopingen (d.m.v. H-bruggen) tussen het zetmeelmateriaal en de proteïnefibrillen ontstaan tijdens het bakken. Tijdens de bewaring stijgt het aantal en de sterkte van de waterstofbruggen tussen de granulerestanten en het gluten. Deze verknopingen zijn verantwoordelijk voor het hard worden van broodkruim (Figuur 3.2). Wanneer oudbakken brood wordt verwarmd, worden de waterstofbruggen gemakkelijk gebroken waardoor het brood terug zacht wordt. Men vermoedt dat emulgatoren en zetmeelfragmenten interfereren met de verknoping en zo de kruim verzachten. Brood, gebakken bij 95°C, veroudert niet.

Martin *et al.* (1991) verklaren dit door het weinig uitgeloopte amylose uit de granules, waardoor weinig verknoping optreedt.



Figuur 3.2: Verouderingsmodel van Martin *et al.* (1991). Tijdens het bakken ontstaan er verknoppingen tussen gluten en zetmeel. Deze interacties nemen toe tijdens veroudering.

3.3.2. Gering effect

Volgens bepaalde onderzoekers spelen de glutenproteïnen geen belangrijke rol in de broodveroudering, in tegenstelling tot zetmeel. Ten eerste is de hoeveelheid gluten veel kleiner dan de hoeveelheid zetmeel in bloem (ongeveer 1/6). Ten tweede worden glutengelen veel trager hard dan zetmeelgelen (ongeveer een factor tien verschil) (Gray en BeMiller, 2003).

Willhoft (1973) suggereerde dat het positief effect van gluten op broodveroudering te wijten is aan de verdunning van zetmeel (dus relatief minder rekristallisatie) of het gevolg is van een verhoogd broodvolume (hogere gehalten aan gluten geven grotere broodvolumes, dus minder dens en minder hard brood). Ook Kim en D'Appolonia (1977) verklaren de omgekeerde evenredigheid tussen broodverouderingssnelheid en proteïnehoeveelheid in bloem door het verdunningseffect op het zetmeel. Ze beschouwen zetmeelkristallisatie als het basismechanisme van de broodveroudering.

Volgens Every *et al.* (1998) zijn gluten niet essentieel in het verouderingsproces. Ze veronderstellen dat het hard worden van brood het gevolg is van ketens van partieel uitgeloopte amylose en amylopectine, gehecht aan gezwollen en partieel gekristalliseerde zetmeelgranules, die interageren met andere granulerestanten (dit zijn de granuleresidu's na het uitloggen van amylose) en in mindere mate met glutenfibrillen.

De theorie van Martin *et al.* (1991) brengt de rol van zetmeel niet in rekening. Er bestaat twijfel of granulerestanten wel degelijk geen rol spelen in het verouderingsproces. Daarom wordt een hypothese voorgesteld die hiermee wel rekening houdt. Tijdens het bakken is er interactie tussen de gezwollen zetmeelgranulen en gluten omdat ze contact maken en misschien ook door de aanwezigheid van amylose. De interactie, die echter van korte duur is, is verantwoordelijk voor de initiële hardheid van broodkruim. Zetmeelgranules in vers broodkruim zijn omgeven door een glutenfilm. Tijdens de veroudering krimpen de gezwollen granulen waardoor een opening ontstaat tussen de granules en de continue glutenfilm. Op de plaats waar de glutenfilm oorspronkelijk contact maakte met de zetmeelgranulen, is een 'litteken' te zien. De broodstructuur wordt zwakker en het brood verkrumelt meer en gemakkelijker (Zobel en Kulp, 1996). Wanneer de gluten-zetmeel interfase verzwakt, onwikkelt zich een moleculair netwerk door amylopectineretrogradatie. Dit doet de hardheid van de broodkruim toenemen (Zobel en Kulp, 1996). In brood waar monoglyceriden aan toegevoegd worden, zijn de zetmeelgranules nog zwakker omgeven door de glutenfilm en wordt de gluten-zetmeel interfase dus nog gemakkelijker doorbroken (Malkki *et al.*, 1978). Volgens Malkki *et al.* (1978) kunnen discontinuïteiten in hardheidscurven het gevolg zijn van veranderingen van de gluten-zetmeel-interfase. Volgens deze theorie is het gluten alleen belangrijk voor de initiële hardheid, maar niet tijdens de veroudering.

4. Additieven in de broodbereiding

De uitgebreide mechanisatie, de productie op grote schaal en de vraag van de consument naar een betere kwaliteit en langere vershoudbaarheid van brood hebben de nood doen ontstaan voor het gebruik van functionele additieven die voldoen aan de verlangens van de industrie en de consument (Stampfli en Nersten, 1995). Achtereenvolgens worden de eigenschappen en het werkingsmechanisme van emulgatoren, oxiderende en reducerende agentia besproken.

4.1. Emulgatoren

4.1.1. Eigenschappen van emulgatoren

Emulgatoren worden veel gebruikt in de bakindustrie om de broodeigenschappen te verbeteren en de broodveroudering te vertragen. Emulgatoren zijn moleculen die zowel hydrofiele als hydrofobe eigenschappen bezitten en dus oppervlakteactief zijn. Ze zijn in staat het deeg te versterken en/of de broodkruim zachter te maken. Deze eigenschappen komen meer of minder tot uiting, afhankelijk van het type emulgator (Kulp en Ponte, 1981).

De efficiëntie van emulgatoren hangt sterk af van hoe goed ze gedispergeerd zijn in het deeg. DeStefanis *et al.* (1977) hebben aangetoond dat emulgatoren stevig gebonden worden aan de glutenproteïnen tijdens de deegfase. Het gluten in de deegfase is een ideaal dispersiemedium voor de emulgatoren, want het is een continue fase dat de zetmeelgranulen omgeeft. Tijdens het bakken migreren de oppervlakteactieve stoffen naar het zetmeel en vormen er inclusiecomplexen (Stampfli en Nersten, 1995).

Emulgatoren worden meestal ingedeeld in twee groepen: de deegversterkers en de kruimverzachtters (Stampfli en Nersten, 1995).

deegversterkers

Bij de productie van brood zijn de reologische eigenschappen van het deeg belangrijk. Het deeg mag niet aan metalen oppervlakken blijven kleven en het moet voldoende weerstandig

zijn tegen trillingen en mechanische schokken. Daarom worden vaak deegversterkers gebruikt (Krog, 1984). De meest gebruikte deegversterkers zijn DATEM (diacetylwijnsteezuuresters van monoglyceride), SSL (natriumstearoyl-2-lactylaate), CSL (calciumstearoyl-2-lactylaate) en polysorbaat. Ze oefenen hun effecten uit tijdens de fermentatie, de mechanische behandeling, de omvorming van deeg tot de gewenste broodvorm, het transport van deeg en het eerste gedeelte van de bakfase. Het uiteindelijk resultaat is een groter broodvolume en een verbeterde kruimstructuur (Tamstorf, 1983).

Het deegversterkend effect is nog niet volledig opgehelderd. Men vermoedt dat deegversterkers vloeistoffilmen vormen aan de interfase tussen het gluten en zetmeel en zo de filmvormende eigenschappen van glutenproteïnen versterken. Emulgatoren verhogen de verstijfselingstemperatuur en de viscositeit (Krog, 1981).

kruimverzachtters

Kruimverzachtters vertragen het hard worden van broodkruim door interactie met bloemcomponenten. Typische kruimverzachtters zijn monoglyceriden (Stampfli en Nersten, 1995).

De manier waarop emulgatoren de kruimhardheid beïnvloeden is nog niet volledig opgehelderd. Vermoedelijk spelen vier fenomenen mee: interacties tussen amylose en emulgatoren, interacties tussen amylopectine en emulgatoren, proteïne-emulgator interacties en de invloed op de zwellings van zetmeelgranules (Gray en BeMiller, 2003).

retrogradatie van zetmeel

amylosecomplexatie

De eigenschap van emulgatoren om de bewaarbaarheid van broodkruim te verlengen is vergelijkbaar met de effecten die optreden in aanwezigheid van lipiden (*cf. supra*). Omdat de vraag naar producten met een laag vetgehalte toeneemt, probeert men bakvet te reduceren door het (deels) te vervangen door emulgatoren (Stampfli en Nersten, 1995). Emulgatoren vormen V-complexen met amylose. Daarom zijn complexvormende emulgatoren, zoals DATEM, SSL en CSL, efficiënter in het vertragen van de broodveroudering dan niet-complexerende emulgatoren zoals lecithine (Conde-Petit en Escher, 1994). Wanneer geen emulgatoren aanwezig zijn in brood, vertoont dit na het bakken enkel V-kristallen ten gevolge van complexatie tussen amylose en natuurlijke vetzuren in de zetmeelgranules. Tijdens de broodveroudering kristalliseert het amorf zetmeel in B-kristallen, terwijl het aantal V-

kristallen niet toeneemt. Wanneer wel emulgatoren worden toegevoegd, neemt het aantal V-kristallen toe met de toevoeging van emulgator (Zobel en Kulp, 1996).

Aangezien emulgatoren verschillen in de capaciteit om complexen te vormen, is hun effect op de verouderingssnelheid van brood verschillend (Knightly, 1996). Voor vele emulgatoren is de complexatie-index bepaald. Emulgatoren moeten bovendien ook in de correcte fysische toestand toegevoegd worden, zodat ze optimaal kunnen interageren met zetmeel. Wanneer toevoeging van emulgatoren resulteert in de vorming van V-complexen, reduceert dit de migratie van water van gluten naar zetmeel en dus ook de contractie en verharding van de glutenfase (Conde-Petit en Escher, 1994).

amylopectinekristallisatie

Er treedt ook complexatie op tussen amylopectine en emulgatoren (*cf. supra*). Kruimverzachtters zoals gedestilleerde monodiglyceriden (DMG) interageren eerst met vrij, gesolubiliseerd amylose in het deeg. Wanneer meer dan 1 % DMG wordt toegevoegd, worden alle vrije amylosemoleculen gecomplexeerd en verhoogt de interactie met de amylopectinefractie (Krog *et al.*, 1989). De amylopectineretrogradatie en ontwikkeling van kristalstructuren verminderen doordat er minder B-type kernen aanwezig zijn (Gudmundsson en Eliasson, 1990).

invloed op de zwelling van de zetmeelgranules

In brood dat emulgatoren bevat, adsorberen de emulgatoren op het oppervlak van de zetmeelgranules en complexeren amylose op het buitenoppervlak. Dit stabiliseert de granules waardoor de absorptie van water en de zwelling van de granules beperkt wordt (Ponte *et al.*, 1973). Hierdoor wordt de opname van water van het gluten door zetmeel tijdens de broodveroudering gehinderd. Dit water kan dan migreren van de kruim naar de korst, waardoor de broodveroudering vertraagt.

Bovendien wordt ook de uitloging van amylose gereduceerd tijdens de verstijfseling, waardoor er minder amylose in de intergranulaire ruimte kan kristalliseren (Schoch, 1965).

proteïne-emulgatorinteracties

Volgens de theorie over broodveroudering van Martin *et al.* (1991) spelen de zetmeel-gluten interacties een cruciale rol. Het effect van emulgatoren (bv. monoglyceriden) is volgens hen dan ook te wijten aan interacties met gluten. Gedurende de deegontwikkeling bindt het additief stevig met het gluten. Tijdens de bakfase dissocieert de emulgator en interageert met

zetmeelmoleculen. De zetmeelkorrels zwellen minder, waardoor er ook minder solubilisatie van zetmeelmoleculen is. Vermits het oppervlak van de zetmeelgranulen kleiner is door verminderde zwellings, verknopen de zetmeelgranules minder en zwakker met het gluten. Hierdoor vertraagt de verouderingssnelheid. Dus zowel monoglyceride als water kunnen werken als weekmaker op het gluten en verminderen de hardheid van broodkruim (Martin *et al.*, 1991).

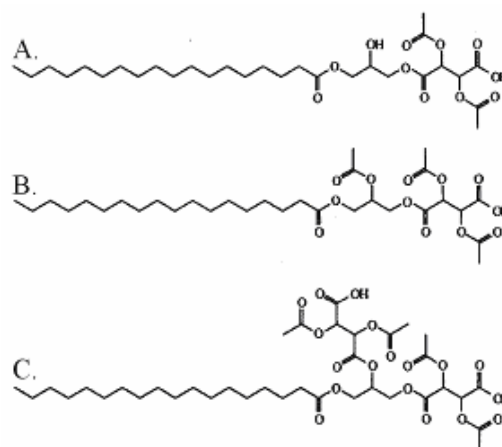
Er zijn verschillende emulgatoren voor de broodindustrie commercieel beschikbaar. Hieronder worden enkel DATEM, SSL, CSL en polysorbaat besproken. Andere emulgatoren die in de broodindustrie gebruikt worden zijn bijvoorbeeld mono- en diglyceriden, geëthoxylerde monoglyceriden, succinezuuresters van monoglyceriden, lecithine en sucrose vetzuuresters (Zobel en Kulp, 1996).

4.1.2. DATEM

DATEM (diacetylwijnsteenzuuresters van monoglyceride) zijn mono- en diacylglycerolen die veresterd zijn met mono- en diacetylwijnsteenzuur (Köhler en Grosch, 1999). DATEM is een uitstekende deegversterker. Het deeg is minder kleverig en gemakkelijker te behandelen. Daarnaast heeft het een matig kruimverzachtend effect (Zobel en Kulp, 1996). DATEM wordt geproduceerd door de reactie van mono- en diacetyltartaarzuuranhydride met monoacylglycerolen of mengsels van mono- en diacylglycerolen. Uit deze procedure volgt dat commercieel DATEM een complex mengsel is van verschillende componenten. In Figuur 4.1 zijn de belangrijkste DATEM-componenten weergegeven. Component A is de belangrijkste en vertegenwoordigt 35,4 % van alle DATEM-componenten op gewichtsbasis. Componenten B en C vertegenwoordigen respectievelijk 12,1 % en 6,5 %. Commercieel DATEM bevat tot 40 % componenten die inactief zijn in deegversterking en kruimverzachting (Köhler, 2001c). Het effect van DATEM hangt af van de samenstelling ervan en van het bakproces (Köhler en Grosch, 1999).

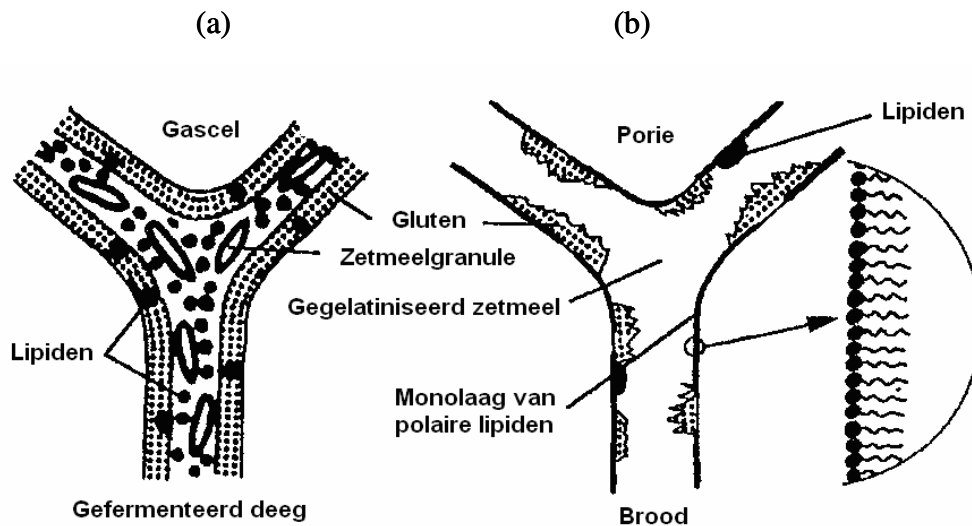
Het werkingsmechanisme van DATEM tijdens de deegfase en de bakfase is verschillend. Tijdens de deegfase zijn de interacties van DATEM met glutenproteïnen verantwoordelijk voor de deegversterkende eigenschappen. Volgens het model van Greene (1975) zijn de glutenproteïnen positief geladen tijdens het kneden bij een pH van ongeveer 6. Anionische emulgatoren (zoals DATEM, SSL en CSL) binden met de glutenproteïnen door hydrofobe interacties van de alkylresidu's met apolaire zijketens van aminozuren in glutenproteïnen. De

nettolading van de glutenproteïnen daalt door deze indirecte interactie tussen geladen groepen van DATEM en de proteïnen. Dit bevordert de aggregatie van het gluten. Macroscopisch uit zich dat in een toename van de glutensterkte, een toename van de gasretentiecapaciteit en het minder kleverig worden van het deeg. Stauffer (1990) echter veronderstelt directe ionische interacties tussen DATEM en proteïnen. Dit veroorzaakt aggregatie van het gluten door hydrofobe interacties van de alkylketens van DATEM. Het is duidelijk dat DATEM-componenten met twee carboxylgroepen in staat zijn de positieve lading van glutenproteïnen doeltreffender te neutraliseren dan componenten met slechts één carboxylgroep (Köhler, 2001b). Figuur 4.2a geeft een structuurmodel van een fermenterend deeg.



Figuur 4.1: Structuur van de belangrijkste DATEM-componenten (Köhler, 2001b).

Tijdens de bakfase heeft DATEM een andere werking. Het complex tussen de glutenproteïnen en DATEM verzwakt door de temperatuurstijging. In aanwezigheid van emulgatoren neemt de verstijfselingstemperatuur van zetmeel toe waardoor gluten langer gas kan weerhouden. Na de verstijfseling bevindt het grootste gedeelte van het water zich in de zetmeelfractie, aangezien zetmeel tijdens de verstijfseling veel water bindt. Het waterverlies in de glutenfase leidt tot coagulatie, verlies van de gasretentiecapaciteit van de glutenproteïnen en dissociatie van het gebonden DATEM. De emulgatoren vormen lamellaire aggregaten in de interfase tussen gascellen en de vaste/vloeistoffase. Zo zijn ze in staat openingen te dichten die ontstaan zijn door coagulatie van glutenproteïnen en stabiliseren ze de interfase. Hierdoor verlengt de ovenrijfs. Het zijn vooral de DATEM-componenten met één carboxylgroep die de ovenrijfs verlengen. Het broodvolume neemt toe en de kruim wordt zachter (Marion *et al.*, 1987). In Figuur 4.2b wordt de interactie tussen zetmeel, gluten en lipiden voorgesteld in brood. Het model is ook geldig in aanwezigheid van emulgatoren zoals DATEM.



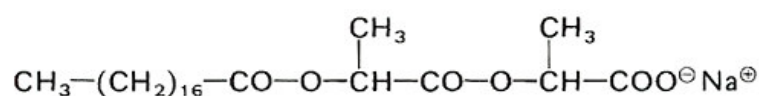
Figuur 4.2: Structuurmodel van een fermenteerd deeg voor de bakfase (a) en de structuur van brood na bakken (b) (Köhler, 2001b).

Om de toename van de hardheid van broodkruim tijdens lange bewaring optimaal te reduceren, wordt best DATEM gebruikt in combinatie met monoglyceriden (Gray en BeMiller, 2003).

4.1.3. SSL en CSL

Natriumstearoyl-2-lactylaar (SSL, Figuur 4.3) is een uitstekende deegversterker. Het is tevens een heel goede kruimverzachter (Zobel en Kulp, 1996). SSL heeft een grote affiniteit om te binden met zetmeel. SSL complexeert niet alleen met amylose, maar ook met amylopectine (DeStefanis *et al.* 1977). Met SSL treedt er geen complexatie op het granuleoppervlak op en dus is er geen effect op de zwellings van de granules en de uitloging van amylose. SSL is efficiënter dan DATEM wat betreft het vertragen van het hard worden van broodkruim (Rogers en Hosoney, 1983). Toevoeging van SSL verlengt de kneedtijd (Lang *et al.*, 1992).

Calciumstearoyl-2-lactylaar is evenals SSL en DATEM een uitstekende deegversterker. Als kruimverzachter werkt het minder goed dan SSL (Zobel en Kulp, 2003).

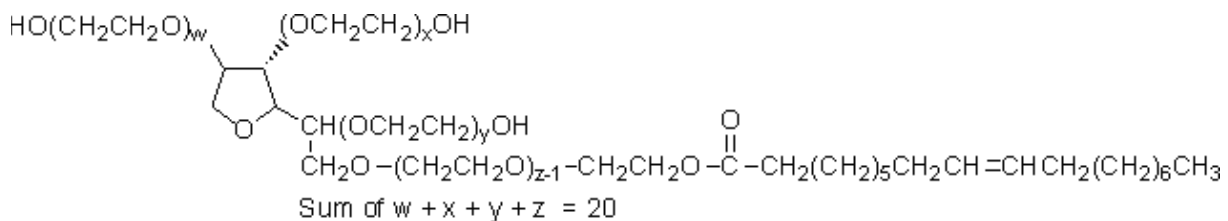


Figuur 4.3: Chemische structuur van SSL (Belitz *et al.*, 2004)

4.1.4. Polysorbaten

Polysorbaten zijn polyoxyethyleensorbitanmono-esters. Meestal wordt Poly-60 (E 435) gebruikt in de broodbereiding, maar ook Poly-40 en Poly-80 (Figuur 4.4) kunnen gebruikt worden. Het cijfer staat voor het aantal C-atomen in de identieke zijketens van de sorbitanring (Belitz *et al.*, 2004).

Poly-60 is iets minder efficiënt als deegversterker dan DATEM, CSL en SSL. De kruimverzachtende eigenschappen zijn vergelijkbaar met die van DATEM (Zobel en Kulp, 2003). Poly-60 verlengt de fermentatietijd en inhibeert de gasproductie van de gist. DATEM, SSL en CSL daarentegen verkorten de fermentatie, stimuleren de gasproductie en verbeteren de CO₂-captatie zodat het broodvolume toeneemt (Tsen en Weber, 1981).



Figuur 4.4 : Chemische structuur van polysorbaat 80 (<http://www.sigmaldrich.com>).

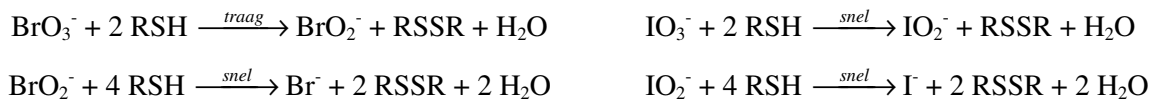
4.2. Redoxagentia

Redoxagentia worden aangewend om de reologische eigenschappen van deeg te optimaliseren. Naast zuurstof zijn de belangrijkste aangewende redoxagentia ascorbinezuur, kaliumbromaat en cysteïne of glutathion. In tarwebloem zijn proteïnen (door de aanwezigheid van thiol- en/of disulfide-structuuronderdelen), lipiden (door de aanwezigheid van linolzuur en linoleenzuur) en fenolische componenten de belangrijkste reactiepartners in redoxreacties.

4.2.1. Oxidantia: halogenaten

De halogenaten KIO₃ en KBrO₃ werden vroeger frequent gebruikt in de broodbereiding. In Europa zijn ze niet meer toegelaten wegens hun mogelijk carcinogeen effect.

Bromaat en jodaat oxideren vrije thiolgroepen ter vorming van disulfidebindingen:



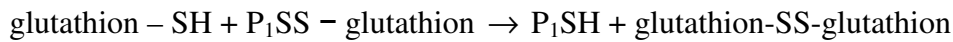
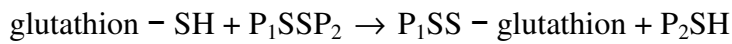
Door het toegenomen aantal verknoppingen tussen de proteïnen verstevigt het glutennetwerk. Dit resulteert op zijn beurt in een verhoogd broodvolume, een verbeterde kruimstructuur, een kortere kneedtijd en een vermindering van de hoeveelheid energie die nodig is om een optimaal deeg te bekommen.

De reductie van bromaat tot bromiet verloopt traag en is dus de snelheidsbepalende stap. Daarom werkt bromaat trager in dan jodaat. Tijdens de kneedfase kan bromaat zijn effect op de deegreologische eigenschappen nauwelijks uitoefenen. Tijdens de fermentatie en de bakfase werkt bromaat wel in, omdat deze fases langer duren en door de lagere pH. Jodaat daarentegen wordt tijdens het kneden reeds volledig gereduceerd, en kan daarna dus geen effect meer uitoefenen (Bloksma, 1964). Bij de inwerking van jodaat worden meer intramoleculaire en minder intermoleculaire disulfidebindingen gevormd in vergelijking met bromaat (Veraverbeke *et al.*, 2000). Door de hogere oxidatiepotentiaal ($E_{\text{IO}_3^-}^\circ = +1,09 \text{ V}$, $E_{\text{BrO}_3^-}^\circ = +0,61 \text{ V}$) en zijn snellere inwerking, is minder jodaat nodig dan bromaat om de reologische eigenschappen van deeg tot een optimum te brengen, namelijk respectievelijk 10 tot 20 mg en 20 tot 50 mg per kg bloem. Een overdosering van jodaat wordt gekenmerkt door kleine broodvolumes en een slechte kruimstructuur, terwijl overdosering van bromaat geen negatieve gevolgen heeft. Yamada en Preston (1992) vermoeden dat een overdosering van jodaat zorgt voor het verlies van deegextensibiliteit, zodat de gascelstructuren breken en verdere gascelexpansie tijdens het bakken verhindert.

Oxidantia verlagen het aantal vrije thiolgroepen voor de verhitting en verlagen de glutenineflexibiliteit. Dit verhindert sulfhydryl-disulfide uitwisselingsreacties tussen gliadinen en glutenine die normaal optreden bij temperaturen vanaf 90°C. Dit effect is meer uitgesproken bij het snel werkend oxidans kaliumjodaat dan voor het trager werkende kaliumbromaat (Lagrain *et al.*, 2006b).

4.2.2. Reductoren: glutathion

Glutathion (γ -L-glutamyl-L-cysteïnyl-glycine) beïnvloedt de reologische eigenschappen van deeg door thiol-disulfide- uitwisseling met gluten. Dit geeft aanleiding tot de reductie van disulfidebruggen en resulteert in een daling van het MW van een aantal proteïneconstituenten.



Het reduceren van disulfidebindingen wordt beïnvloed door de fysische toegankelijkheid, die functie is van de driedimensionale structuur van gluten (Lavelli *et al.*, 1996). Reeds heel lage concentraties glutathion verzwakken het deeg en zorgen voor een verhoogde extensibiliteit. De kneedtijd daalt en de deegstabiliteit vermindert, waardoor herkneden en omvormen tot de gewenste eindvorm zonder structuurbeschadiging vergemakkelijkt. Overdosering resulteert in een kleverig deeg dat moeilijk handelbaar is. Inactieve gist is een belangrijke bron van glutathion (Fitchett en Frazier, 1987).

Glutathion wordt veelal in combinatie met oxidantia gebruikt. In eerste instantie is de component nuttig om disulfidebruggen te verbreken en zo om een goede verdeling van de glutenproteïnen over het deeg te bewerkstelligen bij het begin van het kneden en om voor een goede deegextensibiliteit te zorgen. Wil men evenwel een goed deeg bekomen, dan zal men ook oxidantia moeten aanwenden die, eens de gluten goed verdeeld over het deeg, kunnen zorgen voor het opnieuw aanleggen van disulfidebruggen (Grosch en Wieser, 1999).

Reductoren verhogen het aantal vrije SH-groepen. Aangezien deze thiolgroepen in staat zijn bij hogere temperaturen deel te nemen aan sulfhydryl-disulfide uitwisselingsreacties, leidt dit verhoogd aantal tot een toename van de verknoping tussen gliadine en glutenine boven 75°C. De moleculaire flexibiliteit van de gluteninepolymeren verhoogt dus. Dit bewerkstelligt de associatie van proteïnen via disulfidebindingen tijdens thermische behandeling (Lagrain *et al.*, 2006b).

Deel II:

Experimenteel deel

5. Materialen en Methoden

5.1. Materialen

Voor de studie van de invloed van emulgatoren werd gewerkt met tarwebloem (variëteit Legat, 2005). De invloed van redoxagentia werd nagegaan op twee verschillende soorten bloem: bloem afkomstig van Legattarwe en een commerciële bloem voor biscuiterie (Destrooper, Lo, België). Het proteïnegehalte van de Legatbloem bedroeg 11,33 %, en van de commerciële bloem was het 10,25 % (w/w, op ds bloem). Naast bloem werden ook suiker, zout, gecompriëerde bakkersgist (Bruggeman, Gent, België) en gedeïoniseerd water gebruikt.

Tabel 5.1: Overzicht van de chemische additieven en hun concentraties (w/w; op droge stof bloem).

Naam	E-nummer	Concentraties	
Emulgatoren			
Diacetylwijnsteenzuuresters van monoglyceride	DATEM	E472e	0,20 %, 0,50 %, 0,75 %, 1,00 %
Natriumstearoyl-2-lactylaot	SSL	E481	0,20 %, 0,50 %, 0,75 %, 1,00 %
Calciumstearoyl-2-lactylaot	CSL	E482	0,20 %, 0,50 %, 0,75 %, 1,00 %
Polysorbaot-80	Poly-80	E433	0,31 %, 0,63 %, 0,94 %, 1,26 %
Oxidantia			
Kaliumjodaot	KIO ₃	-	10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm
Kaliumbromaaot	KBrO ₃	-	10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm
Reductor			
Glutathion	GSH	-	20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 120 ppm

Er werden 4 emulgatoren gebruikt (Puratos, Groot-Bijgaarden, België): DATEM (Multec Data HP20), SSL (Multec SSL 3000), CSL en poly-80 (Multec Soralex MO). De emulgatoren DATEM, SSL en CSL werden in vaste vorm toegevoegd aan de bloem. Polysorbaot-80 is een

uiterst viskeuze vloeistof. Hierdoor was het moeilijk om een bepaalde hoeveelheid ervan af te wegen en kwantitatief toe te voegen aan de bloem. Daarom werden rechtsreeks druppels toegevoegd aan de bloem. Er werd bepaald dat 1 druppel polysorbaat-80 overeenkomt met 0,31 % (w/w) op droge stof bloem, 2 druppels met 0,63 %, 3 druppels met 0,94 % en 4 druppels met 1,26 %. Als redoxagentia werden kaliumbromaat, kaliumjodaat en glutathion gebruikt. De redoxagentia werden in opgeloste vorm toegevoegd aan de bloem. In Tabel 5.1 zijn de concentraties van de gebruikte chemische additieven weergegeven.

5.2. Vermalen van tarwe

5.2.1. Bepalen van het vochtgehalte

Hiertoe werd de tarwe eerst vermalen in een Cyclotec molen (1093 Sample mill, tecator, Sweden). Het vochtgehalte van de vermalen tarwekorrels werd bepaald volgens de AACC-methode 44-19 (AACC, 1983). Weegschaaltjes werden gedurende 2 uur in een oven op 130°C geplaatst. Na afkoeling in een exsiccator gedurende 45 minuten werden ze getarreed. Ongeveer 2 g staal werd nauwkeurig in het weegschaaltje afgewogen en gedurende 2 uur gedroogd in een oven op 130°C. Na 45 minuten afkoelen in een exsiccator werden de schaaltes gewogen. Het gewichtsverlies is een maat voor het vochtgehalte. Analyses werden in viervoud uitgevoerd. De tarwe (variëteit Legat) had een vochtgehalte van 13,01 % (w/w) op droge stof bloem. Het vochtgehalte van de Legatbloem bedroeg 14,22 % en de commerciële bloem voor biscuiterie had een vochtgehalte van 13,78 %.

5.2.2. Conditioneren van de tarwe

Het conditioneren van tarwe is het toevoegen van water om een optimaal vochtgehalte te bereiken voor de vermaling. Per 10 kg Legattarwe werd het vochtgehalte 24 uur voor het vermalen tot 15,5 % gebracht door gedeïoniseerd water toe te voegen aan de tarwekorrels en regelmatig te mengen. Na 23 uur werd de tarwe uiteindelijk naar een vochtgehalte van 16 % gebracht door nog eens extra water toe te voegen en af en toe te mengen.

5.2.3. De walsenvermaling

De Legattarwe werd vermalen met een MLU-202 molen (Bühler, Uzwil, Switzerland) volgens de AACC-methode 26-31 (AACC, 1983). Het maalproces bestaat uit twee stappen: het breekproces en het reductieproces. In het breekproces wordt de korrel over de breekwalsen gestuurd. Dit zijn twee geribbelde cilinders die naar elkaar toe draaien aan lichtjes verschillende snelheden (de verhouding is ongeveer 1/2,5). Deze breekwalsen breken de tarwekorrel open en wrijven de bloem van de zemel af. Daarna worden bloem en zemel met behulp van zeven gescheiden. De grofste zemelfractie wordt naar de volgende breekwalsen gestuurd, waar ze opnieuw gebroken wordt over walsen met kleinere ribbels. De fijnste zemelfractie en de bloemfractie worden elk apart in een zemelreiniger gezuiverd over hellende zeven met van boven naar onder toe grotere mazen. Door de zeven wordt lucht gestuurd die de zemelpartikels meesleurt. Onder de zeven worden deeltjes van eenzelfde grootte gecollecteerd. Wat na de laatste breekwals niet door de zeven gaat, wordt afgescheiden als zemelfractie (Hoseney, 1994).

Na het breekproces volgt het reductieproces. De fracties die uit de zemelreinigers komen, worden over gladde reductiewalsen gestuurd waardoor ze verder verkleind worden. Na iedere reductiestap volgt opnieuw een zeefstap en wat na de laatste reductiestap niet door de zeven geraakt, wordt afgescheiden als griesfractie (Hoseney, 1994). De 6 bloemfracties werden gemengd zodat een homogene tarwebloem bekomen werd.

De extractiegraad is gedefinieerd als de verhouding van de hoeveelheid bloem over de totale hoeveelheid materiaal bekomen na vermaling en bedroeg 70,31 % (w/w). De zemelfractie bedroeg 13,66 % (w/w) en de hoeveelheid gries was 16,03 % (w/w).

5.3. Reologische studie van deeg

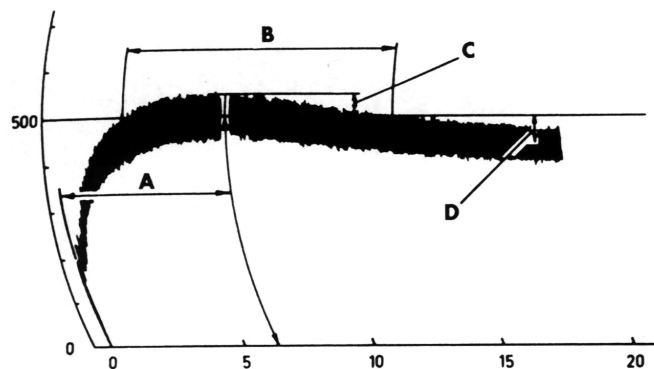
Twee van de meest gebruikte instrumenten om de eigenschappen van deeg te onderzoeken en zo informatie omtrent de bakkwaliteit te bekomen zijn de mixograaf en de farinograaf. Beide instrumenten laten toe metingen uit te voeren tijdens het mengen van bloem en water tot een deeg. De constructie, alsook de manier van mengen, is voor beide instrumenten verschillend en ook de bekomen informatie kan hierdoor verschillen (Faridi, 1985).

5.3.1. Farinograaf

Principe

In een farinograaf worden water en bloem gekneed tot een deeg door twee in tegenovergestelde richting draaiende mengbladen met een verschillende snelheid (93 en 62 tpm). De kracht, uitgedrukt in Brabender eenheden (BE), die nodig is om de schroefbladen aan deze snelheid te laten draaien wordt in functie van de tijd geregistreerd d.m.v. een dynamometer. Deze kracht is een maat voor de weerstand die het deeg op de schroefbladen uitoefent en dus voor de consistentie van het deeg (Walker and Hazelton, 1996).

In een eerste meting laat men een deel water lopen in de kneder en druppelt men water toe tot een deegconsistentie van 500 BE bereikt is. Uit deze meting kan afgeleid worden hoeveel water in de praktijk nodig zal zijn om tot optimale deegvorming te komen. In een tweede meting wordt de gekende hoeveelheid water ineens toegevoegd en wordt de kracht nodig om de mengbladen aan een constante snelheid als functie van de tijd te laten draaien geëvalueerd. Het resultaat van deze bewerking is een farinogram (Faridi, 1985). Uit dit farinogram worden een aantal parameters gehaald (Figuur 5.1):



Figuur 5.1: Parameters af te leiden uit een farinogram.

- (i) Het watergehalte, nodig om tot een deegconsistentie van 500 BE te komen, is de farinograafwaterabsorptie. Dit watergehalte is niet alleen afhankelijk van de proteïnekwaliteit, maar ook van de proteïnekwantiteit en van het gehalte aan beschadigd zetmeel.
- (ii) De deegontwikkelingstijd (A) is de tijd nodig om de hoogste deegweerstand te bereiken.

(iii) De deegstabiliteit (B) is het aantal minuten dat het deeg de hoogste consistentie behoudt.

(iv) De mengtolerantie index (C) is de consistentiedaling vijf minuten na het bereiken van de hoogste deegweerstand.

Procedure

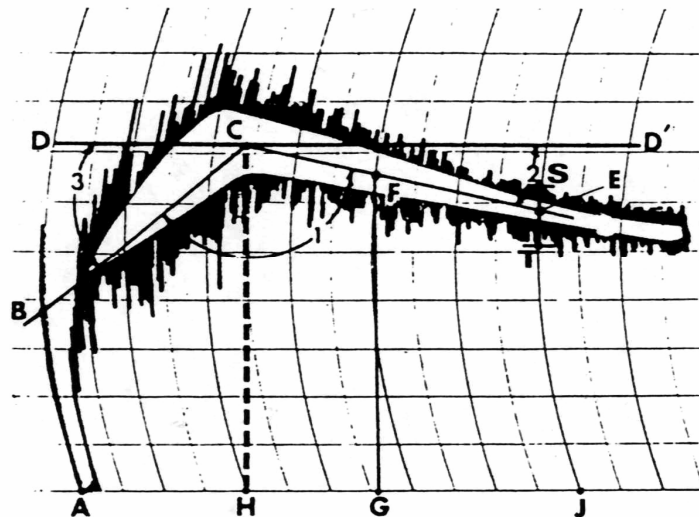
Het farinogram werd gemaakt volgens de AACC methode 54-21 (1983). Bloem (10 g op 14% vochtbasis) werd gedurende 20 minuten in een farinograaf (Brabender E 330, G.m.b.H, Duisburg, Duitsland) gemengd met water dat met een pipet werd toegevoegd. De temperatuur werd constant gehouden door circulatie van water met een temperatuur van 30°C doorheen de holle wanden van de kneder. De optimale hoeveelheid water die toegevoegd moest worden aan de bloem om een deeg met een consistentie van 500 BE te bekomen, werd iteratief bepaald en was 59,6 % voor de Legatbloem. Voor de commerciële bloem was de optimale waterabsorptie 56,4 %. Vervolgens werd de invloed van emulgatoren en redoxagentia op het farinogram nagegaan door toevoeging van het additief aan de bloem, samen met de optimale hoeveelheid water voor controledeeg. De hoeveelheden van de gebruikte additieven zijn weergegeven in Tabel 5.1.

5.3.2. Mixograaf

Principe

De mixograaf bestaat uit een rotor waaraan vier verticale pinnen zijn bevestigd die draaien rond drie gelijkaardige pinnen in een mengkom. Bloem en water worden hierin tot een deeg gekneed door de rotatie van de pinnen. Deze kneedwijze is anders en heviger dan deze van de farinograaf. Hierdoor is de tijd nodig om een analyse uit te voeren korter dan voor de farinograaf (Faridi, 1985). Als het deeg gevormd wordt, is er een grotere kracht nodig om de pinnen door het deeg te bewegen. Deze kracht wordt gemeten als de neiging van de zwenkbare arm om te roteren. De mengkom is immers bevestigd in het centrum van een zwenkbare arm die aan de ene kant verbonden is met een pen die de beweging van de arm registreert en aan de andere kant verbonden is met een veer die de beweging van de arm beperkt. Op deze manier wordt een mixogram gemaakt dat de weerstand van het deeg tegen een uitwendig aangelegde kracht weergeeft in functie van de tijd. De karakteristieken van het mixogram zijn het gevolg van de veranderende plastische, elastische en viskeuze

eigenschappen van het deeg tijdens het kneden. Na het bereiken van de piek veroorzaakt de mechanische degradatie van het deeg een toename van de mobiliteit. Dit resulteert in een daling van de curve en in de mindere variatie van de uitwijking. Uit dit mixogram kunnen verschillende parameters gehaald worden die een indicatie geven over de bakkwaliteit van de bloem (Figuur 5.2).



Figuur 5.2: Parameters af te leiden uit een mixogram.

- (i) De peiktijd (DC) is de tijd nodig om de maximale hoogte te bereiken. Deze parameter is in het algemeen gecorreleerd met de deegontwikkelingstijd, zoals bepaald met de farinograaf, en bepaalt de mengtijd die nodig is voor de ontwikkeling van het deeg.
- (ii) De piekhoogte (CH) is de hoogte vanaf de basislijn tot het centrum van de curve gemeten bij peiktijd. De hoogte van de curve is evenredig met het proteïnegehalte van de bloem. Zij neemt evenwel af bij het gebruik van hogere watergehaltes.
- (iii) De hoogte 3 minuten na de piek (GF) is de hoogte vanaf de basislijn tot het centrum van de curve gemeten op een gespecificeerd tijdstip na het bereiken van de piekhoogte. Deze waarde is gecorreleerd met de mengtolerantie index van de farinograaf. Een hogere waarde betekent een hogere mengtolerantie.

Procedure

Het mixogram werd gemaakt volgens de AACC methode 54-40A (1983). Bloem (10 g op 14% vochtbasis) werd gedurende 10 minuten in een mixograaf (National Manufacturing, Lincoln, NE, USA) gekneet met water. Experimenteel werd vastgesteld dat de optimale farinograafwaterabsorptie niet helemaal overeenkwam met de optimale waterhoeveelheid

voor de mixograaf. Daarom werd eerst de optimale hoeveelheid water die toegevoegd moest worden aan de bloem om een optimaal mixogram te bekomen, iteratief bepaald. Vervolgens werd de invloed van emulgatoren en redoxagentia op het farinogram nagegaan door toevoeging van het additief aan de bloem, samen met de optimale hoeveelheid water voor controledeeg.

5.4. Broodbereiding

5.4.1. Het broodbereidingsproces voor kleine broodjes

Kleine broodjes (10 g bloem) werden bereid volgens de 'straight dough'-methode van Shogren en Finney (1984). In een pinmixer (National Mfg. Co., Lincoln, USA) werden 10 g bloem (14 % vochtgehalte), 0,53 g gist (bewaard op 4°C en 2 uur voor de baktest op kamertemperatuur gebracht), 1,1 ml van een suiker-zoutoplossing (13,63 g zout en 54,54 g suiker opgelost tot een totaalvolume van 100 ml) en een welbepaalde hoeveelheid emulgator of oplossing van redoxagens (Tabel 5.1) gebracht. De hoeveelheid water die werd toegevoegd werd bepaald uit een farinograafmeting. Dit alles werd gemengd tot een optimale consistentie werd bekomen. In een preliminaire test werd immers de optimale kneedtijd bepaald. Het deeg werd opgebald en 90 minuten in een bedekte roestvrije metalen fermentatiekom, licht ingevet met bakvet (Crisco, Procter&Gamble, USA), in de fermentatiekast (30°C, 90 % relatieve vochtigheid) geplaatst. Het deeg werd na respectievelijk 52, 77 en 90 minuten doorgeslaan. Na 90 minuten werd het deeg opgebald en in een bakvorm (3 volledig ingevette zijden, 1 half ingevette zijde; interne bovenafmetingen 32,1 × 61,2 mm; diepte 23,5 mm; 24,6 × 52,8) geplaatst. Het deeg bleef nog 36 minuten in de fermentatiekast, waarna het 13 minuten in een oven met roterende platen (National Mfg. Co, Lincoln, USA) werd gebakken bij 232°C. Verder in de tekst zullen deze broodjes 'kleine broodjes' genoemd worden.

5.4.2. Het broodbereidingsproces voor grote broden

De broden (400 g) werden bereid volgens de 'straight-dough'-methode van Finney (1984). Het deeg werd geknead (6 minuten voor Legatbloem, 5,33 minuten voor biscuiteriebloem) in een spiraalkneder (De Danieli IS06, Legnard, Italy) en bevatte 1000 delen bloem, 53 delen gist (bewaard bij 4°C en 5 uur voor de baktest op kamertemperatuur gebracht), een optimale

hoeveelheid gedeïoniseerd water, 60 delen suiker en 15 delen zout. De deegmassa werd verdeeld in stukken van 450 g, opgebald en 90 minuten in een roestvrije metalen fermentatiekom, licht ingevet met bakvet (Crisco, Proctor&Gamble, USA), in een fermentatiekast (30°C, 90 % relatieve vochtigheid) geplaatst. Het deeg werd 3 keer doorgeslaan: na 52, na 77 en na 90 minuten. Na 90 minuten werd het deeg opgerold en in een onbedekte bakvorm (15cm × 9cm) geplaatst. In deze bakvorm bleef het deeg nog 36 minuten in de fermentatiekast, waarna het 40 minuten in een oven met roterende platen (National Mfg., Lincoln, USA) werd gebakken bij 210°C. Er werden reeksen van 8 broden gebakken. Naast controlebrood werden emulgatoren en redoxagentia toegevoegd aan de broden. Per additief werd slechts één bepaalde concentratie toegevoegd, in tegenstelling tot de baktest met kleine broodjes. DATEM werd in een concentratie van 1,00 % toegevoegd. Van SSL en CSL werd 0,50 % toegevoegd. Er werd 0,62 % van Poly-80 toegevoegd en de redoxagentia werden in een concentratie van 40 ppm toegevoegd. Verder in de tekst zullen deze broden ‘grote broden’ genoemd worden.

5.4.3. Bepaling van broodgewicht, rijshoogte en broodvolume

Kleine broodjes

Het gewicht van de broden werd onmiddellijk na het bakproces gemeten. De rijshoogte en het broodvolume werden bepaald na 30 minuten afkoelen. De volumes werden gemeten door de verplaatsing van glasbolletjes in een volumemeter (National Mfg. Co., Lincoln, USA). Deze meting werd drie keer herhaald. Voor elke reeks broden werd de volumemeter geijkt met een houten blokje van 39,5 cm³. De rijshoogte werd gemeten m.b.v. een schuifmeter.

Grote broden

Na 3 uur afkoelen op kamertemperatuur werden de broden gewogen en de volumes ervan bepaald. De volumes werden gemeten door de verplaatsing van koolzaad in een volumemeter (National Mfg. Co., Lincoln, USA). Deze meting werd drie keer herhaald. Voor elke reeks broden werd de volumemeter geijkt met een houten blok van 2000 cm³. Na de volumemeting werden de broden in plastic zakken verpakt om vochtverlies te vermijden.

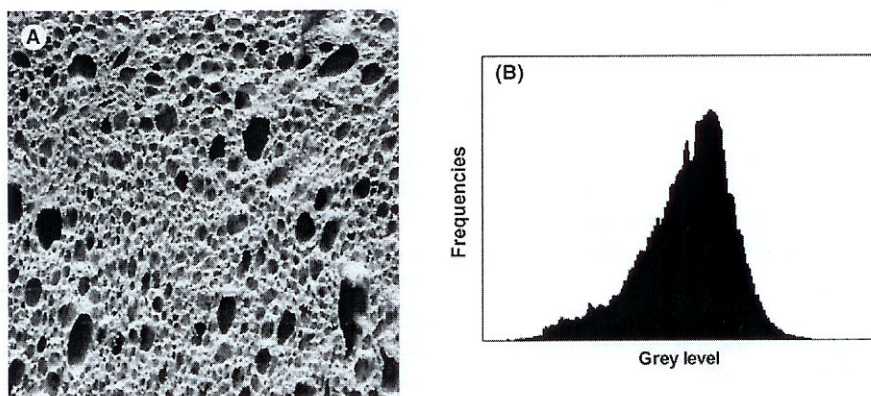
5.5. Digitale beeldanalyse van broodkruim

Principe

Beeldtextuuranalyse wordt gebruikt om de kwaliteit van brood te beoordelen op basis van kruimfijnheid en homogeniteit. Het hoofddoel bestaat er dan ook in een verdeling van celgroottes en celvormen te verkrijgen. De cellen komen in beeld als kleine donkere regio's en het geheel wordt omschreven als 'beeldtextuur' (Scanlon en Zghal, 2001).

De celsegmentatie van een digitaal beeld is het proces dat de coherente informatie vanuit het beeld extraheert. 'Thresholding' is een veel gebruikte methode om beeldsegmentatie uit te voeren. Hierbij wordt de complexiteit van het digitaal beeld gereduceerd: het oorspronkelijk digitaal beeld (vele grijswaarden) wordt omgezet in een binair beeld (zwart-wit beeld). Bij celsegmentatie worden de gewenste objecten, namelijk de individuele cellen, in een beeld gescheiden van de achtergrond. Op basis van de discontinuïteit van grijswaarden in een beeld, wordt een optimale grenswaarde (threshold) gekozen om een scheiding tussen de twee fasen te kunnen maken. Figuur 5.3 geeft het histogram weer van de grijswaarden van een ingescande broodsneede. Deze grafiek geeft het aantal pixels met een bepaalde grijswaarde weer (Scanlon en Zghal, 2001).

Er zijn veel verschillende celsegmentatietechnieken gekend. In dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van de methode van Otsu (Otsu, 1979). Dit is een van de meest populaire methoden om de optimale grenswaarde te bepalen.



Figuur 5.3: Digitaal beeld (40 x 40 mm) in grijstinten uit het centrum van een ingescande broodsneede (A) met het overeenkomstig histogram van grijswaarden (B) (Scanlon en Zghal, 2001).

Procedure

Per broodsoort werden 5 à 10 sneden geanalyseerd. De broodsneden werden afgesneden met een elektrische snijmachine en waren 1,5 cm dik. Vervolgens werden ze ingescand met een flatbed scanner (Vuego Scan Brisa 610S, Acer Peripherals, Shizou, China) en bijhorende software (iPhoto Plus 4.0, Ulead Systems, Inc., Tapei, Taiwan). In het centrum van het beeld werd een vierkant van $40 \times 40 \text{ mm}^2$ geselecteerd. Een digitaal beeld kan beschouwd worden als een 2D-matrix waarvan de indices van de rijen en kolommen een klein vierkant gebied van het beeld, een pixel genoemd, vertegenwoordigen. Dit beeld bevatte 256 grijswaarden, gaande van wit tot zwart, met 300 dots per inch.

De bepaling van de optimale grenswaarde t^* gebeurde met behulp van ImageJ (1.37 V, Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA). Op basis van t^* kon een scheiding gemaakt worden tussen de gasfase en vaste fase en ontstond een binair beeld. Hierin zijn de cellen wit gekleurd en de celwanden zwart. Vervolgens werden de kleuren in het beeld omgekeerd: de cellen werden zwart en de celwanden wit. Granulometrie werd dan gebruikt om de grootteverdeling van gascellen in deze beelden te berekenen. Hiertoe werden de beelden verwerkt met Matlab 6.1 (The Mathworks Inc., Natick, MA, USA). Voor kruimkarakterisering werden drie eigenschappen gekozen: de gemiddelde celoppervlakte, het aantal cellen per cm^2 en de gascelfractie.

5.6. Akoestische analyse van broodkruim

5.6.1. Biot-Allard model

Biot (1956a, 1956b) postuleerde een theorie over de voorplanting van geluidsgolven in poreuze materialen die met een fluïdum verzadigd zijn. Het frame bestaat uit elastisch materiaal en de poriën worden gedefinieerd als de ruimte die niet door dit frame wordt ingenomen. Er kunnen drie golven optreden in dit materiaal: twee longitudinale en een transversale golf. Het frame wordt homogeen en isotroop verondersteld en men gaat ervan uit dat alle delen van de vaste stof met elkaar verbonden zijn. Biot houdt in het model voor elastische voorplanting van geluidsgolven rekening met de verschillende koppelmecanismen tussen de fasen, de demping van de golf ten gevolge van viskeuze interacties en de elasticiteit van het frame.

Bij voldoende hoge frequenties kan de elastische koppeling tussen fluïdum en frame verwaarloosd worden en het frame kan als star beschouwd worden. In dit geval worden de drie Biot-golven ontkoppeld en de akoestische energie zit vervat in een longitudinale golf die zich voornamelijk voortplant in het fluïdum, de snelle Biot-golf genoemd. De snelle Biot-golf wordt bepaald door de open porositeit ϕ , de stromingsweerstand σ , de tortuositeit α_∞ , de viskeuze karakteristieke lengte Λ en de thermische karakteristieke lengte Λ' .

5.6.2. Parameters

open porositeit

De open porositeit ϕ is de verhouding van het volume lucht V_l in het poreuze materiaal en het totale volume V_t :

$$\phi = \frac{V_l}{V_t}. \quad (5.1)$$

Met V_l wordt uitsluitend het volume van de open cellen bedoeld, dus dat deel van het fluïdum dat toegankelijk is van buiten af. De gesloten cellen worden niet in rekening gebracht en worden eigenlijk als een deel van het frame beschouwd (Fellah *et al.*, 2003).

tortuositeit

De aanwezigheid van het skelet zorgt ervoor dat de fluïdumsnelheid lokaal niet overal dezelfde richting en grootte heeft, te wijten aan de kronkeligheid van de poriën en veranderingen in doorsnede. De tortuositeit α_∞ brengt het verschil in richting en grootte tussen de microscopische en macroscopische snelheid in rekening:

$$\alpha_\infty = \frac{\frac{1}{V} \int_V v^2 dV}{\left(\frac{1}{V} \int_V \bar{v} dV \right)^2}, \quad (5.2)$$

waarbij v de microscopische snelheid is van een ideaal gas (dus geen viscositeit), de noemer de macroscopische snelheid van het fluïdum voorstelt en de integratie uitgevoerd wordt over een volume V dat voldoende groot is ten opzichte van de gemiddelde poriediameter. De

tortuositeit kan dus gezien worden als een structurele vormfactor die het pad van onderling verbonden poriën beschrijft (Allard *et al.*, 1993).

viskeuze karakteristieke lengte

De viskeuze karakteristieke lengte Λ werd ingevoerd door Johnson *et al.* (1987) om rekening te houden met viskeuze effecten in de poriën die afhankelijk zijn van de gebruikte frequenties:

$$\frac{2}{\Lambda} = \frac{\int_A v^2(r_w) dA}{\int_V v^2(r) dV}, \quad (5.3)$$

met $v^2(r_w)$ en $v^2(r)$ de microscopische snelheid van een niet-viskeus fluïdum respectievelijk aan het oppervlak van de poriewand en in de porie. De integraal in de teller loopt over het contactoppervlak A tussen frame en fluïdum. Bij lage frequenties benadert het snelheidsprofiel in de poriën het stromingsmodel van Poiseuille, terwijl bij hoge frequenties het profiel ongeveer uniform is. De viskeuze karakteristieke lengte geeft dus de verhouding van het porieoppervlak en het porievolume met als wegingsfactoren de gekwadrateerde microscopische snelheid aan het oppervlak van de poriewand en in de porie.

thermische karakteristieke lengte

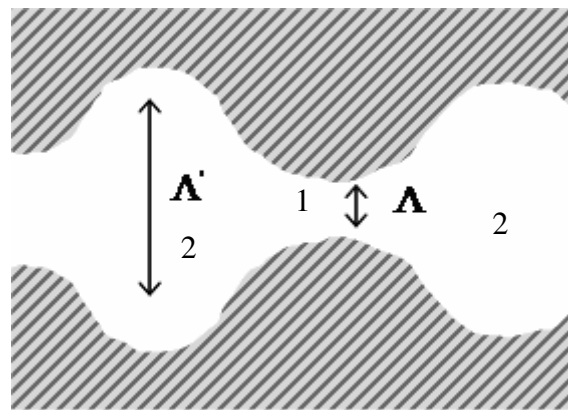
Champoux en Allard (1991) hebben de thermische karakteristieke lengte Λ' ingevoerd om de thermische effecten te kunnen beschrijven:

$$\frac{2}{\Lambda'} = \frac{\int_A dA}{\int_V dV}. \quad (5.4)$$

De definitie is analoog aan die van Λ , echter zonder de wegingsfactor v^2 . Deze parameter drukt de verhouding uit van het volume van de poriën en hun oppervlak.

De tortuositeit, de viskeuze en de thermische karakteristieke lengte hangen enkel af van de vorm van de poriën. In Figuur 5.4 stelt het witte gebied de gasfase voor en het gearceerde

grijze gebied het skelet. Binnen het witte gebied komen twee zones voor: zone 2 stelt een porie voor en de twee poriën zijn met elkaar verbonden via zone 1. De verbinding tussen de poriën (zone 1) zal vooral bepalend zijn voor viskeuze frictie tussen gas en skelet, terwijl zone 2 een grote invloed zal hebben op de thermische uitwisselingen tussen gas en frame wegens het grote oppervlak. Hieruit kan besloten worden dat de thermische karakteristieke lengte Λ' een schatting geeft van de gemiddelde poriegrootte, terwijl de viskeuze karakteristieke lengte Λ een benadering is van de verbindingen tussen poriën. Wanneer een geluidsgolf zich voortplant in een porie, zal een vernauwde zone met een grotere stromingssnelheid een grote invloed uitoefenen op de viskeuze interacties, terwijl er in een zone met een groter oppervlak meer thermische uitwisseling mogelijk is tussen gas en frame. Er geldt steeds dat $\Lambda \leq \Lambda'$. In het speciale geval van cilindrische poriën met een constante diameter is $\Lambda = \Lambda'$ en zijn beide gelijk aan de straal van de poriën (Allard *et al.*, 1993).



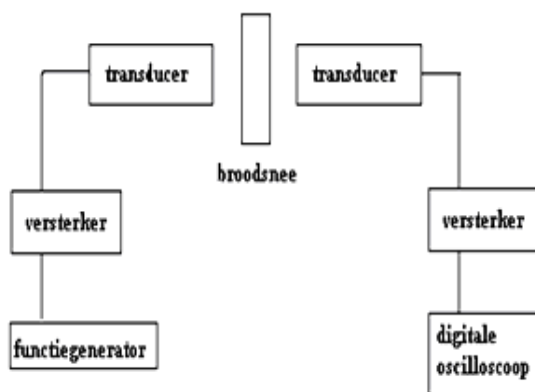
Figuur 5.4: Doorsnede van een porie van een materiaal met bijhorende karakteristieke lengtes.

5.6.3. Bepaling van de tortuositeit en karakteristieke lengtes

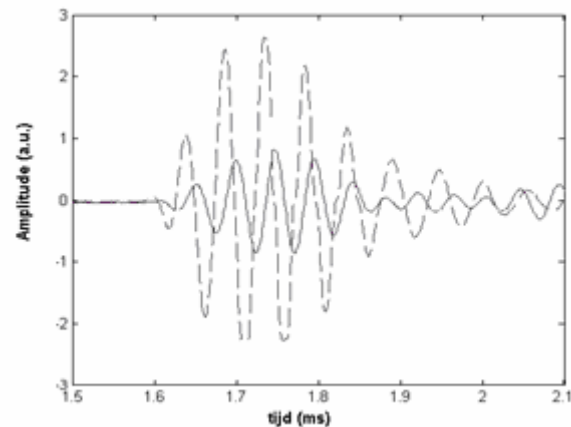
Experimentele opstelling

Figuur 5.5 geeft de transmissieopstelling schematisch weer om ultrasoon tortuositeit en karakteristieke lengtes te bepalen. Een functiegenerator produceerde een elektrische puls die versterkt werd. Een pulsontvanger (Panametrics Inc., Waltham, USA) werd gebruikt als functiegenerator en versterker. Een transducer NCT-202 (The Ultrason Group, State College, PA, USA) zette de versterkte puls om in een ultrasonische puls. Deze transducer had als centrumfrequentie 200 kHz. Dit zorgde voor een signaal in lucht dat loodrecht inviel op een meetmonster. Na transmissie door het materiaal werd het signaal gedetecteerd door een tweede identieke transducer, versterkt en gevisualiseerd op een digitale oscilloscoop (LeCroy

9310M, New York, USA). Vervolgens werd het signaal in de computer ingelezen voor verdere verwerking met software voor data-analyse (LABVIEW 6i for Windows, National Instruments, Austin, USA).. De meting werd steeds twee keer uitgevoerd. Een eerste maal werd er geen materiaal geplaatst tussen beide transducers. Op deze manier werd een referentiesignaal bekomen. Vervolgens werd de meting herhaald met het materiaal (een broodsneede van gemiddeld 8,0 mm dik) tussen bron en ontvanger. Van elke broodsoort werden een tiental sneden geanalyseerd, 24 uur na bakken. Voor elke broodsnee werd telkens gemeten op twee of drie punten in het centrum van de snee. Figuur 5.6 toont een voorbeeld van een meting. Het referentiesignaal in lucht is weergegeven met het signaal door het poreuze materiaal. Er zijn twee effecten merkbaar: de amplitude is duidelijk lager door demping in het materiaal en bovendien is er een vertraging merkbaar.



Figuur 5.5: Experimentele transmissieopstelling.



Figuur 5.6: Ultrasoon signaal in vrije lucht (stippellijn) en na transmissie door een poreus materiaal (volle lijn).

Bepaling van de tortuositeit

Er kan aangetoond worden dat in de limiet bij heel hoge frequenties ($\omega \rightarrow \infty$, $\delta \rightarrow 0$) de fasesnelheid van de akoestische golf in de poriën constant wordt. De verhouding van de fasesnelheden in lucht c_0 en in het poreus meetmonster c_1 (bij de hoge frequentie limiet) geeft dan:

$$\sqrt{\alpha_\infty} = \frac{c_0}{c_1}, \quad (5.5)$$

De fasesnelheid in lucht c_0 is constant, nl. 341 m/s. De fasesnelheid in het staal c_1 kan op verschillende manieren bepaald worden, maar wordt in dit onderzoek als volgt bepaald: het

tijdsverschil tussen één of meerdere perioden van de referentiepuls (puls zonder broodsnee tussen transducers) en de doorgelaten puls (puls met broodsnee tussen transducers) wordt bepaald met behulp van een kruiscorrelatie tussen de referentiepuls en de doorgelaten puls. De fasesnelheid c_1 van de golf die zich doorheen de broodsnee voortplant, wordt dan berekend door:

$$c_1 = \frac{1}{\frac{\Delta t}{d} + \frac{1}{c_0}}, \quad (5.6)$$

met Δt het tijdsverschil en d de dikte van de broodsnee (Allard *et al.*, 1993).

Bepaling van de karakteristieke lengtes

De viskeuze en thermische karakteristieke lengtes worden bepaald door de demping van de getransmitteerde golf te meten. Het meten van de factor $Q\delta$, het product van de kwaliteitsfactor Q met de viskeuze huiddikte δ , geeft informatie over A en A' . De kwaliteitsfactor Q wordt gedefinieerd als:

$$Q = \frac{1}{2} \frac{\omega}{c(\omega)at} = \frac{2k'}{k''}. \quad (5.7)$$

Hierbij is $c(\omega)$ de fasesnelheid, at de dempingscoëfficiënt, k' het reëel deel van het golfgetal en k'' het imaginair deel van het golfgetal k (Allard *et al.*, 1993). De dempingscoëfficiënt geeft weer hoe snel de amplitude van de golf afneemt bij voortplanting door het materiaal. De dempingscoëfficiënt werd door McClements (1997) gedefinieerd als:

$$at = \frac{1}{x} \ln \frac{A_0}{A}, \quad (5.8)$$

met A_0 de initiële amplitude van de golf, x de afstand die de golf doorheen het materiaal aflegt en A de amplitude van de golf op afstand x .

Bij hoge frequenties kan aangetoond worden dat:

$$\lim_{\omega \rightarrow \infty} Q\delta = \left[\frac{1}{\Lambda} + \frac{\gamma-1}{B\Lambda'} \right]^{-1}. \quad (5.9)$$

Er geldt dus bij de hoge frequentielimiet dat $Q\delta$ constant is en enkel bepaald wordt door de viskeuze en thermische karakteristieke lengtes en de eigenschappen van het gas (Allard *et al.*, 1993).

Een scheiding in de bijdragen van Λ en Λ' kan gemaakt worden door metingen in verschillende gassen (lucht, helium, foraan). De karakteristieke lengtes zijn immers onafhankelijk van het gebruikte gas, vermits ze enkel bepaald worden door de microscopische structuur van de poriën en niet door het gas waarmee het poreuze materiaal gesatureerd is. Lagrain *et al.* (2006a) maten de $Q\delta$ van broodkuim in lucht en helium. Er werd geen verschil tussen $Q\delta_{He}$ en $Q\delta_{lucht}$ gemeten. Aangezien γ en B afhankelijk zijn van de eigenschappen van het fluïdum, kan hieruit besloten worden dat

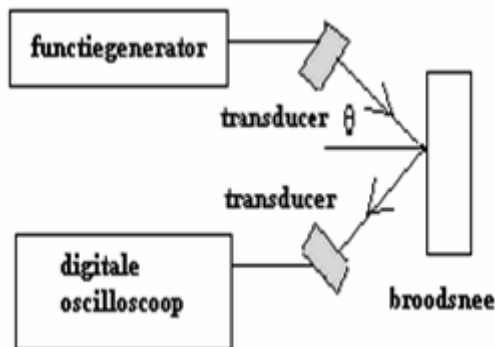
$$\frac{\gamma-1}{B\Lambda'} = 0. \quad (5.10)$$

Dit werd op voorhand reeds vermoed omdat voor de thermische karakteristieke lengte Λ' op basis van de definitie (een schatting van de gemiddelde poriegrootte) en van de resultaten van de beeldanalyse, een grootteorde van mm werd verwacht. Dit is heel veel groter dan de viskeuze karakteristieke lengte Λ , waardoor $(\Lambda')^{-1}$ verwaarloosbaar klein is. Vanuit een akoestisch standpunt betekent dit dat de thermische effecten in een andere, veel lagere frequentieregio liggen dan de ultrasone frequentieregio. De demping van de akoestische golven wordt dus enkel door de viskeuze effecten bepaald. Praktisch betekent dit dat met behulp van akoestische analyse enkel de viskeuze karakteristieke lengte Λ kon bepaald worden. De gebruikte frequenties waren veel te groot om de thermische karakteristieke lengte Λ' te kunnen bepalen. Uit vergelijkingen (5.9) en (5.10) volgt dan dat $Q\delta_{He} \approx Q\delta_{lucht} \approx \Lambda$ (Allard *et al.*, 1993).

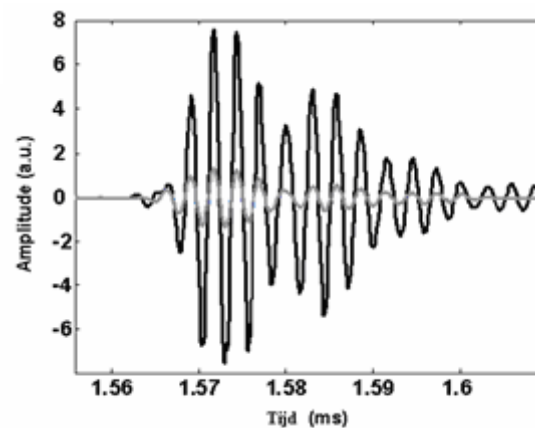
5.6.4. Bepaling van de open porositeit

Experimentele opstelling

In Figuur 5.7 wordt de reflectieopstelling voorgesteld. Deze was principieel hetzelfde als de transmissieopstelling, maar de bron en ontvanger werden aan dezelfde kant geplaatst. In dit onderzoek werd de reflectiemeting uitgevoerd met loodrechte inval ($\theta = 0$) van de ultrasone golven. Als bron en ontvanger werd dan dezelfde transducer gebruikt. Eerst werd het gereflecteerd signaal gemeten van een golf die loodrecht inviel op een perfect reflecterende metalen plaat en nadien het gereflecteerd signaal met een broodsnee op de plaats van de metalen plaat. De broodsnee was gemiddeld 5,0 cm dik. De meting werd voor elke broodsoort met twee verschillende broden uitgevoerd. Van elk brood werden 2 stalen gemeten. In Figuur 5.8 is een voorbeeld van een meting weergegeven.



Figuur 5.7: Experimentele reflectieopstelling.



Figuur 5.8: Ultrasonische signalen van een reflectie-experiment met het invallende signaal (zwarte lijn) en het weerkaatste signaal (grijze lijn).

Bepaling van de open porositeit

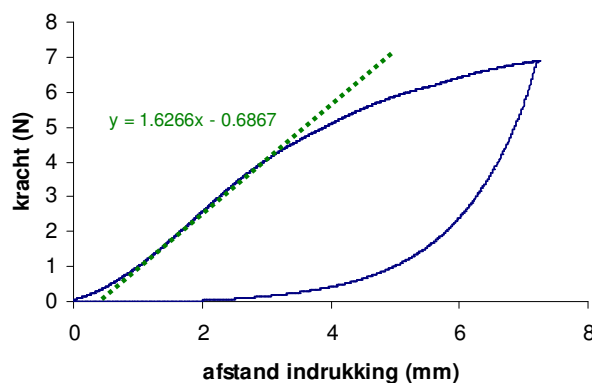
Bij voldoende hoge frequenties en loodrechte inval van de akoestische golven op een half oneindige laag van poreus materiaal, hangt de reflectiecoëfficiënt R enkel af van de tortuositeit en de open porositeit:

$$R(\theta) = \frac{\frac{\alpha_{\infty} \cos \theta}{\phi \sqrt{\alpha_{\infty} - \sin^2 \theta}} - 1}{\frac{\alpha_{\infty} \cos \theta}{\phi \sqrt{\alpha_{\infty} - \sin^2 \theta}} + 1}, \quad (5.11)$$

met θ de invalshoek. Uit de verhouding van het frequentiespectrum van de invallende en gereflecteerde golf kan de reflectiecoëfficiënt afgeleid worden en bij gekende tortuositeit kan de open porositeit berekend worden (Fellah *et al.*, 2003).

5.7. Mechanische analyse van broodkruim

De mechanische eigenschappen van broodkruim werden bepaald via indrukkingsstesten. Hierbij drukte een probe, die kleiner was dan het staal, een broodsneede in. De meting werd uitgevoerd met behulp van de Texture Analyser (TA-XT2i Texture Analyser, Stable Micro Systems, Surrey, UK). De probe was cilindrisch, onderaan vlak en had een diameter van 25 mm. De broden (400 g) werden in 4 sneden van elk 25 mm dik gesneden. De korst werd verwijderd en de broodsneede werd in het midden onder de probe gelegd. De probe bewoog vervolgens naar beneden en de kracht F en indrukking δ werden geregistreerd tijdens de indrukking van de broodsneede. Als de probe de broodsneede over een afstand van 25 % van zijn dikte had ingedrukt, bewoog de probe terug naar boven. De hardheid van broodkruim werd gedefinieerd als de kracht op het punt waar de probe de broodsneede voor 25 % had ingedrukt (AACC-methode 74-09, AACC, 1983). In Figuur 5.9 is een typische curve van een indrukkingsstest weergegeven.



Figuur 5.9: Indrukkingscurve van brood na 7 dagen veroudering: kracht F (N) van de probe i.f.v. afstand δ van indrukking (mm) van een broodsneede.

Op voorwaarde dat de indrukking wrijvingsloos gebeurt, kan op basis van de klassieke elasticiteitstheorie de relatie tussen de kracht F en de afstand van indrukking δ door de probe met straal R gegeven worden door:

$$F = [2RE/(1-\nu^2)]\delta \quad (5.12)$$

met E de modulus van Young en ν de Poissoncoëfficiënt van broodkruim (deze wordt 0,21 verondersteld). Zoals op Figuur 5.9 te zien is, is het initiële elastische deel lineair. Broodkruim is immers een elastische cellulaire vaste stof. Hierdoor buigen de celwanden of rekken ze uit tijdens de eerste fase van de indrukking. De verhouding F/δ is dus constant. Vergelijking 5.12 kan dan geschreven worden als:

$$E_i = [\alpha(1-\nu^2)/2R] \quad (5.13)$$

met α de richtingscoëfficiënt in het lineaire elastische deel ($dF/d\delta$) en E_i de elasticiteitsmodulus, afgeleid m.b.v. een indrukkingstest (Liu en Scanlon, 2004).

5.8. Statistische analyse

Om de parameters van zowel beeldanalyse als akoestische analyse te vergelijken, werd een t-test gebruikt (PROC ANOVA) ($P < 0,05$). De statistische analyses werden uitgevoerd met software van Statistical Analysis System (v 8.1, SAS institute, Cary, NC).

6. Impact van emulgatoren op broodbereiding en –veroudering

In dit hoofdstuk wordt de invloed van emulgatoren nagegaan op de deegreologische eigenschappen, het broodvolume, de kruimstructuur en de broodhardheid tijdens veroudering. Er werden 4 emulgatoren gebruikt, namelijk DATEM, SSL, CSL en Poly-80. De eerste drie zijn anionische emulgatoren. Poly-80 daarentegen is een niet-ionische emulgator. Deze broodverbeteraars worden vaak toegevoegd met het oog op grote broodvolumes, een goede kruimstructuur en een langere houdbaarheid. Tijdens de deegfase worden emulgatoren stevig gebonden aan de glutenproteïnen. Tijdens het bakken migreren de oppervlakteactieve stoffen naar het zetmeel en vormen er inclusiecomplexen. Ze binden bovendien ook een deel water. Emulgatoren hebben geen invloed op covalente bindingen. Hun invloed geschiedt via neutralisatie van ladingen en/of via hydrofobe interacties.

Het effect van de emulgatoren op de deegreologische eigenschappen werd nagegaan met behulp van de farinograaf en de mixograaf. Deegeigenschappen zijn immers in belangrijke mate verantwoordelijk voor de eigenschappen van brood. Naast de smaak, de kruimkleur, de krokantheid van de korst en de zachtheid van het kruim is de cellulaire kruimstructuur een belangrijke kwaliteitsparameter. Beeldtextuuranalyse werd gebruikt om de kwaliteit van brood te beoordelen op basis van kruimfijnheid en homogeniteit. Het hoofddoel bestond er dan ook in een verdeling van celgroottes en celvormen te verkrijgen. De kruimstructuur werd ook nog met een andere methode onderzocht, namelijk een ultrasone techniek op basis van het Biot-Allard model. Deze techniek werd voor het eerst toegepast op brood door Lagrain *et al.* (2006b). De textuur van brood is heel belangrijk in vergelijking met andere levensmiddelen, want de smaak van brood is niet zo uitgesproken als van vele andere voedingsproducten. De mechanische eigenschappen van broodkruim bepalen in belangrijke mate de textuur van brood. Deze eigenschappen werden onderzocht via indrukkingstesten.

6.1. Invloed van emulgatoren op deeg eigenschappen

6.1.1. Invloed van emulgatoren op farinograafparameters

Alle farinogrammen van de Legatbloem werden bij 59,6 % waterabsorptie genomen. De farinograafparameters die gebruikt werden om de impact van emulgatoren op de deegreologie na te gaan waren: de deegontwikkelingstijd (min), de deegstabiliteit (min) en de mengtolerantie index (BE). In Tabel 6.1, Tabel 6.2, Tabel 6.3 en Tabel 6.4 worden de waarden van deze parameters voor respectievelijk DATEM, SSL, CSL en Poly-80 weergegeven.

Tabel 6.1: Farinograafparameters van tarwebloem variëteit Legat met DATEM.

Concentratie DATEM (w/w; ds bloem)	Ontwikkelingstijd (min)	Stabiliteit (min)	Tolerantie index (BE)
0,00 %	1,5	2,2	43
0,20 %	1,2	2,0	93
0,50 %	1,7	2,3	66
0,75 %	1,5	1,2	67
1,00 %	1,7	19,0	30

DATEM had geen duidelijke invloed op de deegontwikkelingstijd en de mengtolerantie index. Bij hoge concentraties nam de deegstabiliteit wel merkbaar toe. Bij toevoegen van 1,00 % DATEM blijft het deeg 8,5 keer langer zijn maximale deegsterkte behouden dan controledeeg.

Tabel 6.2: Farinograafparameters van tarwebloem variëteit Legat met SSL.

Concentratie SSL (w/w; ds bloem)	Ontwikkelingstijd (min)	Stabiliteit (min)	Tolerantie index (BE)
0,00 %	1,5	2,2	43
0,20 %	1,5	12,9	32
0,50 %	2,0	19,2	16
0,75 %	15,3	18,9	515
1,00 %	19,7	18,8	516

Bij toevoeging van SSL nam de deegstabiliteit merkbaar toe, in even grote mate als bij DATEM. Maar het effect was reeds bij lagere concentraties duidelijk merkbaar. De deegconsistentie na het bereiken van de piek nam ook veel trager af.

Tabel 6.3: Farinograafparameters van tarwebloem variëteit Legat met CSL.

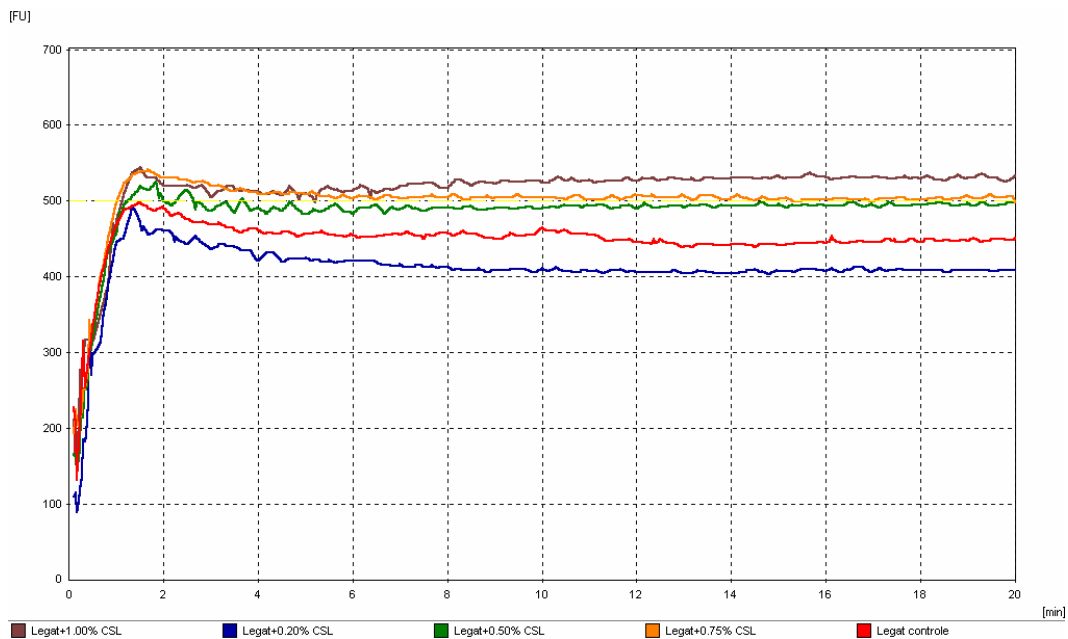
Concentratie CSL (w/w; ds bloem)	Ontwikkelingstijd (min)	Stabiliteit (min)	Tolerantie index (BE)
0,00 %	1,5	2,2	43
0,20 %	1,4	1,6	73
0,50 %	1,9	18,4	34
0,75 %	1,7	19,0	34
1,00 %	1,5	19,0	33

Net als bij SSL verhoogde CSL duidelijk de deegstabiliteit. De deegontwikkelingstijd bleef ongeveer constant. In Figuur 6.1 worden de farinogrammen met emulgator CSL bij verschillende concentraties voorgesteld. De toenemende deegstabiliteit is duidelijk te zien. Bij hogere concentraties daalde de curve immers minder in de tijd.

Tabel 6.4: Farinograafparameters van tarwebloem variëteit Legat met Poly-80.

Concentratie Poly-80 (w/w; ds bloem)	Ontwikkelingstijd (min)	Stabiliteit (min)	Tolerantie index (BE)
0,00 %	1,5	2,2	43
0,31 %	2,0	17,5	30
0,62 %	2,2	15,6	13
0,94 %	1,2	7,2	33
1,26 %	1,5	15,4	8

Ook Poly-80 had geen duidelijke invloed op de deegontwikkelingstijd. De deegstabiliteit nam wel toe bij additie van Poly-80, maar in mindere mate dan de andere emulgatoren: het deeg blijft 7 keer langer stabiel dan controledeeg.



Figuur 6.1: Farinogrammen van tarwebloem variëteit Legat met verschillende concentraties CSL.

6.1.2. Invloed van emulgatoren op mixograafparameters

Experimenteel werd vastgesteld dat de optimale farinograafwaterabsorptie niet helemaal overeenkwam met de optimale waterhoeveelheid voor de mixograaf. De mixogrammen van tarwebloem variëteit Legat werden genomen bij 54,9 % waterabsorptie. Deze waarde werd bekomen door mixogrammen te nemen bij verschillende waterabsorpties en de meest geschikte waarde te bepalen. De mixograafparameters die gebruikt werden om de impact van emulgatoren op de deegreologie na te gaan zijn: de deegontwikkelingstijd (min), de deegsterkte (AE [arbitraire eenheden]) en de daling van de deegsterkte, 3 minuten na de piek (AE).

In Tabel 6.5, Tabel 6.6, Tabel 6.7 en Tabel 6.8 worden de waarden van deze parameters voor respectievelijk DATEM, SSL, CSL en Poly-80 weergegeven. In Figuur 6.2 worden de mixogrammen weergegeven van de controle en de tarwebloem met de hoogste concentratie van elke emulgator.

Tabel 6.5: Mixograafparameters van tarwebloem variëteit Legat met DATEM.

Concentratie DATEM (w/w; ds bloem)	Deegontwikkelingstijd (min)	Deegsterkte (AE)	Daling deegsterkte 3 min na piek (AE)
0,00 %	4,63	4,71	0,38
0,20%	3,89	4,42	0,27
0,50%	3,26	3,55	0,00
0,75%	3,05	3,63	0,04
1,00%	2,55	3,75	0,00

Een toenemende concentratie van DATEM had een duidelijke daling van de deegontwikkelingstijd tot gevolg, nl. 45 % bij 1,00 % DATEM in vergelijking met controledaeg. De deegsterkte nam weinig af bij toevoegen van DATEM. Het effect van DATEM op de daling van de deegsterkte, 3 minuten na de piek, was wel heel duidelijk. Een toenemende concentratie DATEM verlaagde deze daling in deegsterkte. Dit betekende dat het deeg weinig werd afgebroken en tolerant was aan overknedden. In afwezigheid van DATEM was het deeg minst tolerant aan overknedden en was de daling in deegsterkte het grootst. Ter illustratie zijn in Figuur 6.2 de mixogrammen van controledaeg en deeg met 1,00 % DATEM weergegeven.

Tabel 6.6: Mixograafparameters van tarwebloem variëteit Legat met SSL.

Concentratie SSL (w/w; ds bloem)	Deegontwikkelingstijd (min)	Deegsterkte (AE)	Daling deegsterkte 3 min na piek (AE)
0,00 %	4,63	4,71	0,38
0,20%	4,89	3,95	0,00
0,50%	4,66	3,70	0,00
0,75%	3,08	3,65	0,03
1,00%	3,26	3,61	0,09

Ook SSL versnelde de deegontwikkeling, maar de invloed was kleiner dan van DATEM. Bij additie van 1,00 % SSL ontwikkelde het deeg zich 30 % sneller, terwijl dat 45 % bedroeg bij toevoeging van 1,00 % DATEM. Het effect van SSL op de daling van de deegsterkte, 3 min na de piek, was vergelijkbaar met DATEM. De deegsterkte daalde heel weinig bij toevoeging van SSL. Lang *et al.* (1992) hebben de invloed van verschillende additieven, waaronder SSL, nagegaan op enkele mixograafparameters van een commerciële mix van bloem van harde rode wintertarwe. Ze stelden geen statistisch significant effect vast op de deegsterkte.

Tabel 6.7: Mixograafparameters van tarwebloem variëteit Legat met CSL.

Concentratie CSL (w/w; ds bloem)	Deegontwikkelingstijd (min)	Deegsterkte (AE)	Daling deegsterkte 3 min na piek (AE)
0,00 %	4,63	4,71	0,38
0,20%	5,11	3,78	0,00
0,50%	4,74	4,13	0,13
0,75%	4,61	3,83	0,17
1,00%	4,54	3,87	0,09

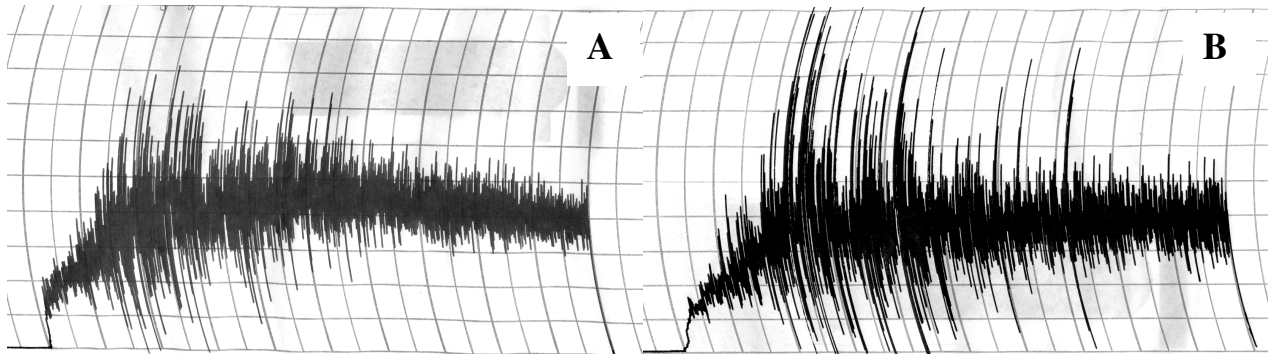
CSL verlaagde nauwelijks de deegontwikkelingstijd. De daling van de deegsterkte, 3 minuten na de piek, werd kleiner naarmate meer CSL werd toegevoegd, maar de impact was kleiner dan van SSL en DATEM.

Tabel 6.8: Mixograafparameters van tarwebloem variëteit Legat met Poly-80.

Concentratie Poly-80 (w/w; ds bloem)	Deegontwikkelingstijd (min)	Deegsterkte (AE)	Daling deegsterkte 3 min na piek (AE)
0,00 %	4,63	4,71	0,38
0,31%	4,84	4,17	0,30
0,62%	4,84	4,09	0,26
0,94%	4,16	4,55	0,42
1,26%	4,05	4,39	0,35

Toenemende concentraties Poly-80 deden de deegontwikkelingstijd dalen. Het effect was kleiner dan van DATEM en SSL, maar iets groter dan van CSL. Additie van 1,26 % Poly-80

versnelde de deegvorming met 13 %. De deegsterkte van optimaal ontwikkeld deeg bleef quasi constant bij toenemende concentraties Poly-80. Ook het effect op de daling van de deegsterkte, 3 minuten na de piek, was heel klein of afwezig.



Figuur 6.2: Mixogrammen van tarwebloem variëteit Legat: (A) controle (zonder emulgator); (B) met 1,00 % DATEM.

6.1.3. Discussie

Farinograafparameters

De emulgatoren hadden geen duidelijke invloed op de deegontwikkelingstijd en de mengtolerantie index. Ze verhoogden wel de deegstabiliteit, waardoor het deeg gedurende langere tijd zijn maximale sterkte behield. DATEM had pas effect bij hoge concentraties, SSL en CSL reeds bij lagere concentraties. De invloed van Poly-80 op de deegstabiliteit was iets kleiner dan de andere emulgatoren. Hydrofobe structuuronderdelen van emulgatoren bonden via hydrofobe bindingen aan lipofiele regio's van de gluteninestructuur. De hydrofiele onderdelen van deze emulgatoren interageerden via elektrostatische interacties met de gliadinen. Zo bewerkstelligden ze een betere intermoleculaire binding van de glutenstrengen, zodat een groter gehalte aan disulfidebindingen en een brugvorming gluten-emulgator-gluten resulteerde (Krog, 1981). De anionische emulgatoren (DATEM, SSL en CSL) deden de nettolading van de glutenproteïnen dalen door de indirecte interactie tussen geladen groepen en proteïnen. Ook dit bevorderde de aggregatie van het gluten (Green, 1975). Macroscopisch uitte zich dat in een toename van de glutensterkte, een verhoging van de gasretentiecapaciteit en het minder kleverig worden van het deeg. Het werkingsmechanisme van Poly-80 was anders dan van DATEM, SSL en CSL. Poly-80 heeft geen negatief geladen carboxylgroepen

waardoor de nettolading van glutenproteïnen niet kon dalen. Zo bevorderden ze minder de aggregatie van gluten in vergelijking met DATEM, CSL en SSL. Bovendien was de fysische toestand van Poly-80 verschillend van de andere emulgatoren: Poly-80 is een heel viskeuze vloeistof (Conde-Petit en Escher, 1994).

Andere verschillen tussen de emulgatoren onderling kunnen het gevolg zijn van variatie in dispersie in het deeg (DeStefanis *et al.*, 1977). Het gluten in de deegfase was een ideaal dispersiemedium voor de emulgatoren want het was een continue fase dat de zetmeelgranulen omgaf.

Mixograafparameters

DATEM en SSL hadden de grootste effecten op de deegreologie. Ze versnelden de deegontwikkeling en maakten het deeg toleranter tegen overknedden want na het bereiken van de maximale deegsterkte nam de consistentie trager af. De deegversterkers vormden vloeistoffilmen aan de interfase tussen het gluten en zetmeel en versterkten zo de filmvormende eigenschappen van de glutenproteïnen (Krog, 1981). Anionische emulgatoren bonden met de glutenproteïnen door hydrofobe interacties van de alkylresidu's met apolaire zijketens van aminozuren in glutenproteïnen. De nettolading van de glutenproteïnen daalde en dit bevorderde de aggregatie van het gluten (Green; 1975).

Het effect van DATEM was groter dan van SSL. Dit was het gevolg van de verschillende chemische structuur. DATEM is een complex mengsel van verschillende componenten. Bepaalde componenten bezitten twee carboxylgroepen en waren zo in staat de positieve lading van de glutenproteïnen doeltreffender te neutraliseren dan SSL, dat slechts één carboxylgroep bevat. Dit is in tegenspraak met de resultaten van de farinograaf: SSL deed de deegstabiliteit reeds toenemen vanaf lage concentraties, dit in tegenstelling tot DATEM. Deze tegenstrijdigheid tussen de farinogrammen en de mixogrammen werd in belangrijke mate verklaard door het verschil in constructie en kneedmechanisme van de twee toestellen. De kneedwijze van de mixograaf is veel heviger dan die van de farinograaf. Hierdoor kunnen de bekomen resultaten van beide toestellen anders zijn (Faridi, 1985). Ook de waterabsorptie voor beide metingen was verschillend.

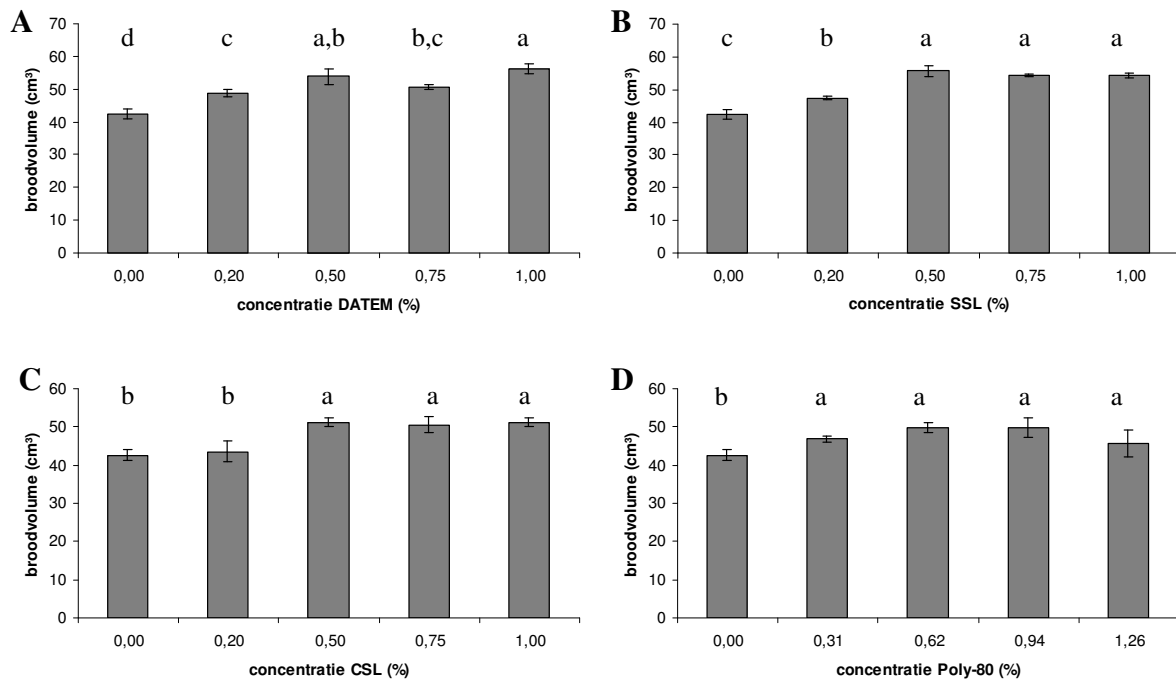
Het stabiliserend effect van SSL was groter dan CSL. Dit werd veroorzaakt door de verschillende chemische structuur. De verschillende chemische structuur van Poly-80 was ook verantwoordelijk voor het verschil in impact op de deegreologie in vergelijking met de andere emulgatoren. Ook variaties in de mate van dispersie in het deeg kunnen de verschillen

in efficiëntie tussen emulgatoren verklaren (DeStefanis *et al.*, 1977). Bovendien was de fysische toestand van Poly-80 ook verschillend.

6.2. Invloed van emulgatoren op broodeigenschappen

6.2.1. Broodvolume en -densiteit

In Figuur 6.3 zijn de volumes van de kleine broodjes (10 g) bij verschillende concentraties van elke emulgator weergegeven. In elk bakexperiment werd ook telkens een controlebrood gebakken.



Figuur 6.3: Volume van kleine broodjes met verschillende hoeveelheden emulgator: A: DATEM; B: SSL; C: CSL en D: Poly-80. De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem. De waarden zijn gemiddelden van drie herhalingen. Broodvolumes met een verschillende letter bovenaan de grafiek zijn significant verschillend ($P < 0,05$).

Alle emulgatoren hadden een positieve impact op het broodvolume. Reeds lage concentraties hadden een statistisch significante volumetoename tot gevolg ten opzichte van controlebrood, behalve bij 0,20 % CSL. Vanaf 0,50 % emulgator (0,31 % voor Poly-80) veranderde het volume niet meer significant bij toevoeging van nog grotere hoeveelheden emulgator. Additie

van 0,20 % DATEM had een volumestijging van 15 % tot gevolg. Het maximale broodvolume werd bereikt bij 1,00 % DATEM. Het broodvolume steeg met 32 % ten opzichte van het controlebrood. Bij toevoeging van 0,20 % SSL steeg het broodvolume met 11,5 % ten opzichte van controlebrood. Hoewel CSL qua structuur heel goed gelijkt op SSL, was het effect van CSL op het broodvolume duidelijk kleiner dan SSL. Lage concentraties CSL hadden nauwelijks effect op het broodvolume. Vanaf 0,50 % CSL was er wel een significante toename van het broodvolume, nl. 20 %. Maar net als SSL hadden hogere hoeveelheden CSL geen volumeveranderingen meer tot gevolg. Aangezien de concentraties van Poly-80 niet dezelfde zijn als de andere emulgatoren, is het moeilijk om ze te vergelijken. Het effect van Poly-80 op het broodvolume was kleiner dan van de andere emulgatoren: de volumes van brood met Poly-80 waren gelijkaardig of kleiner dan van de andere emulgatoren, hoewel de concentraties van Poly-80 telkens iets hoger lagen. De volumetoename bij additie van 0,31 % Poly-80 was 10%. Bij een verdubbeling van de hoeveelheid Poly-80 verdubbelde ook de volumetoename. Bij hogere concentraties nam het broodvolume echter niet meer toe.

Tabel 6.9: Dichtheid van kleine broodjes bij verschillende concentraties van emulgatoren.

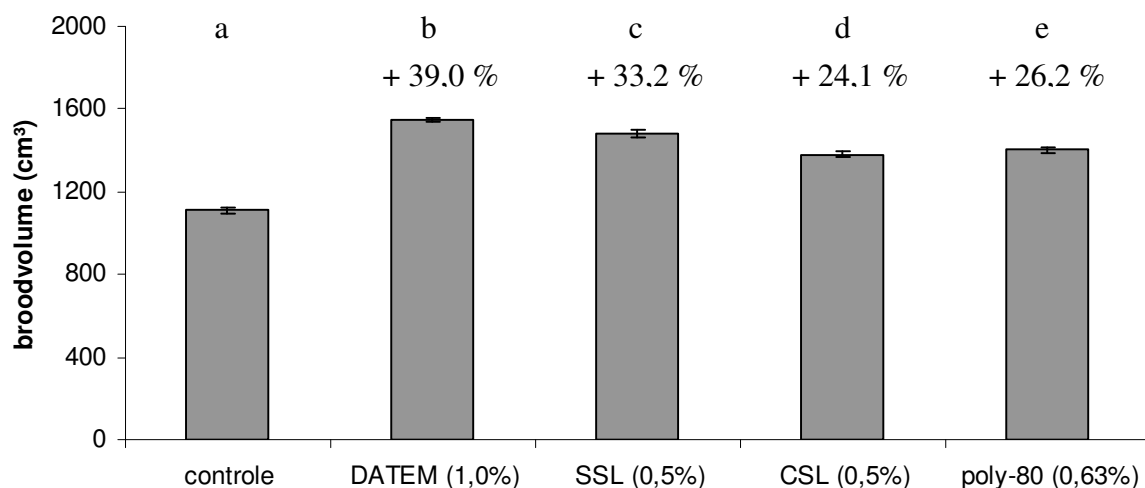
Concentratie (w/w) op droge stof bloem	Dichtheid (g/cm ³)			
	DATEM	SSL	CSL	Poly-80
A	0,31 a	0,31 a	0,31 a	0,31 a
B	0,27 b	0,28 b	0,30 a	0,27 b
C	0,24 c,d	0,23 c	0,25 b	0,26 b
D	0,26 c,b	0,24 c	0,25 b	0,26 b
E	0,23 d	0,24 c	0,25 b	0,28 b

Voor DATEM, SSL en CSL zijn A, B, C, D en E respectievelijk 0,00 %, 0,20 %, 0,50 %, 0,75 en 1,00 %. Voor Poly-80 zijn A, B, C, D en E respectievelijk 0,00 %, 0,31 %, 0,62 %, 0,94 % en 1,26 %. De waarden zijn gemiddelden van drie herhalingen. De relatieve standaarddeviaties waren kleiner dan 7,4 %. Waarden in dezelfde kolom gevolgd door een verschillende letter zijn significant verschillend ($P < 0,05$).

In tabel 6.9 worden de dichtheden van de kleine broodjes (10 g) weergegeven. De dichtheid nam af bij toevoegen van emulgatoren. Zoals reeds hoger besproken steeg het broodvolume. Hierdoor was het totale broodoppervlak groter, en kon dus meer vocht verdampen tijdens de bakfase, waardoor de massa daalde. Aangezien vooral de toename van het broodvolume, en in mindere mate de daling van de massa, de oorzaak was van de daling van de dichtheid, waren de veranderingen van densiteit vergelijkbaar met de variaties van de broodvolumes. De

laagste concentraties emulgator hadden relatief gezien de grootste invloed op de densiteit (behalve bij 0,20 % CSL). Naarmate meer en meer emulgator werd toegevoegd, daalde het effect. Net zoals bij het broodvolume hadden DATEM en SSL beide het grootste effect. Poly-80 had minst effect op de densiteit.

Van elke emulgator werd de concentratie die het grootste effect had op de broodvolumes van de kleine broodjes toegevoegd aan Legatbloem om grote broden (400 g) te bakken. De volumes werden gemeten en zijn weergegeven in Figuur 6.4. Alle broodvolumes verschilden significant van elkaar ($P < 0,05$). De effecten van de emulgatoren op het volume waren vergelijkbaar met die van kleine broodjes. Uit de grafiek is duidelijk dat SSL efficiënter werkte op het broodvolume dan CSL: SSL deed het broodvolume met 5,8 % meer toenemen dan CSL in vergelijking met controlebrood.



Figuur 6.4: Volume van grote broden met toevoeging van een welbepaalde concentratie emulgator. De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem. De waarden zijn gemiddelden van acht herhalingen. Bovenaan de grafiek staat de procentuele volumetoename ten opzicht van controlebrood. Broodvolumes met een verschillende letter bovenaan de grafiek zijn significant verschillend ($P < 0,05$).

In Tabel 6.10 zijn de dichtheden van de grote broden (400 g) weergegeven. Uit deze gegevens kunnen dezelfde conclusies getrokken worden als uit de broodvolumes.

Tabel 6.10: Dichtheid van grote broden met toevoeging van een welbepaalde concentratie emulgator.

Concentratie emulgator (w/w) op droge stof bloem	Dichtheid ¹ (g/cm ³)
Controle	0,35 a
DATEM (1,00 %)	0,24 b
SSL (0,50 %)	0,26 c
CSL (0,50 %)	0,28 d
Poly-80 (0,62 %)	0,27 e

Waarden in dezelfde kolom gevolgd door een verschillende letter zijn significant verschillend ($P < 0,05$). ¹De relatieve standaarddeviaties waren kleiner dan 1 %.

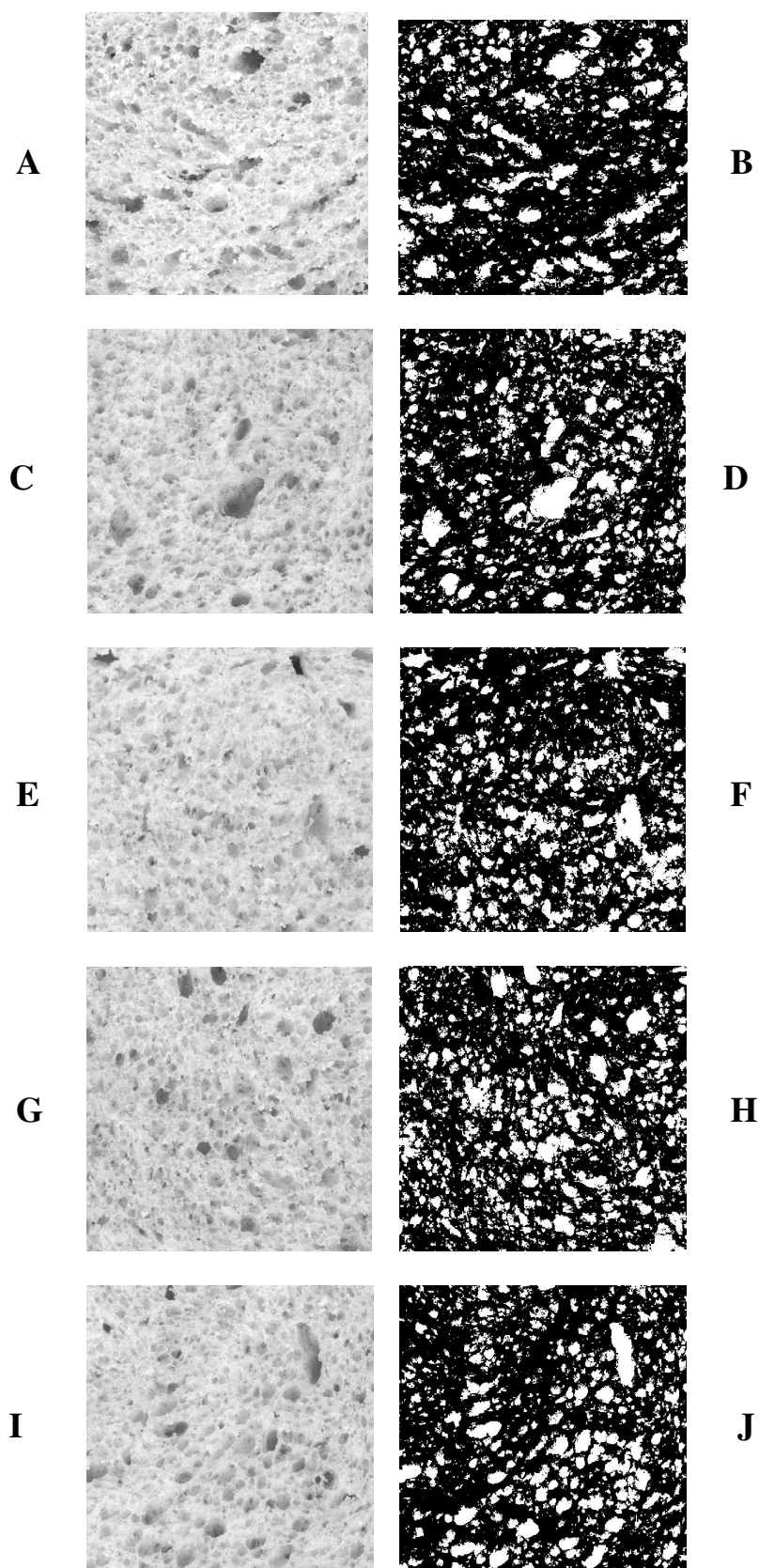
6.2.2. Beeldanalyse

Tabel 6.11: Resultaten van de beeldanalyse van broodkruim bij toevoeging van emulgatoren.

Concentratie emulgator (w/w)	Gemiddelde celoppervlakte (mm ²)	Aantal cellen / cm ²	Gascelfractie (%)
Controle	0,33 ± 0,03 a, b	65,9 ± 12,0 a	31,0 ± 4,3 a
DATEM (1,00 %)	0,32 ± 0,01 a, b	76,6 ± 5,3 a	29,0 ± 2,3 a
SSL (0,50 %)	0,31 ± 0,02 a, b	81,1 ± 10,8 a	28,6 ± 3,0 a
CSL (0,50 %)	0,30 ± 0,01 b	79,7 ± 3,7 a	27,9 ± 0,7 a
Poly-80 (0,62 %)	0,34 ± 0,03 a	69,0 ± 7,9 a	27,0 ± 1,7 a

Waarden in dezelfde kolom gevolgd door een verschillende letter zijn significant verschillend ($P < 0,05$). De concentraties zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

In Tabel 6.11 zijn de resultaten van de beeldanalyse van broodkruim bij toevoeging van emulgatoren weergegeven. De digitale en binaire beelden van het kruim van de verschillende broodtypes zijn weergegeven in Figuur 6.5. De gemiddelde celoppervlakte van brood met 0,5% CSL was significant kleiner dan de gemiddelde celoppervlakte van brood met 0,63 % Poly-80. Dit betekent dat het kruim van Poly-80 grover is dan van brood met CSL, aangezien de gascellen in brood met Poly-80 significant groter zijn. Voor de rest waren er geen significante verschillen uit de beeldanalyse af te leiden tussen controlebrood en brood met emulgatoren en tussen brood met emulgatoren onderling. Voor alle parameters waren de standaarddeviaties van brood met emulgatoren kleiner dan van controlebrood. Dit betekent dat het kruim van brood met emulgatoren homogener was.



Figuur 6.5: Digitale beelden in grijswaarden (links) en binaire beelden (rechts) van het centrale kruim van controlebrood (A, B), brood met 1,00 % DATEM (C, D), brood met 0,50 % SSL (E, F), brood met 0,50 % CSL (G, H) en brood met 0,62 % Poly-80 (I, J). De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

6.2.3. Akoestische analyse

Tabel 6.12: Resultaten van ultrasone analyse van broodkruim van Legatbloem bij toevoeging van emulgatoren.

Concentratie emulgator (w/w)	Tortuositeit	Viskeuze	
		karacteristieke lengte (μm)	Porositeit
Controle	1,10 \pm 0,04 d	14 \pm 1 a	0,91 \pm 0,01 a
DATEM (1,00 %)	1,19 \pm 0,03 b,c	12 \pm 1 b	0,85 \pm 0,02 b
SSL (0,50 %)	1,17 \pm 0,03 c	13 \pm 1 a,b	0,87 \pm 0,02 b
CSL (0,50 %)	1,24 \pm 0,04 a	13 \pm 2 a,b	0,93 \pm 0,01 a
Poly-80 (0,62 %)	1,21 \pm 0,06 a,b	13 \pm 1 a,b	0,92 \pm 0,01 a

Waarden in dezelfde kolom gevolgd door een verschillende letter zijn significant verschillend ($P < 0,05$). De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

In Tabel 6.12 worden de resultaten van de akoestische analyse van broodkruim met Legatbloem en toevoeging van emulgatoren weergegeven. De emulgatorbroden hadden een significant grotere tortuositeit. Dit betekent dat de akoestische golf meer hinder ondervond tijdens haar beweging door de broodsneden van emulgatorbrood. De ultrasone golf volgde met andere woorden een kronkeliger pad. Dus het kruim van brood met emulgatoren was fijner. Tussen de emulgatorbroden onderling waren er ook verschillen. De tortuositeitswaarden van CSL- en Poly-80-brood waren significant hoger dan van DATEM- en SSL-brood.

De viskeuze karakteristieke lengtes van de verschillende broodtypes lagen dicht bij elkaar. Enkel DATEM-brood had een significant kleinere viskeuze karakteristieke lengte in vergelijking met emulgatorbrood. De porositeit van DATEM- en SSL-brood was significant lager dan van controlebrood. De porositeit van CSL- en Poly-80-brood was gelijkaardig als van controlebrood.

6.2.4. Discussie

Broodvolume en -densiteit

Alle emulgatoren hadden een positieve impact op het broodvolume. Reeds lage concentraties hadden een statistisch significante volumetoename tot gevolg ten opzichte van controlebrood (behalve bij 0,20 % CSL). Dit resulteerde in een afname van de densiteit. Vanaf een bepaalde concentratie emulgator veranderde het volume niet meer significant bij toevoeging van nog grotere hoeveelheden. DATEM en SSL hadden de grootste impact. CSL en Poly-80 hadden het kleinste effect.

Er zijn twee belangrijke verklaringen voor deze resultaten. Ten eerste hebben emulgatoren een deegversterkend effect. Dit bleek reeds uit de resultaten van de mixogrammen (zie 6.1.2.). De emulgatoren vormden vloeistoffilmen aan de interfase tussen het gluten en zetmeel en versterkten zo de filmvormende eigenschappen van glutenproteïnen (Krog, 1981). Het deeg werd weerstandiger tegen vervorming, wat resulteerde in een grotere tolerantie tijdens de fermentatie en de ovenrijs. Door de toename van de glutensterkte, nam ook de gasretentiecapaciteit toe, en dus het broodvolume. Tijdens de bakfase hadden de emulgatoren een andere werking. Het complex tussen de glutenproteïnen en de emulgatoren verzwakte door de temperatuurstijging. Door de aanwezigheid van emulgatoren nam de verstijfselingstemperatuur van zetmeel toe, waardoor het gluten langer gas kon weerhouden. Na de verstijfseling bevond het grootste gedeelte van het water zich in de zetmeelfractie, aangezien zetmeel tijdens de verstijfseling veel water bindt. Het waterverlies in de glutenfase leidde tot coagulatie, verlies van de gasretentiecapaciteit van de glutenproteïnen en dissociatie van de gebonden emulgatoren. De emulgatoren vormden lamellaire aggregaten in de interfase tussen gascellen en de vaste/vloeistoffase. Zo waren ze in staat openingen te dichteren die onstonden door coagulatie van glutenproteïnen en stabiliseerden ze de interfase (Marion *et al.*, 1987). Hierdoor verlengde de ovenrijs en nam het broodvolume toe.

Ten tweede stabiliseerden de emulgatoren de gascellen. Emulgatoren zijn oppervlakteactieve stoffen. Gascellen zijn omgeven door een vloeistoffilm. De emulgatoren stabiliseerden de vloeistoffilm (Gan *et al.*, 1990). De hydrofiele kop van het molecuule adsorbeerde aan de vloeistoffilm rond de gascellen, en de hydrofobe staart hield contact met de gascel. Hierdoor konden de gascellen meer en langer expanderen vooraleer breuk optrad in de zetmeelproteïnematrix. De ovenrijs duurde langer en het broodvolume nam toe.

De impact op het broodvolume verschilde tussen de emulgatoren onderling (vooral tussen DATEM en SSL enerzijds en tussen CSL en Poly-80 anderzijds). De efficiëntie hangt immers vooral af van de chemische structuur. DATEM, SSL en CSL zijn anionische emulgatoren. Volgens het model van Greene (1975) zijn de glutenproteïnen positief geladen tijdens het kneden bij een pH van ongeveer 6. De anionische emulgatoren bonden met de glutenproteïnen door hydrofobe interacties van de alkylresidu's met apolaire zijketens van aminozuren in glutenproteïnen. De nettolading van de glutenproteïnen daalde door deze indirecte interactie tussen geladen groepen van de emulgatoren en de proteïnen. Dit bevorderde de aggregatie van het gluten sterker dan de niet-ionische emulgator Poly-80. Bovendien verschilde de polariteit onderling. CSL heeft twee negatieve ladingen per molecule. SSL daarentegen heeft slechts 1 negatieve lading per molecule. Commercieel DATEM is een complex mengsel van verschillende componenten, waarvan de polariteit onderling verschilt. Gemiddeld heeft DATEM meer dan één lading per molecule. Aangezien Poly-80 geen lading bezit, komt zijn emulgerend effect dan ook niet tot stand via elektrostatische interacties met proteïnen, maar vooral via de sterische stabilisatie van de gascellen (Gómez *et al.*, 2004).

Ook de hydrofiele/lipofiele eigenschappen van emulgatoren verklaren de verschillen in de efficiëntie. Deze eigenschappen worden vaak uitgedrukt in termen van de hydrofiele/lipofiele balans (HLB-waarde). Emulgatoren met een uitgesproken lipofiel karakter hebben een lage HLB-waarde en vormen w/o emulsies. Emulgatoren met hoge HLB-waarden zijn meer hydrofiel en vormen o/w emulsies (www.foodproductdesign.com). In Tabel 6.13 worden de HLB-waarden van de vier emulgatoren die gebruikt werden in dit onderzoek weergegeven. Het valt op dat de emulgatoren die in de grootste broodvolumes resulteren (DATEM en SSL), intermediaire HLB-waarden hebben. De balans tussen hydrofiel en lipofiel karakter van CSL en Poly-80 is suboptimaal. CSL heeft een lage HLB-waarde en was dus te lipofiel om de glutenstructuur maximaal te stabiliseren. Poly-80 daarentegen heeft een hoge HLB-waarde en was te hydrofiel.

Tabel 6.13: HLB-waarden van verschillende emulgatoren

Emulgator	HLB-waarde
CSL	5,1
DATEM	8,0
SSL	8,3
Poly-80	15,0

Beeldanalyse

Het brood met toevoeging van emulgatoren had een homogeren kruim in vergelijking met controlebrood. Dit is onder andere het gevolg van de gascelstabilisatie door de emulgatoren tijdens de ovenrijs. Het deegversterkend effect van de emulgatoren was eveneens verantwoordelijk voor het homogener kruim. Met behulp van scanning elektronenmicroscopie konden Junge *et al.* (1981) aantonen dat DATEM, SSL, CSL en Poly-60 resulteren in meer en kleinere gascellen en dus in een fijnere kruimstructuur. Uit het onderzoek van Lagrain *et al.* (2006a) bleek dat beeldanalyse brood met fijn en grof kruim duidelijk kan onderscheiden. Deze techniek leverde echter geen significante verschillen op tussen brood waaraan verschillende emulgatoren waren toegevoegd. Digitale beeldanalyse is dus niet gevoelig genoeg om brood met fijn kruim onderling te vergelijken.

Akoestische analyse

Uit de significant grotere tortuositeit van de broden waaraan emulgator was toegevoegd, kon afgeleid worden dat dit broodkruim fijner was in vergelijking met kruim van controlebrood. Door de stabilisatie van de vloeistoffilm rond de gascellen werden na het doorslaan in aanwezigheid van oppervlakreactieve stoffen meer en kleinere gascellen gevormd. Hierdoor waren de poriën in emulgatorbrood kleiner, en was het pad dat de ultrasone golf volgde kronkeliger. Ook de toename van de gasretentiecapaciteit ten gevolge van de toename van de glutensterkte was mede verantwoordelijk voor het fijner broodkruim (Campbell *et al.*, 2001). Bovendien stabiliseerden de emulgatoren de gascellen ook tijdens de ovenrijs. Dit was ook de reden voor de significant kleinere viskeuze karakteristieke lengte (dat is een benadering van de verbinding tussen de poriën) van DATEM-brood. De scheurtjes in de gascelwanden ontstonden door het breken van de zetmeelproteïnematrix op het einde van de ovenrijs (Gan *et al.*, 1990). Doorheen deze openingen ontsnapten de gassen tijdens het bakken. De grootte van de verbindingen tussen de poriën waren vergelijkbaar met de resultaten van Stokes en Donald (2000), bepaald met ESEM ('Environmental Scanning Electron Microscopy').

Additie van DATEM en SSL resulteerde in de grootste broodvolumes vergeleken met de andere broodtypes. Het lijkt tegenstrijdig dat dit minder dens brood resulteerde in een significant lagere porositeit, bepaald met de reflectiemeting. Dit is vermoedelijk het gevolg van het feit dat enkel de open porositeit via deze methode wordt bepaald. In formule 5.1 wordt met V_l uitsluitend het volume van de open cellen bedoeld, dus dat deel van het fluïdum

dat toegankelijk is van buiten af (Allard *et al.*, 1993). Omdat DATEM en SSL de vloeistoffilm rond de gascellen stabiliseerde, kon de zetmeelproteïnematrix bepaalde gascellen blijven omgeven tijdens hun expansie en scheurde de celwand van verschillende gascellen dus niet op het einde van de ovenrijs. Deze gesloten gascellen werden niet meegerekend via de akoestische meting. Hierdoor was de porositeit, in feite de open porositeit, van deze broden significant kleiner dan van de andere broden. Het effect van CSL en Poly-80 op de gascelstabilisatie was kleiner, aangezien de open porositeit niet significant verschilde van controlebrood.

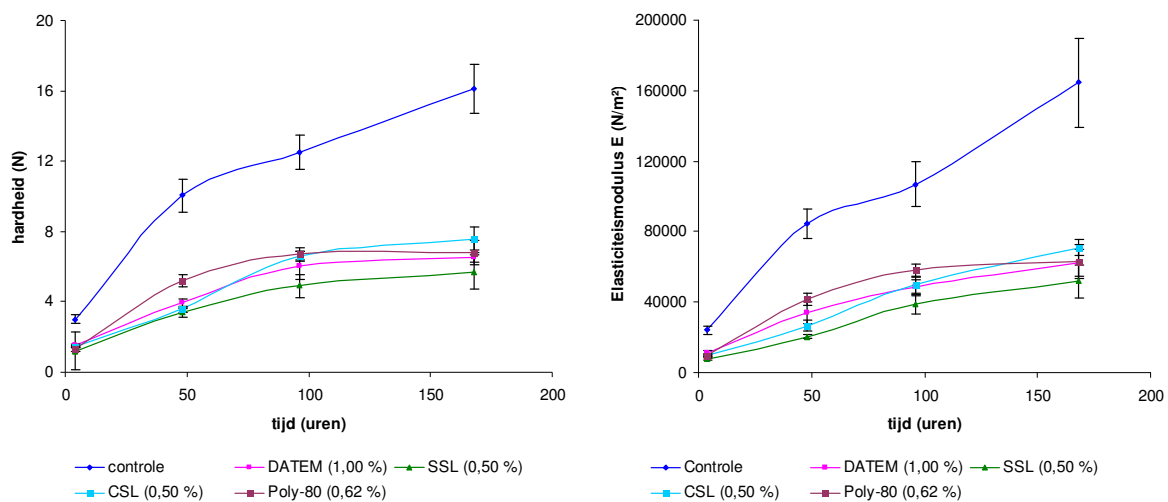
De waarden van de gascelfractie, bepaald met beeldanalyse, waren drie keer kleiner dan de porositeit, bepaald met akoestische analyse. Deze parameters zijn immers niet hetzelfde en werden bovendien op een totaal verschillende manier bepaald. De gascelfractie geeft de fractie gascellen weer van het binair beeld. Het is dus de ‘twee-dimensionale porositeit’ van het oppervlak van een broodsneede. De porositeit die bepaald werd via een reflectieopstelling met ultrasonische golven is de drie-dimensionale open porositeit van het broodkruim. Het is dan ook begrijpelijk dat de gascelfractie significant wordt onderschat met digitale beeldanalyse. Hiervoor zijn er twee redenen. Het systeem heeft een beperkte resolutie. Een tweede reden is dat de gemiddelde grootte van een gascel aan het oppervlak van een broodsneede kleiner is dan de werkelijke celgrootte. Het is immers onmogelijk om alle cellen precies in twee te delen bij het snijden (Zghal *et al.*, 1999).

Aangezien met akoestische analyse wel significante verschillen kunnen aangetoond worden tussen brood met additie van verschillende emulgatoren, kan hieruit besloten worden dat akoestische analyse van broodkruim een gevoeliger methode is dan digitale beeldanalyse om broodkruim te karakteriseren en om verschillende soorten fijn broodkruim te vergelijken. De standaarddeviaties waren dan ook veel kleiner dan bij beeldanalyse.

6.3. Invloed van emulgatoren op broodveroudering

6.3.1. Mechanische analyse

Het hard worden van broodkruim tijdens de bewaring is de gemakkelijkste eigenschap om broodveroudering objectief te definiëren en te onderzoeken (Persaud *et al.*, 1990). De consument beoordeelt de versheid van brood vooral op deze eigenschap (Bashford en Hartung, 1976). In dit onderzoek werd de hardheid van broodkruim nagegaan via indrukkingstesten. In Figuur 6.6 wordt de evolutie van de hardheid en de elasticiteitsmodulus van controlebrood en emulgatorbrood tijdens veroudering weergegeven. De broden werden bewaard bij kamertemperatuur. In Tabel 6.14 worden de hardheden van het kruim na 7 dagen bewaring van de broden met verschillende emulgatoren weergegeven.



Figuur 6.6: Hardheid (links) en elasticiteitsmodulus (rechts) van controlebrood en van brood met toevoeging van emulgatoren tijdens veroudering. De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

In Figuur 6.6 waren twee zones te onderscheiden in de curven. Tijdens het begin van de veroudering stegen de curves snel. Na een bepaald tijd daalde de helling van de curves. Zowel de helling in de eerste zone als in de tweede zone was kleiner van het emulgatorbrood dan van het controlebrood. Controlebrood was initieel harder dan emulgatorbrood en verouderde ook veel sneller. Dit is te zien in Figuur 6.6, maar bleek ook uit statistisch onderzoek van de resultaten. De hardheid van het kruim van controlebrood nam elke meting (na 2 uur bakken, na 2 dagen, na 4 dagen en na 7 dagen) significant toe. Er waren ook verschillen tussen de emulgatoren onderling. De hardheid van het kruim van brood met CSL nam elke meting significant toe. De hardheid van het broodkruim met de andere emulgatoren verschilde echter

niet meer significant na 4 dagen en na 7 dagen veroudering. Dus CSL vertraagde de broodveroudering minder efficiënt dan de andere emulgatoren.

De initiële hardheid van de verschillende emulgatorbroden was niet significant verschillend. Na 2 dagen veroudering was het kruim van brood met SSL significant zachter dan het brood met Poly-80. Na 4 dagen bewaring was het SSL-brood ook significant zachter dan het brood met CSL. Na 7 dagen bewaring waren de verschillen in efficiëntie van het kruimverzachtend effect tussen de verschillende emulgatoren verdwenen. Hieruit blijkt, alsook uit Figuur 6.6, dat het brood met Poly-80 in het begin sneller verouderde in vergelijking met de andere emulgatoren. Op het einde verouderde het echter veel trager. Voor CSL werd net het omgekeerde effect vastgesteld: brood met CSL verouderde in het begin veel trager dan brood met Poly-80, maar op het einde sneller dan brood met Poly-80. Op elk ogenblik was het kruim van brood met SSL zachter dan met DATEM, maar het verschil was nooit significant. De concentratie DATEM was echter dubbel zo groot als SSL. De vorm van de curves van de elasticiteitsmoduli tijdens veroudering was heel gelijkaardig als de hardheidscurves. De conclusies zijn dus hetzelfde.

Tabel 6.14: Hardheid van broodkruim met verschillende emulgatoren na 168 uur bewaring bij kamertemperatuur.

Concentratie emulgator (w/w)	Hardheid (N) na 168 uur
Controle	16,1 ± 1,4 a
DATEM (1,00 %)	6,5 ± 0,3 b
SSL (0,50 %)	5,7 ± 1,0 b
CSL (0,50 %)	7,6 ± 0,7 b
Poly-80 (0,62 %)	6,8 ± 0,7 b

De waarden zijn gemiddelden van vier herhalingen. Waarden in dezelfde kolom gevolgd door een verschillende letter zijn significant verschillend ($P < 0,05$).

6.3.2. Discussie

De emulgatoren versterkten het glutennetwerk waardoor de gasretentiecapaciteit toenam. Hierdoor verhoogde het broodvolume van het emulgatorbrood en daalde de densiteit. Bijgevolg was het kruim zachter in vergelijking met controlebrood. Het volume-effect was een belangrijke verklaring voor het initieel zachter kruim van emulgatorbrood. Tijdens de veroudering veranderde het volume van de broden echter nauwelijks. Dus kan het volume-effect de tragere verouderingssnelheid van emulgatorbrood tijdens bewaring niet (volledig)

verklaren. Aangezien alle broden in plastic zakken werden verpakt, droeg uitdroging (migratie van vocht van de korst naar de omgeving) niet bij tot verschillen in verouderingssnelheid.

Naast het volume-effect waren er nog belangrijke manieren waarop emulgatoren de kruimhardheid beïnvloedden. Emulgatoren vormden V-complexen met amylose. Deze inclusiecomplexen konden niet bijdragen tot de vorming van kristalstructuren, waardoor emulgatorbrood zachter was. De amylosekristallisatie was vooral verantwoordelijk voor de initiële hardheid van brood en speelde geen belangrijke rol in de broodveroudering (Eliasson en Larsson, 1993). Dus droegen de inclusiecomplexen niet bij tot de tragere verouderingssnelheid van emulgatorbrood. Aangezien emulgatoren verschilden in de capaciteit om complexen te vormen, was de competentie om de initiële broodhardheid te laten dalen verschillend (Knightly, 1996). DATEM en CSL zijn grotere moleculen dan SSL. Hierdoor konden ze minder gemakkelijk in de holte van de amylosehelix dringen. Dit kan de reden zijn waarom de initiële hardheid van DATEM- en CSL-brood iets groter was dan van SSL-brood. De buitenste ketens van amylopectine konden ook inclusiecomplexen vormen met emulgatoren, maar in veel mindere mate dan amylose ten gevolge van de vele vertakkingen in amylopectine (Zobel en Kulp, 1996). Aangezien de amylopectineretrogradatie traag vordert (duurt enkele dagen tot weken), is de amylopectineretrogradatie in brood bepalend voor de structuur- en kristalvorming (hard worden) op lange termijn. Dus was de vorming van inclusiecomplexen tussen amylopectine en emulgatoren een belangrijke reden voor het trager hard worden van emulgatorbrood, in vergelijking met controlebrood. De inclusiecomplexen reduceerden immers de maximale hoeveelheid van zetmeelretrogradatie. De Stefanis *et al.* (1977) toonden aan dat de complexvorming tussen emulgatoren en amylopectine veel beperkter is dan met amylose. Dus kon dit mechanisme niet volledig de tragere verouderingssnelheid van emulgatorbrood verklaren.

Emulgatoren oefenden ook een effect uit op de kruimhardheid door hun adsorptie op het oppervlak van de zemeelgranules (en zo de opname van water van het gluten door zetmeel tijdens de veroudering te beperken) en de complexatie van amylose op het buitenoppervlak. Ze reduceerden ook de uitloging van amylose tijdens de zetmeelverstijfseling (Ponte *et al.*, 1973; Schoch, 1965).

Martin *et al.* (1991) postuleerden dat de verknoppingen tussen zetmeel- en proteïnemoleculen verantwoordelijk zijn voor de broodveroudering. Via interacties met gluten vertragen de emulgatoren zo de veroudering.

6.4. Conclusie

De deegontwikkeling werd versneld door toevoeging van emulgatoren. Na het bereiken van de maximale deegsterkte bleef deze bovendien langer behouden. Emulgatoren maakten het deeg dus weerstandiger aan overknenen. DATEM en SSL beïnvloedden de reologische eigenschappen van het deeg het meest. CSL en vooral Poly-80 waren minst doeltreffend. Emulgatoren verhoogden de deegstabiliteit. De anionische emulgatoren DATEM, SSL en CSL hadden het grootste effect. De invloed van Poly-80 was minder uitgesproken.

Ten gevolge van de versteviging van het glutennetwerk en de gascelstabilisatie verhoogden de emulgatoren het broodvolume. Vanaf een bepaalde concentratie emulgator had extra toevoeging ervan geen toename van het broodvolume meer tot gevolg. DATEM en SSL verhoogden de broodvolumes het meest. Poly-80 had minst impact.

Met behulp van digitale beeldanalyse kon geen onderscheid gemaakt worden tussen het broodkruim van controlebrood en de broden met emulgator. Uit de grotere standaarddeviaties van de parameters van het controlebrood kon wel afgeleid worden dat dit kruim minder homogeen was. Dit kon ook afgeleid worden uit de akoestische analyse. Een grotere tortuositeit van emulgatorbrood hield ook in dat er meer kleine gascellen waren in het kruim en dat het dus fijner was. Toevoeging van DATEM resulteerde in significant kleinere scheurtjes in de gascelwanden in vergelijking met controlebrood.

De emulgatoren vertraagden in sterke mate de broodveroudering. Tussen de emulgatoren onderling waren de verschillen in verouderingssnelheid klein.

7. Impact van redoxagentia op broodbereiding en –veroudering

In tegenstelling tot emulgatoren hebben redoxagentia wel een invloed op covalente bindingen, namelijk op de disulfidebindingen in de glutenproteïnen. De redoxagentia die gebruikt werden waren kaliumjodaat, kaliumbromaat en glutathion. Er werd gewerkt met twee types bloem, namelijk bloem van Legattarwe en commerciële biscuiteriebloem. De opbouw en de kwantiteit van de glutenproteïnen in deze twee types bloem was verschillend. Vermits de kwaliteit en de kwantiteit van de glutenproteïnen een belangrijke rol spelen in de broodbereiding, verschilden de deegeigenschappen en de eigenschappen van het brood. De metingen die werden uitgevoerd waren dezelfde als bij de experimenten met emulgatoren. Door de invloed van de redoxagentia op deze twee types bloem na te gaan en te vergelijken met de resultaten uit de experimenten met de broden waar emulgator aan toegevoegd werd, kon interessante informatie over de structuur van glutenproteïnen en hun rol in de deegvorming, de broodkruimstructuur en de broodveroudering bekomen worden.

7.1. Invloed van redoxagentia op deegeigenschappen

7.1.1. Invloed van redoxagentia op farinograafparameters

Alle farinogrammen werden bij de optimale waterabsorptie genomen, nl. 59,6 % voor de Legatbloem en 56,4 % voor de commerciële biscuiteriebloem. De farinograafparameters die gebruikt werden om de impact van redoxagentia op de deegreologie na te gaan waren dezelfde als in vorige hoofdstuk. In Tabel 7.1 zijn de waarden van deze parameters weergegeven voor Legatbloem en commerciële bloem met toevoeging van jodaat, bromaat en glutathion.

Tabel 7.1: Farinograafparameters van Legatbloem en commerciële bloem met toevoeging van redoxagentia.

Concentratie redoxagens	Ontwikkelingstijd (min)		Stabiliteit (min)		Tolerantie index (BE)	
	Legat	Commercieel	Legat	Commercieel	Legat	Commercieel
Jodaat						
0 ppm	1,2	1,2	2,3	3,4	45	48
10 ppm	1,5	18,7	6,3	18,5	41	386
20 ppm	2,3	8,7	7,3	10,6	18	27
40 ppm	2,2	0,6	7,7	0,0	12	91
60 ppm	2,5	1,3	7,8	9,8	13	28
Bromaat						
0 ppm	1,2	1,2	2,3	3,4	45	48
10 ppm	1,7	1,3	3,5	2,3	48	49
20 ppm	1,9	1,4	2,1	2,7	65	50
40 ppm	2,2	1,5	2,9	2,4	49	67
60 ppm	2,2	0,6	2,8	14,0	59	19
Glutathion						
0 ppm	1,2	1,2	2,3	3,4	45	48
20 ppm	1,7	1,8	5,5	7,4	57	33
40 ppm	2,3	2,0	18,8	6,1	36	37
60 ppm	2,2	1,2	4,1	3,7	47	75
120 ppm	2,0	2,7	4,3	7,1	40	52

De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

Bij toevoegen van jodaat aan de Legatbloem nam de ontwikkelingstijd toe, alsook de deegstabiliteit. Legatbloem waaraan 60 ppm jodaat werd toegevoegd, behield 2,4 keer langer zijn maximale consistentie dan controledaag. De mengtolerantie index nam duidelijk af (een afname met 71 % in aanwezigheid van 60 ppm jodaat in vergelijking met controledaag). Ook bij toevoegen van bromaat aan Legatbloem nam de deegontwikkelingstijd toe, maar in mindere mate dan bij jodaat. In tegenstelling tot jodaat werden de deegstabiliteit en mengtolerantie index nauwelijks beïnvloed. Toevoeging van 60 ppm bromaat verlengde het behoud van de maximale deegsterkte met 22 % in vergelijking met controledaag. Bij additie van glutathion aan Legatbloem nam de deegstabiliteit toe in vergelijking met controledaag.

De waarden van de farinograafparameters van commerciële bloem met jodaat varieerden nogal. Het was wel duidelijk dat de deegstabiliteit toenam bij additie van jodaat in vergelijking met controleddeeg. Bij lage concentraties bromaat bleven de farinograafparameters vergelijkbaar met die van controleddeeg. Pas bij 60 ppm bromaat was een daling van de deegontwikkelingstijd, een toename van de deegstabiliteit en een daling van de mengtolerantie index merkbaar. De ontwikkelingstijd en de tolerantie index namen toe bij toevoeging van glutathion aan commerciële bloem.

7.1.2. Invloed van redoxagentia op mixograafparameters

Van de commerciële bloem werden mixogrammen genomen bij verschillende waterabsorpties om de meest geschikte waarde te bepalen. Er werd bepaald dat 54,4 % waterabsorptie het beste mixogram gaf. Alle mixogrammen van de biscuiteriebloem werden bij deze waterabsorptie genomen. De mixogrammen van tarwebloem (variëteit Legat) werden genomen bij 54,9 % waterabsorptie. De mixograafparameters die gebruikt werden om de impact van redoxagentia op de deegreologie na te gaan zijn dezelfde als bij de emulgatoren. In Tabel 7.2 zijn de waarden van deze parameters weergegeven voor Legatbloem en commerciële bloem met toevoeging van jodaat, bromaat en glutathion. In Figuur 7.1 worden de mixogrammen weergegeven van de twee types bloem met telkens de hoogste concentratie van een oxidans en een reductans.

Deeg van Legatbloem waar jodaat werd aan toegevoegd, ontwikkelde trager dan controleddeeg. De andere parameters vertoonden geen duidelijke trend. Wanneer bromaat werd toegevoegd, kwam het deeg ook trager tot ontwikkeling. De deegsterkte nam af en de daling van de deegsterkte, 3 minuten na de piek, werd duidelijk kleiner naarmate meer bromaat werd toegevoegd. Het effect van glutathion op de deegontwikkelingstijd van Legatbloem was heel duidelijk. Naarmate meer glutathion werd toegevoegd, daalde de ontwikkelingstijd: 120 ppm glutathion deed het deeg bijna dubbel zo snel ontwikkelen. De sterkte van het deeg met glutathion was lager dan van controleddeeg. Het deeg was dan ook veel kleveriger. Dit was de oorzaak van de kleinere variatie in uitwijking van de zwenkbare arm (het mixogram was nauwer) zoals te zien op Figuur 7.1 (C). Dit hield verband met de daling van de vereiste kneedarbeid om een optimaal ontwikkeld deeg te bekomen bij toevoeging van reductoren, zoals aangetoond door Fitchett en Frazier (1987). De oppervlakte onder het mixogram is een

maat voor de arbeid die nodig is om tot een optimaal gekneet deeg te komen. Dit daalde dan ook bij toevoegen van glutathion. Dit was vooral het gevolg van de daling van de deegontwikkelingstijd. De daling van de deegsterkte, 3 minuten na de piek, verlaagde pas bij hoge concentraties.

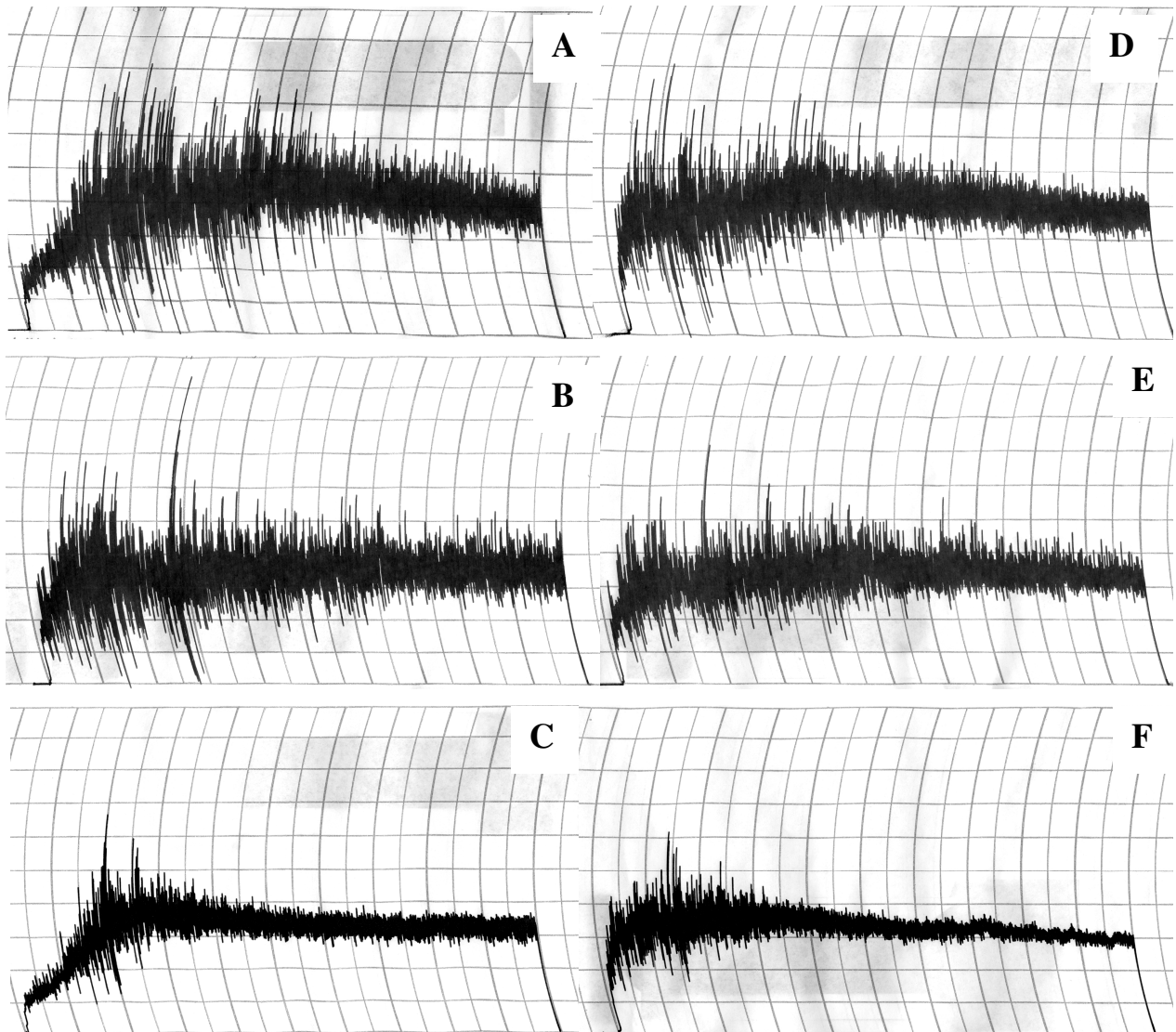
Tabel 7.2: Mixograafparameters van Legatbloem en commerciële bloem met toevoeging van redoxagentia.

Concentratie redoxagens	Deegontwikkelingstijd (min)		Deegsterkte (AE)		Daling deegsterkte 3 min na piek (AE)	
	Legat	Commercieel	Legat	Commercieel	Legat	Commercieel
Jodaat						
0 ppm	3,71	4,05	4,57	4,42	0,45	0,33
10 ppm	4,35	4,03	4,58	3,82	0,46	0,58
20 ppm	4,60	4,15	4,50	3,96	0,38	0,21
40 ppm	4,43	4,10	4,79	3,83	0,58	0,21
60 ppm	4,35	4,22	4,25	3,63	0,50	0,16
Bromaat						
0 ppm	3,71	4,05	4,57	4,42	0,45	0,33
10 ppm	4,80	3,98	4,38	4,05	0,41	0,26
20 ppm	4,80	3,95	4,00	3,30	0,29	0,00
40 ppm	4,45	3,73	4,08	3,73	0,17	0,27
60 ppm	4,56	3,55	3,71	3,59	0,13	0,14
Glutathion						
0 ppm	3,71	4,05	4,57	4,42	0,45	0,33
20 ppm	3,63	2,65	3,45	4,10	0,45	0,27
40 ppm	3,10	2,88	4,23	3,77	0,45	0,41
60 ppm	2,03	2,13	3,86	4,18	0,41	0,27
120 ppm	2,00	1,43	3,64	3,64	0,27	0,31

De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

De deegsterkte van commerciële bloem nam af bij toevoegen van jodaat. Het deeg was ook stabiel en de deegsterkte nam dus trager af dan van controledaeg. Lage concentraties bromaat beïnvloedden de deegontwikkelingstijd niet. Bij hogere concentraties gebeurde de deegvorming sneller. De deegsterkte daalde en bovendien maakte bromaat, net als jodaat, het deeg stabiel. De deegconsistentie bij overkneeden daalde trager dan van controledaeg. Het

effect van glutathion op de deegontwikkelingstijd van de commerciële bloem was heel groot: in aanwezigheid van 120 ppm glutathion bedroeg de ontwikkelingstijd slechts een derde van controledeeg. Reeds bij lage concentraties daalde de ontwikkelingstijd drastisch. Het deeg werd ook merkkelijk zwakker bij toevoeging van glutathion. Het deeg was dan ook heel erg kleverig. Toevoegen van glutathion maakte het deeg niet toleranter tegen overknedem.



Figuur 7.1: Mixogrammen van tarwebloem variëteit Legat en commerciële bloem met redoxagens: (A) Legat: controle; (B) Legat + 60 ppm bromaat; (C) Legat + 120 ppm glutathion; (D) commerciële bloem: controle; (E) commerciële bloem + 60 ppm bromaat; (F) commerciële bloem + 120 ppm glutathion.

7.1.3. Discussie

Farinograafparameters

De oxidantia verhoogden de deegontwikkelingstijd van Legatbloem. Bromaat en jodaat oxideerden immers vrije thiolgroepen ter vorming van disulfidebindingen. Door het toegenomen aantal verknopingen tussen de proteïnen verstevigde het glutennetwerk (Veraverbeke *et al.*, 2000). Aangezien het deeg van Legatbloem met oxidantia zich trager ontwikkelde, impliceert dit dat Legatbloem van nature een stevig glutennetwerk vormde. Doordat het glutennetwerk nog steviger werd ten gevolge van oxidatie van vrije thiolgroepen, werd het netwerk te stevig waardoor het deeg zich trager ontwikkelde. Het deeg behield wel langer zijn maximale consistentie door de extra disulfidebindingen die gevormd werden. Hierdoor nam de deegstabiliteit toe, en was de consistentiedaling, 5 minuten na het bereiken van de hoogste deegweerstand, kleiner bij hogere concentraties jodaat. Jodaat maakte het deeg zo toleranter tegen overknedden. Dit was niet het geval bij bromaat, zoals te zien in Tabel 7.1. Ook de toename van de deegontwikkelingstijd was het grootst bij jodaat. De reductie van bromaat tot bromiet verloopt immers traag. Hierdoor kon bromaat zijn invloed tijdens de deegfase nauwelijks uitoefenen. Jodaat daarentegen werd tijdens de kneedfase bijna volledig gereduceerd (Blokma, 1964). Door de snellere inwerking van jodaat, alsook door zijn hogere oxidatiepotentiaal, was minder jodaat dan bromaat nodig om de reologische deegeigenschappen tot eenzelfde niveau te wijzigen (Tabel 7.1).

Vermits oxidantia de deegontwikkelingstijd van de koekjesbloem verlaagden, kan hieruit besloten worden dat de koekjesbloem een zwakker glutennetwerk vormde. Het deeg was van nature minder stevig en dus kleveriger. Wanneer het relatief zwakke netwerk verstevigd werd door oxidatie van vrije thiolgroepen, kwam het deeg bijgevolg sneller tot ontwikkeling en bereikte het sneller zijn maximale consistentie. Het deeg was dan ook stabiel en behield dus langer zijn maximale sterkte. Dit impliceert dan ook dat de consistentie minder snel daalde na het bereiken van haar maximum.

Toevoegen van vrije thiolgroepen via glutathion leidde tot het breken van disulfidebindingen in het polymeernetwerk via sulfhydryl-disulfide-uitwisselingsreacties. Glutathion verzwakte dus het proteïnenetwerk. In afwezigheid van glutathion kon de maximale consistentie niet lang behouden worden omdat het netwerk kapot werd getrokken. In aanwezigheid van glutathion was het netwerk zwakker en dus plastischer en meer flexibel. Het glutennetwerk

werd minder snel kapot getrokken en dus nam de stabiliteit van het deeg toe: de maximale deegsterkte werd langer behouden.

Mixograafparameters

Jodaat en bromaat verhoogden de deegontwikkelingstijd van Legatbloem in kleine mate. Deze reductoren oxideerden vrije thiolgroepen ter vorming van disulfidebindingen (Bloksma, 1964). Door het toegenomen aantal verknoppingen tussen de proteïnen verstevigde het glutennetwerk. Door toevoeging van oxidantia werd het proteïnnetwerk, dat van nature reeds stevig was, nog steviger. Hierdoor kwam het deeg trager tot ontwikkeling en duurde het langer vooraleer de maximale deegsterkte van Legatbloem bereikt werd.

Oxidantia verlaagden de deegontwikkelingstijd van de commerciële bloem. Het deeg, dat van nature eerder zwak was, werd verstevigd door vorming van disulfidebruggen ten gevolge van de oxidatie van vrije thiologroepen. Hierdoor werd de maximale deegsterkte sneller bereikt en versnelde de ontwikkelingstijd van het deeg. Het deeg was dan ook stabiel en behield langer zijn maximale consistentie.

De effecten van glutathion op het mixogram waren heel duidelijk. Glutathion leidde tot het breken van disulfidebindingen in het polymeernetwerk via sulphydryl-disulfide-uitwisselingsreacties (Lavelli *et al.*, 1996). Hierdoor kon het deeg zich reeds bij lage concentraties sneller ontwikkelen. Ook de maximale deegconsistentie daalde door het splitsen van disulfidebindingen. Het verzwakken van het glutennetwerk was de oorzaak dat na kneden het deeg uiterst plakkerig en gemakkelijk uitrekbaar was, terwijl de elastische eigenschappen praktisch nihil waren. Dit duidde op de vorming van kortere polymeren. Door het weinig elastisch karakter was de variatie van de uitwijking van de zwenkbare arm veel kleiner dan bij de oxidantia: het mixogram was veel nauwer (Figuur 7.1 (F)). Ook het oppervlak onder het mixogram (een maat voor de kneedarbeid) daalde merkelijk. Dit was vooral het gevolg van de daling van de deegontwikkelingstijd.

Lang *et al.* (1992) hebben de invloed van jodaat, bromaat en L-cystine nagegaan op de mixograafparameters. Hun resultaten kwamen goed overeen met deze gegevens. Jodaat vertraagde de deegontwikkeling. Bromaat had echter geen significante verandering in deegontwikkelingstijd tot gevolg. Zowel jodaat als bromaat hadden geen grote veranderingen in de deegsterkte. L-cystine reduceerde de kneedtijd, net als glutathion. De deegsterkte werd weinig beïnvloed, maar de oppervlakte onder het mixogram nam wel af.

Zoals reeds hoger vermeld vormde de commerciële bloem een zwakker glutennetwerk dan de Legatbloem. Dit werd bevestigd uit de mixograafparameters: de consistentie van het deeg van de commerciële bloem was kleiner dan van Legatdeeg. De mixograafcurve van de biscuiteriebloem daalde ook meer na het bereiken van de piek. Bovendien voelde het deeg van Legat veel steviger aan en was het minder kleverig.

Er zijn essentiële verschillen tussen de farinograaf en de mixograaf. Hierdoor kwamen de resultaten van de mixograaf en de farinograaf niet steeds met elkaar overeen (Faridi, 1985). Bovendien is de definitie van de mengtolerantie index (bij de farinograaf) verschillend van de definitie van de consistentiedaling in de mixogrammen. In het mixogram werd de daling van de deegsterkte berekend drie minuten na het bereiken van de piek. In het farinogram echter werd de consistentiedaling gemeten vijf minuten na het bereiken van de hoogste deegweerstand.

7.2. Invloed van redoxagentia op broodeigenschappen

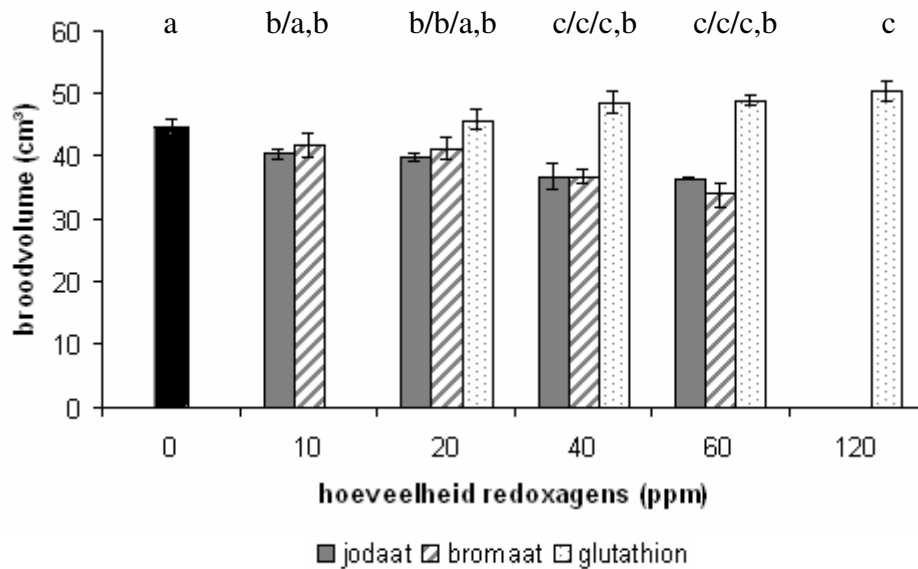
7.2.1. Broodvolume en –densiteit

Constante kneedtijd

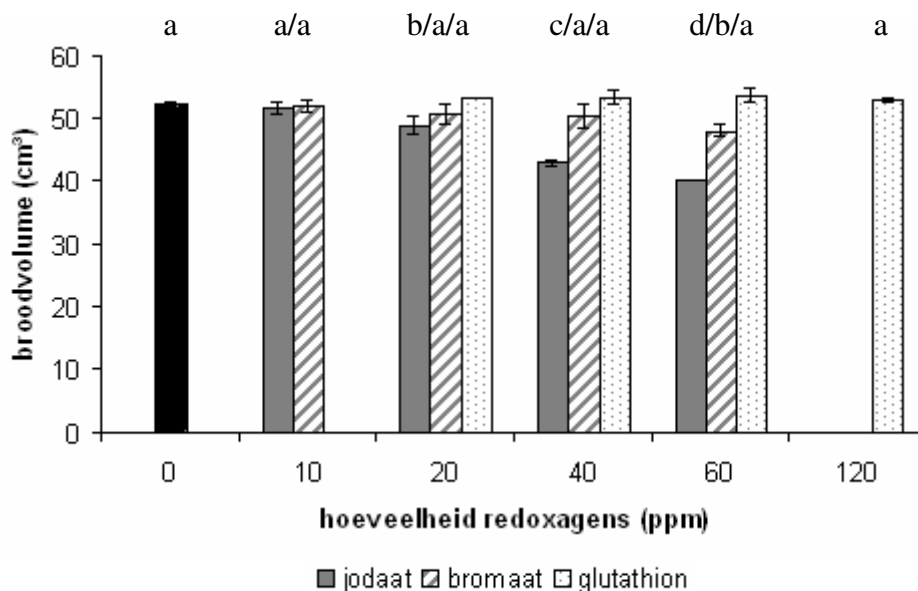
In Figuur 7.2 en Figuur 7.3 zijn de broodvolumes (kleine broodjes) weergegeven van respectievelijk brood van Legatbloem en brood van commerciële bloem met additie van verschillende concentraties redoxagens. Het is belangrijk om op te merken dat in deze experimenten de kneedtijd niet werd veranderd met toenemende concentraties redoxagens.

Oxidantia hadden een negatieve invloed op het broodvolume, zowel bij de Legatbloem als bij de commerciële bloem. De impact van jodaat op het volume van Legatbrood verschilde niet significant van bromaat. Bij de commerciële bloem was wel een significant verschil merkbaar tussen de broodvolumes bij toevoeging van jodaat en bromaat, behalve bij 10 ppm oxidans. Jodaat verlaagde het broodvolume significant vanaf een concentratie van 20 ppm. Bromaat had pas een significant effect vanaf 60 ppm. Bij deze concentratie was het verschil tussen beide oxidantia op het broodvolume ten opzichte van de controle 15,3 %: jodaat had een volumedaling met 23,4 % tot gevolg, en bromaat slechts met 8,1 %. Bij lage concentraties was het effect van jodaat op Legatbloem veel groter dan op de commerciële bloem. Bij hogere

concentraties werd het verschil kleiner. Bij lage concentraties bromaat werd hetzelfde fenomeen waargenomen, maar bij hogere concentraties bleef het effect op Legatbloem veel groter. Bromaat had reeds vanaf 20 ppm een significante volumedaling op het Legatbrood tot gevolg. Bij brood van commerciële bloem was dat pas vanaf 60 ppm.



Figuur 7.2: Volume van kleine broodjes met toevoeging van verschillende hoeveelheden redoxagens aan tarwebloem variëteit Legat. De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem. De waarden zijn gemiddelden van drie herhalingen. Broodvolumes met een verschillende letter bovenaan de grafiek zijn significant verschillend ($P < 0,05$).



Figuur 7.3: Volume van kleine broodjes met toevoeging van verschillende hoeveelheden redoxagens aan commerciële bloem voor biscuiterie. De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem. De waarden zijn gemiddelden van drie herhalingen. Broodvolumes met een verschillende letter bovenaan de grafiek zijn significant verschillend ($P < 0,05$).

Toevoeging van glutathion had een positief effect op het broodvolume van het Legatbrood. Een concentratie van 120 ppm deed het volume van Legatbrood met 12,6 % stijgen ten opzichte van de controle. Toevoeging van glutathion aan commerciële bloem had echter geen significante verschillen in broodvolume tot gevolg. Vanaf 20 ppm glutathion werd het deeg reeds kleveriger en slapper dan controledaeg. Dit effect was veel meer uitgesproken bij de commerciële bloem. Vanaf 60 ppm glutathion werd het deeg van de biscuiteriebloem zo goed als onhandelbaar door de enorme kleverigheid en gebrek aan sterkte. De invloed van glutathion op het broodvolume was echter veel kleiner dan van de oxidantia.

Er was een opmerkelijk kleurverschil in broodkorst vast te stellen: broden gebakken met toenemende hoeveelheden oxidantia werden bleker, die met toenemende concentraties glutathion donkerder.

In Tabel 7.3 zijn de dichtheden van de kleine broodjes (10 g) met verschillende concentraties redoxagens weergegeven. Zoals hoger reeds opgemerkt hadden de reductoren een negatief effect op het broodvolume. Dit vertaalde zich in een toename van de dichtheid. Glutathion vergrootte het broodvolume, waardoor de dichtheid daalde. De conclusies zijn dus analoog als bij de broodvolumes.

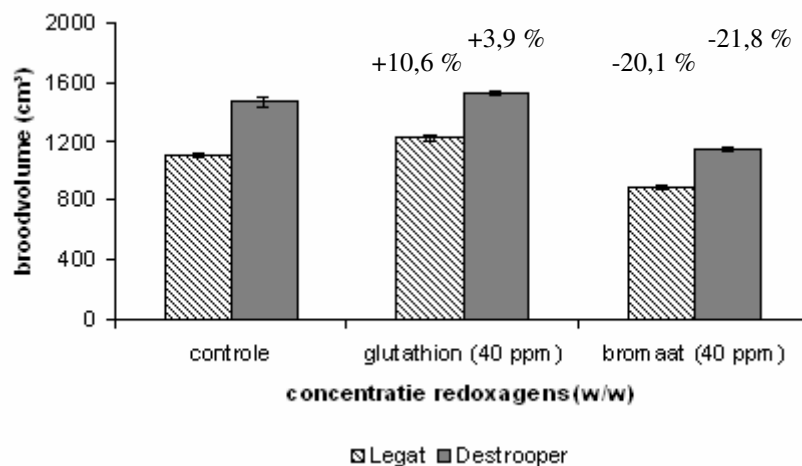
Tabel 7.3: Dichtheid van kleine broodjes van Legatbloem en biscuiteriebloem met verschillende redoxagentia.

Concentratie (w/w) op droge stof bloem	Dichtheid (g/cm ³)					
	Jodaat		Bromaat		Glutathion	
	Legat	Biscuiterie	Legat	Biscuiterie	Legat	Biscuiterie
A	0,29 c	0,24 d	0,29 c	0,24 b	0,29 c	0,24 a
B	0,33 b	0,25 d	0,33 c	0,24 b	0,29 c,b	0,24 a
C	0,34 b	0,26 c	0,34 c	0,25 b	0,27 b,a	0,24 a
D	0,37 a	0,31 b	0,37 b	0,25 b	0,27 b,a	0,24 a
E	0,37 a	0,33 a	0,37 a	0,27 a	0,26 a	0,24 a

Voor jodaat en bromaat zijn A, B, C, D en E respectievelijk 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm en 60 ppm. Voor glutathion zijn A, B, C, D en E respectievelijk 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm en 120 ppm. De waarden zijn gemiddelden van drie herhalingen. De relatieve standaarddeviaties waren kleiner dan 5,1 %. Waarden in dezelfde kolom gevolgd door een verschillende letter zijn significant verschillend ($P < 0,05$).

Er werden ook grote broden (400 g) gebakken met additie van 40 ppm bromaat en 40 ppm glutathion aan beide bloemtypes. De volumes werden gemeten en zijn weergegeven in Figuur 7.4. Bovenaan de grafiek staat de procentuele volumetoename ten opzicht van controlebrood. De dichtheden van deze broden zijn in Tabel 7.4 weergegeven. Alle broodvolumes en dichtheden verschilden significant van elkaar ($P < 0,05$).

Controlebrood met de commerciële bloem was 32 % groter dan het controlebrood van Legatbloem. Bromaat werkte op beide bloemtypes ongeveer even efficiënt in. Het effect van glutathion op Legatbloem daarentegen was veel groter dan op de commerciële biscuiteriebloem. De effecten waren dus vergelijkbaar met die van kleine broodjes. Uit de dichtheden in Tabel 7.4 volgen dezelfde conclusies.



Figuur 7.4: Volume van grote broden met toevoeging van welbepaalde concentraties redoxagens aan twee bloemtypes. De waarden zijn gemiddelden van acht herhalingen. Bovenaan de grafiek staat de procentuele volumetoename ten opzicht van controlebrood. De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

Tabel 7.4: Dichtheid van grote broden op twee bloemtypes bij welbepaalde concentraties redoxagens.

Concentratie redoxagens (w/w; droge stof bloem)	Dichtheid (g/cm ³)	
	Legat	Biscuiterie
Controle	0,35 a	0,26 a
Glutathion (40 ppm)	0,31 b	0,25 b
Bromaat (40 ppm)	0,44 c	0,34 c

De waarden zijn gemiddelden van acht herhalingen. De relatieve standaarddeviaties waren kleiner dan 2,5 %. Waarden in dezelfde kolom gevolgd door een verschillende letter zijn significant verschillend ($P < 0,05$).

Variërende kneedtijd

Uit de mixograafparameters kon afgeleid worden dat redoxagentia een invloed hebben op de deegontwikkelingstijd (*cf.* 7.1.2). In bovenstaande bakexperimenten werd de kneedtijd echter niet veranderd met toenemende concentraties redoxagens. Bij hoge hoeveelheden redoxagens kan verwacht worden dat het deeg onderkneet of overkneet wordt. Daarom werden baktesten uitgevoerd bij variërende kneedtijden op beide bloemtypes waarbij een hoge concentratie redoxagens (60 ppm bromaat en 60 ppm glutathion) gebruikt werd.

In Tabel 7.5 worden de broodvolumes van kleine broodjes (10 g) met Legatbloem bij variërende kneedtijd en redoxagentia weergegeven. De kneedtijd in cursief is de mengtijd die in de vorige bakexperimenten (met constante kneedtijd) werd gebruikt. Bij additie van 60 ppm bromaat werd het grootste broodvolume bereikt bij een kneedtijd van 4,8 minuten. Dat is 0,36 minuten korter dan de optimale kneedtijd van controlebrood. De optimale kneedtijd bij toevoeging van 60 ppm glutathion was ook 4,8 minuten. Het broodvolume wijzigde echter minder bij variërende kneedtijden in vergelijking met bromaat. Een vermindering van de kneedtijd met 1,8 minuten ten opzichte van het optimum deed het volume van brood met 60 ppm bromaat met 7,3 % dalen. Het volume van het brood met 60 ppm glutathion daalde slechts met ongeveer 0,7 %. Glutathion maakte het Legatdeeg dus minder gevoelig aan onderkneden.

Tabel 7.5: Broodvolumes van kleine broodjes met Legatbloem bij variërende kneedtijd en redoxagens.

Bromaat (60 ppm)		Glutathion (60 ppm)	
Kneedtijd (min)	Broodvolume (cm ³)	Kneedtijd (min)	Broodvolume (cm ³)
3,0	33,98 ± 0,47	2,4	50,07 ± 0,00
4,2	35,47 ± 0,21	3,6	50,32 ± 0,06
4,8	36,65 ± 0,22	4,8	50,57 ± 0,04
5,4	33,83 ± 1,76	5,4	48,83 ± 0,05

De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

In Tabel 7.6 worden de broodvolumes van kleine broodjes (10 g) met de commerciële biscuiteriebloem bij variërende kneedtijd en redoxagentia weergegeven. De kneedtijd in cursief is de mengtijd die in de vorige bakexperimenten (met constante kneedtijd) werd gebruikt. Bij additie van 60 ppm bromaat werd het grootste broodvolume bereikt bij een kneedtijd van 4,2 minuten, dus 0,6 minuten korter dan de optimale kneedtijd van controlebrood. De optimale kneedtijd bij toevoeging van 60 ppm glutathion was 3,6 minuten. Dat is 1,2 minuten korter dan de optimale kneedtijd van controlebrood. Een verlenging van de

kneedtijd met 1,2 minuten ten opzichte van de kneedtijd die resulteerde in het grootste broodvolume, deed het volume van brood met 60 ppm glutathion met 4,5 % dalen. Het volume van het brood met 60 ppm bromaat daalde minder, namelijk met 3,8 %.

Tabel 7.6: Broodvolumes van kleine broodjes met commerciële bloem bij variërende kneedtijd en redoxagens.

Bromaat (60 ppm)		Glutathion (60 ppm)	
Kneedtijd (min)	Broodvolume (cm ³)	Kneedtijd (min)	Broodvolume (cm ³)
3,6	49,83 ± 0,35	1,8	57,12 ± 1,72
4,2	50,53 ± 0,19	2,4	57,42 ± 0,35
4,8	49,83 ± 0,08	3,6	59,27 ± 1,51
5,4	48,63 ± 0,35	4,8	56,58 ± 0,35
6,0	47,83 ± 0,12		

De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

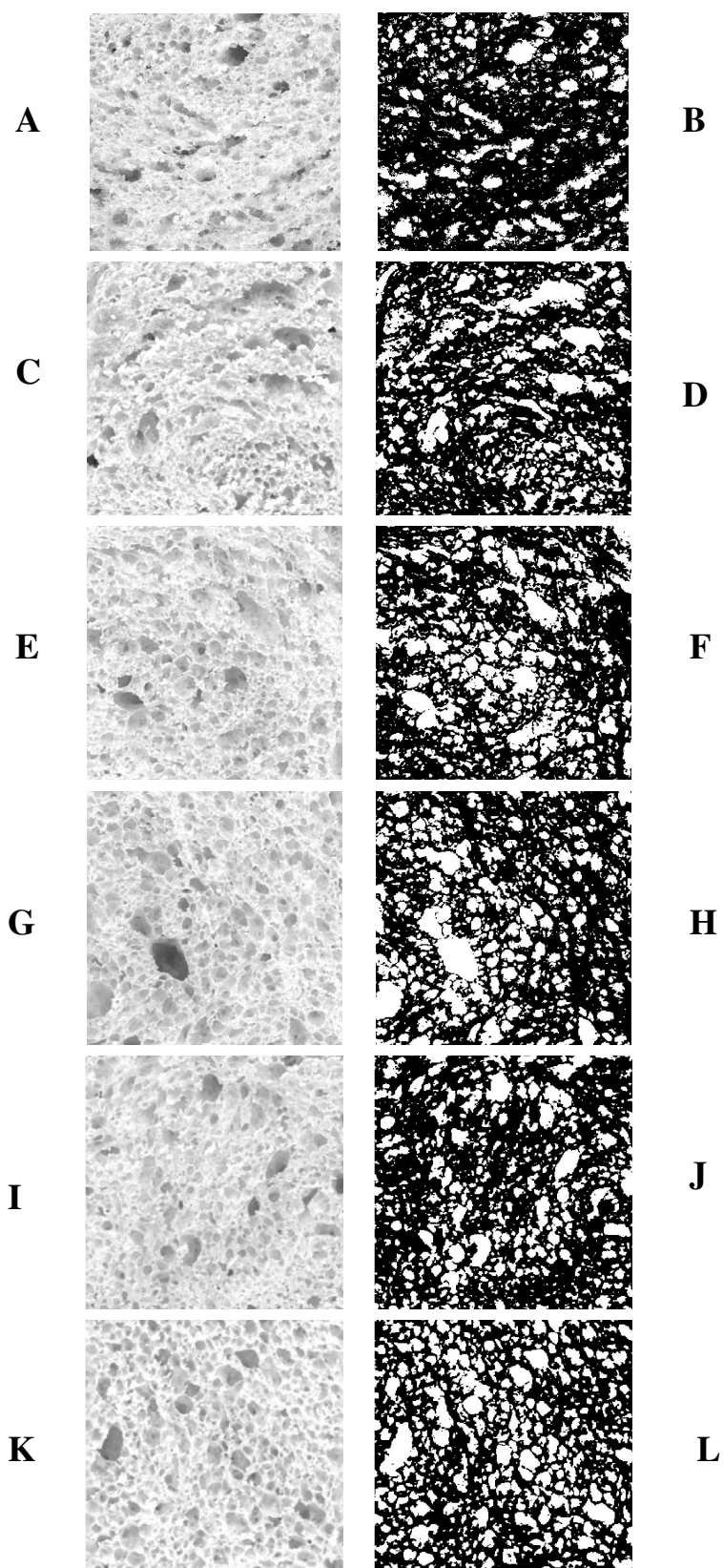
7.2.2. Beeldanalyse

In Tabel 7.7 zijn de resultaten weergegeven van de beeldanalyse van het kruim van brood van Legatbloem en commerciële bloem met toevoeging van redoxagentia. In Figuur 7.5 worden de digitale beelden en de binaire beelden van het broodkruim getoond.

Tabel 7.7: Resultaten van beeldanalyse van broodkruim van Legatbloem en commerciële bloem bij toevoeging van redoxagentia.

Concentratie redoxagens (w/w; ds bloem)	Gemiddelde celoppervlakte (mm ²)	Aantal cellen / cm ²	Gascelfractie (%)
Legatbloem			
Controle	0,33 ± 0,03 b	65,9 ± 12,0 a	31,0 ± 4,3 b
Bromaat (40 ppm)	0,32 ± 0,02 b	82,6 ± 11,3 a	30,9 ± 3,4 b
Glutathion (40 ppm)	0,41 ± 0,02 a	83,5 ± 4,8 a	35,7 ± 1,1 a
Commerciële bloem			
Controle	0,69 ± 0,05 a	44,8 ± 2,3 a,b	33,6 ± 2,7 a,b
Bromaat (40 ppm)	0,65 ± 0,06 a	43,3 ± 6,0 b	30,6 ± 3,4 b
Glutathion (40 ppm)	0,68 ± 0,05 a	50,1 ± 2,7 a	36,9 ± 2,6 a

Waarden in dezelfde kolom gevolgd door een verschillende letter zijn significant verschillend ($P < 0,05$).



Figuur 7.5: Digitale beelden in grijswaarden (links) en binaire beelden (rechts) van het centrale kruim van controlebrood van Legatbloem (A,B), brood van Legatbloem met 40 ppm bromaat (C,D), brood van Legatbloem met 40 ppm glutathion (E,F), controlebrood van commerciële bloem (G,H), brood van commerciële bloem met 40 ppm bromaat (I,J) en brood van commerciële bloem met 40 ppm glutathion (K,L). De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

De kruimkarakteristieken van brood van Legatbloem met additie van glutathion verschilden significant met het controlebrood en het brood met bromaat. Het kruim van het glutathionbrood had grotere cellen, meer cellen per oppervlakte-eenheid en een grotere gascelfractie. Zoals op de beelden te zien (Figuur 7.5 E,F), was het kruim fijner en homogener vergeleken met controlebrood. De parameters van brood met bromaat waren niet significant verschillend van controlebrood. De standaarddeviaties waren wel groter dan van controlebrood en brood met glutathion. Dit betekent dat het kruim van brood met bromaat minder homogeen was in vergelijking met controlebrood en brood met glutathion (Figuur 7.5 C,D).

Net zoals bij het Legatbrood, was het kruim van brood van commerciële biscuiteriebloem met glutathion fijner en homogener in vergelijking met brood met bromaat (Figuur 7.5 K,L). Dit kwam ook naar voor in de resultaten van de beeldanalyse: het aantal cellen per oppervlakte-eenheid en de gascelfractie waren significant groter dan bij brood met bromaat. Het kruim verschilde niet significant van het kruim van controlebrood. De verschillen tussen het glutathionbrood en het controlebrood waren dus groter bij de Legatbloem dan bij de commerciële bloem. De parameters van brood met bromaat waren niet significant verschillend van controlebrood. Zoals bij het Legatbrood waren de standaarddeviaties van de kruimkarakteristieken wel groter dan van controlebrood en brood met glutathion. Dit betekent dat het kruim van brood met bromaat heterogener was in vergelijking met controlebrood en brood met glutathion (Figuur 7.5 I,J).

Er waren ook duidelijke verschillen tussen het controlebrood van beide bloemtypes. De gemiddelde celoppervlakte van controlebrood van commerciële bloem was significant groter dan van Legatbrood en het aantal cellen/cm² was significant lager. Er waren met andere woorden meer en kleinere gascellen in het Legatbrood. Dit vertaalde zich in een fijner kruim van Legatbrood in vergelijking met brood van commerciële bloem.

7.2.3. Akoestische analyse

In Tabel 7.8 worden de resultaten van de akoestische analyse van broodkruim van Legatbloem en commerciële biscuiteriebloem met toevoeging van redoxagentia weergegeven. Toevoeging van glutathion aan Legat deed de tortuositeit significant toenemen. Bij additie

van bromaat daalde de viskeuze karakteristieke lengte. De daling ten gevolge van de additie van glutathion was kleiner. Deze effecten van bromaat en glutathion op de tortuositeit en viskeuze karakteristieke lengte werden ook waargenomen bij het brood van commerciële bloem.

De invloed van de redoxagentia op de porositeit waren echter voor de twee types bloem verschillend. De porositeit van het Legatbrood daalde sterk bij toevoeging van bromaat. De porositeit van het brood met commerciële bloem werd echter niet significant beïnvloed door bromaat.

Tabel 7.8: Resultaten van ultrasone analyse van broodkruim van Legatbloem en commerciële biscuiteriebloem bij toevoeging van redoxagentia.

Concentratie redoxagens (w/w; ds bloem)	Tortuositeit	Viskeuze karakteristieke lengte (μm)	Porositeit
Legatbloem			
Controle	1,10 \pm 0,04 b	14 \pm 1 a	0,91 \pm 0,01 a,b
Bromaat (40 ppm)	1,12 \pm 0,02 b	11 \pm 1 c	0,78 \pm 0,02 c
Glutathion (40 ppm)	1,23 \pm 0,05 a	12 \pm 1 b	0,89 \pm 0,03 b
Commerciële bloem			
Controle	1,12 \pm 0,05 b	15 \pm 1 a	0,92 \pm 0,01 a,b
Bromaat (40 ppm)	1,11 \pm 0,05 b	10 \pm 1 c	0,94 \pm 0,01 a
Glutathion (40 ppm)	1,20 \pm 0,05 a	10 \pm 1 c	0,94 \pm 0,01 a

Waarden in dezelfde kolom gevolgd door een verschillende letter zijn significant verschillend ($P < 0,05$).

7.2.4. Discussie

Broodvolume en -densiteit

Constance kneedtijd

Het grotere volume van controlebrood van commerciële bloem ten opzichte van Legatbloem was het gevolg van verschillen in het glutennetwerk. Zoals reeds hoger vermeld is Legatbloem een steviger bloem dan de commerciële bloem. Het glutennetwerk van Legatbloem was echter te stevig. Dit bemoeilijkte het rijzen en resulteerde in een lager broodvolume. Langere rijstijden zouden in grotere broodvolumes resulteren. Het

proteïennetwerk in het deeg van de commerciële bloem was zwakker, waardoor eenzelfde partiële CO₂-druk in de gascellen een grotere volumetoename teweeg bracht dan bij Legatdeeg. Een andere reden voor de lagere broodvolumes van Legatbloem is dat deze bloem onbehandeld was, in tegenstelling tot de commerciële bloem.

Een oxidans toevoegen resulteerde in een afname van het broodvolume. Meestal hebben oxidantia echter positieve effecten op het broodvolume. Een mogelijke verklaring voor het negatief effect van de halogenaten is dat ten gevolge van de oxidatie van thiolgroepen extra disulfidebindingen werden gevormd. Het glutennetwerk werd te stevig waardoor het rijzen bemoeilijkt werd. De glutenmatrix die de gascellen omgaf werd minder uitrekbaar, waardoor de volumetoename tijdens de fermentatie bemoeilijkt werd en de ovenrijs sneller eindigde (Hoseney, 1994). Het effect was veel meer uitgesproken bij de Legatbloem (bij lage concentraties). Deze bloem was immers heel sterk. Toevoeging van een oxidans deed het proteïennetwerk nog meer verstevigen. Bovendien was deze bloem onbehandeld, in tegenstelling tot de commerciële bloem. Er was dus geen amylase toegevoegd. Mogelijks was de bloem al overgeoxideerd, aangezien de Legatlarwe in 2005 geogst was. Het netwerk in controleddeeg van de commerciële bloem was veel zwakker, waardoor het negatief effect van oxidantia op het broodvolume kleiner was. De oxidatie van vrije thiolgroepen zorgde er voor dat de proteïnen meer vocht opnamen en er minder vocht over de overige deegcomponenten verdeeld kon worden, waardoor het deeg droger aanvoelde (Yamada en Preston, 1992).

Ten gevolge van de hogere oxidatiepotential van jodaat ($E_{\text{IO}_3^-} = +1,09 \text{ V}$, $E_{\text{BrO}_3^-} = +0,61 \text{ V}$), had een bepaalde hoeveelheid jodaat meer invloed op de deegreologische eigenschappen en dus ook op het broodvolume dan eenzelfde hoeveelheid bromaat. Tijdens de kneedfase kon bromaat zijn effect op de reologische eigenschappen nauwelijks uitoefenen (bleek uit de deegreologische studie, *cf.* 7.1.1.). Tijdens de fermentatie en de bakfase werkte bromaat wel in. Dit kwam enerzijds omdat deze fases langer duurden en anderzijds door de lagere pH. De reductie van bromaat tot bromiet was de snelheidsbepalende stap. Jodaat daarentegen wordt tijdens het kneden reeds volledig gereduceerd, en kon daarna dus geen effect meer uitoefenen (Bloksma, 1964; Fitchett en Frazier, 1987).

Door het toevoegen van glutathion werden disulfidebindingen gebroken en werd het netwerk verzwakt. De glutenpolymeren werden gedeeltelijk gedepolymeriseerd, zodat ze minder water vasthiielden. Hierdoor was het deeg kleverig en vloeibaar. Door de aanwezigheid van meer vrij water (en door de volumetoename dus toename van het broodoppervlak), kon meer vocht

verdampen en daalde het gewicht van het brood. Ten gevolge van de gedeeltelijke depolymerisatie werd de glutenmatrix die de gascellen omgaf meer uitrekbaar. Bij Legatbloem gaf dit aanleiding tot hogere broodvolumes. Het effect bij de commerciële bloem was niet significant, want het netwerk was zwakker dan bij Legat. De additie van 120 ppm reductor aan Legatbloem leidde niet tot een te grote depolymerisatie aangezien de bloem heel sterk was. De glutenproteïnen zijn volgens Hosoney (1994) maar uitrekbaar tot hun elastische limiet. Tijdens de expansie bepalen die elastische limiet en de hoeveelheid proteïnen samen het uiteindelijke broodvolume. De keuze van een reductor of een oxidans voor het bekomen van een optimaal broodvolume hangt bijgevolg af van de karakteristieken van de bloem (Yamada en Preston, 1992).

De bruine kleur van de broodkorst was ondermeer te wijten aan het optreden van Maillardreacties tussen aminozuren (of LMW-peptiden of glutathion) en suikers (Belitz *et al.*, 2004). Oxidantia zorgden voor een afname in het aantal LMW-peptiden, waardoor er minder Maillard-precursoren voorkwamen. Dit verklaart de blekere korstkleur van brood met bromaat bij toenemende concentraties. Toevoeging van glutathion zorgde op zich al voor meer precursoren, waardoor de broodkorst donkerder was.

Variërende kneedtijd

Reductoren leidden tot het breken van disulfidebindingen via sulfhydryl-disulfide-uitwisselingsreacties. Hierdoor verzwakte het proteïnenetwerk en kon deeg zich sneller ontwikkelen. Dit werd reeds afgeleid uit de deegontwikkelingstijd van de mixogrammen. Dit kwam ook tot uiting in de bakexperimenten met variërende kneedtijd. Toevoeging van glutathion verkortte de optimale kneedtijd, waardoor de broodjes met een iets kortere kneedtijd dan van controlebrood groter waren.

Oxidantia verstevigen het glutennetwerk door de vorming van extra disulfidebindingen ten gevolge van de oxidatie van vrije thiolgroepen. Hierdoor daalde de farinograaf-deegontwikkelingstijd bij toevoegen van 60 ppm bromaat. Dit kwam ook tot uiting in de mixogrammen van de commerciële bloem met bromaat. Dit vertaalde zich in grotere broodvolumes van broodjes waarvan de kneedtijd iets korter was dan de optimale kneedtijd van controlebrood. Toch was de invloed van een variërende kneedtijd niet zo groot op het broodvolume. De invloed van toenemende concentraties redoxagentia op het broodvolume bij een constante kneedtijd was veel groter.

Uit de bakexperimenten met Legatbloem en variërende kneedtijden bleek dat glutathion het deeg minder gevoelig maakte aan onderknedden. Door de gedeeltelijke depolymerisatie van het proteïennetwerk ontwikkelde het deeg zich veel sneller en was de daling van het broodvolume ten opzichte van optimaal gekneet brood dus kleiner in vergelijking met additie van bromaat.

Beeldanalyse

Glutathion zorgde voor meer vrije thiolgroepen, wat de associatie van proteïnen tijdens de bakfase bevorderde (Lagrain *et al.*, 2006b). Door het zwakkere netwerk kon het deeg gemakkelijker rijzen tijdens de fermentatie. Tijdens het bakken werden verknoppingen gevormd zodat het netwerk sterker werd. De gascellen konden langer groeien en stabiel blijven en er traden minder breuken op in de zetmeelproteïnematrix. Hierdoor werd het kruim fijner en homogener. Aangezien glutathion een grotere impact had op de sterkere Legatbloem dan op de zwakkere biscuiteriebloem, waren de verschillen tussen de parameters van de beeldanalyse van controlebrood en glutathionbrood groter bij het Legatbrood dan bij het brood met de commerciële bloem. Het lijkt tegenstrijdig dat, hoewel het kruim fijner werd bij toevoeging van glutathion, de gemiddelde celoppervlakte van glutathionbrood van Legatbloem toenam in vergelijking met controlebrood. Dit was echter het gevolg van de sterke toename van het broodvolume bij additie van 40 ppm glutathion, nl. 10,6 %. Deze volumetoename had dan ook een toename van de celoppervlakten tot gevolg. Dit was niet het geval bij het brood van de biscuiteriebloem, want daar was de stijging van het broodvolume heel beperkt.

Oxidantia vormden bindingen tussen vrije thiolgroepen waardoor vermoedelijk een te sterk netwerk bekomen werd. Het rijzen van het deeg tijdens de fermentatie werd beperkt. De gevormde bindingen verhinderden het ontvouwen van de proteïnen tijdens verhitting, waardoor er minder sulfhydryl-disulfide-uitwisselingsreacties konden optreden tijdens de bakfase (Lagrain *et al.*, 2006b). Het glutennetwerk bleef sterk en minder elastisch waardoor er meer breuken ontstonden in de zetmeelproteïnematrix die de gascellen omgaf (Gan *et al.*, 1995). Zo kwamen de gascellen sneller met elkaar in verbinding tijdens de ovenrijs en werd een heterogener en minder fijn kruim bekomen.

Het kruim van controlebrood van Legat was fijner dan van de commerciële bloem. Tijdens de fermentatie kon het Legatdeeg immers minder gemakkelijker rijzen door het sterkere

glutennetwerk in vergelijking met het deeg van de commerciële bloem. Hierdoor konden de gascellen minder lang groeien en stabiel blijven. Hieruit resulteerde een fijner broodkruim.

Akoestische analyse

Oxidantia verstevigen het glutennetwerk door vorming van disulfidebindingen ten gevolge van de oxidatie van toegankelijke thiolgroepen. Hierdoor werd het deeg steviger en minder plastisch. Tijdens de ovenrijs scheurde de glutenzetmeelmatrix dan ook sneller, maar minder in vergelijking met controlebrood, waardoor de verbindingen tussen de poriën kleiner waren. Dit vertaalde zich in een kleinere viskeuze karakteristieke lengte. Glutathion verzwakt het proteïennetwerk in deeg door het splitsen van disulfidebindingen. Hierdoor werd het deeg heel plakkerig en waren de elasticiteitseigenschappen praktisch afwezig. Tijdens de expansie van de gascellen kon de glutenzetmeelmatrix de gascellen langer blijven omgeven. De ovenrijs eindigde hierdoor later, wat resulteerde in een groter broodvolume. Doordat de gascelwanden meer flexibel waren, waren de scheurtjes tussen de gascellen iets kleiner dan in controlebrood, maar toch groter dan in bromaatbrood. Dus bromaat doet de viskeuze karakteristieke lengtes afnemen doordat het deeg versterkt wordt. Glutathion doet het deeg verzwakken en ook dit resulteert in kleinere scheurtjes.

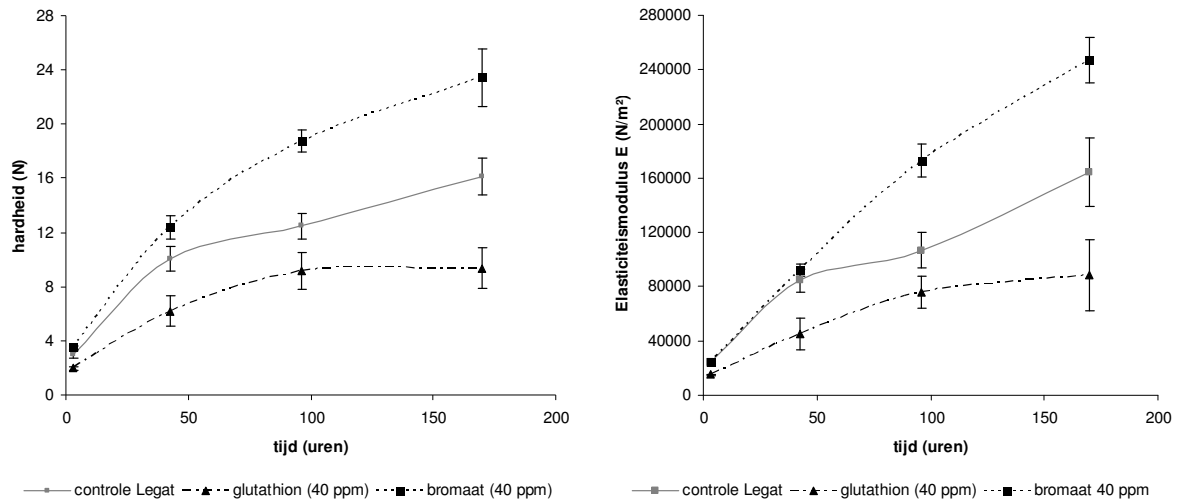
De lagere porositeit van bromaatbrood van Legat was het gevolg van de wijziging in deegeeigenschappen. Doordat het deeg steviger en minder plastisch was, scheurde de glutenzetmeelmatrix vermoedelijk sneller en werd de ovenrijs sneller beëindigd. Aangezien het glutennetwerk van de commerciële bloem zwakker was, was ook de glutenzetmeelmatrix vermoedelijk flexibel genoeg om de gascellen langer te blijven omgeven tijdens hun expansie. Bromaat had dan ook geen significante wijziging van de porositeit van brood van commerciële bloem tot gevolg.

7.3. Invloed van redoxagentia op broodveroudering

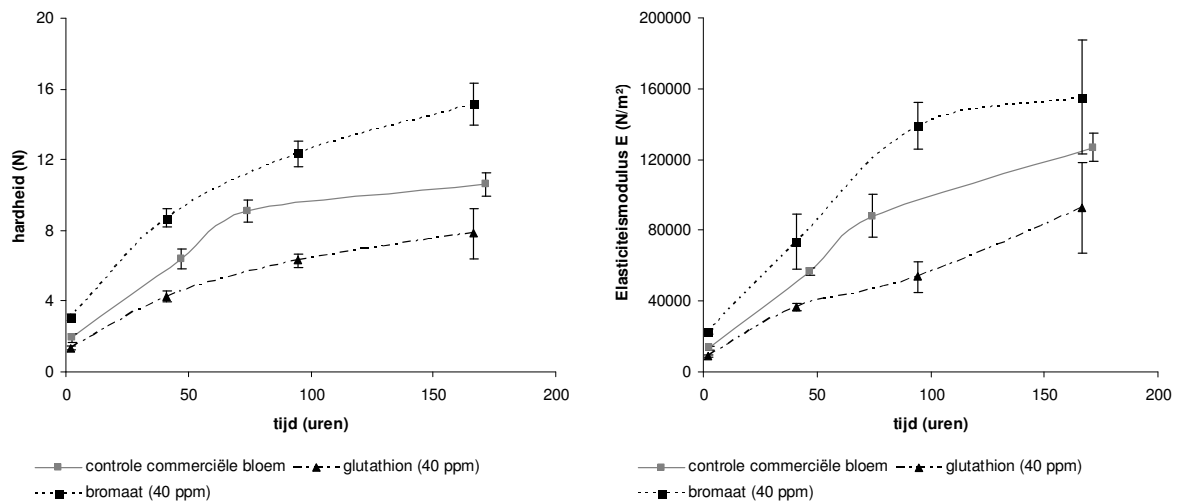
7.3.1. Mechanische analyse

In Figuur 7.6 en Figuur 7.7 wordt de evolutie van de hardheid en de elasticiteitsmodulus van controlebrood en brood met redoxagentia van respectievelijk Legatbloem en commerciële biscuiteriebloem tijdens veroudering weergegeven. In Tabel 7.9 worden de hardheden van het

kruim van brood van de twee types bloem met toevoeging van redoxagentia, na 7 dagen bewaring bij kamertemperatuur, weergegeven.



Figuur 7.6: Hardheid (links) en elasticiteitsmodulus (rechts) van controlebrood van Legatbloem en van brood met toevoeging van redoxagentia tijdens veroudering. De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.



Figuur 7.7: Hardheid (links) en elasticiteitsmodulus (rechts) van controlebrood van commerciële bloem en van brood met toevoeging van redoxagentia tijdens veroudering. De concentraties (w/w) zijn uitgedrukt op droge stof bloem.

Bij het brood van de commerciële bloem was de initiële hardheid van het bromaatbrood significant hoger dan van het controlebrood, en dit was op zijn beurt significant hoger dan van het glutathionbrood. Ook bij het brood van Legatbloem was de initiële hardheid van het bromaatbrood hoger dan van het controlebrood, maar het verschil was niet significant. Het brood met glutathion was initieel wel significant zachter. Na 2 dagen veroudering verschilde de hardheid van elk broodtype van dezelfde bloem significant van elkaar.

Net als bij de veroudering van emulgatorbrood waren twee zones te onderscheiden in de curven. In de eerste zone steeg de curve snel. Na een bepaalde tijd daalde de helling. Bij het Legatbrood nam de hardheid na elke meting (na 2 uur bakken, na 2 dagen, na 4 dagen en na 7 dagen) significant toe voor het controlebrood en het brood met bromaat. De hardheid van glutathionbrood na 4 dagen en na 7 dagen veroudering verschilde echter niet significant. Dit betekent dat het brood met glutathion trager verouderde. Bij brood van commerciële bloem werden dezelfde fenomenen waargenomen, maar in mindere mate.

Controlebrood van de commerciële bloem verouderde significant trager dan controlebrood van Legatbloem. Op gelijke tijdstippen was de hardheid van elk broodtype steeds groter van Legatbrood dan van hetzelfde broodtype van commerciële biscuiteriebloem.

De curven van de elasticiteitsmoduli waren heel gelijkaardig als de hardheidscurven. De conclusies waren dan ook hetzelfde.

Tabel 7.9: Hardheid van broodkruim met verschillende redoxagentia na 168 uur bewaring bij kamertemperatuur.

Concentratie emulgator (w/w; ds bloem)	Hardheid (N) na 168 uur
Legatbloem	
Controle	16,1 ± 1,4 a
Bromaat (40 ppm)	23,4 ± 2,1 b
Glutathion (40 ppm)	9,4 ± 1,5 c
Commerciële bloem	
Controle	10,6 ± 0,6 a
Bromaat (40 ppm)	15,1 ± 1,2 b
Glutathion (40 ppm)	7,8 ± 1,4 c

De waarden zijn gemiddelden van vier herhalingen. Waarden in dezelfde kolom en van dezelfde bloem gevolgd door een verschillende letter zijn significant verschillend ($P < 0,05$).

7.3.2. Discussie

De grotere initiële hardheid van het bromaatbrood ten opzichte van het controlebrood, en van het controlebrood ten opzichte van het glutathionbrood was voornamelijk het gevolg van het volume-effect. Toevoeging van glutathion resulteerde in grotere broodvolumes, dus minder dens en minder hard brood. Additie van bromaat daarentegen deed het broodvolume dalen, waardoor de densiteit toenam en dus ook de initiële hardheid. Meestal hebben oxidantia

echter een positief effect op het broodvolume, waardoor de hardheid van bromaatbrood lager is dan van controlebrood. Hoger werden reeds mogelijke oorzaken voor het negatief effect van bromaat op het volume gegeven. Het volume van brood van commerciële bloem was steeds groter dan het brood van Legatbloem bij toevoeging van dezelfde (concentraties) redoxagens (vermoedelijk doordat de Legattarwe overgeoxideerd was en omdat de bloem onbehandeld was). Dit is dan ook de belangrijkste oorzaak voor het zachtere kruim van brood van commerciële bloem, vergeleken met Legatbrood, bij eenzelfde bewaartijd en bij toevoeging van dezelfde (concentraties) redoxagens.

Het volume-effect verklaart bovendien ook gedeeltelijk waarom glutathionbrood van Legatbloem trager verouderde. De componenten in dit brood lagen verder uit elkaar. Er waren meer holle ruimtes dan van controlebrood en bromaatbrood. Hierdoor was de kans tot interactie kleiner, en dus verouderde het brood trager. Fearn en Russell (1982) toonden aan dat zowel de verouderingssnelheid als de mate van veroudering afneemt met toenemend specifiek broodvolume wanneer de hardheid van het kruim gemeten wordt. Deze hypothese komt overeen met de eigen resultaten. Dit verklaart ook waarom Legatbrood sneller verouderde dan brood van commerciële bloem met dezelfde (concentratie) redoxagens.

Aangezien de impact van glutathion op het volume van Legatbrood veel groter was dan op brood van commerciële bloem, was de tragere verouderingssnelheid van glutathionbrood ten opzichte van controlebrood meer uitgesproken bij de Legatbroden dan bij de broden van commerciële bloem.

Redoxagentia hebben ook invloed op de beschikbaarheid van water. Watermigratie is mede verantwoordelijk voor de broodveroudering. Redoxagentia gaan weinig interacties aan met amylose en amylopectine, maar wel met glutenproteïnen. Hieruit kan verondersteld worden dat het trager verouderen van glutathionbrood en het sneller verouderen van bromaatbrood mede veroorzaakt wordt door de impact van de redoxagentia op de glutenproteïnen. Bechtel en Meisner (1954) veronderstelden dat de broodveroudering het resultaat is van twee verschillende processen. De veroudering tijdens de eerste 2 tot 3 dagen van bewaring is het resultaat van veranderingen in de organisatie van zetmeelpolymeren. Daarna wordt de broodveroudering veroorzaakt door waterverlies van het gluten. Glutathion splitst disulfidebindingen van de glutenproteïnen, waardoor het MW daalt. Doordat het contactoppervlak nu groter is en er meer vrije polaire groepen aanwezig zijn kan het gluten waarschijnlijk meer water binden. Hierdoor migreert minder water naar het zetmeel en verouderd het brood trager. Bromaat verstevigt het glutennetwerk, waardoor het minder water

kan vasthouden en het brood dus sneller verouderd. Deze theorie kan ook de twee fasen in de curven verklaren.

7.4. Conclusie

Oxidantia vertraagden de deegontwikkeling van Legatbloem. Bij de commerciële biscuiteriebloem werd net het omgekeerde effect vastgesteld. Het zwakkere glutennetwerk werd versterkt door toevoeging van oxidantia en zo versnelde de deegontwikkeling. Het deeg was dan ook stabiel en behield langer zijn maximale deegsterkte. Toevoeging van glutathion versnelde de deegvorming reeds bij lage concentraties in sterke mate. Door het breken van disulfidebindingen daalde de maximale deegconsistentie. Het deeg was dan ook plastischer, minder elastisch en plakkeriger.

Oxidantia hadden een negatieve impact op het broodvolume in deze experimenten. Het verschil tussen jodaat en bromaat was niet significant bij de Legatbloem, omdat dit proteïnenetwerk veel steviger was dan van de commerciële bloem. Glutathion had een positieve impact op het broodvolume. De effecten waren groter bij de Legatbloem omdat deze bloem sterker was.

Toevoeging van glutathion resulteerde in de grootste broodvolumes bij een kortere kneedtijd dan voor controlebrood. Door de verzwakking van het proteïnenetwerk kon het deeg zich immers sneller ontwikkelen. Het deeg werd dan ook minder gevoelig aan onderkneeden. De invloed van toenemende concentraties redoxagentia op het broodvolume bij een constante kneedtijd was echter veel groter dan de invloed van variërende kneedtijden.

Het kruim van brood met glutathion was fijner en homogener. Dit bleek zowel uit de beeldanalyse (kleinere standaarddeviaties) als uit de akoestische analyse (grotere tortuositeit). De scheurtjes tussen de gascellen waren kleiner dan van controlebrood. De tortuositeit van brood met bromaat verschilde niet significant van controlebrood. De verbindingen tussen de poriën waren nog kleiner dan van brood met glutathion.

Brood met bromaat verouderde sneller dan controlebrood in de experimenten. Glutathion daarentegen had het omgekeerde effect. Het volume-effect zorgde zowel voor een lagere initiële hardheid van brood met glutathion, als voor een tragere verouderingssnelheid omdat de broodcomponenten verder van elkaar lagen in minder dens brood en zo minder met elkaar interageerden.

Algemeen besluit

Brood is het populairste bakkerijproduct in de Westerse wereld en vormt dan ook één van de belangrijkste onderdelen van het dagelijks dieet. De productie en bewaring ervan kampt echter met enkele technische problemen die tot op vandaag nog niet helemaal opgelost zijn. Zo zijn de deegeigenschappen niet steeds optimaal voor de productie van brood. Ook de eigenschappen van het brood(kruim) zijn niet steeds zoals de consument het wenst. Bovendien verouderd brood snel en wordt het zo minder geschikt voor consumptie. De kwaliteit van bloem voor de bereiding van brood wordt grotendeels bepaald door de aanwezige reserveproteïnen. Zowel de kwantiteit als de kwaliteit (samenstelling) van de proteïnen spelen een belangrijke rol. Ondanks uitgebreid onderzoek op glutenproteïnen zijn hun structuur en rol tijdens broodbereiding en –veroudering nog steeds niet volledig opgehelderd. In dit eindwerk werd getracht een groter inzicht te krijgen in het fysico-chemisch gedrag van de glutenproteïnen tijdens de deegvorming, de broodbereiding en de broodveroudering. Hiertoe werd de invloed van twee soorten broodverbetersaars nagegaan op deegeigenschappen, broodkruimstructuur en broodveroudering. De impact van emulgatoren werd nagegaan op Legatbloem, en de invloed van redoxagentia werd nagegaan op twee bloemtypes, namelijk Legatbloem (vormt een steviger glutennetwerk) en commerciële bloem voor biscuiterie (vormt een zwakker glutennetwerk).

In een eerste deel (Hoofdstuk 6) werden verschillende concentraties van vier emulgatoren (DATEM, SSL, CSL en Poly-80) op Legatbloem getest. Uit de mixogrammen bleek dat emulgatoren de deegontwikkeling versnelden. Na het bereiken van de maximale deegsterkte bleef deze langer behouden. Emulgatoren maakten het deeg dus weerstandiger tegen overknedden. Uit onderzoek met de farinograaf bleek dat toevoeging van emulgatoren de deegstabiliteit verhoogde. Ze bewerkstelligden een betere intermoleculaire binding van de glutenstrengen zodat een groter gehalte aan disulfidebindingen en een brugvorming gluten-emulgator-gluten tot stand kwam. Op moleculair niveau bonden hydrofobe structuuronderdelen van emulgatoren aan lipofiele delen van de gluteninestructuur via hydrofobe bindingen. De hydrofiele regio's van deze emulgatoren bonden via elektrostatische interacties met de gliadinen. De anionische emulgatoren, DATEM, SSL en CSL hadden het grootste effect. De invloed van Poly-80 was minder uitgesproken omdat het wegens

afwezigheid van negatieve ladingen minder interageerde met de positief geladen glutenproteïnen in deeg.. DATEM en SSL beïnvloedden de reologische eigenschappen van het deeg meest.

Ten gevolge van de versteviging van het glutennetwerk en de gascelstabilisatie verhoogden de emulgatoren het broodvolume. Vanaf een bepaalde concentratie emulgator had extra toevoeging ervan geen toename van het broodvolume meer tot gevolg. De efficiëntie was vooral afhankelijk af van de chemische structuur. De optimale concentratie (van de concentraties die getest werden in het onderzoek) was voor de anionische emulgatoren 0,50%, en voor Poly-80 0,31 %. DATEM en SSL verhoogden de broodvolumes het meest. Hoewel CSL qua structuur heel goed lijkt op SSL, was het effect van CSL op het broodvolume significant kleiner dan van SSL. Het belangrijkste verschil tussen CSL en SSL is de lading: CSL bevat twee negatieve ladingen, SSL slechts één. Poly-80 verhoogde het broodvolume minst. Ook hier is een belangrijk verschil met de andere emulgatoren de lading: Poly-80 bezit geen ladingen. De lading van de emulgator blijkt dus belangrijk te zijn in de mate van efficiëntie. Bovendien viel het op dat de emulgatoren met intermediaire HLB-waarden (8 à 8,5) in de grootste broodvolumes resulteerden.

Via digitale beeldanalyse kon geen onderscheid gemaakt worden tussen het broodkruim van controlebrood en de broden met emulgator. Uit de grotere standaarddeviaties van de parameters van het controlebrood kon wel afgeleid worden dat dit kruim minder homogeen was. Dit kon ook afgeleid worden uit de grotere tortuositeit van emulgatorbrood. Bovendien hield dit ook in dat er meer kleine gascellen waren in het kruim en dat het dus fijner was. De akoestische analyse toonde ook aan dat toevoeging van emulgatoren resulteerde in kleinere scheurtjes tussen de gascellen. Dit was vooral het gevolg van de stabilisatie van de vloeistoffilm tijdens de ovenrijfs.

De emulgatoren vertraagden in sterke mate de broodveroudering. Tussen de emulgatoren onderling waren de verschillen in verouderingssnelheid klein in het begin (2 uur na bakken) en op het einde (7 dagen na bakken) van de veroudering.

In een tweede deel (Hoofdstuk 7) werden verschillende concentraties van 3 redoxagentia (jodaat, bromaat en glutathion) op Legatbloem en commerciële bloem getest. Oxidantia vertraagden de deegontwikkeling van Legatbloem in kleine mate. Het glutennetwerk van Legatdeeg was zonder de aanwezigheid van oxidantia reeds stevig. Oxidantia oxideerden vrije thiolgroepen waardoor het aantal verknopingen tussen de proteïnen toenam en het proteïnnetwerk te stevig werd om sneller tot optimaal deeg te komen. Bij de commerciële

biscuiteriebloem werd net het omgekeerde effect vastgesteld. Het zwakkere glutennetwerk werd versterkt door toevoeging van oxidantia en versnelde zo de deegontwikkeling. Het deeg was dan ook stabiel en behield langer zijn maximale deegsterkte. Toevoeging van vrije thiolgroepen via glutathion leidde tot het breken van disulfidebindingen via sulfhyryl-disulfide-uitwisselingsreacties en dit verzwakte het glutennetwerk. Hierdoor ontwikkelde het deeg zich sneller. Door het splitsen van disulfidebindingen daalde de maximale deegconsistentie. Het deeg was dan ook plastischer, minder elastisch en kleveriger.

In deze experimenten hadden oxidantia een negatieve impact op het broodvolume. Het verschil tussen jodaat en bromaat was niet significant bij de Legatbloem, omdat dit proteïnnetwerk van nature al veel steviger was dan van de commerciële bloem. Glutathion had een positieve impact op het broodvolume. De effecten waren veel groter bij de Legatbloem omdat dit een steviger glutennetwerk vormde en dus meer gevoelig was aan de reductie van disulfidebindingen. De keuze van een reductor of een oxidans voor het bekomen van een optimaal broodvolume hangt bijgevolg af van de karakteristieken van de bloem (Yamada en Preston, 1992).

Toevoeging van glutathion resulteerde in de grootste broodvolumes bij een kortere kneedtijd dan voor controlebrood. Door de verzwakking van het proteïnnetwerk kon het deeg zich immers sneller ontwikkelen. Het deeg werd dan ook minder gevoelig aan onderkneden. De invloed van toenemende concentraties redoxagentia op het broodvolume bij een constante kneedtijd was echter veel groter dan de invloed van variërende kneedtijden.

Zowel met beeldanalyse als met akoestische analyse kon aangetoond worden dat het kruim van brood met glutathion fijner en homogener was in vergelijking met controlebrood. Uit de kleinere viskeuze karakteristieke lengtes kon afgeleid worden dat de scheurtjes tussen de gascellen kleiner waren dan van controlebrood. De tortuositeit van brood met bromaat verschilde niet significant van controlebrood. De verbindingen tussen de poriën waren nog kleiner dan van brood met glutathion. Vermoedelijk was dit het gevolg van het stevig glutennetwerk dat het scheuren kon beperken.

Brood met bromaat verouderde sneller dan controlebrood in deze experimenten. Glutathion daarentegen had het omgekeerde effect. Het volume-effect zorgde zowel voor een lagere initiële hardheid van brood met glutathion, als voor een tragere verouderingssnelheid omdat de componenten verder van elkaar lagen in minder dichte brood en zo minder met elkaar konden interageren.

De belangrijkste verschillen tussen de invloed en het werkingsmechanisme van de emulgatoren, oxidantia en reductoren werden hierboven beschreven. Het is duidelijk dat de redoxagentia bij veel lagere concentraties significante verschillen gaven. Dit is het gevolg van het verschil in werkingsmechanisme. De redoxagentia grijpen voornamelijk in op de disulfidebindingen van het glutennetwerk. De emulgatoren daarentegen kunnen geen covalente bindingen breken of vormen. Ze kunnen wel de aggregatie van het gluten bevorderen door neutralisatie van ladingen en/of via hydrofobe interacties. Ze stabiliseren ook de vloeistoffilm die de interfase vormt tussen de gascellen en de glutenzetmeelmatrix waarin de gascellen zich bevinden. Aangezien de redoxagentia bij lagere concentraties duidelijk invloed hadden op het glutennetwerk, zijn de vrije sulfhydrylgroepen en de disulfidebindingen heel belangrijk binnen de glutenproteïnen. Het nadeel is de gevoeligheid voor overdosering. Toch konden even grote of grotere verschillen in deeg eigenschappen, kruimstructuur en broodveroudering bekomen worden zonder in te werken op deze covalente bindingen. Dit wijst er op dat naast de disulfidebindingen ook andere mechanismen (gascelstabilisatie, hydrofiele en hydrofobe interacties...) een essentiële rol spelen in de glutenstructuur. Dit onderzoek onderstreept het belang van gluten in de broodbereiding en –veroudering.

Bibliografie

AACC (1983). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 8th edition, AACC, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.

Allard, J. F. (1993). Propagation of sound in porous media. In: Modeling Sound Absorbing Materials. Chapman en Hall, London.

Bashford, L. L. en Hartung, T. E. (1976). Rheological properties related to bread freshness. Journal of Food Science, 41:446-447.

Bechtel, W. G. en Meisner, D. F. (1954). Staling studies of bread made with flour fractions. III. Effect of crumb moisture and of tailings starch. Cereal Chemistry, 31:176-181.

Belitz, H.- D., Grosch, W. en Schieberle, P. (2004). Food Chemistry. 3th edition. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 1070p.

Belton, P. S. (1999). On the elasticity of wheat gluten. Journal of Cereal Science, 29:103-107.

Belton, P. S., Colquhoun, I. J., Grant, A., Weller, N., Field, J. M., Shewry, P. R. en Tatham, A. S. (1995). FTIR en NMR studies on the hydration of a high-M_r subunit of glutenin. International Journal of Biological Macromolecules, 17:74-80.

Biot, M. A. (1956a). Theory of propagation of elastic waves in a fluid-saturated porous solid. I. Low-frequency range. Journal of the Acoustical Society of America, 28:168-178.

Biot, M. A. (1956b). Theory of propagation of elastic waves in a fluid-saturated porous solid. II. Higher-frequency range. Journal of the Acoustical Society of America, 28:179-191.

Bloksma, A. H. (1964). Oxidation by potassium iodate of thiol groups in unleavened wheat flour doughs. Journal of the Science of Food and Agriculture, 15:83-94.

Bloksma, A. H. (1990). Rheology of the bread making process. *Cereal Foods World*, 35:228-236.

Bloksma, A. H. en Bushuk, W. (1988). Rheology and chemistry of dough. In: *Wheat: Chemistry and Technology*. Pomeranz, Y. (ed.). American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, MN. 131-217.

Campbell, G. M., Herrero-Sanchez, R., Payo-Rodriguez, R. en Merchan, M. L. (2001). Measurement of dynamic dough density and effect of surfactants and flour type on aeration during mixing and gas retention during proofing. *Cereal Chemistry*, 78:272-277.

Campbell, G. (2003). Bread aeration. In: *Bread making: improving quality*. Cauvain, S. P. (ed.). Woodhead publishing limited, Cambridge. 352-368.

Cauvin, S. (2003). Breadmaking: an overview. In: *Bread making: improving quality*. Cauvin, S. P. (ed.). Woodhead publishing limited, Cambridge. 14-16.

Champoux, Y. en Allard, J. F. (1991). Dynamic tortuosity and bulk modulus in air saturated porous media. *Journal of Applied Physics*, 70:1975-1979.

Conde-Petit, B. en Escher, F. (1994). Influence of starch-lipid complexation on the ageing behaviour of high concentration starch gels. *Starch/Stärke*, 46:172-177.

DeStefanis, V. A., Ponte, J. G., Chung, F. H. en Ruzza, N. A. (1977). Binding of crumb softeners and dough strengtheners during bread making. *Cereal Chemistry*, 54:13-24.

Domenek, S., Morel, M.-M., Bonicel, J. en Guilbert, S. (2002). Polymerization kinetics of wheat gluten upon thermosetting. A mechanistic model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:5947-5954.

Eliasson, A.-C. en Gudmundsson, M. (1996). Starch: Physicochemical and functional aspects. In: *Carbohydrates in food*. Eliasson, A.-C. (ed.). Marcel Dekker, New York, NY. 431-503.

Erlander, S. R. en Erlander, L. G. (1969). Explanation of ionic sequences in various phenomena. X. Protein-carbohydrate interactions and the mechanism of staling bread. *Starch/Stärke*, 21:305-315.

Every, D., Gerrard, J. A., Gilpin, M. J., Ross, M. en Newberry, M. P. (1998). Staling in starch bread: the effect of gluten additions on specific loaf volume and firming rate. *Starch/Stärke*, 50:443-446.

Faridi, H. (1985). Rheology of wheat products. AACCC Inc., St. Paul, Minnesota, USA.

Fearn, T. en Russell, P. L. (1982). A kinetic study of bread staling by differential scanning calorimetry. The effect of loaf specific volume. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33:537-548.

Fellah, Z. E. A., Depollier, C., Berger, S., Lauriks, W., Trompette, P. en Chapelon, J. Y. (2003). Determination of transport parameters via reflected waves at oblique incidence. *Journal of Acoustical Society of America*, 114:2424-2432.

Finney, K. F. (1984). An optimized, straight-dough, breadmaking method after 44 years. *Cereal Chemistry*, 62:20-27.

Fitchett, C. S. en Frazier, P. J. (1987). Action of oxidants and other improvers. In: *Chemistry and Physics of Baking*. Blanshard, J. M. V. Frazier, P. J. en Galliard, T. (eds). The Royal Society of Chemistry, London. 179-198.

Gan, Z., Angold, R. E., Williams, M. R., Ellis, P. R., Vaughan, J. F. en Galliard, T. (1990). The microstructure and gas retention of bread dough. *Journal of Cereal Science*, 12:15-24.

Gan, Z., Ellis, P. R. en Schofield, J. D. (1995). Mini review: Gas cell stabilisation and gas retention in wheat bread dough. *Journal of Cereal Science*, 21:215-230.

Gao, L., Ng, P. K. W., en Bushuk, W. (1992). Structure of glutenin structure based on farinograph and electrophoretic results. *Cereal Chemistry*, 69:452-455.

Gianibelli, M. C., Larroque, O. R., MacRitchie, F. en Wrigley, C. W. (2001). Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins [online]. American Association of Cereal Chemists. Beschikbaar op <http://www.aaccnet.org>

Goesaert H., Brijs K., Veraverbeke W. S., Courtin C. M., Gebruers K. en Delcour J. A. (2005). Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science and Technology*, 16:12-30.

Greene, F. C. (1975). On the mechanism of the functionality of surfactant dough conditioners. *Bakers Digest*, 49 (3):16-26.

Gray, J. A. en BeMiller, J. N. (2003). Bread staling: Molecular basis and control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food safety*, 2:1-21.

Grosch, W. en Wieser, H. (1999). Redox Reactions in Wheat Dough as Affected by Ascorbic Acid. *Journal of Cereal Science*, 29:1-16.

Gudmundsson, M. en Eliasson, A.-C. (1990). Retrogradation of amylopectin and the effects of amylose and added surfactants/emulsifiers. *Carbohydrate Polymers*, 13:295-315.

Guerrieri, N., Alberti, E., Lavelli, V. en Cerletti, P. (1996). Use of spectroscopic and fluorescence techniques to assess heat-induced molecular modifications of gluten. *Cereal Chemistry*, 73:368-374.

Gómez, M., del Real, S., Rosell, C. M., Ronda, F., Blanco, C. A., Caballero, P. A. (2004). Functionality of different emulsifiers on the performance of breadmaking and wheat bread quality. *European Food Research and Technology*, 219:145-150.

Hamer, R. J. en van Vliet, T. (2000). Understanding the structure and properties of gluten: An overview. In: *Wheat Gluten*. Shewry, P. R. en Tatham, A. S. (eds.). Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. 125-131.

Hizukuri, S. (1986). Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins, and its significance. *Carbohydrate Research*, 147:342-347.

Hoseney, R. C. (1984). Gas retention in bread doughs. *Cereal Foods World*, 29:305-308.

Hoseney, R. C. (1994). *Principles of Cereal Science and Technology*. 2nd edition, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, Inc.

Hoseney, C. en Miller, R. (1998). Current understanding of staling of bread. *Technical Bulletin (American Institute of Baking Research Department)*, 20 (6):1-6.

Hoseney, R. C. en Rogers, D. E. (1990). The formation and properties of wheat flour doughs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29:73-93.

Johnson, D. L., Koplik, J. en Dashen, R. (1987). Theory of dynamic permeability and tortuosity in fluid-saturated porous media. *Journal of Fluid Mechanics*, 176:379-402.

Junge, R. C., Hoseney, R. C. en Varriano-Marston, E. (1981). Effect of surfactants on air incorporation in dough and the crumb grain of bread. *Cereal Chemistry*, 58 (4):338-342.

Kasarda, D. D. (1989). Glutenin structure in relation to wheat quality. In: *Wheat is unique*. Pomeranz, Y. (ed.). American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN. 277-302.

Khatkar, B. S., Bell, A. E. en Schotfield, J. D. (1995). The dynamic rheological properties of gluten and gluten sub-fractions from wheats of good and poor bread making quality. *Journal of Cereal Science*, 22:29-44.

Kim, S. K. en D'Appolonia, B. L. (1977). Bread staling studies. I. Effect of protein content on staling rate and bread crumb pasting properties. *Cereal Chemistry*, 54:225-229.

Knightly, W. H. (1996). Surfactants. In: *Baked goods freshness: Technology, evaluation, and inhibition of staling*. Hebeda, R. E. en Zobel, H. F. (eds.). Marcel Dekker, New York, NY. 65-103.

Köhler, P. en Grosch, W. (1999). Study of the Effect of DATEM. 1. Influence of Fatty Acid Chain Length on Rheology and Baking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:1863-1869.

Köhler, P. (2001a). Study of the Effect of DATEM. 2: Fractionation of DATEM and Characterization of Fractions and Components. *Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie*, 34:348-358.

Köhler, P. (2001b). Study of the Effect of DATEM. 3: Synthesis and Characterization of DATEM Components. *Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie*, 34:359-366.

Köhler, P. (2001c). Study of the Effect of DATEM. 4: Optimization of DATEM Synthesis. *Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie*, 34:367-373.

Krog, N. (1981). Theoretical aspects of surfactants in relation to their use in breadmaking. *Cereal Chemistry*, 58 (3):158-164.

Krog, N. (1984). Food-grade emulsifiers (or surfactants) contra wheat flour lipids: chemical composition and toxicological status. *Proc. 22nd Nordic Cereal Congress, Lillehammer, Norge*. 83-98.

Krog, N., Olesen, S. K., Toernaes, H. en Joensson, T. (1989). Retrogradation of the Starch Fraction in Wheat Bread. *Cereal Foods World*, 34 (3):281-285.

Kulp, K. en Ponte, J. G. (1981). Staling of white pan bread: Fundamental causes. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15:1-48.

Legendijk, J. en Pennings, H. J. (1970). Relation between complex formation of starch with monoglycerides and the firmness of breads. *Cereal Science Today*, 15:354.

Lagrain, B., Brijs, K., Veraverbeke, W. S. en Delcour, J. A. (2005). The impact of heating and cooling on the physico-chemical properties of wheat gluten-water suspensions. *Journal of Cereal Science*, 42: 327-333.

Lagrain, B., Boeckx, L., Wilderjans, E., Delcour, J. A., Lauriks, W. (2006a). Ultrasonic characterization of bread crumb: application of the Biot-Allard model. *Food Research International*, 39:1067-1075.

Lagrain, B., Brijs, K. and Delcour J. A. (2006b). Impact of redox agents on the physico-chemistry of wheat gluten proteins during hydrothermal treatment. *Journal of Cereal Science*, 44:49-53.

Lang, C. E., Neises, E. K. en Walker, C. E. (1992). Effects of Additives on Flour-Water Dough Mixograms. *Cereal Chemistry*, 69 (6):587-591.

Lavelli, V., Guerrieri, N. en Cerletti, P. (1996). Controlled reduction study of modifications induced by gradual heating in gluten proteins. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 44:2549-2555.

Lefebvre, J., Popineau, Y., Deshayes, G. en Lavenant, L. (2000). Temperature-induced changes in the dynamic rheological behavior and size distribution of polymeric proteins for gluteins from wheat near-isogenic lines differing in HMW glutenin subunit composition. *Cereal Chemistry*, 77:193-201.

Levine, H. en Slade, L. (1990). Influences of the glassy and rubbery states on the thermal, mechanical, and structural properties of doughs and baked products. In: *Dough Rheology and Baked Product Texture*. Faridi, H. en Faubion, J. M. (eds.). Van Nostrand Reinhold, New York. 157-330.

Lindsay, M. P. en Skerritt, J. H. (1998). Examination of the structure of the glutenin macropolymer in wheat flour and doughs by stepwise reduction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:3447-3457.

Lindsay, M. P. en Skerritt, J. H. (1999). The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure–function perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 10:247-253.

Liu, Z. en Scanlon, M. G. (2004). Revisiting Crumb Texture Evaluation Methods: Tension, Compression and Indentation. *Cereal Foods World*, 49:76-82.

MacMasters, M. M. (1961). Starch research and baking. *Bakers Digest*, 35(5):42-46.

Maleki, M., Hosney, R. C. en Mattern, P. J. (1980). Effects of loaf volume, moisture content, and protein quality on the softness and staling rate of bread. *Cereal Chemistry*, 57:138-140.

Malkki, Y., Paakkanen, J. en Eerola, K. (1978). Effect of freezing and monoglycerides on staling of bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2:101-110.

Marion, D., LeRoux, C., Akora, S., Tellier, C. en Galliant, D. (1987). LIPID-protein interactions in wheat gluten. A phosphorous nuclear magnetic resonance spectroscopy and freeze-fracture electron microscopy study. *Journal of Cereal Science*, 5:101-115.

Martin, M. L., Zeleznak, K. J. en Hosney, R. C. (1991). A mechanism of bread firming. I. Role of starch swelling. *Cereal Chemistry*, 68:498-503.

McClements, D. J. (1997). Ultrasonic Characterization of Foods and Drinks: Principles, Methods, and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37:1-46.

Osborne, T. B. (1924). *The vegetable proteins*. Longmans Green and Co, London.

Otsu, N. (1979). A threshold selection method from grey-level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, 9 (1):62-66.

Persaud, J. N., Faubion, J. M. en Ponte Jr, J. G. (1990). Dynamic rheological properties of bread crumb. I. Effects of storage time, temperature and position in the loaf. *Cereal Chemistry*, 67 (1):92-96.

Piazza, L. en Masi, P. (1995). Moisture redistribution throughout the bread loaf during staling and its effect on mechanical properties. *Cereal Chemistry*, 72:320-325.

Pisesookbunternng, W. en D'Appolonia, B. L. (1983). Bread staling studies. I. Effect of surfactants on moisture migration from crumb to crust and firmness values of bread crumb. *Cereal Chemistry*, 60:298-300.

Ponte, J. G., Jr., DeStefanis, V. A. en Titcomb, S. T. (1973). Effects of some crumb softeners on bread firmness and starch properties of baked bread. *Cereal Science Today*, 18:302.

Prentice, N., Cuendet, L. S. en Geddes, W. F. (1954). Studies on bread staling. V. Effect of flour fractions and various starches on the firming of bread crumb. *Cereal Chemistry*, 31:188-206???

Rogers, D. E. en Hosney, R. C. (1983). Breadmaking properties of DATEM. *Bakers Digest*, 57:12-14.

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

Schiraldi, A., Piazza, L. en Riva, M. (1996). Bread staling: A calorimetric approach. *Cereal Chemistry*, 73:32-39.

Schoch, T. J. (1965). Starch in bakery products. *Bakers Digest*, 39:48-57.

Schofield, J. D., Bottomley, R. C., Timms, M. F. en Booth, M. R. (1983). The effect of heat on wheat gluten and the involvement of sulphydryl-disulphide interchange reactions. *Journal of Cereal Science*, 1:241-253.

Shewry, P. R. en Halford, N. G. (2002). Cereal seed storage proteins: Structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, 53:947-958.

Shewry, P. R., Halford, N. G. en Tatham, A. S. (1992). High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science*, 15:105-120.

Shewry, P. R., Miles, M. J. en Tatham, A. S. (1994). The prolamin storage proteins of wheat and related cereals. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 61 (1):37-59.

Shewry, P. R., Popineau, Y., Lafiandra, D. en Belton, P. (2001). Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the EUROWHEAT project. *Trends in Food Science and Technology*, 11:433-441.

Shewry, P. R. en Tatham, A. S. (1997). Disulfide bonds in wheat gluten proteins. *Journal of Cereal Science*, 25:207-227.

Shewry, P. R., Tatham, A. S., Forde, J., Kreis, M. en Mifflin, B. J. (1986). The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. *Journal of Cereal Science*, 4:97-106.

Shogren, M. D. en Finney, K. F. (1984). Bread-making test for 10 grams of flour. *Cereal Chemistry*, 61:418-423.

Singh, H. en MacRitchie, F. (2001). Application of polymer science to properties of gluten. *Journal of Cereal Science*, 33:231-243.

Singh, H. en MacRitchie, F. (2004). Changes in proteins induced by heating gluten dispersions at high temperatures. *Journal of Cereal Science*, 39:297-301.

Slade, L. en Levine, H. (1989). A food polymer science approach to selected aspects of starch gelatinization and retrogradation. In: *Frontiers in Carbohydrate Research-1*. Millane, R. P., BeMiller, J. N. en Chandrasekaran, R. (eds.). Elsevier Applied Science, London. 215-270.

Slade, L. en Levine, H. (1991). Beyond water activity: Recent advances based on an alternative approach to assessment of food quality and safety. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30 (2-3): 115-360.

Stampfli, L. en Nersten, B. (1995). Emulsifiers in bread making. *Food Chemistry*, 52:353-360.

Stauffer, C. E. (1990). Emulsifiers and dough strengtheners. In: *Functional Additives for Bakery Foods*. Stauffer, C. E. (ed.). Van Nostrand Reinhold Publishers, New York, USA. 69-124.

Stokes, D. J. en Donald, A. M. (2000). In situ mechanical testing of dry and hydrated breadcrumb in the environmental scanning electron microscope (ESEM). *Journal of Materials Science*, 35:599-607.

Tamstorf, S. (1983). Emulsifiers for bakery and starch products. Grindsted Technical Paper, TP 9-1e:1-27.

Tatham, A. S. en Shewry, P. R. (1995). The S-poor prolamins of wheat, barley and rye. *Journal of Cereal Science*, 22:1-16.

Tatham, A. S., Shewry, P. R. en Belton, P. S. (1990). Structural studies of cereal prolamins including wheat gluten. In: *Advances in Cereal Science and Technology*. Pomeranz, Y. (ed.). American Association of Cereal Chemistry, St. Paul, Minnesota, USA. 1-78.

Tsen, C. en Weber, J; (1981). Dough properties and proof times of yeasted doughs affected by surfactants. *Cereal Chemistry*, 58 (3):180-181.

Veraverbeke , W. S., Larroque, O. R., Bekes, F. en Delcour, J. A. (2000). In vitro polymerization of wheat glutenin subunits with inorganic oxidizing agents. I. Comparison of single-step and stepwise oxidations of high molecular weight glutenin subunits. *Cereal Chemistry*, 77:582-588.

Veraverbeke, W. S. en Delcour, J. A. (2002). Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42:179-208.

Walker, C. E. en Hazelton, J. L. (1996). Dough rheological tests. *Cereal Foods World*, 41:23-28.

Weegels, P. L., de Groot, A. M. G., Verhoek, J. A. en Hamer, R. J. (1994a). Effects on gluten of heating at different moisture contents. I. Changes in functional properties. *Journal of Cereal Science*, 19:31-38.

Weegels, P. L., de Groot, A. M. G., Verhoek, J. A. en Hamer, R. J. (1994b). Effects on gluten of heating at different moisture contents. II. Changes in physico-chemical properties and secondary structure. *Journal of Cereal Science*, 19:39-47.

Weegels, P. L. en Hamer, R. J. (1998). Temperature-induced changes of wheat products. In: *Interactions: the keys to cereal quality*. Hamer, R. J. en Hosene, R. C. (eds.). AACC, Inc. St. Paul, Minnesota, USA. 95-130.

Wieser, H., Bushuk, W. en MacRitchie, F. (2006). The Polymeric Glutenins. In: *Gliadin and glutenin- The unique balance of wheat quality*. Wrigly, C., Békés, F. en Bushuk, W. (eds.). AACC International, St. Paul, USA, 213-240.

Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24:115-119.

Wilde, P. (2003). Foam formation in dough and bread quality. In: *Bread making: improving quality*. Cauvain, S. P. (ed.). Woodhead publishing limited, Cambridge. 321-340.

Willhoft, E. M. A. (1973). Mechanism and theory of staling of bread and baked goods, and associated changes in textural properties. *Journal of Texture Studies*, 4:292-322.

Yamada, Y. en Preston, K. R. (1992). Effects of individual oxidants on oven rise and bread properties of canadian short process bread. *Journal of Cereal Science*, 15:237-251.

Zelezna, K. J. en Hosene, R. C. (1986). The role of water in the retrogradation of wheat starch gels and bread crumb. *Cereal Chemistry*, 63:407-411.

Zghal, M. C., Scanlon, M. G. en Sapirstein, H. D. (1999). Prediction of bread crumb density by digital image analysis. *Cereal Chemistry*, 76:734-742.

Zobel, H. F. (1988a). Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch/Stärke*, 40:1-7.

Zobel, H. F. (1988b). Molecules to granules: a comprehensive starch review. *Starch/Stärke*, 40:44-50.

Zobel, H. F. en Kulp, K. (1996). The staling mechanism. In: Baked goods freshness: Technology, evaluation, and inhibition of staling. Hebeda, R. E. en Zobel, H. F. (eds.). Marcel Dekker, New York, NY. 1-64.

<http://www.foodproductdesign.com>

<http://www.sigmaaldrich.com>