

# Staling of bread and bread model systems

## role of starch and amylases

**Doctoral Thesis**

**Author(s):**

Hug-Iten, Susanna

**Publication date:**

2000

**Permanent link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004039224>

**Rights / license:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

Diss. ETH No. 13779

# **STALING OF BREAD AND BREAD MODEL SYSTEMS - ROLE OF STARCH AND AMYLASES**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY  
ZURICH

for the degree of  
Doctor of Technical Sciences

presented by

**Susanna Hug-Iten**

Dipl. Lm.-Ing. ETH

born 30 July, 1970

citizen of Unterägeri (ZG), Switzerland

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. F. Escher, examiner

Dr. B. Conde-Petit, co-examiner

Prof. Dr. K. Poutanen, co-examiner

Zurich 2000

## SUMMARY

Starch is the main component of bread and its reorganization during aging is known to contribute significantly to bread staling. The importance of amylases as antistaling agents has been recognized as early as 1950. The present investigation deals with the antistaling mechanism of amylases which, in turn, serves as a base for the identification of key elements responsible for staling.

The influence of starch degrading enzymes, namely a maltogenic  $\alpha$ -amylase (Novamyl), a classical bacterial  $\alpha$ -amylase (BAN) and a  $\beta$ -amylase from soy on bread and bread models was investigated. Bread was prepared by a conventional baking procedure. Starch and flour gels were prepared by heating concentrated wheat starch dispersions (40 %) and bread dough without yeast in closed moulds. The structural, physical and chemical changes of starch in bread and gels during baking and staling were followed by mechanical measurements, light microscopy, wide-angle X-ray diffraction, differential scanning calorimetry (DSC) and by enzymatic determination of starch content and starch degradation products.

Addition of Novamyl led to enhanced initial firmness of all systems investigated and to reduced firming rate during aging. BAN reduced the firming rate of bread and flour gels to the same extent as Novamyl but without increasing the initial firmness. Unexpectedly, it did not influence the firmness of starch gels. Soy- $\beta$ -amylase, on the other hand, reduced only the firmness of starch gels but did neither increase initial firmness nor affect texture of bread and flour gels.

Light microscopy showed that starch granules of bread crust were not gelatinized during baking as they maintained the typical birefringence of native starch. On the other hand, starch granules of bread crumb were gelatinized and formed a continuous starch network. The two starch polymers amylose and amylopectin phase separated and part of the amylose fraction accumulated in the center of starch granules. This phase separation was also observed in flour and starch gels. Polarized-light microscopy revealed a weak birefringence of starch granules of freshly baked bread and gel models which became more intense during aging. Only in systems with Novamyl strong birefringence occurred already after baking and did not change during staling. By combining bright-field and polarized-light microscopy the birefringent structures of systems with Novamyl were identified as amylose rich regions within the starch granules. In control samples and in sys-

tems with BAN or Soy- $\beta$ -amylase the amylose rich starch granule center became birefringent only after several days of aging. Additionally, a less intense birefringence developed in these systems in the amylopectin rich outer zones of the granules. It is concluded that retrogradation of starch during bread staling does not only involve changes in the amylopectin fraction but also of amylose polymers and that both polymers contribute to firming during aging.

Amylases reducing the firming rate during aging induced a higher initial crystallinity which is caused by a crystalline amylose fraction. In the case of Novamyl, a crystalline amylose fraction was confirmed with polarized-light microscopy. Furthermore, an increase of crystallinity and of enthalpy changes of amylopectin does not necessarily correlate with an increase in firmness during aging. Novamyl was the only amylase which almost blocked retrogradation of amylopectin in all three investigated systems.

On the one hand, the antistaling effect of Novamyl is based on the ability to partially degrade amylopectin and by this hinder its recrystallization. On the other hand, the slight degradation of amylose via an endo attack promotes the gelation of this polymer. Thereby it is responsible for the enhanced initial firmness and birefringence and prevents rearrangements on aging. BAN induced substantial starch degradation in bread and flour gels causing a large reduction of firmness but also a sticky texture. Firming upon aging was prevented since low MW dextrans hindered the formation of a continuous crystalline starch network. No explanation was found why BAN did not prevent firming of starch gels. The antistaling behavior of Soy- $\beta$ -amylase in starch gels can be ascribed to the presence of pregelatinized starch, which serves as accessible substrate before enzyme inactivation. In bread and flour gels, the enzyme is mostly inactivated before starch gelatinizes and serves as accessible substrate.

A model for bread staling is proposed on the base of the experimental characterization of bread and bread models containing amylases. It is concluded that the formation of starch networks contributes significantly to firming and overshadows the effects of recrystallization of amylopectin.

## ZUSAMMENFASSUNG

Stärke stellt den Hauptbestandteil von Brot dar. Ihre Umwandlungen nach dem Backen tragen wesentlich zum Altbackenwerden von Brot bei. Bereits 1950 wurden Amylasen als altbackenverzögernde Mittel erkannt. Die vorliegenden Untersuchungen befassen sich mit dem alterungsverzögernden Mechanismus von Amylasen und den Schlüsselfaktoren der Brotalterung.

Der Einfluss von stärkeabbauenden Enzymen, nämlich einer maltogenen  $\alpha$ -Amylase (Novamyl), einer klassischen bakteriellen  $\alpha$ -Amylase (BAN) und einer  $\beta$ -Amylase aus Soja auf Brot und Brotmodelle wurde untersucht. Brot wurde mit einem konventionellen Backverfahren produziert. Stärke- und Mehlgelatinen wurden durch Erhitzung von konzentrierten Weizenstärkesuspensionen (40 %) und von Brotteig ohne Hefe in geschlossenen Formen hergestellt. Die strukturellen, physikalischen und chemischen Veränderungen der Stärke während des Backens und Alterns von Brot und Gelen wurden mit mechanischen Messungen, Lichtmikroskopie, Weitwinkel-Röntgendiffraktionsmessungen, Differential-Raster-Kalorimetrie (DSC) und mit enzymatischer Bestimmung des Stärkegehaltes und der Stärkeabbauprodukte verfolgt.

Die Zugabe von Novamyl führte zur Erhöhung der Anfangsfestigkeit und zu einer reduzierten Festigkeitszunahme während der Alterung aller untersuchten Systeme. BAN reduzierte die Festigkeitszunahme bei Brot und Mehlgelatinen im gleichen Masse wie Novamyl, erhöhte jedoch die Anfangsfestigkeit nicht. Zudem hatte BAN keinen Einfluss auf die Festigkeit von Stärkegelatinen. Soja- $\beta$ -Amylase reduzierte nur die Festigkeit von Stärkegelatinen, ohne die Anfangsfestigkeit zu erhöhen. Die Textur von Brot und Mehlgelatinen wurde jedoch nicht beeinflusst.

Die Lichtmikroskopie zeigte, dass die Stärkekörner der Brotkruste während des Backens nicht verkleisterten und daher noch die typische Doppelbrechung nativer Stärke aufwiesen. Hingegen verkleisterten die Stärkekörner der Brotkrume und bildeten ein kontinuierliches Stärkenetzwerk. Die Verkleisterung der Stärke in Brot und in den Gelen induzierte eine Phasentrennung von Amylose und Amylopektin, wobei sich ein Teil der Amylosefraktion im Stärkekornzentrum akkumulierte. Polarisierete Lichtmikroskopie zeigte eine schwache Doppelbrechung der Stärke in frischen Broten und Gelen, welche intensiver wurde während der Alterung. Nur bei Brot und Gelen mit Novamyl lag eine starke Doppelbre-

chung bereits in frischen Systemen vor und veränderte sich nicht während der Lagerung. Durch die Kombination von Hellfeld und polarisierter Lichtmikroskopie konnten die doppelbrechenden Strukturen den amylosereichen Stärkekornzentren zugeordnet werden. In den Kontrollproben und Systemen mit BAN oder Soja- $\beta$ -Amylase wurden die amylosereichen Stärkekornzentren erst nach einigen Tagen doppelbrechend. In diesen Systemen entwickelte sich zudem eine weniger intensive Doppelbrechung in den äusseren, amylopektinreichen Zonen des Stärkekorns. Daraus wird gefolgert, dass während der Alterung von Brot sowohl Amylopektin als auch Amylose retrogradiert und beide Polymere zur Festigkeitszunahme beitragen.

Amylasen welche die Festigkeit während der Alterung reduzierten, verursachten eine erhöhte Anfangskristallinität der Amylosefraktion. Im Falle von Novamyl, wurde eine kristalline Amylosefraktion mit polarisierter Lichtmikroskopie bestätigt. Es wurde gezeigt, dass eine Erhöhung der Kristallinität und der Schmelzenthalpie von Amylopektin nicht unbedingt korreliert mit der Festigkeitszunahme während der Alterung. Novamyl war die einzige Amylase, welche die Retrogradation von Amylopektin weitgehend blockierte.

Der festigkeitsreduzierende Effekt von Novamyl kann einerseits auf einen teilweisen Abbau von Amylopektin zurück geführt werden, der dessen Rekristallisation hindert. Andererseits erfolgt durch den Endo-Abbau eine rasche Aggregation der Amylose, was in der Folge eine weitere molekulare Umordnung verhindert und so die Festigkeitszunahme reduziert. BAN verursachte einen substantiellen Stärkeabbau in Brot und Mehlgele, der zu einer grossen Festigkeitsreduktion aber auch zu einer klebrigen Textur führte. Die Festigkeitszunahme während der Alterung wird verhindert, da niedermolekulare Dextrine die Bildung eines kontinuierlichen Stärkenetzwerkes stören. Für die Hemmung von BAN in Stärkegele wurde keine Erklärung gefunden. Der festigkeitsreduzierende Effekt von Soja- $\beta$ -Amylase in Stärkegele wird durch die Anwesenheit der vorverkleisterten Stärke verursacht, die als zugängliches Substrat vor der Enzyminaktivierung vorliegt. In Brot und Mehlgele ist das Enzym praktisch vollständig inaktiviert bevor die Stärke verkleistert und für den Enzymabbau zugänglich wird.

Aufgrund der experimentellen Charakterisierung von Brot und Brotmodellen mit Amylasen wird ein Model für die Alterung von Brot vorgeschlagen. Die Bildung von Stärkenetzwerken trägt wesentlich zur Festigkeitszunahme bei und überdeckt die Effekte der Rekristallisation von Amylopektin.