



Universidad de Valladolid

**Escuela Técnica Superior
de Ingenierías Agrarias**

Campus de Palencia



**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA E INGENIERÍA
AGROALIMENTARIA Y DE BIOSISTEMAS**

TESIS DOCTORAL:

**ESTUDIO DE LA INCORPORACIÓN DE ALTOS
PORCENTAJES DE PROTEÍNAS EN PRODUCTOS
SIN GLUTEN A BASE DE CEREALES**

Presentada por **Marta Sahagún Carabaza** para optar al grado de
Doctor Internacional por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

**Manuel Gómez Pallarés
Encarnación Fernández Fernández**

“Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa” – Mahatma Gandhi

Agradecimientos

¡Quién me lo iba a decir! Después de tres años, estoy escribiendo estas líneas para despedir una de las etapas más importantes de mi vida. Un periodo de tiempo durante el que he vivido una mezcla de sentimientos y gracias al cual he crecido tanto personal como profesionalmente. Y todo ello no hubiera sido posible sin el apoyo de las personas que me han acompañado en este viaje y que me han hecho seguir hacia delante en los momentos de flaqueza.

En primer lugar, agradecer tanto al Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2014-52928-C2) como a la Universidad de Valladolid (Contrato predoctoral) que han hecho posible la realización de la presente tesis doctoral gracias a su apoyo de financiación.

Gracias a mis directores de tesis, Manolo y Encarna, los cuales me han guiado en todo momento para dar lo mejor de mí. Especialmente a ti Manolo, por confiar en mí desde el primer momento (más de lo que confío en mí misma) cuando no sabía de qué iba “eso del doctorado”, y por ofrecerme la oportunidad de trabajar contigo. Siempre has respetado mis ideas de futuro y has dado todo lo posible por ayudarme a crecer. Y a pesar de las broncas por la hora (sí, soy una tardona), espero que te acuerdes de mí, aunque sea cuando veas tiendas de cachivaches de cocina (sabemos que me encantan).

A Montse, mi compañera de batallas, uno de mis premios del doctorado. Sólo tú y yo sabemos lo mucho que me ayudaste en ciertos momentos. Por todos esos días de compartir consejos, recetas, anécdotas... ¡Gracias! Nunca encontraré una compañera como tú.

A mi Angy, mi galletera preferida (¡Viva el Club de la Galleta!), mi otro premio de doctorado. Gracias por aguantarme todos estos años, que tiene su mérito con lo cabezota que soy a veces. Sabes que siempre me tendrás ahí y que tienes una amiga para toda la vida. Ah! Y recuerda, en los futuros viajes, el mapa lo llevo yo ;)

A Mayara, mi brasileira emprendedora. Gracias por todos tus consejos, por tu forma de ser y tu generosidad. Es un placer trabajar contigo y sé que en un futuro llegarás muy lejos. Ya sabes que tenemos pendiente lo de crear esa start-up a medias :)

A Laura Román y Blas Franco. Gracias por esas comidas y cafés en el seminario que nos daban la vida los días de trabajo y que nos hacían desconectar durante un rato mientras contábamos anécdotas o intentábamos arreglar el mundo.

A mis argentinos preferidos, Felipe y Vicky, gracias por enseñarnos tantas cosas y por traernos un trocito de vuestro increíble país hasta un lugar no muy grande llamado Palencia. Espero que estéis tan contentos de habernos conocido como lo estamos nosotros de vuestra visita. Ya sabéis que tenemos un viaje de reencuentro pendiente ;)

Thank you Julien for the opportunity of working in your centre to increase my skills through your knowledge. Both us know that the experience of living in Germany was harder than I expected but it made me change positively the way of seeing things. Again, thank you so much for your help, especially the last days.

A Marina, Cristina, Andrea, Carol y Jorge. Gracias por escucharme cuando os cuento mis problemas, por alegrarme los días, por ser mis amigos. Sois la familia que he elegido y no os cambiaría por nada en el mundo.

A ti, Mario, la parte que me complementa. Sólo tú sabes cómo calmarme esos días no tan buenos y sacarme una sonrisa. No hay palabras para agradecerte todo lo que me has ayudado (y lo que me has aguantado) sin pedir nada a cambio. Supongo que eso es parte del peaje, pero debo recordarte lo importante que has sido durante esta etapa. Sabes que te admiro y que eres el mejor. Te quiero.

Y, por último, a mis padres. Gracias por enseñarme a ser. Nunca tendré palabras suficientes para agradeceros todo lo que habéis hecho y seguís haciendo por mí. A ti papá, por tu lucha continua y tu valentía, por no tirar nunca la toalla. A ti mamá, por ser una guerrera, por tirar con todo lo que se pone por delante sin miedo a perder. Y a ti tato, que aunque no nos decimos tantas cosas como deberíamos, que sepas que te quiero, y que si te caes, siempre estaré ahí para ayudarte a levantar.

Aquí terminan tres intensos años de mi vida, durante los cuales he luchado muchas veces contra mí misma y los que me han ayudado a descubrir cuáles son mis prioridades en la vida. ¡Gracias a todos los que habeis formado parte de este bonito camino!

Índice

Resumen	I
Abstract	V
Lista de los artículos	VII
Introducción	1
Objetivos	55
Estructura	57
Capítulo 1: Enriquecimiento proteico de productos horneados	60
- Influence of protein source on characteristics and quality of gluten-free cookies	
- Assessing influence of protein source on characteristics of gluten-free breads optimising their hydration level	
- Influence of protein source on the characteristics of gluten-free layer cakes	
Capítulo 2: Enriquecimiento proteico de purés	65
- The effect of different protein addition on the rheological, physical and sensory characteristics of extruded maize-based purees	
Capítulo 3: Utilización de diferentes métodos para análisis sensorial de productos enriquecidos	68
- Assessing protein addition on sensory characteristics of sugar-snap cookies: application of check-all-that-apply questions and projective mapping	
Conclusiones	72
Anexo	80

Table of contents

Resumen	I
Abstract	V
List of original papers	VII
Introduction	1
Objectives	55
Structure	57
Chapter 1: Protein enrichment of bakery products	60
- Influence of protein source on characteristics and quality of gluten-free cookies	
- Assessing influence of protein source on characteristics of gluten-free breads optimising their hydration level	
- Influence of protein source on the characteristics of gluten-free layer cakes	
Chapter 2: Protein enrichment of instantaneous purees	65
- The effect of different protein addition on the rheological, physical and sensory characteristics of extruded maize-based purees	
Chapter 3: Use of different methods for sensory analysis of protein enriched products	68
- Assessing protein addition on sensory characteristics of sugar-snap cookies: application of check-all-that-apply questions and projective mapping	
Conclusions	77
Annex	80

Resumen

Las proteínas, junto a carbohidratos y grasas, son macromoléculas que componen la base de la dieta humana. En los últimos años, la presencia de altos contenidos de proteína en productos se ha convertido en un reclamo de los consumidores. Se conoce que un mayor consumo de proteínas puede producir beneficios nutricionales para determinados grupos de población como deportistas, ancianos, etc. Además, la mayor sensación de saciedad que aportan los productos enriquecidos con proteínas los convierte en una buena opción para personas que quieren perder peso.

Existen diferentes estudios que analizan el efecto de las proteínas en la funcionalidad de harinas y almidones, así como en las características de productos a base de cereales. Sin embargo, la mayor parte de estos trabajos estudian individualmente las proteínas, no comparan entre diferentes tipos de proteínas y los contenidos de proteínas adicionados son bajos (<15%). Además, algunos de estos estudios presentaron resultados contradictorios, y los diferentes requerimientos de agua de cada proteína podrían ser uno de los motivos. Por ello, el objetivo de la presente tesis fue evaluar el efecto de la incorporación de altos porcentajes de diferentes proteínas (arroz, patata, guisante, suero y huevo) en las características reológicas, físicas y sensoriales de productos sin gluten a base de cereales (galletas, panes, bizcochos y purés). Los tipos de proteína utilizados fueron elegidos en base a los resultados obtenidos en estudios previos realizados por el grupo de investigación. De esta forma, las proteínas seleccionadas presentan propiedades características y engloban la mayor parte de los tipos de proteínas disponibles (leguminosas, cereales, tubérculos, leche y huevo) para que los resultados puedan ser extrapolables a otras proteínas. Además, también se pretendió analizar diferencias entre las proteínas animales y las proteínas vegetales. En cuanto a los productos elegidos como matriz, se pretendió evaluar como la adición de proteínas puede influir en diferentes tipos de masas (batidas, cortas, fermentadas) y productos (horneados y mezclados en frío).

La incorporación de altos porcentajes de proteína modificó las características de galletas sin gluten elaboradas con harina de maíz blanco. La proteína de clara de huevo incrementó significativamente la dureza de las galletas mientras que la

proteína de suero dio lugar a galletas más oscuras y de mayor diámetro. Por su parte, las proteínas vegetales apenas modificaron las características de las galletas, a excepción del oscurecimiento de los bordes que produce la proteína de patata. La escasa influencia de la proteína de guisante en las características físicas y aceptabilidad de las galletas la convierten en la mejor opción para conseguir un producto de alto contenido proteico.

La hipótesis planteada sobre los diferentes niveles de hidratación requeridos por cada tipo de proteína se confirmó tras realizar una optimización de la misma en panes de almidón de maíz. Este estudio reveló que los panes con proteínas vegetales necesitaron más cantidad de agua para conseguir su máximo volumen específico que los panes sin proteína y con proteínas animales. Además, todos los panes enriquecidos presentaron un volumen menor que el pan control. En cuanto al comportamiento reológico, las masas con proteína de suero presentaron los mayores valores de G' y G'' debido a su bajo contenido de agua. Por el contrario, las masas con proteína de huevo fueron tan líquidas que no pudieron ser evaluadas con el reómetro aunque consiguieron formar una estructura tras el horneado debido al proceso de coagulación que experimentan. La incorporación de ambas proteínas animales incrementó significativamente, como en el caso de los bizcochos, la dureza de los panes, mientras que las proteínas vegetales no lo modificaron. Por último, la adición de proteína dio lugar a panes más oscuros, siendo mayor este efecto con la proteína de suero.

Debido a la gran capacidad de absorción de la proteína de guisante, la presencia de esta proteína en bizcochos de arroz aumentó significativamente la viscosidad de las masas, siendo este efecto mayor, cuanto mayor es el contenido de proteína. En cuanto a las proteínas animales, la adición de proteína de huevo dio lugar a bizcochos con los mayores valores de dureza debido a su característico proceso de coagulación. Por su parte, la proteína de suero, que también aumentó la dureza de los bizcochos, produjo el mayor aumento de volumen específico. Ambas proteínas animales incrementaron la cohesividad y elasticidad de los bizcochos. Por el contrario, las proteínas de guisante y arroz apenas modificaron las características físicas de los bizcochos. En cuanto a las propiedades sensoriales, todas las proteínas disminuyeron la aceptabilidad de los bizcochos, aunque la proteína de suero fue, entre todas las proteínas, la que obtuvo mejores valoraciones.

Además de productos horneados, otros productos a base de cereales, como los purés instantáneos, también pueden ser una matriz adecuada para la incorporación de altos porcentajes de proteína. El uso de harinas extrusionadas reduce el tiempo de preparación de productos, lo cual se adapta a los nuevos modelos de vida donde se busca comodidad sin perder de vista la nutrición. Así, la adición de proteína en purés elaborados con harina de maíz extrusionada modificó su viscosidad. Las proteínas de clara de huevo y de suero redujeron la viscosidad de los purés durante el mezclado. Sin embargo, tras un proceso de calentamiento, se la viscosidad incrementó debido a la agregación que sufren las moléculas de proteínas por acción del calor. Por el contrario, las proteínas de guisante y de arroz apenas modificaron la viscosidad de los purés, pero redujeron su sinéresis tras la congelación, sobre todo la primera de ellas. Por su parte, las proteínas animales incrementaron significativamente la sinéresis tras refrigeración y congelación debido a su baja capacidad de retención de agua. Finalmente, tanto la proteína de guisante como la proteína de clara de huevo apenas modificaron la aceptabilidad de los purés mientras que la proteína de suero la mejoró.

Como se ha explicado anteriormente, la incorporación de proteína en galletas responde a la demanda por parte del consumidor de productos ricos en proteínas. Al crear un nuevo producto o reformular uno ya existente, la percepción de ese producto por parte del consumidor apenas debe ser influida en comparación con el producto de referencia. De esta forma, el uso de diferentes técnicas de análisis sensorial es una herramienta muy útil para evaluar el posible efecto de la proteína en la percepción del consumidor por un producto determinado. La evaluación sensorial de las galletas enriquecidas se realizó utilizando diferentes técnicas como test de aceptabilidad, check-all-that-apply (CATA) y projective mapping. Mediante el uso combinado de estas dos últimas técnicas se pudo afirmar que ambos métodos se complementan y son muy útiles a la hora de entender diferencias y similitudes entre muestras. De acuerdo con los resultados obtenidos, la incorporación de proteína modificó las características sensoriales de las galletas. Sin embargo, no hubo diferencias entre las galletas control de maíz blanco (sin gluten) y las de trigo. De esta forma, se pudo concluir que, la presencia de proteína y el tipo de proteína elegido tiene más influencia en la percepción del consumidor que el tipo de harina utilizado. Así, la adición de proteína de gluten y suero dieron lugar a galletas más

crujientes y secas mientras que la proteína de gluten hidrolizado produjo galletas más oscuras y con un fuerte regusto final. Por su parte, las proteínas de patata y clara de huevo proporcionaron un color medio oscuro a las galletas sin gluten de maíz blanco mientras que la proteína de guisante causó una textura harinosa en las galletas.

Abstract

Proteins, together with carbohydrates and lipids, are macromolecules which forms the basis of the human diet. Over last years, the presence of high protein contents in products has been converted in a claim for consumers. It is known that a higher protein intake may provide nutritional benefits for specific population groups such as athletes, elderly people, etc. Moreover, the greater satiety that protein enriched products gives makes them as a good option for people who follow a weight loss diet.

There are several studies that analyse the effect of protein on the functionality of different flours and starches, just like on the characteristics of cereal-based products. Nevertheless, most of these articles study protein individually, do not compare among different protein types and the protein percentages added are low (<15%). In addition, some of these studies showed contradictory results, and the different hydration requirements of each protein could be a reason. Due to this, the aim of the present doctoral thesis was to evaluate how the incorporation of high protein percentages of different proteins (rice, potato, pea, egg white and whey) may influence on the rheological, nutritional, physical and sensorial characteristics of gluten-free bakery products (cookies, breads, cakes and purees). The protein types used were chosen based on the results obtained in prior studies done by our research group. In this way, the selected proteins showed different characteristics and then, they cover the most available protein types (legume, cereal, tuber, milk and egg) so that the results can be applied to other proteins. Moreover, the possible different effect of animal and vegetal proteins was analysed. Regarding the products selected as matrix, it is supposed to assess how the addition of proteins could influence on the different dough types (short dough, fermented dough) and products (bakery and cold mixes).

The addition of high protein percentages modified the characteristics of gluten-free cookies elaborated with white maize flour. The egg white protein increased significantly the hardness cookies whereas the whey protein gave rise to darker and wider cookies. For their part, vegetal proteins hardly modified the cookie characteristics, except to the darkening of cookie edges produced by the potato

protein. The limited influence of pea protein on the cookie acceptability and physical properties made into the best choice to get a high protein content product. The theory raised about the different hydration levels required by each protein type was confirmed after making an optimization on maize starch breads. This study disclosed that the breads with vegetal proteins required more water amount to achieve their maximum specific volume than the ones with vegetal proteins and control. In addition, all protein enriched breads showed a lower specific volume than control sample. Regarding their rheological behaviour, the whey batters had the highest G' and G'' values because of their low hydration level. On the contrary, the egg white batters were so watery that they could not be measured with the rheometer even though they get a structure after baking due to the coagulation process that experience. The incorporation of both proteins increased significantly, as in the case of cakes, the bread hardness, whereas the vegetal proteins did not present significant differences. Finally, the addition of protein gave rise to darker breads, being this effect higher with the whey protein.

Due to their great water holding capacity of the pea protein, this protein increased significantly the batter viscosity of rice layer cakes, being this effect higher, when the greater protein content was. Regarding animal proteins, the addition of egg white protein gave rise to hardest cakes due to its unique coagulation process. For his part, the whey protein, which also increased the cake hardness, caused the higher specific volume increase. Both animal proteins also got the cake cohesiveness and springiness bigger. On the contrary, the pea and rice proteins hardly modified the physical cake characteristics. About sensorial properties, the addition of protein reduced cake acceptability, although the whey protein was, among all proteins, obtained the highest scores.

Apart from baking products, other cereal-based products, as the instantaneous purees, can also be an adequate matrix to add high protein percentages. The use of extruded flours reduces the product preparation time, which is adapt to new life models that look for comfort without forget the nutrition. Thus, the inclusion of protein in instantaneous purees of extruded white maize flour modified the viscosity. The egg white and whey proteins decreased the puree viscosities at the moment of mixing. However, after a heating process, a viscosity rise was observed

because of the aggregation that protein molecules experience by heat. On the other hand, pea and rice proteins hardly modified the puree viscosity, but reduced their syneresis after freezing, above all the first of them. For their part, the animal proteins increased substantially the syneresis after cooling and freezing due to their low water binding capacity. Lastly, both pea protein and egg white protein hardly changed the puree acceptability and whey protein improved it.

As it was explained previously, the incorporation of protein in cookies meets the consumer demand of products rich in protein. On developing a new product or reformulating existing one, their consumers' perception hardly must be influenced in comparison with the reference product. In this way, the application of different sensorial methods could be a useful tool to evaluate the possible effect of protein in consumer perception to a specific product. Sensorial evaluation of enriched cookies was carried out using several techniques such as acceptability test, check-all-that-apply (CATA) y projective mapping. Through the combined use of these last methods in the same study could be affirmed that both ones complement themselves and they are quite useful to understand the differences and similitudes among samples. According to the results, it is possible to conclude that the incorporation of high protein levels modified the sensory characteristics of cookies. There were not significant differences between maize and wheat control samples so, the addition and type of protein achieve more influence on consumer perception than the type of flour used. Apart from that, the inclusion of whey and gluten protein lead to crispy and dry cookies while the addition of hydrolysed gluten protein increase the darkness and give rise to strong aftertaste. For his part, potato and egg white proteins provide a medium-dark colour to maize cookies whereas pea protein was the responsible of the mealy texture of cookies.

Lista de artículos incluidos en la tesis

1. Sahagún, M., & Gómez, M. (2018). Influence of protein source on characteristics and quality of gluten-free cookies. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 4131–4138. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3339-z>
2. Sahagún, M., & Gómez, M. (2018). Assessing influence of protein source on characteristics of gluten-free breads optimising their hydration level. *Food and Bioprocess Technology*, 11(9), 1686–1694. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2135-0>
3. Sahagún, M., Bravo-Núñez, Á., Báscones, G., & Gómez, M. (2018). Influence of protein source on the characteristics of gluten-free layer cakes. *LWT- Food Science and Technology*, 94, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.014>
4. Sahagún, M., & Gómez, M. (2019). The effect of different protein addition on the rheological, physical and sensory characteristics of extruded maize-based purees. *International Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14227>.
5. Sahagún, M., Gómez, M., Orden, D., & Fernández-Fernández, E. (2019). Assessing protein addition on sensory characteristics of sugar-snap cookies: application of check-all-that-apply questions and projective mapping. **Enviado a Food and Bioprocess Technology (03 de Julio de 2019)*.

INTRODUCCIÓN

Introducción

1. PROTEÍNAS: ASPECTOS GENERALES

Las proteínas son un componente básico de carácter estructural, físico, químico y/o funcional de los alimentos. Una adecuada ingesta de proteína en la dieta es esencial para mantener una integridad y funcionalidad celular (Institute of Medicine, 2005). Las proteínas incluidas en la dieta tienen como función principal proporcionar los materiales necesarios para la síntesis de músculo y otros tejidos (Ustunol, 2015). En cuanto a la fuente proteica, las proteínas alimentarias incluyen proteínas procedentes de la leche, pescado, carne, huevos, cereales, legumbres, etc. Aunque todos estos alimentos han supuesto la fuente tradicional de proteína en la dieta humana, potencialmente cualquier proteína de una fuente biológica podría servir como una proteína alimenticia. Sin embargo, una proteína alimentaria debe: ser adecuada nutricionalmente y digestible, tener una funcionalidad deseable en los alimentos, estar fácilmente disponible, ser agronómicamente sostenible, y no ser tóxica (Ustunol, 2015).

1.1. Estructura de las proteínas

Las proteínas se componen de largas cadenas de aminoácidos unidas mediante diferentes enlaces covalentes y no covalentes (puentes de hidrógeno, interacciones iónicas, fuerzas de Van de Waals, enlaces hidrofóbicos, puentes salinos, enlaces disulfuro, etc.) (Yada, 2018). Según Zayas (1997) la estructura molecular de las proteínas está dividida en cuatro niveles claramente identificados: estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria. La estructura primaria se define como la secuencia específica de aminoácidos; las estructuras secundarias se forman mediante la unión de diferentes secuencias de aminoácidos por medio de puentes de hidrógeno (por ejemplo, α -hélice, hoja plegada, random coil); las estructuras terciarias corresponden con las estructuras tridimensionales formadas por la unión entre estructuras secundarias (la forma en la que las estructuras hélice, lámina o "random coil" se empaquetan) y la estructura cuaternaria es el resultado de la asociación de las estructuras terciarias en proteínas oligoméricas (Yada, Bryksa, & Nip, 2012).

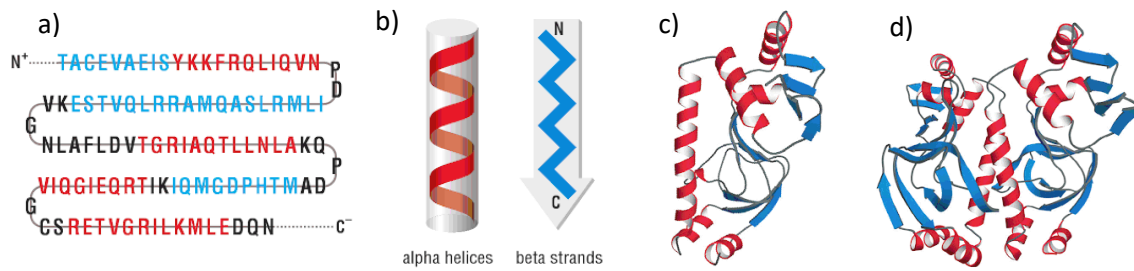


Figura 1. Niveles que componen la estructura de la proteína. a) Primaria b) Secundaria c) Terciaria d) Cuaternaria. Fuente: Petsko & Ringe (2004)

Cabe destacar que no todas las proteínas tienen estructura cuaternaria, solo aquellas más largas (más de 100 kDa) son más probables de tener más de un polipéptido. En cuanto a las proteínas alimentarias, la mayoría de ellas sí poseen estructura cuaternaria (Ustunol, 2015).

1.2. Clasificación de las proteínas

Desde el punto de vista químico, las proteínas pueden clasificarse en dos grupos: homoproteínas, que únicamente contienen aminoácidos, y heteroproteínas, que están formadas por aminoácidos y un grupo prostético como, por ejemplo, lípidos o glúcidos (Cheftel, Cuq, & Lorient, 1989). Otra forma de clasificar las proteínas puede ser según su organización tridimensional. Las proteínas fibrosas están formadas por cadenas polipeptídicas enlazadas a lo largo de un eje común lineal dando lugar a fibras (Figura 2a). Por otro lado, las proteínas globulares se componen de una o varias cadenas polipeptídicas enrolladas sobre sí mismas, formando una estructura tridimensional (Figura 2b). Existen proteínas que poseen propiedades de las proteínas fibrosas y globulares a la vez (Cheftel et al., 1989).

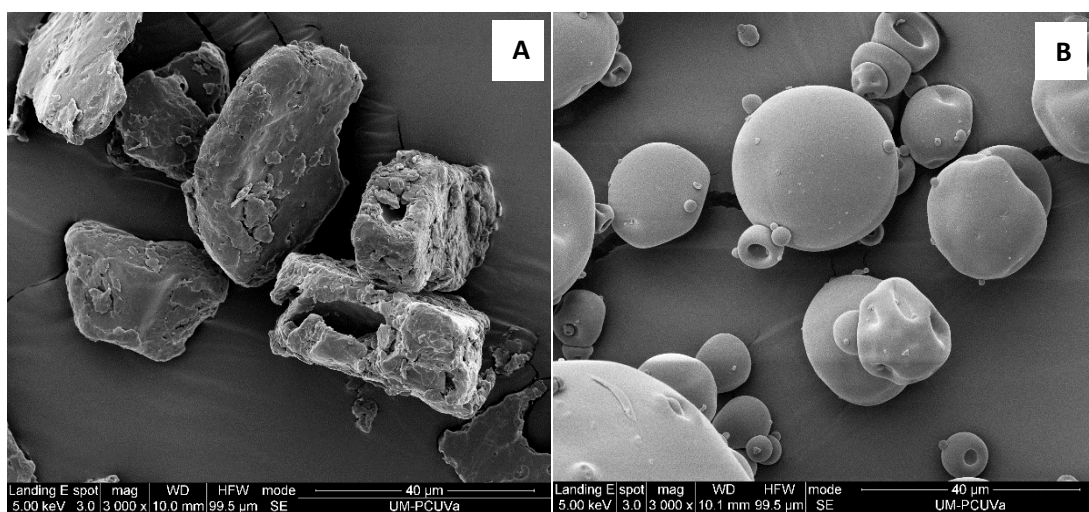


Figura 2. Microfotografías tomadas por el microscopio electrónico de barrido (x3000 aumentos) sobre los gránulos de proteína fibrosa (A: colágeno) y proteína globular (B: clara de huevo).

Por último, las proteínas también pueden clasificarse en función de su solubilidad. Así, en 1907 Osborne separó las proteínas en cuatro grupos: albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en soluciones salina [NaCl 0,4mol/L]), prolaminas (solubles en EtOH 70%) y glutelinas (residuo soluble en ácidos diluidos, bases diluidas y detergentes) (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2004).

2. INTERÉS NUTRICIONAL DE LAS PROTEÍNAS

Las proteínas, junto con los hidratos de carbono y los lípidos, son los macronutrientes básicos de la dieta humana necesarios para el mantenimiento de la vida. Su función principal es aportar el nitrógeno y los aminoácidos necesarios para la síntesis de las proteínas corporales y demás sustancias nitrogenadas (Cheftel et al., 1989).

Cuando se habla de proteína consumida, hay dos factores muy importantes a tener en cuenta: calidad y cantidad (Ustunol, 2015). La calidad nutricional de una proteína se puede definir como la capacidad de la proteína para cumplir con los requerimientos de aminoácidos y nitrógeno establecidos (Schaafsma, 2005). De este modo, la calidad de la proteína varía en función de la fuente proteica y se define por su composición en aminoácidos esenciales y su digestibilidad (Woodward, Nielsen, Liesman, Lavin, & Trottier, 2011). Los aminoácidos pueden dividirse en dos grupos diferenciados: aminoácidos esenciales y no esenciales. Los aminoácidos no esenciales se sintetizan eficazmente en el organismo, ya sea a partir de metabolitos intermedios o de aminoácidos esenciales (Cheftel et al., 1989). Sin embargo, los aminoácidos esenciales (histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina), formados por moléculas de carbono, no pueden ser sintetizados por el propio organismo y deben ser adquiridos a través de la dieta (Institute of Medicine, 2005). Esta dificultad en la obtención de aminoácidos hace que la presencia de aminoácidos esenciales, aumente la calidad nutricional de la proteína. En cuanto a la digestibilidad de la proteína, existen factores intrínsecos (composición de aminoácidos y estructura química) e extrínsecos (tratamiento térmico, factores antinutricionales y fijación a metales, lípidos, ácidos nucleicos, celulosas y otros polisacáridos) que afectan a esta característica (Cheftel et al., 1989; Ustunol, 2015).

En cuanto a la cantidad, los requerimientos de proteína y aminoácidos pueden estar expresados en varios términos (Tabla 2) y dependen de varios factores, como edad, sexo y peso (Institute of Medicine, 2005). Mujeres embarazadas (1,10g/kg/día) y en fase de lactancia (1,30g/kg/día) requieren mayor ingesta de proteínas que mujeres y hombres en general (0,95-0,80g/kg/día). Los niños lactantes también presentan un requerimiento de proteínas mayor (1,50-1,20g/kg/día) en comparación con niños de entre 1 y 13 años (1,05-0,95g/kg/día). A medida que aumenta la edad durante la etapa infantil, la cantidad de proteína necesaria disminuye (Institute of Medicine, 2005).

Tabla 1. Términos para expresan la ingesta diaria de referencia

Término	Definición
Recommended Dietary Allowance (RDA)	Nivel de ingesta diaria promedio suficiente para cumplir con la necesidad nutricional de casi todos (97-98%) los individuos sanos que forman un grupo según su etapa de vida y sexo
Adequate Intake (AI)	Nivel de ingesta diaria promedio recomendada basado en aproximaciones determinadas experimentalmente por un grupo (o grupos) de personas aparentemente sanas que se usan cuando un RDA no puede ser determinado.
Estimated Average Requirement (EAR)	Nivel de ingesta diaria promedio estimado para cumplir con la necesidad de la mitad de los individuos sanos que forman un grupo según su etapa de vida y sexo

Sin embargo, existen estudios que determinan que una mayor ingesta de proteína podría tener efectos beneficiosos para la salud de ciertos grupos de población. Es sabido que a medida que pasan los años se produce una pérdida de masa muscular esquelética y fuerza, lo cual conduce a una pérdida de capacidad funcional (Koopman & van Loon, 2009; Welch, 2014). De hecho, la existencia de enfermedades geriátricas, como la sarcopenia, está relacionado con dicha pérdida muscular (Fielding et al., 2011). Este tipo de problema se debe a un trastorno en la regulación del proceso de renovación de las proteínas musculares que produce un desequilibrio entre su síntesis y su degradación (Koopman & van Loon, 2009). Varios estudios afirman que la combinación de ejercicio físico y la ingesta de proteínas presenta un efecto sinérgico en la preservación del músculo esquelético

(Isanejad et al., 2016; Landi et al., 2017). Sin embargo, las personas ancianas presentan evidencias de una resistencia anabólica, por lo que requieren una mayor ingesta proteica (1,00–1,30 g/kg/día) para estimular la síntesis de músculo, y por tanto, la conservación del músculo esquelético (Ni Lochlainn, Bowyer, & Steves, 2018; Welch, 2014). Entre las posibles proteínas a utilizar, la proteína de suero de leche, debido a sus altos niveles de aminoácidos de cadena ramificada (Millward, Layman, Tomé, & Schaafsma, 2008), podría ser una buena opción. La presencia de este tipo de aminoácidos, entre los que se encuentran leucina, isoleucina y valina, incrementa la síntesis de proteínas y disminuyen su degradación (Boland, 2011; Casperson, Sheffield-Moore, Hewlings, & Paddon-Jones, 2012), al activar las enzimas principales involucradas en el proceso de síntesis (Blomstrand, 2006). Así, Katsanos et al. (2008) indicó la existencia de una relación positiva entre los niveles de este tipo de aminoácidos y el incremento de proteína muscular en personas ancianas.

Además de las personas ancianas, los deportistas conforman un grupo de población para el cual una mayor ingesta de proteínas también conlleva beneficios nutricionales. Un entrenamiento compuesto por ejercicios de resistencia puede incrementar de forma eficaz la masa y fuerza muscular, así como mejorar la capacidad funcional (Evans, 1995) ya que, como se ha dicho anteriormente, estimula la síntesis de proteínas. Sin embargo, la degradación de las proteínas musculares también se estimula después del ejercicio, aunque en menor medida (Phillips, Tipton, Aarsland, Wolf, & Wolfe, 1997). Para conseguir una mayor tasa final de estimulación del proceso de síntesis es necesario un incremento de la ingesta de proteínas (Koopman & van Loon, 2009).

En pacientes con problemas renales crónicos, la ingesta diaria recomendada de proteína es baja (0,60-0,80g/kg peso). Sin embargo, para pacientes con enfermedad renal en etapa terminal y/o sometidos a tratamientos de hemodiálisis, la recomendación diaria debe ser mayor que la propia de personas sin la enfermedad ($\geq 1,20$ g de proteína/kg de peso) (National Kidney Foundation, 2000; Tallman, Sahathevan, Karupaiah, & Khosla, 2018). Estos pacientes con frecuencia tienen poco apetito y fatiga, lo cual reduce las ganas de cocinar, y la existencia de productos listos para consumir puede facilitar la ingesta de una mayor cantidad de proteína (Alquist & Stall, 2018).

Por último, existen estudios que analizan la saciedad tras la ingesta de una comida rica en carbohidratos y una rica en proteínas, y todos ellos coinciden en que tras esta última se presenta menor sensación de hambre (Bertenshaw, Lluch, & Yeomans, 2008; Latner & Schwartz, 1999). Algunos autores han estudiado el efecto de una mayor ingesta de proteínas en la saciedad y han visto que existe una relación positiva entre ambos parámetros (Porrini, Crovetti, Testolin, & Silva, 1995; Vandewater & Vickers, 1996). Esto parece explicarse porque las proteínas tienen una tasa de oxidación más rápida que los carbohidratos y estimulan una mayor termogénesis, lo cual está relacionado con un aumento de la saciedad (Bertenshaw et al., 2008; Halton & Hu, 2004). Así, la ingesta de proteínas proporciona un efecto de saciedad más a largo plazo, y esto puede ayudar en dietas para bajar o controlar el peso corporal (Purwanti, Peters, & van der Goot, 2013).

2.1. Tendencia de mercado de productos ricos en proteínas

En EE. UU, el 55% de la población declara que “alto en proteína” es un atributo a tener en cuenta cuando realizan la compra y el 6% de los hogares tienen al menos un miembro que sigue una dieta alta en proteína (más de 5.4 millones de personas) (Nielsen, 2018). Sin embargo, los motivos que llevan a elegir este tipo de productos y el momento de consumirlo son diferentes en función de la edad o la situación familiar (Tabla 4). Ante esta situación, la industria alimentaria responde a la creciente demanda mediante la creación de nuevos productos o la reformulación de los ya existentes para conseguir un alto contenido proteico. La manera de clasificar o etiquetar un producto según su contenido proteico varía en función de la legislación alimentaria de cada continente. En Canadá o Estados Unidos, las alegaciones sobre el contenido proteico dependen de la calidad de la proteína (Marinangeli, Mansilla, & Shoveller, 2018). Así, para personas >1año, la calidad proteica de un alimento se cuantifica mediante el método PER (Protein Efficiency Ratio) (Government of Canada, 2018) o mediante el método PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score) (U.S. Food and Drug Administration and Department of Health and Human Services, 2018). De esta forma, las proteínas vegetales (cereales, legumbres, frutos secos, semillas) generalmente tiene menores niveles de aminoácidos esenciales (mg/g de proteína) y menores coeficientes de

digestibilidad comparado con las proteínas animales, lo cual afecta a la calidad de la proteína y, por tanto, a la alegación nutricional (Marinangeli et al., 2018)

Tabla 2. Who is searching for what in the protein space? Fuente: Nielsen Panel Survey, June 2018

	Start-up families	Small Scale Families	Bustling Families	Young Transitionals	Independent Singles	Established Couples	Senior Couples
¿Por qué?	Para compensar el no comer alimentos de origen animal	Para perder peso/compensar el no comer alimentos de origen animal	Llevar una dieta más sana	Para lograr objetivos relaciones con la forma física	Por razones de salud (diabetes, colesterol..)	Para perder peso/ lograr objetivos forma física	Por razones de salud (diabetes, colesterol..)
¿Qué?	Sustitutivos, productos de bebe, snacks, legumbres	Snacks, galletas/ crackers, batidos, cereales de desayuno	Snacks, cereales de desayuno	Sustitutivos de carne y lácteos, snacks, dips, batidos, suplementos	Lácteos, productos para untar, frutos secos, semillas	Sustitutivos de carne, batidos, frutos secos, semillas, suplementos	Lácteos, cereales de desayuno, productos para untar, frutos secos y semillas, legumbres.
¿Cuándo?	Comidas de diario, desayunos de semana, picoteo	Tentempié	Cena de diario	Picoteo en fin de semana, tentempié	Comida, Desayuno diario	Cena	Desayuno, comida de diario

Start-up Families – Hogares con niños menores de 6 años

Small Scale Families - Hogares con niños de edades comprendidas entre los 6 y 11 años

Bustling Families - Hogares con niños de edades comprendidas entre los 12 y 17 años

Young Transitionals – Hogares adultos (>17 años) y el cabeza de familia menor de 35 años

Independent Singles – Hogares de una sola persona

Established Couples – Hogares de dos o más adultos (>17 años) y el cabeza de familia con una edad entre 35 y 39 años

Sin embargo, según la legislación europea (European Parliament and of the Council, 2006), el contenido proteico de un alimento se basa en la energía que la proteína representa en la energía total del producto. De este modo, un producto puede presentar dos tipos de alegaciones:

- **Fuente de proteína:** al menos el 12% del valor energético del producto debe ser proporcionado por la proteína.
- **Alto contenido proteico:** al menos el 20% del valor energético del producto debe ser proporcionado por la proteína.

En la actualidad, existe una gran variedad de productos que alega un alto contenido proteico. Por un lado, muchas empresas, siguiendo la tendencia actual, han decidido reformular productos que ya se encontraban en el mercado para ofrecer una nueva variedad con mayor cantidad de proteína, como por ejemplo Vitalinea PRO (Danone), Mars HiProtein (Mars) y Thins PRO (Bimbo).

Por otro lado, la demanda de productos ricos en proteína ha desencadenado la creación de nuevas empresas que se dedican a la producción, distribución y/o comercialización de este tipo de productos. Estos productos se venden como una nueva forma de consumir una mayor cantidad de proteína y están inmersos en un marketing muy cuidado basado en la salud y/o la forma física. La proteína se incluye en la formulación del producto final o también se comercializa como ingrediente para que sea el propio consumidor quien la integre dentro de sus comidas o recetas. De acuerdo con el estudio de mercado realizado por la empresa NMI, sobre el 40% de los millennials identifica la declaración “alto en proteína” como un atributo muy importante que hace más recomendable el producto (Berry, 2018).

2.2. Proteínas en productos sin gluten

Está comprobado que la mayoría de los productos sin gluten disponibles en el mercado tienen un bajo contenido proteico, son deficientes en lisina, y su contenido en grasas es alto (Fry, Madden, & Fallaize, 2018; Matos & Rosell, 2011; Missbach et al., 2015; Naqash, Gani, Gani, & Masoodi, 2017; Rosell & Matos, 2015; Wu et al., 2015). Miranda, Lasa, Bustamante, Churruca, y Simon (2014), comparando diferentes productos comerciales con y sin gluten disponibles en España,

observaron que los panes sin gluten analizados presentaban un contenido proteico tres veces menor que sus homólogos con gluten. Además, en el caso de los productos horneados (bollería, galletas...etc.), este mismo estudio determinó que la cantidad de proteína incluida en los productos sin gluten era casi la mitad que la presente en aquellos con gluten. Por su parte, Cornicelli et al. (2018) hizo un estudio similar al de Miranda et al. (2014), pero con productos sin gluten disponibles en el mercado italiano, y también observó que el contenido proteico era, en casi todos los productos analizados, aproximadamente la mitad que el encontrado en los mismos productos con gluten.

La explicación a este hecho podría ser la propia formulación de los productos sin gluten, la cual incluye ingredientes con un bajo contenido proteico. El almidón y las harinas sin gluten son los ingredientes con los que frecuentemente se elaboran los productos libres de gluten (Capriles & Arêas, 2014). La composición nutricional del almidón es fundamentalmente carbohidratos, y a diferencia de la harina de trigo (comúnmente utilizada en productos con gluten), que tiene un 8-15% de proteína (Uthayakumaran, Gras, Stoddard, & Bekes, 1999), su contenido proteico es menor de 0,6% (Tester, Karkalas, & Qi, 2004). Por otro lado, existen productos sin gluten que contienen solo harina sin gluten o una mezcla harina-almidón. Cabe pensar que el uso de estas harinas podría mejorar el perfil nutricional del producto.

Sin embargo, de acuerdo con Miranda et al. (2014), el contenido proteico de los preparados a base de harina y/o almidón sin gluten (1.43 g/100 g producto) frente al de harinas comunes (9.77 g/100 g producto) estudiadas es muy inferior, por lo que su uso tampoco permitiría obtener productos sin gluten con un contenido proteico similar al de un producto con gluten. Así, una opción que nos permitiría conseguir el objetivo deseado sería la adición de proteínas exógenas, la cual será analizada en la presente tesis.

3. PROPIEDADES TECNOLÓGICAS DE LAS PROTEÍNAS EN LOS ALIMENTOS

Las propiedades fisicoquímicas que poseen las proteínas definirán su influencia en las características finales de los productos que las contienen. Las proteínas son comúnmente utilizadas como ingredientes estructurantes en alimentos sólidos o semisólidos para conferirle una resistencia mecánica y unas características

propiedades texturales o como agentes espesantes en alimentos líquidos para alcanzar la consistencia y estabilidad deseada (Chan et al., 2007). Cada proteína puede influir de distinta forma en las propiedades del producto final, por lo que es muy importante el tipo de proteína que se elige según el efecto que se quiera conseguir.

3.1. Propiedades de hidratación

La mayoría de las propiedades funcionales de las proteínas están relacionadas con su interacción con el agua. La capacidad de retención de agua depende de la estructura de la red proteica y de las interacciones entre proteínas y otras macromoléculas. De esta forma, esta propiedad es considerada una propiedad funcional de las proteínas (Barbut, 1996) y determinará algunas de sus posibles propiedades como solubilidad, propiedades emulgentes, gelificación o sinéresis, entre otras (Zayas, 1997). Hermansson (1986) definió la capacidad de retención de agua como una propiedad física que mide la habilidad de la estructura de un alimento para prevenir la pérdida del agua contenida en la estructura tridimensional de la proteína. Sin embargo, en función de las condiciones de medición de esta propiedad, existen diferentes parámetros que pueden ser usados para su definición. La capacidad de retención de agua (WHC, water holding capacity) se define como la cantidad de agua retenida por la muestra sin ser sometida a condiciones de estrés (AACC, 2012). Por otro lado, cuando la muestra se somete a un proceso de centrifugación a baja velocidad, la cantidad de agua retenida se define como la capacidad de fijación de agua (WBC, water binding capacity) (AACC, 2012). Ambos parámetros se determinan a temperatura ambiente (20-25°C).

Las moléculas de agua que rodean una proteína pueden clasificarse en función de su distancia e interacción con la proteína (Yada, 2018). Aquellas moléculas que forman la llamada primera capa, consideradas frecuentemente como agua estructural, se unen a grupos específicos de las proteínas mediante puentes de hidrógeno y permiten la estabilización de la estructura proteica (Zayas, 1997). Por otro lado, existen moléculas de agua muy altamente estructuradas que se asocian con grupos iónicos, polares y no polares en la superficie de la proteína (Damodaran, 2008).

Factores como la concentración de proteína, pH, fuerza iónica, temperatura, presencia de otros compuestos (sal, grasas, polisacáridos hidrofílicos, etc.), ratio y duración del proceso de calentamiento y condiciones de almacenamiento pueden influir en la capacidad de retención de agua (Damodaran, 2008; Zayas, 1997). Cambios en el pH de una solución proteica puede causar cambios en la carga y la conformación de las proteínas, haciendo más accesibles los puntos de unión con el agua. Consecuentemente, un incremento de la polaridad de las proteínas aumenta la cantidad de agua retenida (Zayas, 1997). En soluciones salinas, la sal se asocia con las proteínas de carga opuesta, lo cual decrece la energía electrostática libre de la proteína e incrementa la actividad del solvente. Esto proporciona una unión adicional del agua a la proteína y aumenta su capacidad de retención. Sin embargo, cuando la concentración de sal es elevada ($>1M$), la sal interactúa con el agua que le rodea, decrece la cantidad de agua disponible para la proteína y se reduce la cantidad de agua retenida (Ustunol, 2015). En el caso del efecto de la temperatura, siempre que no haya cambios en la conformación de la proteína, la capacidad de retención de agua normalmente disminuye tras un proceso de calentamiento. En el caso de que la proteína sufra un cambio en su conformación durante el proceso de calentamiento, esto también influiría en la capacidad de retención de agua, pudiendo también disminuirla o aumentarla (Zayas, 1997).

3.2. Gelificación

La gelificación se define como un proceso que ocurre cuando las proteínas desnaturalizadas se convierten en segmentos de polipéptidos, los cuales interactúan y se agregan para dar lugar a una red proteica ordenada (Hermansson, 1979). La formación de esta red proteica es el resultado de un equilibrio entre interacciones covalentes (enlaces disulfuro) y no covalentes (puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e interacciones electrostáticas) (Schmidt, 1981). La proporción de enlaces covalentes y no covalentes determinará diferencias entre proteínas y su influencia en la textura final del gel (Foegeding & Davis, 2011). Además, es importante destacar que la propiedad de gelificación de las proteínas no sólo se utiliza para la formación de geles sólidos viscoelásticos, sino también para mejorar la absorción de agua, el espesado, la unión de partículas (adhesión) y para estabilizar emulsiones y espumas (Cheftel et al., 1989) .

En función de las propiedades físicas y sensoriales de los geles proteicos, éstos pueden dividirse en semisólidos y sólidos blandos. Aunque las diferentes estructuras proteicas varían según el tipo de proteína y las condiciones de gelificación, todas ellas se consideran más o menos como un agregado primario (agregados de varias proteínas que permanecen dispersas y tienen una forma característica, como una hebra flexible, varilla rígida o globular) que experimenta una agregación secundaria para formar una red de gel (Erik van der Linden & Foegeding, 2009).

En la mayoría de los casos, la gelificación sólo se produce si existe un tratamiento térmico y en ocasiones puede necesitarse un enfriamiento posterior, una ligera acidificación o la adición de sales. Además, existen proteínas que pueden modificarse sin calentamiento, únicamente con una hidrólisis enzimática moderada (micelas de caseína, clara de huevo), una simple adición de iones-calcio (micelas de caseína) o una alcalización seguida de un retorno a la neutralidad o al pH isoelectrico (proteínas de soja) (Cheftel et al., 1989). Las propiedades de gelificación de las micelas de caseína son bastante conocidas ya que son la base para la preparación de un gran número de productos como cuajada, queso o productos lácteos gelificados. Por otro lado, de acuerdo con Cheftel (1989) la proteína de suero de leche en solución, a una concentración superior a 5%, tiene buenas propiedades gelificantes cuando se calienta a temperaturas de 70-85°C pero los geles suelen ser menos firmes y menos elásticos que los de ovoalbúmina. Así, las proteínas de clara de huevo son consideradas como el mejor agente gelificante o ligante. Esta proteína comienza a coagular a una temperatura relativamente baja (aprox. 60°C) por desnaturalización de la conalbúmina y cogelificación de la ovoalbúmina (Kiosseoglou & Paraskevopoulou, 2006). Sin embargo, para conseguir formar un gel es necesario un calentamiento a temperaturas más altas (85°C), para que la ovoalbúmina sufra una desnaturalización prácticamente total y participe en el desarrollo de una red de gel (Paraskevopoulou, Kiosseoglou, Aleviopoulos, & Kasapis, 2000).

3.3. Propiedades emulgentes

La actividad emulgente de una proteína se define como su habilidad para participar en la formación y estabilización de una emulsión (Zayas, 1997). Debido a su

naturaleza anfifílica y su capacidad de formar películas, las proteínas son comúnmente utilizadas como agentes emulsionantes (Foegeding & Davis, 2011). Según Zayas (1997), las características utilizadas para describir las propiedades emulgentes de las proteínas son:

- **Capacidad emulgente (CE):** es la cantidad de aceite (ml) que es emulsionado por un gramo de proteína bajo condiciones específicas hasta que se produzca la inversión de fase. La CE depende de un emulsionante depende de su capacidad para formar películas de adsorción alrededor de los glóbulos y para reducir la tensión interfacial en la interfase aceite-agua.
- **Estabilidad de la emulsión (EE):** es la capacidad de las gotas formadas en la emulsión de mantenerse dispersas sin separación por cremado, coalescencia y floculación.
- **Actividad emulgente (AE):** es el máximo área interfacial (cm^2) por cada gramo de proteína de una emulsión estabilizada.

De acuerdo con Kato y Nakai (Kato & Nakai, 1980) existe una relación entre la estructura de la proteína y sus propiedades emulgentes, ya que observaron una fuerte correlación entre la CE y la hidrofobicidad de las proteínas. Kato, Tsutsui, Matsudomi, Kobayashi, y Nakai (1981) también mostraron una correlación entre la hidrofobicidad superficial y tensión interfacial de soluciones proteicas y las propiedades emulgentes de las proteínas. Las proteínas con una mayor hidrofobicidad superficial son adsorbidas en la interfase aceite-agua y forman una película viscoelástica por medio de interacciones intermoleculares (Amagliani & Schmitt, 2017; Damodaran, 2005). Las proteínas se colocan de tal forma que sus aminoácidos hidrófobos queden dentro de la fase grasa y los aminoácidos hidrofílicos dentro de la fase acuosa (Walstra, 2002). Estas proteínas adsorbidas, reducen la tensión entre fases y facilitan la formación de emulsiones (Kato & Nakai, 1980). Cabe destacar que existen factores como la concentración de proteína, el pH del medio, la fuerza iónica o la exposición a un tratamiento térmico, entre otros, que afectan a la CE de las proteínas (Lam & Nickerson, 2013). Cuando una emulsión proteica se somete a un tratamiento térmico de corta duración, ésta es estable ya que se contrarresta el efecto de agregación de las gotas debido a las fuerzas de

repulsión que existen entre ellas (Molet-Rodríguez, Salvia-Trujillo, & Martín-Belloso, 2018). Por ejemplo, proteínas globulares con una gran hidrofobicidad superficial como la lisozima, la ovoalbúmina o la proteína de suero mejoran su capacidad emulgente con un calentamiento moderado y un desdoblamiento parcial. Sin embargo, en el caso de las caseínas, su alta CE sin calentamiento está relacionada con su alta solubilidad y su estructura disociada y desplegada por naturaleza (Zayas, 1997). Por otro lado, las proteínas globulares actúan como emulgente debido a repulsiones electrostáticas que se producen a un pH por encima o por debajo de su punto isoeléctrico (Molet-Rodríguez et al., 2018). Sin embargo, estas proteínas tienden a formar agregados mediante enlaces hidrofóbicos y de van der Waals cuando las fuerzas de repulsión no son lo suficientemente fuertes como para superar las fuerzas de atracción a un pH cercano a su punto isoeléctrico (Teo et al., 2016). De este modo, emulsiones con aislados de proteína de suero se mantuvieron estables en un amplio rango de pH, excepto para aquellos valores cercanos a su punto isoeléctrico, cuando se producía un proceso de sedimentación (Teo et al., 2016). En cuanto a la EE, el efecto estabilizante de las proteínas se debe a la barrera protectora que forman alrededor de las gotas de grasa, previniendo fenómenos de coalescencia (Kinsella, 1979). Así, la estabilidad a largo plazo de las emulsiones depende del grosor y fuerza de las películas de proteínas adsorbidas en la interfase aceite-agua (Zayas, 1997). Estas películas de proteína presentan resistencia a la desorción cuando dos gotas se ponen en contacto y son capaces de resistir choques térmicos y físicos, manteniendo la estabilidad de la emulsión (Hailing, 1981).

3.4. Propiedades espumantes

Al igual que las emulsiones, las espumas son sistemas bifásicos en los que una de las fases está dispersa en un medio continuo acuoso (Ustunol, 2015). Sin embargo, en el caso de las espumas, la fase dispersa son burbujas de gas las cuales están separadas por una fase continua de capas líquidas delgadas llamadas “fase laminar” (Campbell & Mougeot, 1999; Cheftel et al., 1989; Zayas, 1997). La función de las proteínas como agentes espumantes es reducir la tensión en la interfase, facilitando la incorporación de aire en la fase líquida (Akesowan, 2016). Debido a su carácter anfifílico, las proteínas tienden a colocarse en la interfase aire-agua para formar una barrera protectora elástica entre las burbujas de gas atrapada y previenen

fenómenos de coalescencia entre las burbujas (Hailing, 1981; Santiago et al., 2008). Las proteínas lácteas y las proteínas de huevo presentan buenas capacidades espumantes (Berry, Yang, & Foegeding, 2009; Campbell & Mougeot, 1999; Han et al., 2019; Kinsella & Morr, 1984). Además, una hidrólisis limitada de las proteínas u otros ligeros cambios en su estructura como glicosilación o fosforilación pueden causar importantes cambios en su capacidad de adsorción (Ustunol, 2015). Ruíz-Henestrosa et al. (2007) mostraron que, una ligera hidrolización (solo a 3-5%), mejoró las propiedades espumantes de un aislado de proteína de girasol en comparación con la misma proteína sin hidrolizar, especialmente cuando se realizaba a un pH cercano al punto isoeléctrico de la proteína. Por otro lado, la presencia de moléculas de azúcar (sacarosa, lactosa, etc.) también puede afectar a las propiedades espumantes de una proteína, reduciendo su habilidad para adsorber y formar una película estable alrededor de las burbujas de aire (Ustunol, 2015). Sin embargo, ese efecto puede variar en función del tipo de proteína. Davis y Foegeding (2007) observaron que la proteína de clara de huevo era más resistente al drenaje y presentó mayor elasticidad en la interfase en presencia de sacarosa, mientras que la proteína de suero mostró el efecto contrario.

4. PAPEL Y/O EFECTO DE LAS PROTEÍNAS EN PRODUCTOS A BASE DE CEREALES

Debido a sus propiedades tecnológicas, la proteína puede considerarse un ingrediente de gran importancia en los productos elaborados a base de cereales. Las propias proteínas presentes en el cereal o grano, como es el caso del gluten, así como aquellas que se incluyen en otros ingredientes (huevo o leche) pueden tener un papel importante durante el proceso de elaboración de algunos productos como panes o bizcochos (Delcour et al., 2012a; Edith Wilderjans, Luyts, Brijs, & Delcour, 2013). Por todo esto, la adición de proteínas exógenas para satisfacer la demanda actual de productos ricos en proteína, puede influir en las características de la masa y producto final ya que podría causar cambios en la estructura y color del producto, hacerlo más seco (incrementando la necesidad de agua y afectando, a su vez, en la pegajosidad) o incluso proporcionarle aroma o sabor amargo, entre otros efectos (Ingredion, 2018). Por todo esto, la incorporación de proteína requiere una

reformulación para dar lugar a productos que puedan ser procesados a partir de una formulación ya existente, y que continúen siendo aceptados por los consumidores.

En la actualidad, existen diferentes artículos que estudian la incorporación de proteína en galletas, panes, bizcochos, etc. Sin embargo, en la mayoría de ellos no se incorporan altos porcentajes de proteína y/o no se compara entre diferentes tipos de proteínas. Sabiendo que cada proteína posee unas propiedades tecnológicas específicas, la profundización en el conocimiento sobre su posible efecto de forma individual y comparativa completaría la información conocida hasta el momento.

4.1. Proteínas en galletas

El término galleta se refiere a un producto horneado de baja humedad (1-5%) que incluye generalmente como ingredientes mayoritarios harina, azúcar y grasa (Chevallier, Colonna, Buléon, & Della Valle, 2000; Chevallier, Della Valle, Colonna, Broyart, & Trystram, 2002). Otros ingredientes minoritarios que pueden incluirse en la formulación son levadura, gasificantes, siropes, sal o emulsificantes (Pareyt & Delcour, 2008). Según las combinaciones y proporciones de ingredientes mayoritarios y minoritarios utilizados se pueden encontrar diferentes tipos de galletas, entre las que se encuentran las galletas de masa corta o quebrada, las cuales fueron estudiadas en la presente tesis. El papel tecnológico o estructural de la proteína en las galletas de masa quebrada se fundamenta en la teoría de considerar este tipo de masa como un sistema bi-continuo. Baltsavias, Jurgens, y van Vliet (1997) describieron la masa quebrada como un sistema bi-continuo, compuesto por una fase grasa y una no grasa formada por una solución saturada de sacarosa que rodea partículas harina/almidón. Chevallier et al. (2000) también comparte la visión de la masa corta de galletas como un sistema bi-continuo, y considera que está formada por una suspensión de proteínas, asociaciones almidón-proteína y gránulos aislados de almidón dispersas en una solución continua de azúcar donde las grasas están emulsionadas. Por su parte, Manley (2000) coincide con esta última descripción y describe una masa corta como una matriz compuesta por una mezcla de partículas proteicas y almidón con la grasa presente como glóbulos de gran tamaño. De esta forma, la cantidad y calidad de las proteínas presentes tiene una gran influencia en el comportamiento reológico de las masas y, por lo tanto, en las características finales de las galletas.

Durante el proceso de amasado de algunos tipos de galletas se produce el desarrollo de la red de gluten. Un nivel adecuado de agua junto con trabajo mecánico son requisitos clave para que esto ocurra. Sin embargo, en el caso de las galletas de masa corta, la cantidad de agua utilizada es muy reducida, por lo que el agua disponible para la proteína es mínima. Además, otras sustancias, como la grasa y el azúcar, también compiten por ese agua libre, y en este tipo de galletas, ambos ingredientes se encuentran en altas concentraciones (Gaines, 1990). El reducido trabajo mecánico aplicado y la baja cantidad de agua disponible explican que en este tipo de galletas no se desarrolle la red de gluten y los resultados obtenidos en galletas con y sin gluten pueden ser comparables.

Existen numerosos estudios basados en el análisis del posible efecto que la adición de proteínas puede producir en la reología de galletas. Tanto Tang y Liu (2017) como Gani et al. (2015) observaron una disminución de la capacidad de absorción de agua de las mezclas harina-proteína con la adición de proteína de suero. A su vez, esta reducción influye en la reología de las masas ya que redujo los valores del módulo elástico (G'), módulo viscoso (G'') y consistencia (G^*) (Sarabhai & Prabhasankar, 2015), siendo este efecto mayor cuanto mayor era el contenido de proteína. Por su parte, Mancebo, Rodríguez y Gómez (2016) también observaron esta correlación positiva entre la capacidad de absorción de agua y la reología de las masas ya que, con la adición de proteína de guisante (0, 10 y 20%), se incrementaron ambos parámetros.

Por otra parte, son numerosos los autores que han estudiado como la incorporación de proteína puede interferir en los cambios que la galleta experimenta durante el horneado y como esto afecta en sus características físicas y sensoriales.

Respecto a las dimensiones de las galletas, Rababah, Al-Mahasneh y Ereifej (2006), Singh and Mohamed (2007) y Sarabhai et al. (2015) observaron una reducción del diámetro con el aumento del porcentaje de proteína de soja añadido. Gani et al. (2015) y Mancebo et al. (2016) no observaron ningún cambio en el índice de expansión (diámetro/espesor) de galletas enriquecidas con hasta un 15% de proteína de suero y un 20% de proteína de guisante, respectivamente. Sin embargo, Tang y Liu (2017), Sarabhai et al. (2015), Sarabhai y Prabhansankar (2015) y Wani et al. (2015) mostraron un incremento de este parámetro con la adición de proteína de suero. Gallagher, Kenny y Arendt (2005) determinaron que la adición de proteína

de suero disminuía el diámetro y el espesor de las galletas. Sin embargo, en el estudio de Parate et al. (2011), al incorporar un 20 y 40% de la misma proteína, el diámetro se reduce y el espesor aumenta. Variaciones, tanto de ingredientes como de proporciones, en las formulaciones utilizadas para la elaboración de las galletas podrían explicar estos resultados contradictorios.

En cuanto al color, la mayoría de los estudios coinciden en el hecho de que las galletas enriquecidas con proteínas son más oscuras (Conforti & Lupano, 2004; Gallagher et al., 2005; Gani et al., 2015; Mancebo et al., 2016; Parate et al., 2011; Sarabhai et al., 2015; Tang & Liu, 2017; Wani et al., 2015). Este oscurecimiento de las galletas se puede explicar por un aumento del número de reacciones de Maillard entre las proteínas y los azúcares reductores (Gallagher et al., 2005; Pérez, Matta, Osella, de la Torre, & Sánchez, 2013).

La textura de las galletas también se ve afectada de diferente forma en función del tipo de proteína utilizado. Varios autores observaron un aumento de la dureza con la adición de proteína de suero (Gallagher et al., 2005; Gani et al., 2015; Sarabhai & Prabhasankar, 2015; Tang & Liu, 2017). Sin embargo, Sarabhai et al. (2015) y Conforti y Lupano (2004) mostraron que las galletas con proteína de suero presentaron una dureza menor que el control. De nuevo, las diferencias entre estudios pueden deberse a diferentes formulaciones de galletas. Por su parte, Mancebo et al. (2016), Sarabhai et al. (2015) y Tang y Liu (2017) redujo la dureza de las galletas de arroz al sustituir la harina por diferentes porcentajes de proteína de guisante.

4.2. Proteínas en bizcochos

Los bizcochos son productos horneados elaborados principalmente con harina, azúcar, huevos, grasa o aceite y gasificante (Wilderjans, Luyts, Brijs, & Delcour, 2013). Durante el mezclado, los glóbulos de grasa de gran tamaño se transforman en otros de menor tamaño para conseguir una emulsión estable. Esta reducción de tamaño se consigue mediante la disminución de la tensión interfacial entre las fases agua y aceite, proceso en el que participan las proteínas del huevo (Pyler, 1988). Mine (2002) afirma que, en primer lugar, las lipoproteínas de la yema se descomponen en la interfase aceite-agua. A continuación, sus proteínas se adsorben en la interfase mientras que sus lípidos se unen con las gotas de aceite presentes en

la masa. Las interacciones moleculares dentro de la capa adsorbida que rodea las gotas de grasa contribuyen a la formación de una película que intenta estabilizar la mezcla para evitar fenómenos de coalescencia (Wilderjans et al., 2013).

Además de una reducción del tamaño de los glóbulos de grasa, durante el mezclado también se produce una incorporación de aire en forma de burbujas las cuales se retienen en la fase grasa (Wilderjans et al., 2013). Cuando los cristales de grasa se derriten durante el horneado, las burbujas de aire migran de la fase grasa a la fase acuosa y las proteínas de la clara de huevo se encargan de estabilizar dichas burbujas. Así, interacciones entre las diferentes proteínas de la clara de huevo pueden contribuir a la formación (globulina) y estabilización (ovomucina) de la espuma mediante un rápido reordenamiento conformacional y la posterior formación de una película alrededor de las burbujas de aire (Mine, 1995; Weijers, van de Velde, Stijnman, van de Pijpekamp, & Visschers, 2006). A diferencia de la clara de huevo, la presencia de yema de huevo afecta de forma negativa en la formación de espuma ya que influye en las interacciones proteína-proteína y produce una disminución de la elasticidad de la película que rodea la grasa (Kiosseoglou & Paraskevopoulou, 2006). A su vez, esta reducción de la elasticidad tiene un efecto negativo sobre el producto final ya que durante el horneado se produce una expansión de las burbujas de aire, y la elasticidad debe ser suficiente para soportar la presión ejercida por las burbujas y que no se produzcan fenómenos de coalescencia. Durante las últimas etapas del horneado, la masa de bizcocho pasa de ser una masa líquida a una espuma sólida debido a la gelatinización del almidón y la coagulación de la proteína de huevo (Guy & Pithawala, 1981). Algunos autores afirman que las proteínas de la clara y de la yema de huevo coagulan entre sí y dan lugar a una red de proteínas cuando se desnaturalizan (Kiosseoglou & Paraskevopoulou, 2006; Wilderjans et al., 2013).

Además, de las proteínas del huevo, la proteína de la harina también presenta cierta funcionalidad durante el mezclado de los ingredientes y/o horneado de los bizcochos. Durante el mezclado, las partículas de harina dificultan la coalescencia de los glóbulos de grasa debido a una obstrucción física y/o un incremento de la viscosidad de la fase acuosa (Shepherd & Yoell, 1976). Además, este incremento de la viscosidad reduce los fenómenos de coalescencia de las burbujas de aire, lo cual contribuye a obtener una emulsión y una espuma más estable, y por tanto, un

bizcocho con mayor volumen (Wilderjans et al., 2013). Debido al hecho de que la proteína absorbe dos veces su peso en agua (Pareyt & Delcour, 2008), un mayor contenido proteico puede aumentar la capacidad de absorción de agua de la harina y por tanto, mejorar el volumen final del producto. Por otro lado, Donelson y Wilson (1960) observaron que cuando el porcentaje de gluten aumentaba, el volumen de bizcocho se incrementaba hasta alcanzar un máximo. Así, a pesar de que el desarrollo de la red de gluten en bizcocho es limitado (Wilderjans et al., 2013), las proteínas del gluten pueden ser importantes para la formación de la estructura del bizcocho durante el horneado (Wilderjans, Pareyt, Goesaert, Brijs, & Delcour, 2008). Como se ha explicado anteriormente, las proteínas del huevo se desnaturalizan durante el horneado y esto hace que se vuelvan más susceptibles para sufrir entrecruzamientos (Wilderjans, Luyts, Goesaert, Brijs, & Delcour, 2010). Wilderjans et al. (2008) observaron un descenso de la extractabilidad proteica durante el horneado, el cual era más pronunciado cuanto mayor era el contenido de gluten. Este descenso podría indicar un entrecruzamiento entre las proteínas de huevo y el gluten, dando lugar a una red de proteínas mixtas que forma una estructura estable con una mayor resistencia a la coalescencia (Deleu, Wilderjans, Van Haesendonck, Brijs, & Delcour, 2016; Kiosseoglou & Paraskevopoulou, 2006; Wilderjans et al., 2010; Wilderjans et al., 2013).

Existen varios trabajos que estudian la influencia de la proteína en las características de bizcochos. En general, la adición de proteína disminuyó la densidad del batido: $\geq 30\%$ de suero (Camargo et al., 2018; Jyotsna, Manohar, Indrani, & Rao, 2007), 20% de proteína de soja (Majzoobi, Ghiasi, Habibi, Hedayati, & Farahnaky, 2014; Ronda, Oliete, Gómez, Caballero, & Pando, 2011) y 15% de gluten (Wilderjans et al., 2008). De esta forma, la disminución de la densidad puede ser la explicación al aumento del volumen específico observado por varios autores al incluir diferentes tipos de proteína: guisante y amaranto, (Shevkani & Singh, 2014) suero (Camargo et al., 2018; Jyotsna et al., 2007), clara de huevo y caseína (Matos, Sanz, & Rosell, 2014), judía (Subagio & Morita, 2008), soja (Majzoobi et al., 2014) y trigo (Ronda et al., 2011; Shevkani & Singh, 2014).

Sin embargo, existen autores como Sung, Park y Chang (2006), Shevkani et al. (2015) y/o Campbell, Euston y Ahmed (2016) que observaron un efecto contrario de la adición de proteína en el volumen de bizcochos.

Respecto a la textura, la adición de caseína (Matos et al., 2014), proteína de alubia (Shevkani et al., 2015) y soja (Majzoobi et al., 2014; Sung et al., 2006) aumentó la dureza de los bizcochos. Por el contrario, la incorporación de suero (Jyotsna et al., 2007), guisante, amaranto y gluten (Shevkani & Singh, 2014) disminuyó dicho parámetro.

Finalmente, como en el caso de las galletas, la mayoría de los autores coinciden en que la presencia de proteína da lugar a productos más oscuros, debido a un aumento de las reacciones de Maillard entre las proteínas y los azúcares reductores (Camargo et al., 2018; Majzoobi et al., 2014; Matos et al., 2014; Shevkani et al., 2015; Shevkani & Singh, 2014). Sin embargo, al no compararse diferentes tipos de proteínas, no es posible conocer el grado de influencia de cada tipo de proteína. Así, aunque en general la presencia de proteína disminuyó la luminosidad de los productos, algunas de ellas podrían influir en mayor medida sobre el producto final. Esta posible diferencia entre proteínas se estudiará en la presente tesis.

4.3. Proteínas en pan

La proteína presente en la harina juega un papel muy importante durante las diferentes etapas del proceso de elaboración del pan. El pan se caracteriza por presentar una estructura tipo esponja donde los elementos estructurales principales son el almidón gelatinizado y la proteína desnaturalizada obtenidos durante la cocción (Stauffer, 2007). La proteína de trigo se caracteriza por presentar una fracción de almacenamiento que posee la habilidad de formar una masa viscoelástica tras ser hidratada y sometida a trabajo mecánico. Esta proteína de almacenamiento insoluble es mayoritaria en la proteína de trigo y está formada por gluteninas y gliadinas (Lai & Lin, 2007). Otra fracción proteica presente en la harina de trigo es la fracción soluble en agua, la cual contiene albúminas y globulinas. Estas proteínas engloban fundamentalmente enzimas, inhibidores enzimáticos, lipoproteínas, lecitinas y globulinas de función desconocida. Actualmente, la única función conocida de estos compuestos durante el horneado es la acción de la β -amilasa en el almidón, la cual da lugar a maltosa que sirve como azúcar fermentable durante el proceso de fermentación (Stauffer, 2007).

Cuando se habla de “desarrollo de la masa” este término incluye todos los cambios que los ingredientes del pan comienzan a experimentar cuando se mezclan, entre

los que se incluyen el desarrollo de la red de gluten (Cauvain, 2007). La hidratación de la harina y la aplicación de trabajo mecánico hacen que se formen estructuras fibrosas de proteína (Amend & Belitz, 1991). Durante las primeras etapas de mezclado, las fibrillas de proteína hidratadas se adhieren entre ellas dando lugar a una red aleatoria de largas hebras. Estas hebras se estiran por la acción de mezclado, haciéndolas más finas, orientándolas en la misma dirección y permitiendo la interacción de unas con otras. Cuando se alcanza el pico de consistencia, las fibrillas proteicas presentan un diámetro bastante reducido en comparación al original y comienzan a interactuar bidimensionalmente en lugar de, como venían haciendo, a lo largo de los ejes de las hebras individuales (Stauffer, 2007). De esta forma, las proteínas de gluten se convierten en una red continua y cohesiva que rodea los gránulos de almidón y que proporciona propiedades viscoelásticas a la masa (Delcour et al., 2012b). A nivel molecular, algunos autores afirman que durante el mezclado se rompen los enlaces disulfuro que forman las gluteninas (Ewart, 1977; Graveland et al., 1985). Así, la glutenina se despolimeriza en subunidades más pequeñas, y se vuelve a polimerizar durante la etapa de reposo posterior. El tiempo de mezclado requerido para conseguir el desarrollo de la masa está directamente relacionado con la cantidad de glutenina contenida en la harina. Cuanto mayor es el contenido de glutenina, mayor es la energía que necesita para ser descompuesta y reorganizarse en polímeros lineales (Orth & Bushuk, 1972; Singh, Donovan, & MacRitchie, 1990).

Un aspecto a evitar durante el proceso de fermentación de las masas es la coalescencia de las burbujas de gas. Durante el mezclado, se introduce hasta un 15% de gas en la masa y se estima que el número de burbujas de gas varía entre 10^{11} y 10^{14} m^{-3} (Bloksma, 1990; Hamer, MacRitchie, & Weegels, 2009). El dióxido de carbono generado por las levaduras durante la fermentación se difunde dentro de estas burbujas y produce un aumento de volumen de la masa (Hamer et al., 2009). Si la masa no presenta la viscosidad y elasticidad suficiente para soportar la expansión de las burbujas, las burbujas comenzarán a tocarse, uniéndose y dando lugar a otras de mayor tamaño (Campbell, 2003; Wiggins & Cauvain, 2007). De esta forma, la masa sufrirá una pérdida de volumen durante la fermentación, lo cual se considera un efecto no deseable. Existen varios artículos que estudian el efecto de la

calidad y cantidad de proteína en el volumen del pan y su correlación con la reología de la masa (Bloksma, 1990; Hosney & Rogers, 1990).

Durante el horneado, las propiedades reológicas del gluten cambian significativamente cuando éste se somete a una temperatura de 50-55°C ya que disminuye el módulo viscoso (G'') (Bale & Muller, 1970; LeGrys, Booth, & Al-Baghdadi, 1981) y, o se mantiene constante (Bale & Muller, 1970) o reduce el módulo elástico (G') (LeGrys et al., 1981). Por encima de 55°C, ambos módulos se incrementan, especialmente G'' , lo cual aumenta el carácter viscoso del gluten (Bale & Muller, 1970; LeGrys et al., 1981). Esta mayor proporción de propiedades viscosas mejora el volumen del pan ya que, como afirmaron LeGrys et al (1981), el módulo elástico de la masa está inversamente relacionado con el volumen del producto final. Por otro lado, la desnaturalización de la proteína junto con la gelatinización del almidón afectan a la difusión del agua ya que lo liberan y absorben. La gelatinización del almidón capta agua de las proteínas de gluten haciendo que las paredes de las células de aire se vuelvan más rígidas (Delcour et al., 2012b). Además, el incremento de la temperatura producido durante el horneado promueve la formación de interacciones entre proteínas (Lagrain, Thewissen, Brijs, & Delcour, 2007; Singh, 2005; Veraverbeke, Courtin, Verbruggen, & Delcour, 1999). Al principio del horneado, las gluteninas se polimerizan a través de la oxidación de los grupos SH libres y de las reacciones de intercambio SH-SS (Veraverbeke et al., 1999). A medida que continúa el proceso de horneado, los grupos SH libres promueven las interacciones gliadina-glutenina dando lugar a una gran red proteica (Lagrain et al., 2007). En el caso de los panes sin gluten, la función estructural del gluten se intenta simular mediante el uso de otros ingredientes como almidones, hidrocoloides, enzimas y/o proteínas para mejorar su estructura, aceptabilidad y vida útil (Gujral & Rosell, 2004; Mancebo, San Miguel, Martínez, & Gómez, 2015; Moore, Heinbockel, Dockery, Ulmer, & Arendt, 2006). Ziobro, Juszczak, Witczak y Korus (2016) afirmaron que la adición de proteínas lácteas reforzó la estructura, y mejoró la textura y color y ralentizó el envejecimiento de algunos productos. El incremento de temperatura alcanzado durante el horneado también posibilita la formación de reacciones de Maillard, las cuales se producen entre azúcares reductores y aminoácidos, proteínas y/o otros compuestos nitrogenados (Purlis & Salvadori, 2009). El transporte de calor y la consecuente evaporación del agua son los

responsables de la formación de la corteza (Mondal & Datta, 2008; Zaroni, Pierucci, & Peri, 1994). Este gradiente de temperaturas hace que la temperatura en el exterior esté por encima de 100°C (Purlis & Salvadori, 2009) y que se produzcan las interacciones proteína-azúcares reductores. Los panes sin gluten se caracterizan por presentar cortezas de color pálido y la adición de proteínas exógenas puede conseguir mejorar su aspecto y aceptabilidad (Pico, Reguilón, Bernal, & Gómez, 2019).

Finalmente, diversos autores han estudiado la participación de las proteínas en el proceso de endurecimiento del pan. Algunos afirman que existen enlaces de hidrógeno entre los grupos -OH de las cadenas de almidón y los grupos -NH₂ de proteínas, y que éstos aumentan en número y fuerza durante el tiempo de almacenamiento, incrementando la dureza de la miga (Martin & Hosney, 1991; Martin, Zeleznak, & Hosney, 1991). Kim y D'Appolonia (1977a, 1977b) concluyeron que existe una relación inversamente proporcional entre el contenido proteico y el proceso de endurecimiento durante el almacenamiento del pan. Por su parte, He y Hosney (1991) determinaron que la proteína procedente de harinas de baja calidad interaccionaba con el almidón con mayor fuerza que la proteína de harinas de mayor calidad, lo cual suponía que el pan iba a endurecerse más rápidamente.

Debido a la influencia que la proteína puede tener en las propiedades del pan elaborado con harina de trigo, existen numerosos estudios que analizan como la adición de proteínas exógenas modifica sus características reológicas y/o físicas. Chinma, Ilowefah, Shammugasamy, Mohammed, y Muhammad (2015) observaron que la presencia de proteína de salvado de arroz (5-15%) en la formulación de panes de trigo redujo sus propiedades reológicas (G' y G''), y como consecuencia, disminuyó también su volumen. Como se ha explicado anteriormente, si una masa pierde consistencia, su capacidad de retener las burbujas de gas que se expanden durante la fermentación es menor y como resultado, el volumen del pan disminuye. Otros autores coinciden en el hecho de que, al incorporar proteína en panes de trigo, su volumen se reduce (Campbell et al., 2016; Chinma et al., 2015; Erben & Osella, 2017; López & Goldner, 2015; Serventi, Vittadini, & Vodovotz, 2018).

En cuanto a la dureza, autores como Campbell et al. (2016), Serventi et al. (2018) y Chinma et al. (2015), observaron que al añadir proteína de alubia carilla, garbanzo y salvado de arroz, respectivamente, este parámetro aumentó. Sin embargo,

mientras que la proteína de garbanzo redujo la elasticidad y cohesividad de los panes (Campbell et al., 2016), la proteína de salvado de arroz las incrementó (Chinma et al., 2015).

La incorporación de proteína de salvado de arroz y altramuz también redujo la luminosidad de panes de trigo, haciendo que estos sean más oscuros (Chinma et al., 2015; López & Goldner, 2015).

Respecto a panes sin gluten, la incorporación de proteína de soja aumentó G' y G'' de panes elaborados con harina (Crockett, Ie, & Vodovotz, 2011; Srikanlaya, Therdthai, Ritthiruangdej, & Zhou, 2018) y almidón (Horstmann, Foschia, & Arendt, 2017; Villanueva, Pérez-Quirce, Collar, & Ronda, 2018; Ziobro et al., 2016; Ziobro, Witczak, Juszczak, & Korus, 2013). Las proteínas de patata (Witczak, Juszczak, Ziobro, & Korus, 2017), caseína (Villanueva et al., 2018), salvado de arroz (Phongthai, D'Amico, Schoenlechner, & Rawdkuen, 2016), guisante (Ziobro et al., 2016) y colágeno (Ziobro et al., 2013) también incrementaron las propiedades reológicas de masas de pan sin gluten. Mientras que Crockett et al. (2011) y Ziobro et al. (2013) observaron que al sustituir parte de la harina y/o almidón por proteína de clara de huevo las propiedades reológicas se redujeron, Phongthai, D'Amico, Schoenlechner y Rawdkuen (2016) consiguieron aumentar el carácter elástico de panes de harina de arroz al adicionar un 2 y un 4% de proteína de clara de huevo. Otros autores también observaron una reducción de los parámetros G' y G'' con la incorporación de proteína de suero y altramuz (Srikanlaya et al., 2018; Ziobro et al., 2016). Estas diferencias pueden deberse al hecho de que unos autores sustituyeron parte del almidón por proteína, y otros adicionaron la proteína y por tanto, aumentaron el contenido de sólidos de la formulación. Este aumento puede producir un incremento de la capacidad de absorción de agua de la masa, y como resultado, dar lugar a una masa con mayor consistencia.

Debido a la reducción de la consistencia de la masa, los panes con proteína de suero presentaron mayores volúmenes con respecto al pan control (Aprodu, Alexandra Badiu, & Banu, 2016; Krupa-Kozak, Baczek, & Rosell, 2013; Shin, Gang, & Song, 2010). Este mismo efecto fue observado en panes que contenían proteína de clara de huevo (Crockett et al., 2011; Nozawa, Ito, & Arai, 2016; Phongthai et al., 2016; Storck et al., 2013; Ziobro et al., 2016, 2013) y caseinato (Aprodu et al., 2016; Shin

et al., 2010; Storck et al., 2013). Por otro lado, el aumento de la consistencia mediante la incorporación de proteínas de soja, patata, guisante y colágeno dio lugar a panes con valores de volúmen específico menores que la muestra control (Crockett et al., 2011; Horstmann et al., 2017; Marco & Rosell, 2008; Srikanlaya et al., 2018; Witczak et al., 2017; Ziobro et al., 2016, 2013).

En general, los panes sin gluten enriquecidos con proteína presentan una mayor dureza que los panes control (Crockett et al., 2011; Gallagher et al., 2003; Horstmann et al., 2017; Kittisuban, Ritthiruangdej, & Supphantharika, 2014; Nozawa et al., 2016; Phongthai et al., 2016; Srikanlaya et al., 2018; Storck et al., 2013; Witczak et al., 2017). De hecho, Ziobro et al. (2016) observaron que al añadir un 10% de proteína de guisante y de clara de huevo los valores de dureza de los panes se multiplicaban por cinco. Sin embargo, de acuerdo con Shin et al. (2010) y Krupa-Kozak et al. (2013), la incorporación de proteína de suero redujo la dureza de panes sin gluten, posiblemente debido a la reducción de la consistencia de las masas y el aumento de volumen del producto final.

Por último, cabe destacar que los panes sin gluten se caracterizan por tener un color pálido, y la adición de proteína podría ser una herramienta para solucionar este hecho. Así, del mismo modo que con las galletas y bizcochos, la incorporación de proteína dio lugar a panes de coloraciones más oscuras (Gallagher, Gormley, & Arendt, 2003; Krupa-Kozak et al., 2013; Phongthai et al., 2016; Ziobro et al., 2016, 2013).

4.4. Proteínas en purés o salsas a base de sustancias almidonosas

Existen purés o salsas cuya composición se basa en mezclas de sustancias almidonosas (Arocas, Sanz, & Fiszman, 2009). La presencia del almidón en la formulación de este tipo de productos se fundamenta en su capacidad espesante debido al proceso de gelatinización que sufre durante su calentamiento (Olkku & Rha, 1978). Este proceso físico-químico experimentado por el almidón permite obtener una consistencia y/o textura deseada. Como se explica en el apartado anterior “Propiedades tecnológicas de las proteínas en los alimentos”, las proteínas también desempeñan una función espesante, por lo que el enriquecimiento proteico de purés o salsas a base de almidón puede afectar a sus propiedades reológicas. De

esta forma, esta influencia de las proteínas en las características del producto final hace necesario su estudio en mayor profundidad. A pesar de su simplicidad y, por lo tanto, su gran aptitud para servir como vehículo de altos porcentajes de proteínas, existe un limitado número de estudios sobre purés o salsas que contengan proteínas y ninguno de ellos evalúa la influencia de diferentes cantidades y tipos (Camire & Krumhar, 1990; Guardado, Hernando, Llorca, Hernández-Carrión, & Quiles, 2012; Lim & Narsimhan, 2006; Quiles, Llorca, Hernández-Carrión, & Hernando, 2012). Esta falta de conocimiento hace necesario el estudio de cómo altos porcentajes de proteínas pueden afectar a las características físicas y sensoriales de purés o salsas a base de almidón.

5. REFERENCIAS

- AACC International. (2012). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists International (11th ed). Methods: 56-30 (WBC), 88-04 (WHC). St Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.
- Akesowan, A. (2016). Influence of konjac flour on foaming properties of milk protein concentrate and quality characteristics of gluten-free cookie. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(7), 1560–1569. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13125>
- Alquist, A., & Stall, S. (2018). Not all protein cookies are created equal. *Journal of Renal Nutrition*, 28(6), e41–e43. <https://doi.org/10.1053/j.jrn.2018.08.013>
- Amagliani, L., & Schmitt, C. (2017). Globular plant protein aggregates for stabilization of food foams and emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 248–259. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.013>
- Amend, T., & Belitz, H. . (1991). Microstructural studies of gluten and a hypothesis on dough formation. *Food Structure*, 10(4), 277–288.
- Aprodu, I., Alexandra Badiu, E., & Banu, I. (2016). Influence of protein and water addition on gluten-free dough properties and bread quality. *International Journal of Food Engineering*, 12(4), 355–363.
- Ares, G., Deliza, R., Barreiro, C., Giménez, A., & Gámbaro, A. (2010). Comparison of two sensory profiling techniques based on consumer perception. *Food Quality*

and Preference, 21(4), 417–426.

<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2009.10.006>

- Ares, G., Varela, P., Rado, G., & Giménez, A. (2011). Are consumer profiling techniques equivalent for some product categories? The case of orange-flavoured powdered drinks. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(8), 1600–1608. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02657.x>
- Arocas, A., Sanz, T., & Fiszman, S. M. (2009). Clean label starches as thickeners in white sauces. Shearing, heating and freeze/thaw stability. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2031–2037. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.04.006>
- ASTM. (1992). Quantitative Descriptive Analysis (QDA). Philadelphia: ASTM Digital Library. [https://doi.org/608 10.1520/MNL10523M](https://doi.org/608%2010.1520/MNL10523M)
- Bakke, A., & Vickers, Z. (2007). Consumer liking of refined and whole wheat breads. *Journal of Food Science*, 72(7), 473–480. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00440.x>
- Bale, R., & Muller, H. G. (1970). Application of the statistical theory of rubber elasticity to the effect of heat on wheat gluten. *International Journal of Food Science & Technology*, 5(3), 295–300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1970.tb01570.x>
- Baltsavias, A., Jurgens, A., & van Vliet, T. (1997). Rheological properties of short doughs at small deformation. *Journal of Cereal Science*, 26(3), 289–300. <https://doi.org/10.1006/jcrs.1997.0133>
- Barbut, S. (1996). *Methods of testing protein functionality*. (G. Hall, Ed.). London, UK: Chapman & Hall.
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2004). *Food Chemistry*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-07279-0>
- Berry, D. (2018). Protein: The nutrient that sells. Retrieved January 14, 2019, from <https://www.foodbusinessnews.net/articles/12751-protein-the-nutrient-that-sells>

- Berry, T. K., Yang, X., & Foegeding, E. A. (2009). Foams prepared from whey protein isolate and egg white protein: 2. changes associated with angel food cake functionality. *Journal of Food Science*, 74(5), E269–E277.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01178.x>
- Bertenshaw, E. J., Lluch, A., & Yeomans, M. R. (2008). Satiating effects of protein but not carbohydrate consumed in a between-meal beverage context. *Physiology & Behavior*, 93(3), 427–436. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.09.014>
- Bloksma, A. H. (1990). Dough structure, dough rheology and baking quality. *Cereals Food World*, 2(35), 237–244.
- Blomstrand, E. (2006). A role for branched-chain amino acids in reducing central fatigue. *The Journal of Nutrition*, 136(2), 544S–547S.
<https://doi.org/10.1093/jn/136.2.544S>
- Boland, M. (2011). Whey proteins. In G. O. Phillips & P. A. Williams (Eds.), *Handbook of Food Proteins* (pp. 30–55). Woodhead Publishing Limited.
<https://doi.org/10.1533/9780857093639.30>
- Bravo-Nunez, Á., Sahagún, M., Martínez, P., & Gómez, M. (2018). Incorporation of gluten and hydrolysed gluten proteins has different effects on dough rheology and cookie characteristics. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(6), 1452–1458. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13724>
- Cadena, R. S., Caimi, D., Jaunarena, I., Lorenzo, I., Vidal, L., Ares, G., ... Giménez, A. (2014). Comparison of rapid sensory characterization methodologies for the development of functional yogurts. *Food Research International*, 64, 446–455.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.027>
- Cadoret, M., & Husson, F. (2013). Construction and evaluation of confidence ellipses applied at sensory data. *Food Quality and Preference*, 28(1), 106–115.
<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.09.005>
- Camargo, L. R., Silva, L. M., Komerowski, M. R., Kist, T. B. L., Rodrigues, C. E., Rios, A. de O., ... Oliveira, V. R. (2018). Effect of whey protein addition on the nutritional, technological and sensory quality of banana cake. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(11), 2617–2623.

<https://doi.org/10.1111/ijfs.13857>

Camire, M. E., & Krumhar, K. (1990). Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29(1), 35–57.

<https://doi.org/10.1080/10408399009527513>

Campbell, G. . (2003). Bread aeration. In S.P. Cauvain (Ed.), *Bread Making: Improving Quality* (pp. 352–374). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd.

Campbell, G., & Mougeot, E. (1999). Creation and characterisation of aerated food products. *Trends in Food Science & Technology*, 10(9), 283–296.

[https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)00008-X](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)00008-X)

Campbell, L., Euston, S. R., & Ahmed, M. A. (2016). Effect of addition of thermally modified cowpea protein on sensory acceptability and textural properties of wheat bread and sponge cake. *Food Chemistry*, 194, 1230–1237.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.002>

Capriles, V. D., & Arêas, J. A. G. (2014). Novel approaches in gluten-free breadmaking: interface between food science, nutrition, and health.

Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13(5), 871–890.

<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12091>

Cartier, R., Rytz, A., Lecomte, A., Poblete, F., Krystlik, J., Belin, E., & Martin, N. (2006). Sorting procedure as an alternative to quantitative descriptive analysis to obtain a product sensory map. *Food Quality and Preference*, 17(7), 562–571.

<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2006.03.020>

Casperson, S. L., Sheffield-Moore, M., Hewlings, S. J., & Paddon-Jones, D. (2012). Leucine supplementation chronically improves muscle protein synthesis in older adults consuming the RDA for protein. *Clinical Nutrition*, 31(4), 512–519.

<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2012.01.005>

Cauvain, Stanley P. (2007). 2. Breadmaking Processes. In Stanley P. Cauvain & L. S. Young (Eds.), *Technology of Breadmaking* (2nd ed., pp. 21–49). New York, NY: Springer.

Chan, P., Chen, J., Ettelaie, R., Las, Z., Alevisopoulos, S., Day, E., & Smith, S. (2007). Study of the shear and extensional rheology of casein, waxy maize starch and

- their mixtures. *Food Hydrocolloids*, 21(5–6), 716–725.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.02.001>
- Cheftel, J. C., Cuq, J. L., & Lorient, D. (1989). *Proteínas alimentarias : bioquímica, propiedades funcionales, valor nutricional, modificaciones químicas*. Zaragoza: Acribia.
- Chevallier, S., Colonna, P., Buléon, A., & Della Valle, G. (2000). Physicochemical behaviors of sugars, lipids, and gluten in short dough and biscuit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1322–1326.
<https://doi.org/10.1021/jf990435+>
- Chevallier, S., Della Valle, G., Colonna, P., Broyart, B., & Trystram, G. (2002). Structural and chemical modifications of short dough during baking. *Journal of Cereal Science*, 35(1), 1–10. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0388>
- Chinma, C. E., Ilowefah, M., Shammugasamy, B., Mohammed, M., & Muhammad, K. (2015). Effect of addition of protein concentrates from natural and yeast fermented rice bran on the rheological and technological properties of wheat bread. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(2), 290–297.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.12619>
- Clemente, A. (2000). Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 11(7), 254–262.
- Conforti, P. A., & Lupano, C. E. (2004). Functional properties of biscuits with whey protein concentrate and honey. *International Journal of Food Science and Technology*, 39(7), 745–753. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00838.x>
- Cornicelli, M., Saba, M., Machello, N., Silano, M., & Neuhold, S. (2018). Nutritional composition of gluten-free food versus regular food sold in the Italian market. *Digestive and Liver Disease*, 50(12), 1305–1308.
<https://doi.org/10.1016/j.dld.2018.04.028>
- Crockett, R., Ie, P., & Vodovotz, Y. (2011). Effects of soy protein isolate and egg white solids on the physicochemical properties of gluten-free bread. *Food Chemistry*, 129(1), 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.030>

- Damodaran, S. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70(3), R54–R66.
- Damodaran, S. (2008). Amino acids, peptides and proteins. In S. Damodaran, K. Parkin, & O. Fennema (Eds.), *Food Chemistry*. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Davis, J. P., & Foegeding, E. A. (2007). Comparisons of the foaming and interfacial properties of whey protein isolate and egg white proteins. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 54(2), 200–210.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2006.10.017>
- Delarue, J., & Sieffermann, J. M. (2004). Sensory mapping using Flash profile. Comparison with a conventional descriptive method for the evaluation of the flavour of fruit dairy products. *Food Quality and Preference*, 15(4), 383–392.
[https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(03\)00085-5](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(03)00085-5)
- Delcour, J. A., Joye, I. J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., & Lagrain, B. (2012a). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1), 469–492.
<https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101303>
- Delcour, J. A., Joye, I. J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., & Lagrain, B. (2012b). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1), 469–492.
<https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101303>
- Deleu, L. J., Wilderjans, E., Van Haesendonck, I., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2016). Protein network formation during pound cake making: The role of egg white proteins and wheat flour gliadins. *Food Hydrocolloids*, 61, 409–414.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.05.001>
- Erben, M., & Osella, C. A. (2017). Optimization of mold wheat bread fortified with soy flour, pea flour and whey protein concentrate. *Food Science and Technology International*, 23(5), 457–468.
<https://doi.org/10.1177/1082013217701583>
- Erik van der Linden, & Foegeding, E. A. (2009). Gelation: Principles, models and applications to proteins. In S. Kasapis, I. T. Norton, & J. B. Ubbink (Eds.),

Modern Biopolymer Science (pp. 29–91). Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374195-0.00002-1>

European Parliament and of the Council. (2006). Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *Official Journal of the European Union, Serie L*, (404, 30 de diciembre), 9–25. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:404:0009:0025:EN:PDF>

Evans, W. J. (1995). Effects of exercise on body composition and functional capacity of the elderly. *Journals of Gerontology Series A - Biological Sciences and Medical Sciences*, 50, 147–150. <https://doi.org/10.1016/j.jradio.2011.05.010>

Ewart, J. A. D. (1977). Re-examination of the linear glutenin hypothesis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(2), 191–199. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740280214>

Faye, P., Brémaud, D., Teillet, E., Courcoux, P., Giboreau, A., & Nicod, H. (2006). An alternative to external preference mapping based on consumer perceptual mapping. *Food Quality and Preference*, 17(7–8), 604–614. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2006.05.006>

Fielding, R. A., Vellas, B., Evans, W. J., Bhasin, S., Morley, J. E., Newman, A. B., ... Zamboni, M. (2011). Sarcopenia: An Undiagnosed Condition in Older Adults. Current Consensus Definition: Prevalence, Etiology, and Consequences. International Working Group on Sarcopenia. *Journal of the American Medical Association*, 12, 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2011.01.003>

Foegeding, E. A., & Davis, J. P. (2011). Food protein functionality: A comprehensive approach. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1853–1864. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.008>

Fry, L., Madden, A. M., & Fallaize, R. (2018). An investigation into the nutritional composition and cost of gluten-free versus regular food products in the UK. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 31(1), 108–120.

<https://doi.org/10.1111/jhn.12502>

Gaines, C. . (1990). Influence of chemical and physical modification of soft wheat protein on sugar-snap cookie dough consistency, cookie size, and hardness. *Cereal Chemistry*, 67, 73–77.

Gallagher, E., Gormley, T. R., & Arendt, E. K. (2003). Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *Journal of Food Engineering*, 56(2–3), 153–161.
[https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00244-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00244-3)

Gallagher, Eimear, Kenny, S., & Arendt, E. K. (2005). Impact of dairy protein powders on biscuit quality. *European Food Research and Technology*, 221(3–4), 237–243. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-1140-5>

Gani, A., Broadway, A. A., Ahmad, M., Ashwar, B. A., Wani, A. A., Wani, S. M., ... Khatkar, B. S. (2015). Effect of whey and casein protein hydrolysates on rheological, textural and sensory properties of cookies. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5718–5726. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1649-3>

Gerzhova, A., Mondor, M., Benali, M., & Aider, M. (2016). Incorporation of canola proteins extracted by electroactivated solutions in gluten-free biscuit formulation of rice-buckwheat flour blend: Assessment of quality characteristics and textural properties of the product. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(3), 814–827.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.13034>

Government of Canada. (2018). *Food and Drug Regulations*. Part B, Division 1, Nutrient content claims, B.01. Ottawa. Retrieved from www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=632b6dad08d562ed1705c691778481d8&mc=true&node=se21.2.101_19&rgn=div8

Graveland, A., Bosveld, P., Lichtendonk, W. J., Marseille, J. P., Moonen, J. H. E., & Scheepstra, A. (1985). A model for the molecular structure of the glutenins from wheat flour. *Journal of Cereal Science*, 3(1), 1–16.
[https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(85\)80029-1](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(85)80029-1)

- Guardeño, L. M., Hernando, I., Llorca, E., Hernández-Carrión, M., & Quiles, A. (2012). Microstructural, physical, and sensory impact of starch, inulin, and soy protein in low-fat gluten and lactose free white sauces. *Journal of Food Science*, *77*(8), C859–C865. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02798.x>
- Gujral, H. S., & Rosell, C. M. (2004). Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. *Food Research International*, *37*(1), 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.08.001>
- Guy, R. C. E., & Pithawala, H. R. (1981). Rheological studies of high ratio cake batters to investigate the mechanism of improvement of flours by chlorination or heat treatment. *International Journal of Food Science & Technology*, *16*, 153–166. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb01005.x>
- Hailing, P. J. (1981). Protein-stabilized foams and emulsions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *15*(2), 155–203. <https://doi.org/10.1080/10408398109527315>
- Halton, T. L., & Hu, F. B. (2004). The effects of high protein diets on thermogenesis, satiety and weight loss: A critical review. *Journal of the American College of Nutrition*, *23*(5), 373–385. <https://doi.org/10.1080/07315724.2004.10719381>
- Hamer, R. J., MacRitchie, F., & Weegels, P. L. (2009). Chapter 6: Structure and Functional Properties of Gluten. In *Wheat: Chemistry and Technology* (pp. 153–178). 3340 Pilot Knob Road, St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.: AACC International, Inc. <https://doi.org/10.1094/9781891127557.006>
- Han, A., Romero, H. M., Nishijima, N., Ichimura, T., Handa, A., Xu, C., & Zhang, Y. (2019). Effect of egg white solids on the rheological properties and bread making performance of gluten-free batter. *Food Hydrocolloids*, *87*, 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.08.022>
- He, H., & Hoseney, R. C. (1991). Differences in gas retention, protein solubility, and rheological properties between flours of different baking quality. *Cereal Chemistry*, *68*, 526–530.
- Hermansson, A. (1979). Aggregation and denaturation involved in gel formation. In

- Functionality of protein structure* (pp. 81–103). Washington, DC: Am. Che. Soc.
<https://doi.org/10.1021/bk-1979-0092.ch005>
- Hermansson, A. (1986). Water and fat holding. In J. . Mitchell & D. . Ledward (Eds.), *Functional Propierties of Food Macromolecules* (p. 273). London and New York: Elsevier Appl. Sci. Publ.
- Horstmann, S. W., Foschia, M., & Arendt, E. K. (2017). Correlation analysis of protein quality characteristics with gluten-free bread properties. *Food & Function*, 8(7), 2465–2474. <https://doi.org/10.1039/c7fo00415j>
- Hoseney, R. C., & Rogers, D. E. (1990). The formation and properties of wheat flour doughs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29(2), 73–93.
<https://doi.org/10.1080/10408399009527517>
- Ingredion. (2018). *With or without you: Bakery. Trend report: six ways to beat the market.*
- Institute of Medicine. (2005). *Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids*. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/10490>
- Isanejad, M., Mursu, J., Sirola, J., Kröger, H., Rikkinen, T., Tuppurainen, M., & Erkkilä, A. T. (2016). Dietary protein intake is associated with better physical function and muscle strength among elderly women. *British Journal of Nutrition*, 115(07), 1281–1291.
<https://doi.org/10.1017/S000711451600012X>
- Jiang, D., & Peterson, D. G. (2013). Identification of bitter compounds in whole wheat bread. *Food Chemistry*, 141(2), 1345–1353.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.021>
- Jyotsna, R., Manohar, R. S., Indrani, D., & Rao, G. V. (2007). Effect of whey protein concentrate on the rheological and baking properties of eggless cake. *International Journal of Food Properties*, 10, 599–606.
<https://doi.org/10.1080/10942910601048986>
- Kato, A., & Nakai, S. (1980). Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins. *Biochimica et*

- Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure*, 624(1), 13–20.
[https://doi.org/10.1016/0005-2795\(80\)90220-2](https://doi.org/10.1016/0005-2795(80)90220-2)
- Kato, A., Tsutsui, N., Matsudomi, N., Kobayashi, K., & Nakai, S. (1981). Effects of partial denaturation on surface properties of ovalbumin and lysozyme. *Agricultural and Biological Chemistry*, 45(12), 2755–2760.
<https://doi.org/10.1080/00021369.1981.10864964>
- Katsanos, C. S., Chinkes, D. L., Paddon-Jones, D., Zhang, X., Aarsland, A., & Wolfe, R. R. (2008). Whey protein ingestion in elderly persons results in greater muscle protein accrual than ingestion of its constituent essential amino acid content. *Nutrition Research*, 28(10), 651–658.
<https://doi.org/10.1016/j.nutres.2008.06.007>
- Kim, S. K., & D'Appolonia, B. L. (1977a). Bread staling studies. I. Effect of protein content on staling rate and bread crumb content on staling rate and bread crumb pasting properties. *Cereal Chemistry*, 54, 207–215.
- Kim, S. K., & D'Appolonia, B. L. (1977b). Bread staling studies. II. Effect of protein content and storage temperature on the role of starch. *Cereal Chemistry*, 54, 216–224.
- Kinsella, J.E. (1979). Functional properties of soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56(3), 242–258.
- Kinsella, John E., & Morr, C. V. (1984). Milk proteins: Physicochemical and functional properties. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 21(3), 197–262. <https://doi.org/10.1080/10408398409527401>
- Kiosseoglou, V. (2003). Egg yolk protein gels and emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8(4–5), 365–370. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(03\)00094-3](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(03)00094-3)
- Kiosseoglou, V., & Paraskevopoulou, A. (2006). Eggs. In Y. H. Hui (Ed.), *Bakery Products: Science and Technology* (pp. 161–172). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9780470277553.ch8>
- Kittisuban, P., Ritthiruangdej, P., & Suphantharika, M. (2014). Optimization of hydroxypropylmethylcellulose, yeast β -glucan, and whey protein levels based

- on physical properties of gluten-free rice bread using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 57(2), 738–748.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.045>
- Koopman, R., & van Loon, L. J. C. (2009). Aging, exercise, and muscle protein metabolism. *Journal of Applied Physiology*, 106(6), 2040–2048.
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.91551.2008>
- Krupa-Kozak, U., Baczek, N., & Rosell, C. M. (2013). Application of dairy proteins as technological and nutritional improvers of calcium-supplemented gluten-free bread. *Nutrients*, 5(11), 4503–4520. <https://doi.org/10.3390/nu5114503>
- Lagrain, B., Thewissen, B. G., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2007). Impact of redox agents on the extractability of gluten proteins during bread making. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5320–5325.
<https://doi.org/10.1021/jf070639n>
- Lai, H.-M., & Lin, T.-C. (2007). Bakery Products: Science and Technology. In Y. H. Hui (Ed.), *Bakery Products* (pp. 3–68). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
<https://doi.org/10.1002/9780470277553.ch1>
- Lam, R. S. H., & Nickerson, M. T. (2013). Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure–function approach. *Food Chemistry*, 141(2), 975–984. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.038>
- Landi, F., Calvani, R., Tosato, M., Martone, A. M., Picca, A., Ortolani, E., ... Marzetti, E. (2017). Animal-derived protein consumption is associated with muscle mass and strength in community-dwellers: Results from the Milan Expo survey. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, 21(9), 1050–1056.
<https://doi.org/10.1007/s12603-017-0974-4>
- Latner, J., & Schwartz, M. (1999). The effects of a high-carbohydrate, high-protein or balanced lunch upon later food intake and hunger ratings. *Appetite*, 33(1), 119–128. <https://doi.org/10.1006/appe.1999.0237>
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food - Principles and Practices* (2nd ed.). New York, NY: Springer-Verlag New York.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>

- Le, S., & Husson, F. (2008). Sensominer: A package for sensory data analysis. *Journal of Sensory Studies*, 23(1), 14–25. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2007.00137.x>
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR : An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- LeGrys, G. ., Booth, M. ., & Al-Baghdadi, S. . (1981). The physical properties of wheat proteins. In Y. Pomeranz & L. Munck (Eds.), *Cereals: A renewale resource* (pp. 243–264). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.
- Lim, H. S., & Narsimhan, G. (2006). Pasting and rheological behavior of soy protein-based pudding. *LWT - Food Science and Technology*, 39(4), 343–349. <https://doi.org/10.1002/ccd.20785>
- López, E. P., & Goldner, M. C. (2015). Influence of storage time for the acceptability of bread formulated with lupine protein isolate and added brea gum. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 1171–1178. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.013>
- Majzoobi, M., Ghiasi, F., Habibi, M., Hedayati, S., & Farahnaky, A. (2014). Influence of soy protein isolate on the quality of batter and sponge cake. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 1164–1170. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12076>
- Mancebo, C. M., Rodriguez, P., & Gómez, M. (2016). Assessing rice flour-starch-protein mixtures to produce gluten free sugar-snap cookies. *LWT - Food Science and Technology*, 67, 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.045>
- Mancebo, C. M., San Miguel, M. Á., Martínez, M. M., & Gómez, M. (2015). Optimisation of rheological properties of gluten-free doughs with HPMC, psyllium and different levels of water. *Journal of Cereal Science*, 61, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.10.005>
- Manley, D. (2000). *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies* (Third). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited.

- Manoukian, E. B. (1986). *Mathematical nonparametric statistics*. New York, NY: Gordon and Breach.
- Marco, C., & Rosell, C. M. (2008). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 227(4), 1205–1213. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0838-6>
- Marinangeli, C. ., Mansilla, W. ., & Shoveller, A. . (2018). Navigating protein claim regulations in North America for foods containing plant-based proteins. *Cereal Foods World*, 63(5), 207–216. <https://doi.org/10.1094/CFW-63-5-0207>
- Martin, M. L., & Hosney, R. C. (1991). A Mechanism of Bread Firming. II. Role of Starch Hydrolyzing Enzymes. *Cereal Chemistry*, 68, 503–507.
- Martin, M. L., Zeleznak, K. J., & Hosney, R. C. (1991). A Mechanism of Bread Firming. I. Role of Starch Swelling. *Cereal Chemistry*, 68, 498–503.
- Matos, María E., Sanz, T., & Rosell, C. M. (2014). Establishing the function of proteins on the rheological and quality properties of rice based gluten free muffins. *Food Hydrocolloids*, 35, 150–158. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.05.007>
- Matos, María Estela., & Rosell, C. M. (2011). Chemical Composition and Starch Digestibility of Different Gluten-free Breads. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(3), 224–230. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0244-2>
- Millward, D. J., Layman, D. K., Tomé, D., & Schaafsma, G. (2008). Protein quality assessment: impact of expanding understanding of protein and amino acid needs for optimal health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(5), 1576S-1581S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.5.1576S>
- Mine, Y. (1995). Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. *Trends in Food Science and Technology*. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89083-4](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89083-4)
- Mine, Y. (2002). Recent advances in egg protein functionality in the food system. *World's Poultry Science Journal*, 58(01), 31–39. <https://doi.org/10.1079/WPS20020005>

- Miranda, J., Lasa, A., Bustamante, M. A., Churruga, I., & Simon, E. (2014). Nutritional differences between a gluten-free diet and a diet containing equivalent products with gluten. *Plant Foods for Human Nutrition*, *69*, 182–187. <https://doi.org/10.1007/s11130-014-0410-4>
- Missbach, B., Schwingshackl, L., Billmann, A., Mystek, A., Hickelsberger, M., Bauer, G., & König, J. (2015). Gluten-free food database: the nutritional quality and cost of packaged gluten-free foods. *PeerJ*, *3*. <https://doi.org/10.7717/peerj.1337>
- Molet-Rodríguez, A., Salvia-Trujillo, L., & Martín-Belloso, O. (2018). Beverage emulsions: key aspects of their formulation and physicochemical stability. *Beverages*, *4*(3), 70. <https://doi.org/10.3390/beverages4030070>
- Mondal, A., & Datta, A. K. (2008). Bread baking – A review. *Journal of Food Engineering*, *86*(4), 465–474. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.11.014>
- Moore, M. M., Heinbockel, M., Dockery, P., Ulmer, H. M., & Arendt, E. K. (2006). Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. *Cereal Chemistry*, *83*, 28–36. <https://doi.org/10.1094/CC-83-0028>
- Naqash, F., Gani, A., Gani, A., & Masoodi, F. A. (2017). Gluten-free baking: Combating the challenges - A review. *Trends in Food Science & Technology*, *66*, 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.004>
- National Kidney Foundation. (2000). K/DOQI clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. *American Journal of Kidney Diseases*, *35*(suppl 2), S40–S43.
- Ni Lochlainn, M., Bowyer, R., & Steves, C. (2018). Dietary Protein and Muscle in Aging People: The Potential Role of the Gut Microbiome. *Nutrients*, *10*(7), 929. <https://doi.org/10.3390/nu10070929>
- Nielsen. (2018). *Protein: consumers want it, but don't understand it*. Retrieved from <https://www.nielsen.com/us/en/insights/news/2018/protein-consumers-want-it-but-dont-understand-it.html>
- Nozawa, M., Ito, S., & Arai, E. (2016). Effect of ovalbumin on the quality of gluten-free rice flour bread made with soymilk. *LWT - Food Science and Technology*,

- 66, 598–605. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.010>
- Olkku, J., & Rha, C. (1978). Gelatinisation of starch and wheat flour starch—A review. *Food Chemistry*, 3(4), 293–317. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(78\)90037-7](https://doi.org/10.1016/0308-8146(78)90037-7)
- Orden, D., Fernández-Fernández, E., Rodríguez-Nogales, J. M., & Vila-Crespo, J. (2019). Testing SensoGraph, a geometric approach for fast sensory evaluation. *Food Quality and Preference*, 72, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.09.005>
- Orth, R. A., & Bushuk, W. (1972). A comparative study of the proteins of wheats of diverse baking qualities. *Cereal Chemistry*, 49, 268–275.
- Pagès, J. (2005). Collection and analysis of perceived product inter-distances using multiple factor analysis: Application to the study of 10 white wines from the Loire Valley. *Food Quality and Preference*, 16(7), 642–649. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.01.006>
- Paraskevopoulou, A., Kiosseoglou, V., Alevisopoulos, S., & Kasapis, S. (2000). Small deformation measurements of single and mixed gels of low cholesterol yolk and egg white. *Journal of Texture Studies*, 31(2), 225–244. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2000.tb01418.x>
- Parate, V. R., Kawadkar, D. K., & Sonawane, S. S. (2011). Study of whey protein concentrate fortification in cookies variety biscuits. *International Journal of Food Engineering*, 7(2). <https://doi.org/10.2202/1556-3758.1638>
- Pareyt, B., & Delcour, J. A. (2008). The role of wheat flour constituents, sugar, and fat in low moisture cereal based products: a review on sugar-snap cookies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9), 824–839. <https://doi.org/10.1080/10408390701719223>
- Patrignani, M., Rinaldi, G. J., & Lupano, C. E. (2016). In vivo effects of Maillard reaction products derived from biscuits. *Food Chemistry*, 196, 204–210. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.038>
- Pérez, S., Matta, E., Osella, C., de la Torre, M., & Sánchez, H. D. (2013). Effect of soy flour and whey protein concentrate on cookie color. *LWT - Food Science and*

- Technology*, 50(1), 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.06.015>
- Phillips, S. M., Tipton, K. D., Aarsland, A., Wolf, S. E., & Wolfe, R. R. (1997). Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 273(1), E99–E107. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1997.273.1.E99>
- Phongthai, S., D’Amico, S., Schoenlechner, R., & Rawdkuen, S. (2016). Comparative study of rice bran protein concentrate and egg albumin on gluten-free bread properties. *Journal of Cereal Science*, 72, 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.09.015>
- Pico, J., Reguilón, M. P., Bernal, J., & Gómez, M. (2019). Effect of rice, pea, egg white and whey proteins on crust quality of rice flour-corn starch based gluten-free breads. *Journal of Cereal Science*, 86, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.01.014>
- Porrini, M., Crovetti, R., Testolin, G., & Silva, S. (1995). Evaluation of satiety sensations and food intake after different preloads. *Appetite*, 25(1), 17–30. <https://doi.org/10.1006/appe.1995.0038>
- Purlis, E., & Salvadori, V. O. (2009). Modelling the browning of bread during baking. *Food Research International*, 42(7), 865–870. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.007>
- Purwanti, N., Peters, J. P. C. M., & van der Goot, A. J. (2013). Protein micro-structuring as a tool to texturize protein foods. *Food & Function*, 4(2), 277–282. <https://doi.org/10.1039/C2FO30158J>
- Pyler, E. J. (1988). *Baking: Science and Technology* (3rd ed.). Merriam, KS, USA: Sosland Publishing Company.
- Quiles, A., Llorca, E., Hernández-Carrión, M., & Hernando, I. (2012). Effect of different cornstarch types in new formulations of gluten- and lactose-free white sauces with high protein content. *Journal of Food Quality*, 35(5), 341–352. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2012.00461.x>
- R Core Team. (2007). R: A Language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from

<http://www.r-project.org/>

Rababah, T. M., Al-Mahasneh, M. A., & Ereifej, K. I. (2006). Effect of chickpea, broad bean, or isolated soy protein additions on the physicochemical and sensory properties of biscuits. *Journal of Food Science*, 71(6), S438–S442.

<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00077.x>

Risvik, E., McEwan, J. A., Colwill, J. S., Rogers, R., & Lyon, D. H. (1994). Projective mapping: A tool for sensory analysis and consumer research. *Food Quality and Preference*, 5(4), 263–269. [https://doi.org/10.1016/0950-3293\(94\)90051-5](https://doi.org/10.1016/0950-3293(94)90051-5)

Ronda, F., Oliete, B., Gómez, M., Caballero, P. A., & Pando, V. (2011). Rheological study of layer cake batters made with soybean protein isolate and different starch sources. *Journal of Food Engineering*, 102, 272–277.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.09.001>

Rosell, C. ., & Matos, M. E. (2015). Market and nutrition issues of gluten-free foodstuff. In E. Arranz, F. Fernández-Bañares, C. Rosell, L. Rodrigo, & A. Peña (Eds.), *Advances in the Understanding of Gluten related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods* (pp. 675–713). OmniaScience.

<https://doi.org/10.3926/oms.268>

Ruíz-Henestrosa, V. P., Sánchez, C. C., Escobar, M. del M. Y., Jiménez, J. J. P., Rodríguez, F. M., & Patino, J. M. R. (2007). Interfacial and foaming characteristics of soy globulins as a function of pH and ionic strength. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 309(1–3), 202–215.

<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.01.030>

Sahagún, M., & Gómez, M. (2018). Influence of protein source on characteristics and quality of gluten-free cookies. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 4131–4138. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3339-z>

Santiago, L. G., Maldonado-Valderrama, J., Martín-Molina, A., Haro-Pérez, C., García-Martínez, J., Martín-Rodríguez, A., ... Gálvez-Ruiz, M. J. (2008). Adsorption of soy protein isolate at air–water and oil–water interfaces. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 323(1–3), 155–162.

<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.11.001>

- Sarabhai, S., Indrani, D., Vijaykrishnaraj, M., Milind, Arun Kumar, V., & Prabhasankar, P. (2015). Effect of protein concentrates, emulsifiers on textural and sensory characteristics of gluten free cookies and its immunochemical validation. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(6), 3763–3772. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1432-5>
- Sarabhai, S., & Prabhasankar, P. (2015). Influence of whey protein concentrate and potato starch on rheological properties and baking performance of Indian water chestnut flour based gluten free cookie dough. *LWT - Food Science and Technology*, *63*(2), 1301–1308. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.111>
- Savidan, C. H., & Morris, C. (2015). Panelists' performances and strategies in paper-based and computer-based projective mapping. *Journal of Sensory Studies*, *30*(2), 145–155. <https://doi.org/10.1111/joss.12146>
- Schaafsma, G. (2005). The protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS)—A concept for describing protein quality in foods and food ingredients: a critical review. *Journal of AOAC International*, *88*(3), 988–994.
- Schmidt, R. . (1981). Gelation and coagulation. In J. . Cherry (Ed.), *Protein Functionality in Foods* (p. 131). Washington, DC: ACS Symposium Series 147.
- Serventi, L., Vittadini, E., & Vodovotz, Y. (2018). Effect of chickpea protein concentrate on the loaf quality of composite soy-wheat bread. *LWT*, *89*, 400–402. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.012>
- Shepherd, I. S., & Yoell, R. (1976). Cake emulsions. In *Food Emulsions* (pp. 216–275). New York, NY: Marcel Dekker.
- Shevkani, K., Kaur, A., Kumar, S., & Singh, N. (2015). Cowpea protein isolates: Functional properties and application in gluten-free rice muffins. *LWT - Food Science and Technology*, *63*, 927–933. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.058>
- Shevkani, K., & Singh, N. (2014). Influence of kidney bean, field pea and amaranth protein isolates on the characteristics of starch-based gluten-free muffins. *International Journal of Food Science and Technology*, *49*, 2237–2244. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12537>

- Shin, M., Gang, D. O., & Song, J. Y. (2010). Effects of protein and transglutaminase on the preparation of gluten-free rice bread. *Food Science and Biotechnology*, *19*, 951–956. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0133-8>
- Singh, H. (2005). A study of changes in wheat protein during bread baking using SE-HPLC. *Food Chemistry*, *90*(1–2), 247–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.047>
- Singh, M., & Mohamed, A. (2007). Influence of gluten-soy protein blends on the quality of reduced carbohydrates cookies. *LWT - Food Science and Technology*, *40*(2), 353–360. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.09.013>
- Singh, N. K., Donovan, G. R., & MacRitchie, F. (1990). Use of sonication and size-exclusion high-performance liquid chromatography in the study of wheat flour proteins: 2. Relative quantity of glutenin as a measure of breadmaking quality. *Cereal Chemistry*, *67*, 161–169.
- Srikanlaya, C., Therdthai, N., Ritthiruangdej, P., & Zhou, W. (2018). Effect of hydroxypropyl methylcellulose, whey protein concentrate and soy protein isolate enrichment on characteristics of gluten-free rice dough and bread. *International Journal of Food Science & Technology*, *53*(7), 1760–1770. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13761>
- Stauffer, C. . (2007). 11. Principles of Dough Formation. In Stanley P. Cauvain & L. S. Young (Eds.), *Technology of Breadmaking* (2nd ed., pp. 299–332). New York, NY: Springer.
- Stone, H., Bleibaum, R. N., & Thomas, H. A. (2012). *Sensory Evaluation Practices*. *Sensory Evaluation Practices* (2nd ed.). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382086-0.00003-0>
- Stone, H., & Sidel, J. . (1993). *Sensory Evaluation Practices*. London, UK: Academic Press.
- Storck, C. R., da Rosa Zavareze, E., Gularte, M. A., Elias, M. C., Rosell, C. M., & Guerra Dias, A. R. (2013). Protein enrichment and its effects on gluten-free bread characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, *53*(1), 346–354. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.005>

- Subagio, A., & Morita, N. (2008). Effects of protein isolate from hyacinth beans (*Lablab purpureus* (L.) sweet) seeds on cake characteristics. *Food Science and Technology Research*, *14*, 12–17. <https://doi.org/10.3136/fstr.14.12>
- Sung, M.-J., Park, Y.-S., & Chang, H.-G. (2006). Quality characteristics of sponge cake supplemented with soy protein concentrate. *Food Science and Biotechnology*, *15*, 860–865.
- Tallman, D., Sahathevan, S., Karupaiah, T., & Khosla, P. (2018). Egg Intake in Chronic Kidney Disease. *Nutrients*, *10*(12), 1945. <https://doi.org/10.3390/nu10121945>
- Tamnak, S., Mirhosseini, H., Tan, C. P., Ghazali, H. M., & Muhammad, K. (2016). Physicochemical properties, rheological behavior and morphology of pectin-pea protein isolate mixtures and conjugates in aqueous system and oil in water emulsion. *Food Hydrocolloids*, *56*, 405–416. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.033>
- Tang, X., & Liu, J. (2017). A comparative study of partial replacement of wheat flour with whey and soy protein on rheological properties of dough and cookie quality. *Journal of Food Quality*, *2017*, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2017/2618020>
- Tarancón, P., Fiszman, S. M., Salvador, A., & Tárrega, A. (2013). Formulating biscuits with healthier fats. Consumer profiling of textural and flavour sensations during consumption. *Food Research International*, *53*(1), 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.03.053>
- Tarrega, A., Marcano, J., & Fiszman, S. (2017). Consumer perceptions of indulgence: A case study with cookies. *Food Quality and Preference*, *62*, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.07.001>
- Teo, A., Goh, K. K. T., Wen, J., Oey, I., Ko, S., Kwak, H. S., & Lee, S. J. (2016). Physicochemical properties of whey protein, lactoferrin and Tween 20 stabilised nanoemulsions: Effect of temperature, pH and salt. *Food Chemistry*, *197*, 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.086>
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch—composition, fine structure and

- architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151–165.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.001>
- U.S. Food and Drug Administration and Department of Health and Human Services. Nutrition labeling of food. (2018). Electronic Code of Federal Regulations. Washington, DC. Retrieved from www.ecfr.gov/cgi-bin/text-id?SID=632b6dad08d562ed1705c691778481d8&mc=true&node=se21.2.101_19&rgn=div8
- Ustunol, Z. (2015). *Applied Food Protein Chemistry*. (Z. Ustunol, Ed.), *Applied Food Protein Chemistry*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9781118860588>
- Uthayakumaran, S., Gras, P. W., Stoddard, F. L., & Bekes, F. (1999). Effect of varying protein content and glutenin-to-gliadin ratio on the functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry*, 76(3), 389–394.
<https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.389>
- Vandewater, K., & Vickers, Z. (1996). Higher-protein foods produce greater sensory-specific satiety. *Physiology and Behavior*, 59(3), 579–583.
[https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)02113-2](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)02113-2)
- Varela, P., Antúnez, L., Berget, I., Oliveira, D., Christensen, K., Vidal, L., ... Ares, G. (2017). Influence of consumers' cognitive style on results from projective mapping. *Food Research International*, 99, 693–701.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.021>
- Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Verbruggen, I. M., & Delcour, J. A. (1999). Factors governing levels and composition of the sodium dodecyl sulphate-unextractable glutenin polymers during straight dough breadmaking. *Journal of Cereal Science*, 29(2), 129–138. <https://doi.org/10.1006/jcrs.1998.0232>
- Vicente, E., Ares, G., Rodríguez, G., Varela, P., Bologna, F., & Lado, J. (2017). Selection of promising sweet potato clones using projective mapping. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(1), 158–164.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.7704>
- Villanueva, M., Pérez-Quirce, S., Collar, C., & Ronda, F. (2018). Impact of

- acidification and protein fortification on rheological and thermal properties of wheat, corn, potato and tapioca starch-based gluten-free bread doughs. *LWT*, 96, 446–454. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.069>
- Walstra, P. (2002). *Physical Chemistry of Foods*. CRC Press.
- Wani, A. A., Sogi, D. S., Singh, P., Sharma, P., & Pangal, A. (2012). Dough-handling and cookie-making properties of wheat flour-watermelon protein isolate blends. *Food and Bioprocess Technology*, 5(5), 1612–1621. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0466-6>
- Wani, S. H., Gull, A., Allaie, F., & Safapuri, T. A. (2015). Effects of incorporation of whey protein concentrate on physicochemical, texture, and microbial evaluation of developed cookies. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1092406>
- Weijers, M., van de Velde, F., Stijnman, A., van de Pijpekamp, A., & Visschers, R. W. (2006). Structure and rheological properties of acid-induced egg white protein gels. *Food Hydrocolloids*, 20(2–3), 146–159. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.02.013>
- Welch, A. A. (2014). Nutritional influences on age-related skeletal muscle loss. *Proceedings of the Nutrition Society*, 73, 16–33. <https://doi.org/10.1017/S0029665113003698>
- Wiggins, C., & Cauvain, S. P. (2007). 5. Proving, Baking and Cooling. In Stanley P. Cauvain & L. S. Young (Eds.), *Technology of Breadmaking* (2nd ed., pp. 141–173). New York, NY: Springer.
- Wilderjans, E., Luyts, A., Goesaert, H., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2010). A model approach to starch and protein functionality in a pound cake system. *Food Chemistry*, 120(1), 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.067>
- Wilderjans, Edith, Luyts, A., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2013). Ingredient functionality in batter type cake making. *Trends in Food Science and Technology*, 30, 6–15. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.01.001>
- Wilderjans, Edith, Pareyt, B., Goesaert, H., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2008). The role of gluten in a pound cake system: A model approach based on gluten-starch

- blends. *Food Chemistry*, 110, 909–915.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.079>
- Witczak, T., Juszczak, L., Ziobro, R., & Korus, J. (2017). Rheology of gluten-free dough and physical characteristics of bread with potato protein. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3). <https://doi.org/10.1111/jfpe.12491>
- Woodward, A. D., Nielsen, B. D., Liesman, J., Lavin, T., & Trottier, N. L. (2011). Protein quality and utilization of timothy, oat-supplemented timothy, and alfalfa at differing harvest maturities in exercised Arabian horses. *Journal of Animal Science*, 89(12), 4081–4092. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3825>
- Wu, J. H. Y., Neal, B., Trevena, H., Crino, M., Stuart-Smith, W., Faulkner-Hogg, K., ... Dunford, E. (2015). Are gluten-free foods healthier than non-gluten-free foods? An evaluation of supermarket products in Australia. *British Journal of Nutrition*, 114, 448–454. <https://doi.org/10.1017/S0007114515002056>
- Yada, R. Y. (2018). *Proteins in Food Processing* (2nd ed.). Woodhead Publishing Limited.
- Yada, R. Y., Bryksa, B., & Nip, W. (2012). An Introduction to Food Biochemistry. In B. K. Simpson (Ed.), *Food Biochemistry and Food Processing* (pp. 1–25). Wiley-Blackwell.
- Zanoni, B., Pierucci, S., & Peri, C. (1994). Study of the bread baking process - II. Mathematical modelling. *Journal of Food Engineering*, 23, 321–336.
[https://doi.org/10.1016/0260-8774\(94\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0260-8774(94)90057-4)
- Zayas, J. F. (1997). *Functionality of Proteins in Food*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-59116-7>
- Ziobro, R., Juszczak, L., Witczak, M., & Korus, J. (2016). Non-gluten proteins as structure forming agents in gluten free bread. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 571–580. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2043-5>
- Ziobro, R., Witczak, T., Juszczak, L., & Korus, J. (2013). Supplementation of gluten-free bread with non-gluten proteins. Effect on dough rheological properties and bread characteristic. *Food Hydrocolloids*, 32(2), 213–220.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.006>

OBJETIVOS

Objetivos

El objetivo principal de la presente tesis doctoral fue evaluar el efecto de la incorporación de altos porcentajes de diferentes proteínas en las características reológicas, físicas y sensoriales de galletas, panes, bizcochos y purés sin gluten, para obtener productos con un alto contenido proteico y una buena aceptabilidad por parte del consumidor.

Para conseguir este objetivo general, se requiere el cumplimiento de unos objetivos parciales:

- I. Estudiar los efectos que producen el tipo (origen, tamaño de partícula, solubilidad, etc.) y cantidad de proteína adicionada en las características de productos horneados sin gluten (galletas, panes, bizcochos).
- II. Evaluar el efecto del nivel de hidratación en las características reológicas y físicas de panes sin gluten enriquecidos con altos porcentajes de diferentes proteínas.
- III. Evaluar los cambios reológicos y físicos de los purés de harina extrusionada de maíz enriquecidos con proteína, así como la influencia de los procesos de calentamiento, refrigeración y congelación sobre la calidad del producto final.
- IV. Aplicar diferentes técnicas sensoriales (test de aceptabilidad, check-all-that-apply (CATA) y projective mapping) para evaluar las características sensoriales de galletas sin gluten y hacer una comparativa con otras galletas presentes en el mercado.

ESTRUCTURA

Estructura

La presente tesis doctoral está dividida en tres capítulos diferenciados en base al tipo de producto estudiado y/o técnica de análisis empleada. El capítulo 1 se subdivide en tres apartados en función del producto horneado a evaluar. Estos capítulos y apartados se corresponden con las publicaciones científicas obtenidas a partir de la investigación llevada a cabo durante la tesis.

Capítulo 1: Enriquecimiento proteico de productos horneados

- Sahagún, M., & Gómez, M. (2018). Influence of protein source on characteristics and quality of gluten-free cookies. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 4131–4138. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3339-z>
- Sahagún, M., & Gómez, M. (2018). Assessing influence of protein source on characteristics of gluten-free breads optimising their hydration level. *Food and Bioprocess Technology*, 11(9), 1686–1694. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2135-0>
- Sahagún, M., Bravo-Núñez, Á., Bascónes, G., & Gómez, M. (2018). Influence of protein source on the characteristics of gluten-free layer cakes. *LWT*, 94, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.014>

Capítulo 2: Enriquecimiento proteico de purés instantáneos.

- Sahagún, M., & Gómez (2019). The effect of different protein addition on the rheological, physical and sensory characteristics of extruded maize-based purees. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(11): 3066–3073. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14227>

Capítulo 3: Utilización de diferentes métodos para análisis sensorial de productos enriquecidos

- Sahagún, M., Gómez, M., Orden, D., & Fernández-Fernández, E. (2019). Assessing protein addition on sensory characteristics of sugar-snap cookies: application of check-all-that-apply questions and projective mapping. *Pendiente de aceptación.

CAPÍTULO 1:

Enriquecimiento proteico de productos horneados

INFLUENCE OF PROTEIN SOURCE ON CHARACTERISTICS AND QUALITY OF GLUTEN-FREE COOKIES

Marta Sahagún, Manuel Gómez

Food Technology Area. College of Agricultural Engineering. University of Valladolid,
34004 Palencia, Spain.

Journal of Food Science and Technology (2018) 55(10):4131-4138

doi: 10.1007/s13197-018-3339-z

Abstract

Proteins are essential nutrients in the diet, with the recommended amount of daily protein consumption varying for people with different health status and activity level. Cookies could be an adequate carrier of proteins because of their great acceptability. The aim of this study was to analyse the effect of flour substitution with different types of protein (pea, potato, egg white and whey) in gluten-free cookies. Hydration properties, dough rheology, cookie characteristics (protein content, dimensions, texture) and sensory acceptability were studied. The hydration properties of mixtures with protein were lower than the control, with the exception of pea protein. As for results from rheological analysis, G' and G'' values for pea and potato protein were similar to the control, while egg white and whey protein had lower values. Addition of egg white and whey protein respectively, produced harder and wider cookies. The addition of potato protein yielded cookies with darker edges, however, pea protein did not lead to any significant change in cookie parameters. Sensory evaluation showed that the addition of pea protein produced cookies with the same scores as the control sample, signifying that cookies with added pea protein had the best acceptability.

ASSESSING INFLUENCE OF PROTEIN SOURCE ON CHARACTERISTICS OF GLUTEN-FREE BREADS OPTIMISING THEIR HYDRATION LEVEL

Marta Sahagún, Manuel Gómez

Food Technology Area. College of Agricultural Engineering. University of Valladolid,
34004 Palencia, Spain.

Food and Bioprocess Technology (2018) 11:1686-1694

doi: 10.1007/s11947-018-2135-0

Abstract

Most gluten-free products have lower protein content than their counterparts with wheat flour. The addition of exogenous proteins could not only be a good option to compensate for this reduction but also a tool to create gluten-free products rich in protein. However, the different water-binding capacities of proteins modify dough rheology, which also affects bread volume. Therefore, this study aimed to analyse the incorporation of a high percentage (30%) of several proteins (rice, pea, egg white and whey protein) in gluten-free breads whose hydration levels were adjusted for each protein to achieve the maximum volume. In this way, the breads with vegetal proteins required a higher amount of water than the breads with animal proteins. Moreover, all enriched breads exhibited lower maximum volume values than control, and the ones with whey protein presented the lowest volumes overall. From these results, the rheological behaviour and characteristics (colour, texture and weight loss) of optimised doughs and breads were measured. The doughs with whey protein presented the highest G' and G'' values due to their low hydration level, and the ones with egg white protein were very watery. Regarding colour, the addition of protein led to darker crusts, with the ones with whey protein being the darkest. With respect to the control, breads with animal proteins exhibited higher hardness, especially with whey protein, while the ones with vegetal proteins did not present significant differences.

INFLUENCE OF PROTEIN SOURCE ON THE CHARACTERISTICS OF GLUTEN-FREE LAYER CAKES

Marta Sahagún, Ángela Bravo-Núñez, Guillermo Báscones, Manuel Gómez
Food Technology Area. College of Agricultural Engineering. University of Valladolid,
34004 Palencia, Spain.

LWT - Food Science and Technology (2018) 94:50-56

doi: 10.1016/j.lwt.2018.04.014

Abstract

The aim of this study was to examine the effect of four commercial proteins (pea, rice, egg white and whey) on the characteristics of gluten-free layer cakes. Rice flour was partially substituted with 15, 30 and 45% protein. Hydration properties, batter density and viscosity, cake characteristics (weight loss, specific volume, texture and colour) and consumer acceptability were analysed. In general, the addition of protein increased the viscosity of the batters, with higher protein contents exhibiting greater effects and with pea protein presenting the highest effect overall. The addition of egg white protein led to the hardest cakes ($p < 0.05$) and whey protein, which also increased the cake hardness ($p < 0.05$), gave rise to cakes with the highest specific volume. Both animal proteins increased the cake cohesiveness and springiness ($p < 0.05$). On the contrary, pea and rice protein hardly modified hardness, colour and specific volume of cakes overall, but reduced their cohesiveness ($p < 0.05$). Regarding sensory evaluation, all protein-enriched cakes presented lower acceptability with respect to control cake ($p < 0.05$), but this effect was more pronounced when rice and egg white protein were added due to their taste, odour and texture. Whey protein cakes were, among the enriched samples, the ones with the highest acceptability.

CAPÍTULO 2:
Enriquecimiento proteico de
purés

THE EFFECT OF DIFFERENT PROTEIN ADDITION ON THE RHEOLOGICAL, PHYSICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF EXTRUDED MAIZE-BASED PUREES

Marta Sahagún, Manuel Gómez

Food Technology Area. College of Agricultural Engineering. University of Valladolid,
34004 Palencia, Spain.

International Journal of Food Science and Technology, 54(11): 3066-3073

doi: 10.1111/ijfs.14227

Abstract

Over last years, consumers demand products that are easy to eat with health benefits. The use of extruded flours would be a good choice to reduce the preparation time. Moreover, high protein intakes would have a positive influence on the health of specific population groups. Therefore, this study aims to assess how the addition of vegetal (rice and pea) and animal (egg white and whey) proteins could influence the characteristics of purees prepared with extruded maize flour. Rheological behaviour, microstructure, viscosity, syneresis and sensory evaluation of purees were determined. The incorporation of vegetal proteins hardly modified the puree viscosity before and after heating, and reduced the syneresis after the freeze-thaw process. Animal proteins reduced the viscosity and $G' - G''$ at 30°C and increased them after heating, and also increased the syneresis after cooling and freezing. Finally, pea and egg white proteins hardly modified the overall acceptability while whey protein improved it.

CAPÍTULO 3:

Utilización de diferentes métodos para análisis sensorial de productos enriquecidos

ASSESSING PROTEIN ADDITION ON SENSORY CHARACTERISTICS OF SUGAR-SNAP COOKIES: APPLICATION OF CHECK-ALL-THAT-APPLY QUESTIONS AND PROJECTIVE MAPPING

Marta Sahagún¹, Manuel Gómez¹, David Orden², Encarnación Fernández-Fernández¹

¹Food Technology Area. College of Agricultural Engineering. University of Valladolid, 34004 Palencia, Spain.

²Applied Mathematics Area. Physics and Mathematics Department. Alcalá University, 28805 Alcalá de Henares, Spain.

*Pendiente de aceptación

Abstract

The aim of this study was to combine projective mapping and check-all-that-apply (CATA) analysing the characteristics of protein-enriched cookies. Two evaluations were performed, analysing commercial cookies together with control elaborated cookies in a first evaluation to test the use of both methods with protein-enriched samples. After that, control and protein-enriched cookies were examined in a second evaluation. According to the results, it is possible to conclude that the incorporation of high protein levels modified the sensory characteristics of cookies. There were not significant differences between maize and wheat control samples so, the addition and type of protein achieve more influence on consumer perception than the type of flour used. Thus, the inclusion of whey and gluten protein lead to crispy and dry cookies while the addition of hydrolysed gluten protein increase the darkness and give rise to strong aftertaste. For his part, potato and egg white proteins provide a medium-dark colour to maize cookies whereas pea protein was the responsible of the mealy texture of cookies.

CONCLUSIONES

Conclusiones

La principal conclusión que se extrae de la presente tesis es la posibilidad de obtener productos sin gluten a base de cereales con un alto contenido proteico sin modificar significativamente ni sus características finales ni su aceptabilidad. Además, la influencia de la proteína en cada matriz fue diferente según el tipo y cantidad utilizados debido a las propias condiciones de cada masa y/o producto.

De esta forma, las conclusiones específicas más relevantes que se obtienen a partir de los diferentes trabajos de investigación realizados son:

- La proteína de huevo aumenta excesivamente la dureza de las galletas mientras que la proteína de suero da lugar a galletas más oscuras y de mayor diámetro. Por otra parte, las galletas con proteína de guisante apenas presentaron diferencias con la galleta original.
- La presencia de proteína de guisante, y especialmente de proteína de arroz, produce una reducción del número de burbujas presentes en las masas de bizcocho, siendo estas menos estables y dando lugar a fenómenos de coalescencia durante el proceso de calentamiento. Por su parte, las proteínas de clara de huevo y suero, debido a sus excelentes propiedades emulgentes, ayudan a estabilizar las burbujas incorporadas durante el mezclado y dan lugar a bizcochos de mayor volumen.
- Los fenómenos de agregación y coagulación que sufren las proteínas de suero y huevo, respectivamente, aumentan de forma significativa la dureza de los bizcochos. De hecho, la adición de un 45% de proteína de clara de huevo multiplicó por nueve la dureza del producto final. Por otro lado, las proteínas vegetales apenas modifican las propiedades de los bizcochos, aunque son menos cohesivos y elásticos.
- La optimización del volumen específico de panes sin gluten en función del nivel de hidratación proporciona información adicional en comparación con los métodos tradicionales de hidratación constante o ajuste por reología. Las proteínas vegetales requieren mayor cantidad de agua que las proteínas

animales para obtener su volumen específico máximo. Además, el valor de volumen máximo de los panes con proteínas animales fue menor que el obtenido con las proteínas vegetales.

- A pesar de la necesidad de un valor de consistencia mínimo para conseguir un volumen aceptable, la proteína de huevo, gracias a su capacidad coagulante, permite conseguir panes con un alto volumen a partir de masas con una consistencia muy baja.
- El menor volumen de los panes con proteína de suero provoca que su dureza sea muy elevada. En el caso de la proteína de huevo, aunque su volumen sea similar a la muestra control, sus propiedades coagulantes incrementan la dureza de los panes.
- El proceso de calentamiento modifica la influencia que las proteínas de suero y clara de huevo ejercen sobre la viscosidad de purés instantáneos a base de harina extrusionada. La adición de estas proteínas reduce la viscosidad del puré a 30°C mientras que, tras ser calentado, su viscosidad aumenta con respecto al puré sin proteína.
- La incorporación de proteínas de guisante y arroz reduce la sinéresis que los purés sufren tras un proceso de calentamiento. Esto, junto con su alta aceptabilidad, hace que la proteína de guisante sea la mejor opción para obtener purés instantáneos enriquecidos con proteína.
- Projective mapping y check-all-that-apply (CATA) son técnicas de análisis sensorial con un efecto complementario, lo cual permite comprobar algunos datos de textura y color medidos instrumentalmente, así como obtener una información más completa sobre sabor y/o aroma que no se pueden conseguir con otras mediciones. De esta forma, estas técnicas permitieron observar que el tipo y la cantidad de proteína adicionada tenían mayor influencia en la aceptabilidad que el tipo de harina utilizado. Además, se demostró que el uso de proteína de suero permitió conseguir galletas sin gluten más similares a aquellas elaboradas con harina de trigo. Por último,

cabe destacar que los consumidores fueron capaces de agrupar variedades de galletas que incluían algún ingrediente en común como miel, harina integral, etc.

- Los resultados obtenidos permitirán continuar con nuevas investigaciones, como el análisis de la digestibilidad de cada proteína o la evaluación del uso de mezclas proteicas, para incrementar el conocimiento sobre el tema en cuestión.

Conclusions

The main conclusion of this doctoral thesis is the possibility to obtain gluten-free bakery products with a high protein content without modifying significantly neither their final characteristics nor their consumer perception. Moreover, the influence of protein on each matrix was different based on the type and percentage due to the own conditions of each dough and/or product.

In this way, the most relevant conclusions obtained from the research works included in this thesis are described below.

- Egg white protein increased excessively the cookie hardness whereas whey protein led to darker cookies with higher diameter. On the other hand, cookies with pea protein hardly showed differences respect to the control sample.
- The presence of pea protein and, especially, of rice protein caused a reduction of bubbles number in cake doughs, being these less stable and giving rise to coalescence phenomena during baking process. For his part, egg white and whey proteins, due to their excellent emulsifying properties, helped to stabilize the incorporated bubbles during mixing and led to cakes with greater volume.
- Aggregation and coagulation phenomena that egg white and whey proteins experience during baking, respectively, rose significantly cakes hardness. In fact, the addition of 45% egg white protein increased to nine times the hardness. Otherwise, the vegetal proteins hardly modified cake properties, although the final product was less cohesive and elastic.
- Specific volume optimization of gluten-free breads based on the hydration level provided useful additional information compared to traditional methods (constant hydration or adjustment by rheology). The vegetal proteins required higher water amounts than the animal proteins to get their maximum specific volume. Moreover, the maximum specific volume of breads with the animal proteins was lower than the one obtained with the vegetal proteins.

- Despite the need of a minimum viscosity value to achieve an acceptable volume, egg white protein, thanks to its coagulant capacity, allowed to manage breads with high volume from batters with a very low viscosity.
- The lower volume of breads with whey protein was the responsible of their very high hardness. In the case of egg white protein, although the volume was similar to control sample, its coagulant properties increased the bread hardness.
- Heating process affected the influence of whey and egg white proteins on the viscosity of instantaneous purees based on extruded flour. The addition of these proteins reduced the puree viscosity at 30°C whereas, after heating, the viscosity increased respect to the control puree.
- The incorporation of pea and rice proteins reduced syneresis process that purees undergo after heating process. This fact, together with the great acceptability of pea protein, made that this protein was the best option to get instantaneous protein enriched purees.
- Projective mapping and check-all-that-apply (CATA) are sensory techniques with a complementary effect, which allow for not only checking texture and colour measurements, but also get more comprehensive information about the taste and flavour that is not possible to obtain with other measurements. Thus, these techniques allowed to notice that the protein type and percentage had more influence on the consumer perception than the flour type used. Moreover, it was demonstrated that the use of whey protein permits to get gluten-free cookies more similar to those prepared with wheat flour. Finally, it is important to underline that consumers were able to sort cookie varieties that include some ingredient in common such as honey, whole-wheat flour, etc.
- The results obtained allow to continue with new research works, such as the digestibility analysis of each protein or the assessment of protein mixtures, to increase the knowledge about the topic.

ANEXO

Este anexo incluye otras publicaciones en las que el autor de la presente tesis también ha contribuido, aunque no forman parte de la tesis doctoral.

1. Belorio, M., Sahagún, M., & Gómez, M. (2019). Influence of flour particle size distribution on the quality of maize gluten-free cookies. *Foods*, *8*(2), 83. <https://doi.org/10.3390/foods8020083>
2. Bravo-Nunez, Á., Sahagún, M., & Gómez, M. (2019). Assessing the importance of protein interactions and hydration level on protein-enriched gluten-free breads: a novel approach. *Food and Bioprocess Technology*, *12*(5), 820-828. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02258-2>
3. Bravo-Nunez, Á., Sahagún, M., Martínez, P., & Gómez, M. (2018). Incorporation of gluten and hydrolysed gluten proteins has different effects on dough rheology and cookie characteristics. *International Journal of Food Science & Technology*, *53*(6), 1452-1458. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13724>
4. Jribi, S., Sahagún, M., Debbabi, H., & Gómez, M. (2019). Evolution of functional, thermal and pasting properties of sprouted whole durum wheat flour with sprouting time. *International Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14192>
5. Parra, A. F. R., Sahagún, M., Ribotta, P. D., Ferrero, C., & Gómez, M. (2019). Particle size and hydration properties of dried apple pomace: effect on dough viscoelasticity and quality of sugar-snap cookies. *Food and Bioprocess Technology*, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02273-3>
6. Román, L., Sahagún, M., Gómez, M., & Martínez, M. M. (2019). Nutritional and physical characterization of sugar-snap cookies: effect of banana starch in native and molten states. *Food & Function*, *10*, 616-624. <https://doi.org/10.1039/C8FO02266F>